

На правах рукописи

**УСАЧЕВ ИВАН ИВАНОВИЧ**

**Микробиоценоз кишечника,  
его оценка и контроль у овец,  
целенаправленное формирование  
у новорожденных ягнят**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунология

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени

доктора ветеринарных наук

Москва-2014

Работа выполнена в ФГБОУ ВПО «Брянская государственная сельскохозяйственная академия», на кафедре терапии, хирургии, ветеринарного акушерства и фармакологии.

Научный консультант:

Доктор биологических наук, профессор Поляков Виктор Филиппович.

Официальные оппоненты:

Денисенко Виктор Николаевич - доктор ветеринарных наук, профессор ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина», заведующий кафедрой;

Зайцева Елена Владимировна – доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВПО «Брянский государственный университет имени академика И.Г. Петровского», профессор кафедры;

Маннапова Рамзия Тимургалеевна – доктор биологических наук, Заслуженный деятель науки республики Башкортостан, профессор ФГБОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», профессор кафедры.

Ведущая организация:

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 006.033.01 при Всероссийском научно – исследовательском институте экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко по адресу: 109428, Москва, Рязанский проспект, 24, к. 1, ВИЭВ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГНБУ ВИЭВ.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Ездакова И.Ю.

## Общая характеристика работы

Актуальность темы. В настоящее время в естественной среде обитания животных и человека произошли значительные изменения, появились экологически неблагоприятные территории, где проживает большое число людей, и содержатся тысячи сельскохозяйственных животных и птиц (Г.Н. Вяйнезин, 1997; Г.П. Золотникова, И.В. Зотова, Е.В. Зотова, 1999; А.Н. Пальцев, 2004). Поддержание качества жизни на таких территориях является важнейшей задачей ветеринарной медицины. (И.А. Балясников, Н.П. Книжникова, 1999; Г.В. Родионов, В.Т. Христенко, 2002).

Установлено, что наиболее подвержены неблагоприятным факторам окружающей среды животные в раннем постнатальном онтогенезе, их жизнеспособность в таких условиях оказалась довольно низкой, а корректировка отдельных параметров гомеостаза организма животных с применением пробиотических препаратов и иммуномодуляторов стала необходимостью (И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, 2007; И.И. Усачев, 2014).

Поэтому вопросы жизнеспособности молодняка, особенно животных в период раннего постнатального развития, являются первостепенной задачей ветеринарных специалистов, требующие своего разрешения (А.Р. Камошенков, А.В. Горбачев, 2004; Ю.А. Курская, 2004; Л.М. Луцевич, 2004; Ю.Н. Федоров, А.И. Абдулов, Е.В. Крапивина и др., 2004; И.И. Усачев, и др., 2004; И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, 2007). При этом пристальное внимание уделяется формированию, развитию и поддержанию физиологически нормального состояния микробиальной части биоты желудочно - кишечного тракта - микробиоценозу животных (Б.В. Пинегин, В.Н. Мальцев и др., 1984; И.Б. Куваева, К.С. Ладодо, 1991; Л.А. Литяева, 1992, И.И. Усачев 2014; D.S. Hentges, 1983, G. Thornton, M. Sullivan, D. Sullivan, 1993). Использование пробиотических, пребиотических, синбиотических препаратов, предложенных для коррекции кишечных дисбактериозов, часто сопровождается отсутствием данных о количественном содержании различных представителей полезной микрофлоры: лакто - и бифидобактерий, кишечной палочки, стрептококков, микроорганизмов рода *Bacillus*, (в том числе и у овец), которые можно было бы считать нормативными (И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, 2007).

Необходимость решения вышеизложенных вопросов, стоящих перед современной ветеринарной медициной, в области овцеводства, явилась основанием для проведения настоящих исследований.

Цель работы. Разработать научно-обоснованные нормативы представителей кишечного микробиоценоза, относящихся к родам: Bifidobacterium, Lactobacillus, Eserichia (E.Coli), Enterococcus, Bacillus и Candida, у овец. Теоретически и экспериментально обосновать целенаправленный подход к формированию микробиоценоза кишечника у новорожденных ягнят, как неотъемлемую часть технологического цикла, направленную на повышение их жизнеспособности и сохранности. Разработать метод и схему целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза у новорожденных ягнят, с использованием микрофлоры фецеса овцематок, от которых получены ягнята.

Задачи исследования. 1. Изучить количественное содержание микроорганизмов (бифидо-, лактофлоры, кишечной палочки, энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид в слизистых оболочках и содержимом двенадцатиперстной, тощей, подвздошной, слепой, ободочной и прямой кишок, а также фецесе овец 2-5 летнего возраста, пород Романовской и Прекос.

2. Изучить кишечный микробиоценоз овец в различные периоды технологического цикла: в зимне-стойловый период - при индивидуальном и групповом содержании животных, в летний период - во время пастьбы и при стойлово-выгульном содержании.

3. Выяснить особенности кишечного микробиоценоза холостых и суягных овец во второй половине (3-5 мес.) суягности; у лактирующих маток в молозивный, молочный и смешанный периоды питания ягнят; у молодняка 3, 4 и 5 месячного возраста, а также у баранов-производителей.

4. Представить нормативы и физиологические границы количественного содержания изучаемых представителей кишечной микрофлоры, клинически здоровых овец. Рекомендовать их в качестве лабораторного контроля за состоянием здоровья животных.

