

УДК 615.281

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-353-10-27-31>

Оригинальное исследование/Original research

Малик Н. И.,
Малик Е. В.,
Маленкова Л. А.,
Русанов И. А.,
Гагаева Е. А.

Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов ФГБУ «ВГНКИ» 123022, Москва, Звенигородское шоссе, д. 5
E-mail: nimalik@vgnki.ru

Ключевые слова: влагалищный микробиоценоз, корова, молочнокислые бактерии, селекция, идентификация *Lactobacillus* spp, антагонизм

Для цитирования: Малик Н.И., Малик Е.В., Маленкова Л.А., Русанов И.А., Гагаева Е.А. Изоляция, идентификация и пробиотические свойства влагалищных изолятов молочнокислых бактерий здоровых сухостойных коров. *Аграрная наука.* 2021; 353 (10): 27–31.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-353-10-27-31>**Конфликт интересов отсутствует**

Nina I. Malik.,
Evgeny V. Malik,
Julia A. Malenkova,
Ivan A. Rusanov,
Elizaveta A. Gagaeva

All-Russian State Center for Quality and Standardization of Medicines for Animals and Feeds of the Federal State Budgetary Institution "VGNKI", 123022, Moscow, Zvenigorodskoe shosse 5
E-mail: nimalik@vgnki.ru

Key words: vaginal microbiocenosis, cow, lactic acid bacteria, selection, identification of *Lactobacillus* spp, antagonism

For citation: Nina N.I., Malik E.V., Malenkova L.A., Rusanov I.A., Gagaeva E.A. Isolation, identification and probiotic properties of vaginal isolates of lactic acid bacteria of healthy slaughter cows. *Agrarian Science.* 2021; 353 (10): 27–31. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-353-10-27-31>**There is no conflict of interests**

Изоляция, идентификация и пробиотические свойства влагалищных изолятов молочнокислых бактерий здоровых сухостойных коров

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Применение антибиотиков для лечения инфекций репродуктивных путей у коров может вызвать устойчивость бактерий к антибиотикам и ставит под угрозу здоровье человека. Потенциально препараты из представителей молочнокислой влагалищной микрофлоры (пробиотики) могут быть использованы качестве биологического контроля для сокращения использования антибиотиков в животноводстве. Однако видовой состав влагалищной молочнокислой микрофлоры здоровых сухостойных коров и ее пробиотические свойства остаются слабо документированы.

Методы. Проведена видовая идентификация каталазоотрицательных грамположительных изолятов бактерий, формирующих колонии на агаре MRS, выделенных из маточно-цервикальной слизи здоровых лактирующих коров в соответствии со стандартными процедурами с использованием культурально-зависимого подхода, биохимических тестов и тестов на ферментацию сахаров с помощью стрипов API50 CHL (bioMerieux, Франция). Для тестирования на антагонистическую активность методом отсроченного антагонизма в отношении тест-культур стафилококков и эшерихий были отобраны 14 изолятов в соответствии с типированием отнесенные к 5 видам рода *Lactobacillus*.

Результаты Полученные результаты свидетельствуют о том, что маточно-влагалищный биоценоз здоровых лактирующих коров представлен микроорганизмами семейства *Lactobacillaceae*, включая молочнокислые энтерококки и бактерии семейства *Leuconostocaceae*. В составе влагалищного биоценоза у коров без признаков патологии родовых путей обнаружено присутствие представителей родов *Aerococcus*, *Peptostreptococcus* и *Gardnerella vaginalis*. В соответствии с полученными результатами влагалищная популяция молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus* обладает низкой или средней антагонистической активностью в отношении тест культур индикаторных штаммов стафилококков и эшерихий.

Isolation, identification and probiotic properties of vaginal isolates of lactic acid bacteria of healthy slaughter cows

ABSTRACT

Relevance. The use of antibiotics to treat infections of the reproductive tract in cows can cause bacterial resistance to antibiotics and endanger human health. Potentially, preparations from representatives of the lactic acid vaginal microflora (probiotics) can be used as a biological control to reduce the use of antibiotics in animal husbandry. However, the specific composition of the vaginal lactic acid microflora of healthy dry cows and its probiotic properties remain poorly documented.

Methods. The species identification of catalase-negative gram-positive isolates of bacteria forming colonies on MRS agar isolated from utero-cervical mucus of healthy lactating cows was carried out in accordance with standard procedures using a culture-dependent approach, biochemical tests and tests for sugar fermentation using API50 CHL strips (bioMerieux, France). For testing for antagonistic activity by the method of delayed antagonism against test cultures of staphylococci and *Escherichia*, 14 isolates were selected in accordance with typing assigned to 5 species of the genus *Lactobacillus*.

Results. The results obtained indicate that the utero-vaginal biocenosis of healthy lactating cows is represented by microorganisms of the *Lactobacillaceae* family, including lactic acid enterococci and bacteria of the *Leuconostocaceae* family. The presence of representatives of the genera *Aerococcus*, *Peptostreptococcus* and *Gardnerella vaginalis* was found in the composition of the vaginal biocenosis in cows without signs of pathology of the birth canal. According to the results obtained, the vaginal population of lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus* has low or medium antagonistic activity against test cultures of indicator strains of staphylococci and *Escherichia*.

Поступила: 9 ноября
После доработки: 11 ноября
Принята к публикации: 15 сентября

Received: 9 November
Revised: 11 November
Accepted: 15 september

Введение

Нормальная микробиота репродуктивных путей теплокровных животных обеспечивает колонизационную резистентность слизистой от избыточной колонизации патогенных и условно-патогенных бактерий, используя различные механизмы конкурентного исключения, такие как продукция кислот, перекиси, антимикробных пептидов и др.

Считается, что наиболее характерным представителями вагинального нормомикробиоценоза являются *Lactobacillus* spp. Впервые о вагинальных лактобактериях сообщил Альберт Додерлейн (палочки Додерлейна) и позже Thomas S. классифицировал их как *Lactobacillus acidophilus* [1].

В последующем в составе женского влагалищного микробиоценоза были обнаружены такие виды лактобактерий, как *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. leichmannii*, *L. plantarum*, *L. salivarius* [2, 3].

По мере усовершенствования микробиологических техник в составе женского влагалищного микробиоценоза в качестве доминирующих видов стали фигурировать также виды *L. jensenii*, *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri*, *L. vaginalis* [4, 5, 6, 7, 8].

В свою очередь в 2015 году Chao Cheng [9] выделил из влагалища коров лактобактерии видов *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. kitasatonis*, *Lactococcus garvieae*, *L. johnsonii* и *L. amylovorus*.

Styková E. и др. [10] из влагалища телок выделили лактобактерии двух видов — *L. buchneri* и *L. mucosae*.

Факт присутствия данных микроорганизмов во влагалищно-цервикальной слизи человека и теплокровных животных позволяет считать их постоянной вагинальной микрофлорой, основной функцией которой является поддержание pH и сдерживание избыточного роста условно-патогенной микрофлоры [11].

Общеизвестно, что послеродовые воспалительные инфекции матки являются одной из основных причин бесплодия у коров [12]. Они снижают репродуктивную эффективность коров, увеличивают затраты на здоровье стада, снижают потребление кормов и вызывают сокращение производства молока.

Применение антибиотиков для лечения инфекций репродуктивных путей может вызвать устойчивость бактерий к антибиотикам и ставит под угрозу здоровье человека [13, 14].

Турченко А.Н. и др. [15] считают, что препараты из представителей молочнокислой влагалищной микрофлоры (пробиотики) потенциально могут быть использованы в качестве биологического контроля для сокращения использования антибиотиков в животноводстве. Использование пробиотических препаратов может предотвратить нежелательные последствия антибиотиков, обычно применяемых при лечении инфекций родовых путей, особенно тех, которые возникают с высокой частотой в послеродовой период у коров, главным образом у молочных коров.

Однако видовой состав влагалищной молочнокислой микрофлоры здоровых сухостойных коров и ее пробиотические свойства остаются слабо документированы.

Цель нашей работы заключалась в изучении видового состава влагалищной молочнокислой микрофлоры здоровых сухостойных коров и оценке антагонистической выделенных изолятов.

Методика

Материалы

Проведены бактериологические исследования влагалищно-цервикальной слизи, полученной от 38 здо-

ровых лактирующих коров с 3 фермерских молочно-товарных ферм Московской и Рязанской области. У всех животных на протяжении эксплуатационного периода воспалительные явления родовых путей после отёла не наблюдались. Коровы не подвергались обработке антибиотиками.