5. Проследить динамику формирования кишечного микробиоценоза новорожденных ягнят (1-60 суток), а также влияние энтерального микробиоценоза овцематок на микробиоценоз кишечника ягнят полученных от этих маток, по фецесу.

6. Представить теоретическое и экспериментальное обоснование целенаправленного подхода к формированию кишечного микробиоценоза новорожденных ягнят, как

способ поддержания стабильной микрофлоры и профилактики дисбиотических нарушений у животных в период раннего постнатального онтогенеза, изучив при этом содержание и динамику общего жира, общего белка, общих углеводов и золы в молозиве и молоке овец в течении 45 суточной лактации, пребиотическую функцию фармакологических препаратов- элеовита и седимина, содержащих комплекс витаминов и микроэлементов эссенциального значения, эффективность микрофлоры фекалий овцематок в разведении  $10^4$ г/фек., для лечения дисбактериоза кишечника у ягнят 65-70 суточного возраста вызванного (per os) 10% раствором энрофлона, в сравнении с бифитрилаком.

7. Разработать метод и предложить схему целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза новорожденных ягнят с использованием микрофлоры материнского фецеса.

8. Изучить микробиоценоз кишечника новорожденных ягнят при целенаправленном его формировании, до двухмесячного возраста животных.

Научная новизна. Впервые на основе микробиологических исследований содержимого и слизистых оболочек двенадцатиперстной, тощей, подвздошной, слепой, ободочной и прямой кишок, а также фецеса овец, разработаны нормативы и границы физиологических изменений микроорганизмов относящихся к родам: Bifidobacterium, Lactobacillus, Escherichia (E.coli), Enterococcus, Bacillus и Candida. Изучены динамика и характер взаимоотношений между различными представителями кишечной микрофлоры овец пород Романовская и Прекос. Установлено влияние технологического цикла, половозрастных особенностей, способа содержания и физиологического состояния овец на уровень различных популяций микробов в пищеварительной системе этих животных.

Разработан метод целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза у новорожденных ягнят в условиях производства.

Впервые, в экспериментальных условиях, изучен процесс накопления микроорганизмов относящихся к родам: Bifidobacterium, Lactobacillus, Escherichia (E.coli), Enterococcus, Bacillus и Candida в пищеварительной системе ягнят и при целенаправленном формировании кишечного микробиоценоза.

Теоретическая и практическая значимость. Разработаны нормативные критерии оценки кишечного микробиоценоза овец.

Предложено их использование в условиях практического овцеводства, как элемент диспансеризационного контроля при оценке микробиального гомеостаза и состояния здоровья животных.

Обоснован эффективный и доступный для выполнения в практических условиях способ целенаправленного формирования микробиоценоза кишечного тракта новорожденных ягнят, как неотъемлемой части технологического цикла, направленный на повышение их жизнеспособности в период раннего постнатального развития животных.

Разработаны и утверждены в установленном порядке Отделением ветеринарной медицины РАСХН:

- Методическое пособие по целенаправленному формированию кишечного микробиоценоза у новорожденных ягнят с использованием микрофлоры материнского фецеса (авторы: И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, В.В. Пономарев, 2012);
- Нормативы кишечной микрофлоры у овец (авторы: И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, В.В. Пономарев, Н.Н. Чеченок, К.И. Усачев, И.В. Каничева, О.В. Гомонова, 2013).

Публикации результатов исследований. По теме диссертационной работы опубликовано сорок четыре научные статьи, в том числе шестнадцать статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ для опубликования результатов диссертационных работ, три монографии.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы одобрены и опубликованы на международных научно-практических конференциях «Использование достижений современной биологической науки при разработке технологий в агрономии, зоотехнии и ветеринарии» (Брянск, 2002); «Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества» (Брянск, 2007); «Достижения супрамолекулярной химии и биологии в ветеринарии и зоотехнии» (Москва, 2008); «Селекционно-технологические аспекты повышения продуктивности сельскохозяйственных животных в современных условиях аграрного производства» (Брянск, 2008); «Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных» (Троицк, 2009); «Проблемы и перспективы современной морфологии, ветеринарии, зоотехнии и охотоведения» (Киров, 2009); молодых ученых и специалистов «Вопросы ветеринарной медицины и биотехнологии» (Москва 2009); «Научное обеспечение агропромышленного производства» (Курск, 2010); «Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества» (Брянск, 2010); «Состояние

и перспективы развития ветеринарной науки России» (Москва, 2013); межкафедральном совещании сотрудников факультета Ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Брянская государственная сельскохозяйственная академия» (2014).

Внедрение результатов исследования. Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедре терапии, хирургии, ветеринарного акушерства и фармакологии ФГБОУ ВПО «Брянская государственная сельскохозяйственная академия», в ГБУ Брянской области «Почепская зональная ветеринарная лаборатория», в КФХ «Симонов А.А.» Выгоничского района, Брянской области.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Микробиоценоз кишечника овец в различные периоды технологического цикла (в зимне-стойловый и летне-пастбищный).

2. Особенности кишечного микробиоценоза холостых и суягных овец во второй половине (3-5 мес.) суягности, у лактирующих маток, в молозивный, молочный и смешанный периоды питания ягнят, у молодняка овец 3, 4 и 5 месячного возраста, а также у баранов-производителей.

3. Формирование кишечного микробиоценоза новорожденных ягнят (1-60 суток) и влияние энтерального микробиоценоза овцематок на микробиоценоз кишечного тракта ягнят, полученных от этих маток.

4. Нормативы и физиологические границы количественного содержания, изучаемых представителей кишечной микрофлоры, свойственные клинически здоровым овцам.

5. Метод и схема целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза новорожденных ягнят с использованием микрофлоры материнского фецеса.

6. Кишечный микробиоценоз новорожденных ягнят при целенаправленном его формировании, содержание иммуноглобулинов классов G и M в сыворотке крови, динамика живой массы и сохранность животных.

Личный вклад соискателя. Работа выполнена автором самостоятельно, участие соавторов отражено в совместно опубликованных статьях.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 368 страницах компьютерного исполнения и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений, списка литературы включающего 568 источников, в том числе 150 работ зарубежных авторов и приложения. Работа иллюстрирована 64 таблицами, 42 диаграммами, 6 фотографиями.

## 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материалы и методы

Представленные лабораторные и экспериментально- клинические исследования выполнены в 1991-2011 гг. в ФГБОУ ВПО «Брянская государственная сельскохозяйственная академия» на кафедре терапии, хирургии, ветеринарного акушерства и фармакологии, экспериментальных условиях вивария Брянской ГСХА; ГБУ Брянской области «Почепская зональная ветеринарная лаборатория»; СПК Будлянский, Жирятинского района, Брянской области; КФХ «Симонов А.А.» Выгоничского района, Брянской области.

Здоровые животные, фекалии которых использовали в дальнейшей работе, дополнительно обследованы бактериоскопическим, бактериологическим и биологическим методами на наличие патогенных микроорганизмов: сальмонелл, клостридий, листерий, кишечных палочек, яиц и личинок гельминтов, а также паразитов (трематод, цистод и нематод) в ГБУ Брянской области «Почепская зональная ветеринарная лаборатория».

Овец содержали как индивидуально, так и группами по 8-12 животных, в зависимости от цели опыта. Кормление овец осуществляли в соответствии с периодом технологического цикла, по нормам, рекомендованным ВИЖ.

Массу тела овец и ягнят определяли взвешиванием на весах, термометрию проводили ректально с использованием электронного термометра модель ДТ-510, изготовленной японской компанией Эй энд Ди. Частоту пульса и дыхания подсчитывали за одну минуту, по количеству сердечных сокращений и дыхательных движений.

Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови подопытных животных определяли методом РИД по Манчини (1965).

Определяли динамику состава и количественного содержания бифидобактерий, лактобактерий, энтерококков, кишечной палочки, аэробных спорообразующих бактерий и кандид в слизистой оболочке и содержимом каждой структуре анатомически

составляющей тонкий и толстый отделы кишечника животных, а также фекалиях овец 2-5 летнего возраста, а у ягнят – в 1,3,5,7,10,15,30 и 60 суточном возрасте, на уровне рода.

Для проведения микробиологических исследований у подопытных животных использовали метод последовательных десятикратных разведений фекалий от  $10^1$  до  $10^{12}$ , а при разработке целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза ягнят, разведение готовили до  $10^{20}$ . Учет результатов микробиологических исследований проводили через 24 и 48 часов для кандид.

Состав, количественное содержание и динамику микроорганизмов в химусе и слизистых оболочках двенадцатиперстной, тощей, подвздошной, слепой, ободочной и прямой кишок овец изучали по А.А. Воробьеву (2003).

Содержание животных, уход и эвтаназию проводили в соответствии с требованиями приказов МХ СССР № 755 от 12.08.1977 г., № 701 от 27.07.1978 г., «Европейской конвенции по защите позвоночных животных используемых для экспериментальных и других научных целей»(1986).

Динамику содержания общего жира, общего белка, общих углеводов и золы в молозиве и молоке овец определяли через 1, 6, 12, 16, 20, 24, 32, 40 и 48 часов, а так же 5, 15, 30 и 45 суток после окота. Общий жир определяли по Г. Инихову, общий белок – по А. Гололобову и Т. Павловой, содержание общих углеводов – по международному стандартному методу Fil-1DF28 – 1964., золы – по Г. Инихову, Н. Брио, 1971.

Принцип целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза у новорожденных ягнят сводился к следующему: из прошедших контроль, свежесвыделенных фекалий овцематок (0,5гр.) готовили десятикратные разведения до  $10^4$ г./фек. (по количеству ягнят), куда вносили по 0,25 мл элеовита и седимина в качестве пребиотиков, помещали на 30 минут в термостат при 37 °С для контакта, после чего смесь готова к употреблению.

Заселение указанной синбиотической смесью кишечного тракта ягнят проводили по схеме 1,5-2 часа, 12 часов, 1,3,6,9, и 12 сутки жизни животных.

Ягнята находились под наблюдением в течение всего периода исследований с 1 по

60 сутки. В процессе исследований регистрировали количество заболевших, павших и живых животных в опытной группе, то есть с целенаправленно сформированным микробиоценозом кишечника и у ягнят контрольной группы, у которых кишечный микробиоценоз формировался без нашего вмешательства. Содержание овцематок с новорожденными ягнятами было индивидуальным.