Методы

Выделение молочнокислых бактерий

Наружные половые органы коров обрабатывали 3% раствором йода и обмывали теплой водой. Забор экссудата осуществляли стерильным универсальным гинекологическим зондом. Пробы помещали в пробирки с питательной транспортной средой, состоящей из 10% лизированной двукратным замораживанием и оттаиванием крови барана, 10% глицерина и 80% физиологического раствора хлористого натрия.

Доставленные в лабораторию не позже 1 часа пробы высевали на модифицированный агар MRS с азидом натрия с pH 6,6 и культивировали в течение 24–26 ч при 37 ± 1 °C в аэробных условиях. Изолированные колонии бактерий, выросшие на агаре MRS, были проверенные на каталазу и окрашены по Граму. С каждой чашки отбирали грамположительные каталазоотрицательные микроорганизмы, переносили в MRS-бульон и культивировали в течение 12–24 ч при 37 °C. Выросшие культуры подвергали сублимационной сушке и хранили в лиофилизированном состоянии в ампулах под вакуумом при 8–10 °C.

Идентификация культур

Морфологическую и биохимическую идентификацию выделенных изолятов проводили в соответствии со стандартными процедурами с использованием культурально-зависимого подхода. Биохимические тесты и тесты на ферментацию сахаров проводились с помощью стрипов API50 CHL (bioMérieux, Франция). Идентификацию проводили с помощью таблиц, книг-каталогов кодов, компьютерного обеспечения фирмы-изготовителя.

Анализ антагонистической активности влагалищных штаммов молочнокислых бактерий

Антагонистические свойства штаммов молочнокислых бактерий устанавливали методом отсроченного антагонизма по ОФС.1.7.1.0008.15. Пробиотики (16). В качестве индикаторных культур были использованы вирулентный штамм *E. coli* 1370 и штамм *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, полученные из музея производственных микроорганизмов ФГБУ ВГНКИ, а также влагалищные изоляты *E. Coli* и *Staphylococcus aureus*, идентифицированные по культуральным, морфологическим и тинкториальным свойствам и стрипам API20E и APIStaph.

Культуры лактобацилл 1 генерации выращивали в аэробных условиях на плотной питательной среде MRS, отбирали колонии R-формы и на стерильном физиологическом растворе готовили взвесь с концентрацией микробных клеток 0,5 ед. стандарта мутности МакФарланд. При исследовании антагонизма методом отсроченного антагонизма подготовленные взвеси культур лактобацилл засеивали петлей по диаметру дна чашки Петри на агар LAPtg [17] и инкубировали при температуре (37 ± 1) °C в течение 48 час в анаэробных условиях. К выросшей культуре поперечными штрихами близко, но не вплотную к ней, подсеивали подготовленные взвеси индикаторных культур и продолжали культивирование в

аэробных условиях при $(38,1 \pm 0,1)$ °C в течение 20–24 ч, после чего измеряли величину задержки роста штриха тест культур в мм.

Результаты

Просматривали колонии микроорганизмов суточного роста, выросшие на модифицированном агаре MRS с азидом натрия, который является мощным ингибитором порфирина железа и эффективно ингибирует рост большинства немолочнокислых бактерий и грибов. С каждой чашки отбирали мелкие колонии от белого до кремового цвета, характерные для представителей семейства *Lactobacillaceae*, проверяли на продукцию каталазы и окрашивали по Граму.

Морфологически каталазонегативные грамположительные бактерии, формирующие колонии на агаре MRS, характеризовались наличием бактерий в форме прямых палочек с закругленными концами, собранных в цепочки различной длины, либо расположенные одиночно или попарно, коротких кокковидных палочек, единичных или собранных в короткие цепочки кокков, коккобациллы в виде римской цифры «V».

По современной систематике семейство *Lactobacillaceae* включает три рода: род *Lactobacillus*, род *Paralactobacillus* и род *Pediococcus* [18]. Бактерии, относящиеся к родам *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* и *Leuconostoc*, формируют ядро группы МКБ [19, 20].

Идентификация изолятов, формирующих колонии на агаре MRS, с использованием стрипов API50 CHL (bioMérieux, Франция), показала, что состав микробиоценоза влагалищно-цервикальной слизи здоровых лактирующих коров был представлен ассоциациями бактерий нормальной микрофлоры (табл. 1).