Таблица 1

Группы животных находящихся в опытах

№ п/п	Группы овец	Порода	Возраст	Кол-во животных
1.	Новорожденные ягнята	Романовская	1-60 суток	20
		Прекос	1-60 суток	45
2.	Молодняк до года	Романовская	3-5 мес.	25
3.	Холостые матки	Романовская	3-5 лет	10
4.	Суягные матки	Романовская	3-5 лет	10
5.	Лактирующие матки	Романовская	3-5 лет	15
6.	Бараны производители	Романовская	3-5 лет	10
7.	Зимне-стойловый период содержания технологического цикла: групповое содержание животных	Романовская	2-5 лет	115
8.	Зимне-стойловый период технологического цикла: индивидуальное содержание животных	Романовская	3-5 лет	10
		Прекос	3-5 лет	10
9.	Летне-пастбищный период технологического цикла (пастьба)	Романовская	2-5 лет	115
10.	Летний период: стойлово-выгульное содержание животных	Романовская	3-5 лет	10
Всего:				395

Для выявления уровней изучаемой микрофлоры у подопытных животных ис-

пользовали следующие элективные питательные среды: среду Блаурокка в модификации Гончарова Г.И. (1990) – для бифидобактерий, среду Эндо – для кишечной палочки, для лактобактерий – лактобакагар, для энтерококков – энтерококкагар, для кандид среду Сабуро.

Для выявления количества аэробных спорообразующих бацилл использовали питательный агар (МПА), при этом испытуемый материал: химус, соскобы слизистой оболочки и фецес предварительно прогревали при 80°C в течение 20 минут.

Микробиологические среды изготовлены Федеральным Государственным научно-исследовательским центром прикладной микробиологии и биотехнологии, г. Оболенск, Московской области.

Полученные результаты представлены в десятичных логарифмах колониеобразующих единиц (КОЕ), на 1 гр. исследуемого материала: химуса, слизистой оболочки и фецеса. Полученные в процессе исследований цифровые значения были подвергнуты стандартной, принятой в биологии, статистической обработке, по Г.Ф. Лакину (1980).

## **2.2. Микробиоценоз слизистой оболочки и химуса двенадцатиперстной кишки овец**

Проведенными исследованиями установлено, что у овец 3-5 летнего возраста, в слизистой оболочке и химусе двенадцатиперстной кишки микроорганизмы рода *Bifidobacterium*, средний уровень которых равен  $4,7 \pm 0,4 \lg$  КОЕ /г. мат., доминировали над остальными микробами. Вторую позицию занимали бактерии рода *Escherichia* (*E. coli*) -  $3,0 \pm 0,3 \lg$  КОЕ /г.мат., на третьем месте находились представители рода *Bacillus* -  $2,5 \pm 0,2 \lg$  КОЕ /г.мат.

Лактобактерии, энтерококки и кандиды, в количественном отношении были наименьшими  $1,4 \pm 0,2 \lg$  КОЕ /г.мат.,  $1,8 \pm 0,1 \lg$  КОЕ /г.мат. и  $0,7 \pm 0,1 \lg$  КОЕ /г.мат., соответственно. Следовательно, у овец в двенадцатиперстной кишке присутствует самая низкая концентрация изучаемых микробов, а уровень исследуемой микрофлоры в химусе этой кишки выше, чем в ее слизистой оболочке на 10,7%.

Таблица 2

Содержание микроорганизмов в химусе и слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки овец романовской породы 3-5 летнего возраста (n=5;  $M \pm m$  lg10 КОЕ/ г.мат.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	Двенадцатиперстная кишка				В среднем	
	слизистая оболочка		химус			
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	4,7±0,2	100	4,7±0,5	100	4,7±0,4	100
Lactobacillus	1,3±0,3	92,8	1,5±0,1	107,1	1,4±0,2	100
Escherichia (E. coli)	3,4±0,2*	113,3	2,7±0,5	90,0	3,0±0,3	100
Enterococcus	0,1±0,1*	5,5	2,5±0,2*	138,9	1,8±0,1	100
Bacillus	2,4±0,2	96,0	2,7±0,3	108	2,5±0,2	100
Candida	1,1±0,1*	157,1	0,3±0,1*	42,8	0,7±0,1	100

### 2.3. Микробиоценоз слизистой оболочки и химуса тощей кишки овец

Установлено, что у овец 3-5 летнего возраста микробиоценоз слизистой оболочки тощей кишки отличается от микробиоценоза химуса этой кишки содержанием лактобактерий, энтерококков и микроскопических грибов рода Candida.

Таблица 3

Содержание микроорганизмов в химусе и слизистой оболочке тощей кишки овец романовской породы 3-5 летнего возраста (n=5;  $M \pm m$  lg10 КОЕ/ г.мат.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	Тощая кишка				В среднем	
	слизистая оболочка		химус			
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	9,9±0,3	99,0	10,0±0,3	101	10,0±0,3	100
Lactobacillus	6,1±0,1*	93,8	7,0±0,3*	107,7	6,5±0,2	100
Escherichia (E. coli)	8,2±0,2	100	8,3±0,1	101,2	8,2±0,2	100
Enterococcus	4,1±0,3	93,2	4,7±0,3	106,8	4,4±0,3	100
Bacillus	7,5±0,3	102,7	7,2±0,3	98,6	7,3±0,3	100
Candida	4,1±0,3	113,9	3,1±0,2*	86,1	3,6±0,2	100

Следует отметить превалирующее положение кишечной палочки над лактофлорой в химусе этой кишки достигающее 18,5% и высокий уровень представителей рода *Bacillus*  $7,3 \pm 0,3$  lg КОЕ/ г.мат. Количественные значения бифидобактерий, кишечной палочки и аэробных спорообразующих бацилл доминирующих (63,6%) над остальными микробами (36,4%) в обоих биоптатах были близки.

Таким образом, в тощей кишке овец концентрация изучаемых микробов в 2,8 раза выше, чем в двенадцатиперстной кишке, а содержание микробов в слизистой оболочке указанной кишки всего на 1,2% ниже, чем в ее химусе.