Из проб маточно-цервикальной слизи из 94,5% проб были выделены микроорганизмы семейства *Lactobacillaceae*, из 16,7% проб — представители семейства *Enterococcaceae*, из одной пробы (5,5%) — представители рода *Peptostreptococcus* семейства *Peptostreptococcaceae*, из 16,7% проб — представители семейства *Aerococcaceae*, из 55,5% проб — представители семейства *Leuconostocaceae*, и в 2 из 18 проб (11,1%) — *Gardnerella adiacens* — представители рода гарднерелл семейства *Bifidobacteriaceae*.

Результаты видового типирования выделенных микроорганизмов представлены в табл. 2, из которой следует, что доминирующую группу составили изоляты, отнесенные к семейству *Lactobacillaceae*, род *Lactobacillus*, виды *Lactobacillus fermentum* (12 изолятов), *Lactobacillus plantarum* (5 изолятов), далее следуют группы *Lactobacillus acidophilus* (2 изолята), *Lactobacillus salivarius* (2 изолята), *Lactobacillus brevis* (6 изолятов).

Вторую по численности группу — 11 изолятов, составляли изоляты, отнесенные к роду *Leuconostoc* семейства *Leuconostocaceae*, которое входит в порядок *Lactobacillales*, род грамположительных факультативно-анаэробных неспорообразующих неподвижных молочнокислых гетероферментативных бактерий [19].

Группа из 4 изолятов рода *Enterococcus* представлена видом *Enterococcus faecalis* (1 изолят) и *Enterococcus faecium* (3 изолята).

Молочнокислые кокки в количестве 4 изолятов были идентифицированы как вид *Lactococcus lactis* spp *cremoris*.

Среди идентифицированных изолятов, формирующих колонии на модифицированном агаре MRS с азидом натрия, два были отнесены к виду *Aerococcus viridans*, который является представителем бактериального рода *Aerococcus* входящего в 17-ю группу грампозитивных кокков [21].

Aerococcus viridans — факультативные анаэробы, но лучше растут в микроаэрофильных условиях. Образуют мелкие беловато-серые колонии колонии. При окраске по Граму клетки *Aerococcus viridans* имеют вид неподвижных грамположительных шарообразных клеток.

В отношении *Aerococcus viridans* следует отметить, что этот микроорганизм является вездесущим резидентным представителем нормального микробиоценоза открытых полостей у животных и человека. Аэрококки относятся к активным продуктам перекиси водорода [22, 23] и, обладая активными колонизирующими спо-

Таблица 1. Ассоциаций микроорганизмов, выделенных из влагалищно-цервикальной слизи здоровых лактирующих коров

Table 1. Associations of microorganisms isolated from the vaginal-cervical mucus of healthy lactating cows

Ассоциация микроорганизмов	Частота выделения (проб)
<i>Lactobacillus</i> sp + <i>Aerococcus</i> sp	1
<i>Lactobacillus</i> sp + <i>Enterococcus</i> sp	2
<i>Lactobacillus</i> sp + <i>Leuconostoc</i> spp	6
<i>Lactobacillus</i> sp + <i>Peptostreptococcus</i> sp + <i>Leuconostoc</i> spp	1
<i>Lactobacillus</i> sp + <i>Aerococcus</i> sp + <i>Leuconostoc</i> spp	1
<i>Lactobacillus</i> sp + <i>Leuconostoc</i> spp + <i>Gardnerella adiacens</i>	1
<i>Lactobacillus</i> sp + <i>Enterococcus</i> sp + <i>Leuconostoc</i> spp + <i>Gardnerella adiacens</i>	1
<i>Lactobacillus</i> sp	4
<i>Aerococcus</i> sp	1

Таблица 2. Видовая принадлежность микроорганизмов, выделенных из маточно-цервикальной слизи здоровых лактирующих коров, формирующих колонии на агаре MRS

Table 2. Species of microorganisms isolated from the utero-cervical mucus of healthy lactating cows that form colonies on MRS agar