#### 2.4. Микробиоценоз слизистой оболочки и химуса подвздошной кишки овец

В процессе исследований выявлено, что микробиоценоз подвздошной кишки овец характеризуется высоким уровнем бифидобактерий, лактобактерий и кишечной палочки (89,3%), как в слизистой оболочке, так и содержимом этой кишки.

Таблица 4

Содержание микроорганизмов в химусе и слизистой оболочке подвздошной кишки овец романовской породы 3-5 летнего возраста.  
(n=5;  $M \pm m$  lg10 КОЕ/ г.мат.;  $p \leq 0,05$ \*)

Микроорганизмы (рода)	Подвздошная кишка				В среднем	
	слизистая оболочка		химус			
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
<i>Bifidobacterium</i>	$11,9 \pm 0,1^*$	101,7	$11,5 \pm 0,2$	98,3	$11,7 \pm 0,1$	100
<i>Lactobacillus</i>	$9,3 \pm 0,1^*$	108,1	$8,0 \pm 0,2$	93,0	$8,6 \pm 0,1$	100
<i>Escherichia (E. coli)</i>	$9,3 \pm 0,1^*$	104,5	$8,6 \pm 0,2$	96,6	$8,9 \pm 0,1$	100
<i>Enterococcus</i>	$1,5 \pm 0,2^*$	88,2	$1,9 \pm 0,1$	111,7	$1,7 \pm 0,1$	100
<i>Bacillus</i>	$1,1 \pm 0,1$	96,7	$1,3 \pm 0,1$	108,3	$1,2 \pm 0,1$	100
<i>Candida</i>	$0,7 \pm 0,1$	116,7	$0,5 \pm 0,1$	83,3	$0,6 \pm 0,1$	100

Низкое содержание энтерококков, кандид и представителей рода *Bacillus* в подвздошной кишке животных (10,7%) позволяет характеризовать их, как микрофлору имеющую менее важное (в количественном отношении) микробиоценотическое значение.

Следовательно, у овец микробиоценоз подвздошной кишки характеризуется высоким содержанием бифидобактерий, лактобактерий и кишечной палочки, а концентрация изучаемых микробов в слизистой оболочке подвздошной кишки этих животных выше, чем в ее химусе на 6,3%.

## 2.5. Микробиоценоз слизистой оболочки и химуса слепой кишки овец

Результаты исследований показали, что основная масса (92,5%) изучаемой микрофлоры слепой кишки овец 3-5 летнего возраста представлена родами *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Escherichia* (*E. coli*).

Энтерококки, аэробные спорообразующие бациллы и кандиды уровень которых минимален (7,5%), а физиологические границы более широкие (у кандид и представителей рода *Bacillus*, в пределах 66,7%) следует рассматривать, как менее стабильную часть микробиоценоза этой кишки овец.

Таблица 5

Содержание микроорганизмов в слизистой оболочке и химусе слепой кишки овец романовской породы 3-5 летнего возраста.

(n=5; M±m lg10 КОЕ/ г.мат.; p≤0,05\*)

Микроорганизмы (рода)	Слепая кишка				В среднем	
	слизистая оболочка		химус			
	M±m	%	M±m	%	M±m	%
<i>Bifidobacterium</i>	11,8±0,6	99,1	12,0±0,6	100,8	11,9±0,6	100
<i>Lactobacillus</i>	7,8±0,4	98,7	8,0±0,4	101,2	7,9±0,4	100
<i>Escherichia</i> ( <i>E. coli</i> )	9,4±0,3	94,9	10,4±0,4	105,0	9,9±0,4	100
<i>Enterococcus</i>	0,6±0,2	100	0,6±0,2	100	0,6±0,2	100
<i>Bacillus</i>	0,6±0,2*	75,0	1,0±0	125,0	0,8±0,1	100
<i>Candida</i>	1,4±0,2*	140,0	0,6±0,2	60,0	1,0±0,2	100

При этом концентрация изучаемых микробов в слизистой оболочке слепой кишки животных ниже их уровня в химусе на 3,1%.

Следовательно, микробиоценоз слепой кишки овец характеризуется высоким и стабильным содержанием бифидобактерий, лактобактерий и эшерихий (*E. coli*).

## 2.6. Микробиоценоз слизистой оболочки и химуса ободочной кишки овец

Выявлено, что в ободочной кишке, как и в слепой кишке овец 3-5 летнего возраста, преобладала бактериальная флора (91,8%) относящаяся к родам *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Escherichia* (*E. coli*), средние величины которых находились в пределах равных  $11,0 \pm 0,4$  lg КОЕ /г.мат.,  $7,2 \pm 0,3$  lg КОЕ /г.мат. и  $9,8 \pm 0,2$  lg КОЕ /г.мат., соответственно, содержание остальных микробов не превышало 8,2%.

Следовательно, в ободочной кишке овец бифидобактерии, лактобактерии и кишечная палочка доминируют над остальными популяциями микробов, уровень изучаемой микрофлоры в химусе ободочной кишки на 3,3% выше, чем в ее слизистой оболочке.

Таблица 6

Содержание микроорганизмов в слизистой оболочке и химусе в ободочной кишки овец романовской породы 3-5 летнего возраста  
(n=5;  $M \pm m$  lg10 КОЕ/ г.мат.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	Ободочная кишка				В среднем	
	слизистая оболочка		химус			
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
<i>Bifidobacterium</i>	$11,2 \pm 0,4$	101,8	$10,8 \pm 0,4$	98,2	$11,0 \pm 0,4$	100
<i>Lactobacillus</i>	$7,0 \pm 0,4$	97,2	$7,4 \pm 0,2$	102,8	$7,2 \pm 0,3$	100
<i>Escherichia</i> ( <i>E. coli</i> )	$9,8 \pm 0,2$	100	$9,8 \pm 0,2$	100	$9,8 \pm 0,2$	100
<i>Enterococcus</i>	$1,0 \pm 0$	100	$1,0 \pm 0$	100	$1,0 \pm 0$	100
<i>Bacillus</i>	$0,4 \pm 0,2^*$	66,7	$0,8 \pm 0,2$	133,3	$0,6 \pm 0,2$	100
<i>Candida</i>	$0,6 \pm 0,2^*$	66,7	$1,2 \pm 0,2$	133,3	$0,9 \pm 0,2$	100

## 2.7. Микробиоценоз слизистой оболочки и содержимого прямой кишки овец

Результаты наших исследований показали, что уровень бифидобактерий в слизистой оболочке прямой кишки овец 3-5 лет, выше, чем в содержимом (фекалиях)

этой кишки на 4,0%, а именно  $10,4 \pm 0,2$  lg КОЕ /г.слиз. и  $10,0 \pm 0,4$  lg КОЕ /г.фек., соответственно.

Род *Bifidobacterium*, единственный род микрофлоры, количественно превосходящий аналогичные бактерии, содержащиеся в фекалиях этой кишки.

Микроорганизмы, относящиеся к родам *Lactobacillus*, *Escherichia* (*E.coli*), *Enterococcus*, *Bacillus*, *Candida* преобладали в содержимом указанной кишки овец. Уровень изучаемых микробов в содержимом прямой кишки овец романовской породы указанного возраста на 19,7% выше, чем в ее слизистой оболочке.

Таблица 7

Уровень микроорганизмов в содержимом и слизистой оболочке прямой кишки овец романовской породы 3-5 летнего возраста (n=5;  $M \pm m$  lg10 КОЕ/ г.мат.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	Прямая кишка				В среднем	
	слизистая оболочка		содержимое			
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
<i>Bifidobacterium</i>	$10,4 \pm 0,2$	102	$10,0 \pm 0,4$	98,0	$10,2 \pm 0,3$	100
<i>Lactobacillus</i>	$5,0 \pm 0,4^*$	76,9	$8,0 \pm 0,2$	123	$6,5 \pm 0,3$	100
<i>Escherichia</i> ( <i>E. coli</i> )	$7,0 \pm 0,4$	98,6	$7,2 \pm 0,4$	101,4	$7,1 \pm 0,4$	100
<i>Enterococcus</i>	$4,2 \pm 0,2^*$	84,0	$5,8 \pm 0,4$	116	$5,0 \pm 0,3$	100
<i>Bacillus</i>	$4,2 \pm 0,4^*$	85,7	$5,6 \pm 0,4$	114,3	$4,9 \pm 0,4$	100
<i>Candida</i>	$1,6 \pm 0,2^*$	84,2	$2,2 \pm 0,2$	115,8	$1,9 \pm 0,2$	100

Следовательно, в прямой кишке овец, как в слепой и ободочной кишках, количественное превосходство сохраняют бифидобактерии, лактобактерии и кишечная палочка.

## 2.8. Микробиоценоз фецеса ягнят в молозивный и молочный периоды питания

Установлено, что у ягнят односуточного возраста количественные содержания изучаемых микроорганизмов минимальны и находятся в пределах:  $3,7 \pm 0,4$  lg

КОЕ/г.фек.;  $2,8 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек.;  $2,1 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек.;  $2,9 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек.;  $1,4 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек.;  $1,0 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек., соответственно.

В дальнейшем, процесс накопления микробальной массы у каждой популяции микроорганизмов имел свои особенности.

Таблица 8

Содержание микроорганизмов в фекалиях ягнят романовской породы  
в молозивный и молочный периоды питания  
(n = 10;  $M \pm m$  lg 10 КОЕ/ г.фек.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	Время исследования после рождения (сутки)					
	1		3		5	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	$3,7 \pm 0,4^*$	38,5	$5,4 \pm 0,2^*$	56,2	$7,4 \pm 0,2^*$	77,1
Lactobacillus	$2,8 \pm 0,2^*$	34,1	$4,6 \pm 0,2^*$	56,0	$6,2 \pm 0,3^*$	75,6
Escherichia (E. coli)	$2,1 \pm 0,2^*$	28,4	$4,1 \pm 0,2^*$	55,4	$6,0 \pm 0,2^*$	81,0
Enterococcus	$2,9 \pm 0,2^*$	46,8	$3,8 \pm 0,2^*$	61,3	$5,2 \pm 0,3^*$	86,7
Bacillus	$1,4 \pm 0,2^*$	25,9	$2,5 \pm 0,2^*$	46,3	$4,7 \pm 0,3^*$	87,7
Candida	$1,0 \pm 0^*$	4,1	$2,0 \pm 0,2^*$	83,3	$3,8 \pm 0,3$	158
Микроорганизмы (рода)	Время исследования после рождения (сутки)					
	7		10		Овцы 3-5 лет	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	$8,2 \pm 0,2^*$	85,4	$9,8 \pm 0,2$	102	$9,6 \pm 0,1$	100
Lactobacillus	$7,5 \pm 0,2^*$	91,5	$8,0 \pm 0,2$	97,6	$8,2 \pm 0,1$	100
Escherichia (E. coli)	$6,7 \pm 0,2^*$	90,5	$7,6 \pm 0,2$	102,7	$7,4 \pm 0,1$	100
Enterococcus	$5,6 \pm 0,2^*$	93,3	$5,8 \pm 0,2$	96,7	$6,0 \pm 0,2$	100
Bacillus	$4,9 \pm 0,3^*$	90,7	$5,4 \pm 0,2$	100	$5,4 \pm 0,1$	100
Candida	$3,0 \pm 0,2$	125	$3,1 \pm 0,3$	129	$2,4 \pm 0,1$	100