Видовая принадлежность микроорганизмов, выделенных маточно-цервикальной слизи здоровых лактирующих коров	Количество идентифицированных изолятов
<i>Lactobacillus fermentum</i>	12
<i>Lactobacillus plantarum</i>	5
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2
<i>Lactobacillus salivarius</i>	2
<i>Lactobacillus brevis</i>	6
<i>Leuconostoc</i> spp.	2
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	9
<i>Enterococcus faecalis</i>	1
<i>Enterococcus faecium</i>	3
<i>Lactococcus lactis</i> spp <i>cremoris</i>	4
<i>Aerococcus viridans</i>	2
<i>Gardnerella vaginalis</i>	2
<i>Peptostreptococcus</i>	1

Таблица 3. Антагонистическая активность влагалищных изолятов лактобацилл при исследовании методом отсроченного антагонизма

Table 3. Antagonistic activity of vaginal lactobacilli isolates in the study by the method of delayed antagonism

Индикаторные штаммы	Испытуемые влагалищные изоляты лактобацилл													
	Lactobacillus fermentum-1	Lactobacillus fermentum-2	Lactobacillus fermentum-3	Lactobacillus fermentum-4	Lactobacillus fermentum-5	Lactobacillus fermentum-6	Lactobacillus plantarum-1	Lactobacillus plantarum-2	Lactobacillus acidophilus-1	Lactobacillus acidophilus-2	Lactobacillus brevis-1	Lactobacillus brevis-2	Lactobacillus salivarius-1	Lactobacillus salivarius-2
	Зоны задержки роста индикаторных штаммов (мм)													
<i>Staphylococcus aureus</i> (влагалищный изолят)	7,00±0,67	7,67±0,89	8,00±0,67	9,67±0,89	6,33±1,11	9,67±1,11	10,00±0,67	10,33±0,44	9,00±1,33	5,67±0,44	6,67±0,44	4,33±0,44	12,75±0,75	9,25±1,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6,67±0,44	8,33±1,11	7,67±1,11	8,33±0,89	6,33±0,44	7,33±1,56	10,67±1,11	11,67±0,89	6,67±1,11	7,33±0,44	5,33±0,44	4,77±0,44	11,25±0,75	7,75±0,75
<i>E. coli</i> (влагалищный изолят)	6,67±1,11	7,67±0,67	7,33±1,11	8,33±1,11	7,00±1,33	9,67±1,78	10,00±1,33	8,00±0,67	7,33±1,11	7,33±0,89	4,33±1,11	5,33±1,11	11,00±1,50	9,75±0,87
<i>E. coli</i> 1370	8,67±1,56	8,33±1,11	7,67±1,11	9,67±0,44	7,33±1,11	9,00±0,67	8,33±0,89	7,67±0,44	8,67±1,11	8,67±0,89	5,00±0,67	6,67±0,44	11,75±0,75	8,25±0,75

собностями и высокой адгезивной активностью, определяют состав микробиоценоза слизистых оболочек, предотвращая колонизацию слизистых поверхностей транзитными микроорганизмами с патогенными потенциальными, что в целом характеризует аэрококки как микробиоты, обладающие выраженными пробиотическими потенциальными.

Среди выделенных изолятов 2 штамма были идентифицированы как *Gardnerella vaginalis*. Гарднереллы — мелкие неподвижные грамвариабельные коккобациллы размером 0,3–0,6x1–2 мкм. В мазках клетки располагаются одиночно или парами в виде римской цифры «V». Температурный оптимум 35–37 °C; оптимум pH 4,0; предпочтительно культивирование при повышенном содержании CO₂.

Это наиболее интересная находка, поскольку *Gardnerella vaginalis* является единственными видом рода *Gardnerella*, входящего в состав семейства Bifidobacteriaceae, относящегося к порядку Bifidobacteriales, классу Actinobacteria, типу Actinobacteria [24, 25].

При изучении антагонистической активности влагалищных изолятов лактобацилл методом отсроченного антагонизма, было установлено, что в целом влагалищная популяция молочнокислых бактерий обладает низкой или средней антагонистической активностью, что оценивалось по величине зоны ингибиции роста (мм) при подсевах штрихом тест культур индикаторных штаммов стафилококков и эшерихий.

Результаты оценки антагонистической активности влагалищных изолятов лактобацилл приведены в таблице 3.

Среди 6 протестированных изолятов *Lactobacillus fermentum* наиболее выраженная антагонистическая активность установлена у изолята *Lactobacillus fermentum-4*. Зона задержки роста *Staphylococcus aureus* (влагалищный изолят) под влиянием метаболитов *Lactobacillus fermentum-4* составила 9,67±0,89 мм, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 — 8,33±0,89 мм, *E. coli* 1370 — 9,67±0,44 мм, *E. coli* (влагалищный изолят) — 8,33±1,11 мм. У остальных 5 протестированных изолятов *Lactobacillus fermentum* антагонистическая активность отсутствовала или была низкой

В группе изученных влагалищных изолятов молочнокислых бактерий выраженным антагонистическим эффектом обладали изоляты *Lactobacillus plantarum-1* и *Lactobacillus plantarum-2*. Так, зоны задержки роста

индикаторного штамма *Staphylococcus aureus* (влагалищный изолят) составили 10,00±0,67 и 10,33±0,44 мм, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 — 10,67±1,11 и 11,67±0,89 мм, *E. coli* 1370 — 8,33±0,89 и 7,67±0,44, *E. coli* (влагалищный изолят) — 10,00±1,33 и 8,00±0,67 мм соответственно.

Влагалищные изоляты *Lactobacillus acidophilus-1* и *Lactobacillus acidophilus-2* в отношении тест-штаммов *Staphylococcus aureus* и *E. coli* проявили себя как умеренные антагонисты. Варианты зон задержки роста этих тест-культур под влиянием метаболитов *Lactobacillus acidophilus-1* составила от 7,33±1,11 до 9,00±1,33 мм, под влиянием метаболитов *Lactobacillus acidophilus-2* — от 8,67±0,89 до 5,67±0,44 мм.

Изученные изоляты *Lactobacillus brevis* обладали низкой антагонистической активностью в отношении индикаторных штаммов (см. табл. 3). Зоны задержки тест-культур *Staphylococcus aureus* под влиянием метаболитов изолята *Lactobacillus brevis-1* находились в границах 6,67±0,44 — 5,33±0,44 мм, изолята *Lactobacillus brevis-2* — 4,33±0,44– 4,77±0,44 мм.

Анализ результатов определения антагонистической активности влагалищных изолятов *Lactobacillus salivarius* показал, что эти изоляты различаются по своей ингибирующей активности в отношении всех использованных тест-штаммов. Так, зоны угнетения роста *Staphylococcus aureus* (влагалищный изолят) и *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 под влиянием метаболитов изолята *Lactobacillus salivarius-1* составили 12,75±0,75 и 11,25±0,75 мм, тогда как зоны угнетения роста этих тест-культур под влиянием метаболитов *Lactobacillus salivarius-2* составили 9,25±1,25 7,75±0,75 мм соответственно.

Аналогичная тенденция установлена в отношении тест-культур *E. coli*. Зоны угнетения роста тест-культур *E. coli* под влиянием метаболитов изолята *Lactobacillus salivarius-1* были равны 11,00±1,50 и 11,75±0,75 мм, тогда метаболиты изолята *Lactobacillus salivarius-2* образовывали зоны угнетения роста тест-культур *E. coli* 9,75±0,87 и 8,25±0,75 мм.

Выводы

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что влагалищный биоценоз здоровых лактирующих коров представлен микроорганизмами семейства *Lactobacillaceae*, включая молочнокислые энтерококки

и *Leuconostocaceae*. Обнаруженное в составе влагаллициозного биоценоза присутствие представителей родов *Aerococcus*, *Peptostreptococcus* и *Gardnerella vaginalis* у коров без признаков патологии родовых путей требует более широких исследований, выходящих за пределы нашего эксперимента.

В целом влагаллициозная популяция молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus* обладает низкой или средней антагонистической активностью, в отношении тест культур индикаторных штаммов стафилококков и эшерихий, однако, исследование методом отсроченного антагонизма имеет ряд недостатков, влияющих на чувствительность метода. В частности как справедливо замечают Иркитова А.Н., Каган Я.Р., Соколова Г.Г. [26] для объективной оценки антагонистического действия

лактобактерий, выявляемого этим методом, необходимо учитывать, что он дает преимущество штаммам, которые продуцируют ингибиторные соединения небольшой молекулярной массы, быстрее диффундирующие в толщу агарового слоя и, следовательно, дающие более обширные зоны ингибирования роста тест-культуры и не всегда одна и та же среда одинаково благоприятна как для продуцента так и для роста тест-организма.