Накопление микробальной массы в кишечном тракте ягнят трехсуточного возраста составляло 45-60% от ее стабильного содержания у взрослых овец. К концу

молозивного периода (5 суток) питания ягнят этот показатель возрос, в среднем до 70-80%, к семисуточному их возрасту был равен 85-90%, а к десятому дню жизни животных находился в пределах 95-100%, по отношению к контрольной группе животных 3-5 летнего возраста.

Исключения составляли микроскопические грибы рода *Candida*, содержание которых уменьшалось по мере накопления бактериальной массы в кишечном тракте новорожденных ягнят.

## 2.9. Микробиоценоз фецеса ягнят в смешанный период питания

Выяснено, что в фекалиях ягнят 15-60 суточного возраста концентрация бифидобактерий изменялась в пределах 1,0%, а средний уровень этих бактерий составлял  $9,9 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек. Количественные параметры лактофлоры и кишечной палочки изменялись в пределах 1,2%-2,3%.

Таблица 9

Содержание микроорганизмов в фекалиях ягнят романовской породы  
в смешанный период питания (15-60 суток)  
(n = 10;  $M \pm m$  lg 10 КОЕ/г.фек.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование (15 суток)		2-е исследование (30 суток)		3-е исследование (60 суток)		В среднем (15-60 суток)	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
<i>Bifidobacterium</i>	$9,9 \pm 0,2$	100	$9,9 \pm 0,2$	100	$10,0 \pm 0,2$	101	$9,9 \pm 0,2$	100,0
<i>Lactobacillus</i>	$8,0 \pm 0,2$	100	$8,0 \pm 0,2$	100	$8,1 \pm 0,3$	101,2	$8,0 \pm 0,2$	100,0
<i>Escherichia</i> ( <i>E. coli</i> )	$7,5 \pm 0,2$	98,7	$7,5 \pm 0,2$	98,7	$7,7 \pm 0,3$	101	$7,6 \pm 0,2$	100,0
<i>Enterococcus</i>	$6,4 \pm 0,2$	101,5	$6,3 \pm 0,2$	100	$6,3 \pm 0,2$	100	$6,3 \pm 0,2$	100,0
<i>Bacillus</i>	$5,2 \pm 0,2^*$	92,8	$5,7 \pm 0,3$	103,5	$5,6 \pm 0,2$	103,5	$5,5 \pm 0,2$	100,0
<i>Candida</i>	$3,1 \pm 0,2$	100	$3,3 \pm 0,3$	106,4	$3,0 \pm 0,3$	96,8	$3,1 \pm 0,3$	100,0

Динамика энтерококков в процессе исследований протекала в более узких границах от  $6,3 \pm 0,2$  до  $6,4 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек.

Содержание аэробных спорообразующих бацилл в фецесе ягнят в смешанный период питания было менее стабильным, а количественные величины находились в пределах  $5,2$ - $5,7$  lg КОЕ/г.фек.

Количественные параметры кандид в исследуемом фецесе животных были минимальными по сравнению с другими исследуемыми микроорганизмами, а средний их уровень равен  $3,1 \pm 0,3$  lg КОЕ/г.фек.

Таким образом, выявленные закономерности позволяют характеризовать микробиоценоз кишечника ягнят в смешанный период их питания как стабильную, в количественном отношении систему.

## **2.10. Микробиоценоз фецеса ягнят 3, 4 и 5 месячного возраста**

Установлено, что концентрации бифидобактерий в исследуемом фецесе этих животных были весьма близки, а количественные отличия не превышали 2,8%. Такая же стабильность была свойственна и лактобактериям, концентрация которых изменялась от  $8,4 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек., до  $8,2 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек.

Уровень эшерихий (*E. coli*), изменялся в пределах  $6,8$  lg КОЕ/г.фек. до  $6,2 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек.

Максимальные величины энтерококков  $5,0 \pm 0$  lg КОЕ/г.фек. выявлены во втором цикле исследований, а в первом и третьем контрольных исследованиях, что соответствует 3-м и 5-ти месяцам жизни ягнят, их количественные значения были идентичны –  $4,6 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек.

Динамика содержания аэробных спорообразующих бацилл имела несколько иной характер, а именно: минимальные количественные значения  $3,6 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек. соответствовали третьему контрольному высеву, максимальная концентрация  $4,2 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек. установлена во втором исследовании, а промежуточные величины  $4,0 \pm 0$  lg КОЕ/г.фек. обнаружены при первом исследовании фекалий молодняка овец, т.е. в 3-х месячном возрасте.