Представленная информация может иметь практическое значение для исследований, направленных на установление пробиотического потенциала влагаллициозного пула молочнокислых бактерий и рассмотрения вопроса о целесообразности включения штаммов молочнокислых бактерий в пробиотики для поддержания нормального микробиома репродуктивных путей коров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Thomas S. Döderlein's Bacillus: *Lactobacillus acidophilus*. The Journal of Infectious Diseases. 1928;43:218-227.
2. Reid G, McGroarty JA, Tomeczek L, Bruce AW. Identification and plasmid profiles of *Lactobacillus* species from the vagina of 100 healthy women. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 1996;15(1):23-26.
3. Pérez-Miravete A. Estudios sobre la flora vaginal. IX. Clasificación de *Lac-tobacilli* de origen vaginal. Rev Lat Microbiol Parasitol. 1967;9:11-14.
4. Исаева А.С., Летаров А.В., Ильина Е.Н. и др. Видовая идентификация влагаллициозных лактобацилл, выделенных у женщин репродуктивного возраста. Акушерство и гинекология. 2012;3:60-64. [Isaeva A. S., Letarov A.V., Ilyina E. N., etc. Species identification of vaginal lactobacilli isolated from women of reproductive age. Obstetrics and gynecology. 2012;3:60-64 (In Russ.).]
5. Припутневич Т.В., Мелкумян А.Р., Анкирская А.С. и др. Использование современных лабораторных технологий в видовой идентификации лактобактерий при оценке состояния микробиоты влагаллициоза у женщин репродуктивного возраста. Акушерство и гинекология. 2013;1: 76-80.
6. [Priputnevich T. V., Melkumyan A. R., Ankiorskaya A. S., etc. The use of modern laboratory technologies in the species identification of lacto-bacteria in the assessment of the state of the vaginal microbiota in women of reproductive age. Obstetrics and gynecology. 2013;1: 76-80 (In Russ.).]
7. Демкин В. В. Видовое разнообразие лактобактерий вагинального микробиома: как посмотреть. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2018;36(3):3-12. <https://doi.org/10.17116/molgen2018360313>. [Demkin V. V. Species diversity of lactobacilli of the vaginal microbiome: how to look at it. Molecular genetics, microbiology and virology. 2018; 36(3):3-12. <https://doi.org/10.17116/molgen2018360313> (In Russ.).]
8. Anderson AC, Sa-nunu M, Schneider C, et al. Rapid species-level identification of vaginal and oral lactobacilli using MALDI-TOF MS analysis and 16S rDNA sequencing. BMC Microbiology. 2014;14:12
9. Fernandes, M.S.M.; Lourenço, M.L.M.C.; Vasconcelos, B.M.; Carneiro, V.A. Probiotics *Lactobacillus* strains: A promising alternative therapy against to biofilm-forming enteropathogenic bacteria? Biology 2019, 13, 544–551.
10. Zhao, J.; Wang, J.; Yang, Y.; Li, X.; Sun, C. In vitro assessment of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from vaginas of healthy cows. Indian J. Anim. Res. 2015, 49, 355–359. [CrossRef] y by Zhao et al. [154], we screened four different LAB strains (*Leuconostoc lactis*, *Llyobacter poly-tropus*, *E. hirae*, and *Weissella confusa*) from the healthy cow's vaginas
11. Styková E., Valocký I., rNovotný F., Guba P. Probiotic properties of vaginal lactic acid bacteria selected for harmonization of microenvironment of reproductive apparatus. 2012 J. of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences 2(1):395-405
12. Redondo-López V, Cook RL, Sobel JD. Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. Rev Infect Dis. 1990; 12: 856-872
13. Кузьмич Р.Г. Эндометриты у коров. – Витебск, 1999. – 110 с [Kuzmich R. G. Endometritis in cows. - Vitebsk, 1999. - 110 s (In Russ.).]
14. Лаптева, Л.И. Условно-патогенная микрофлора при острых послеродовых эндометритах у коров и их комплексная терапия: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03/ Лаптева Людмила Ивановна. – Омск, 2004. – с. 10 – 11, 24. [Lapteva, L. I. Conditionally pathogenic microflora in acute postpartum endometritis in cows and their complex therapy: abstract. ... Candidate of Veterinary Sciences: 16.00.03 / Lyudmila Lapteva. - Омск, 2004. - p. 10-11, 24 (In Russ.).]
15. Мирон, Н.И., Ощепкова М.Н. Лечение гнойно-катарального эндометрита у коров / Н.И. Мирон, М.Н. Ощепкова // Актуальные проблемы современной науки. Материалы трудов участников 8-й международной телеконференции. – 2012. – том 1, № 2. – с. 88. [Miron, N. I., Oshchepkova M. N. Treatment of purulent-catarrhal endometritis in cows / N. I. Miron, M. N. Oshchepkova // Actual problems of modern science. Materials of the proceedings of the participants of the 8th international television conference. - 2012. - volume 1, No. 2 - - p. 88 (In Russ.).]
16. Турченко, А.Н. Применение широко используемых в животноводстве пробиотических препаратов для профилактики острых послеродовых эндометритов у коров (на молочных комплексах) [Электронный ресурс] / А.Н. Турченко, И.С. Коба, Е.Н. Новикова, М.Б. Решетка, А.И. Петенко, Е.Л. Гэрпинченко // Ветеринария Кубани. – 2012. – №3. – Ре-жим доступа: http://vetkuban.com/num3_20123.html [Turchenko, A. N. The use of pro-biotic drugs widely used in animal husbandry for the prevention of acute postpartum endometritis in cows (on dairy complexes) [Electronic resource] / A. N. Turchenko, I. S. Koba, E. N. Novikova, M. B. Resh-etka, A. I. Petenko, E. L. Gerpinchenko // Veterinary medicine of Kuban. - 2012. - No. 3. - Access mode: http://vetkuban.com/num3_20123.html (In Russ.).]
17. ОФС.1.7.1.0008.15 Пробиотики [ОФС.1.7.1.0008.15 Probiotics. (In Russ.).]
18. Tomás M. S. J., Claudia Otero M., Ocaña V., and Nader-Macías M. E. Production of antimicrobial substances by lactic acid bacteria I. Article in Methods in Molecular Biology · February 2004 DOI: 10.1385/1-59259-766-1:337 · Source: PubMed
19. De Vos P, Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.-H., Whitman W.B. (eds), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., Volume The Firmicutes, Springer, New York, 2009, P. 465-511
20. Felis G.E., Dellaglio F. Taxonomy of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* // Curr. Issues Intest. Microbiol. 2007. V. 8(2). P. 44-61
21. Euzéby JP, Parte AC. "Lactobacillaceae". List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). Retrieved June 30, 2021.
22. Aerococcus entry in LPSN [Euzéby, J.P. "List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet". Int. J. Syst. Bacteriol. – 1997. –Vol. 47, N2. – P. 590–592.
23. Kremenchutsky G.N. Comparative evaluation of antagonistically reactive oxygen of physical and biological origin [Sharun Text] / G.N. Kremenchut-sky, L.G. Yurgel, A.V. // XII International Scientific Conference and discussion club "New information technologies in medicine and ecology": Crimea, Yalta Gurfuz., 2004. – P. 180.
24. Valchuk S.I. Biological properties of aerococci and bacilli - components of the new associative probiotic complex [Text] / S.I. Valchuk [et al.] //Visn.Dnipropetr.Univ.Ser.Biol.Med. – 2015. – Vol.6, N1. – P. 57-62.
25. Skerman VBD, McGowan V, Sneath PHA. Approved lists of bacterial names. Int J Syst Bacteriol 1980; 30:225-420
26. Gardner HL, Dukes CD. Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified non-specific vaginitis. Am J Obstet Gynecol 1955; 69:962-976
27. Иркитова А.Н., Каган Я.Р., Соколова Г.Г. Сравнительный анализ методов определения антагонистической активности молочнокислых бактерий // Известия Алтайского государственного университета. – Серия Биологические науки. – 2012. – № 3 (1) [Irkritova A. N., Kagan Ya. R., Sokolova G. G. Comparative analysis of methods for determining the antagonistic activity of lactic acid bacteria // Proceedings of the Altai State University. -Biological Sciences series. – 2012. – № 3 (1) (In Russ.).]