Содержание микроорганизмов в фекалиях ягнят романовской породы  
3, 4 и 5 месячного возраста ( $n=10$ ;  $M \pm m$  lg 10 КОЕ/г.фек.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование (3 мес.)		2-е исследование (4 мес.)		3-е исследование (5 мес.)		В среднем (3-5 мес.)	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	10,6±0,2	100,9	10,6±0,2	100,9	10,8±0,2	102,8	10,5±0,2	100
Lactobacillus	8,4±0,1	108,2	8,2±0,2	98,8	8,4±0,1	101,2	8,3±0,1	100
Escherichia (E. coli)	6,8±0,2	103	6,8±0,1	103	6,2±0,1*	93,9	6,6±0,1	100
Enterococcus	4,6±0,1	97,8	5,0±0	106,4	4,6±0,1	97,8	4,7±0,1	100
Bacillus	4,0±0	102,5	4,2±0,1*	107,7	3,6±0,1	92,3	3,9±0,1	100
Candida	1,8±0,1	100	2,0±0	111	1,6±0,1	88,9	1,8±0,2	100

Следует отметить, что в фекалиях животных 3 и 5-ти месячного возраста высоким количественным значениям бифидобактерий, лактобактерий, соответствуют минимальный уровень содержания кандид.

Выявлено, что за весь цикл исследований уровень кандид был равным  $1,8 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек., это самая низкая концентрация микроскопических грибов из всех экспериментальных групп овец.

### 2.11. Микробиоценоз фецеса баранов-производителей

Известно, что на содержание тех или иных микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте макроорганизма может влиять и пол животных.

Установлено, что микробиоценоз кишечника племенных баранов романовской породы указанного возраста характеризуется высоким содержанием в фекалиях этих животных бифидобактерий, лактобактерий  $10,2 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек., и  $8,3 \pm 0,1$  lg

КОЕ/г.фек., соответственно, широким диапазоном количественных изменений кишечной палочки, энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид, в пределах 21,7%, 37,7%, 40,6% и 13,8% соответственно для каждой популяции микробов.

Таблица 11

Содержание микроорганизмов в фекалиях баранов-производителей романовской породы 3-5 летнего возраста (n=10;  $M \pm m$  lg 10 КОЕ/г.фек.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование		2-е исследование		3-е исследование		В среднем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	10,7±0,2*	104,9	9,9±0,2	97,0	10,0±0,2	98,0	10,2±0,2	100
Lactobacillus	8,0±0,1	96,3	8,0±0*	96,3	8,4±0,1	101	8,3±0,1	100
Escherichia (E. coli)	6,8±0,1*	88,3	7,7±0,2	100	8,5±0,1*	110	7,7±0,1	100
Enterococcus	5,2±0,1	98,1	4,4±0,1*	83,0	6,4±0,1*	120,7	5,3±0,1	100
Bacillus	4,2±0,1	85,7	4,9±0,1	100	5,7±0,2	116,3	4,9±0,1	100
Candida	2,0±0	95,2	2,0±0	95,2	2,3±0,1	109	2,1±0,1	100

## 2.12. Микробиоценоз фецеса холостых маток

Результаты исследований показали, что микробиоценоз кишечника холостых маток характеризуется высоким уровнем бифидобактерий, 10,2-11,0 lg КОЕ/г. фек., стабильным содержанием лактофлоры 8,0±0,1 lg КОЕ/г.фек. Низкой концентрацией энтерококков и аэробных спорообразующих бацилл 3,0-3,4 lg КОЕ/г.фек. Широкий количественный диапазон бактерий относящихся к родам Escherichia (E.coli), Enterococcus и Bacillus позволяет характеризовать их как менее стабильную микрофлору кишечника небеременных маток, что наглядно показано нами при исследовании фецеса этих животных.

Содержание микроорганизмов в фекалиях холостых маток романовской породы 3-5 летнего возраста (n=10;  $M \pm m$  lg 10 КОЕ/г.фек.  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование		2-е исследование		3-е исследование		В среднем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	10,8±0,2	101	11,0±0,2	103	10,2±0,1*	95,3	10,7±0,2	100
Lactobacillus	8,0±0,2	100	8,0±0	100	7,9±0,1	98,7	8,0±0,1	100
Escherichia (E. coli)	6,2±0,1	95,4	6,6±0,2	101	6,8±0,2	104,6	6,5±0,2	100
Enterococcus	4,2±0,1	97,7	4,0±0	93,0	4,6±0,1	107	4,3±0,1	100
Bacillus	3,0±0	93,7	3,2±0,1	100	3,4±0,1	106	3,2±0,1	100
Candida	2,4±0,1	104,3	2,0±0	87,0	2,4±0,1	104,3	2,3±0,1	100

### 2.13. Микробиоценоз фецеса суягных маток

Результаты исследования показывают, что микробиоценоз кишечника суягных маток 3-5 летнего возраста романовской породы, в пределах изучаемых микробов, характеризуется высоким содержанием бифидобактерий 10,0-10,2 lg КОЕ/г.фек., лактобактерий 8,2-8,4 lg КОЕ/г.фек., кишечной палочки 7,4-8,4 lg КОЕ/г.фек. и невысоким уровнем энтерококков и микроскопических грибов рода *Candida*.

Широкий количественный диапазон кандид и бактериальной флоры (7,4-24,2%), за исключением бифидобактерий и лактобактерий, по нашему мнению следует увязать с физиологической перестройкой организма маток во время беременности.

Содержание микроорганизмов в фекалиях суягных маток  
романовской породы 3-5 летнего возраста  
(n=10;  $M \pm m$  lg10 КОЕ/г.фек.,  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование (2 мес. до окота)		2-е исследование (1 мес. до окота)		3-е исследова- ние (5-15суток до окота)		В среднем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	10,1±0,2	99,0	10,0±0,2	98,0	10,2±0,1	100	10,2±0,1	100
Lactobacillus	8,3±0,1	100	8,2±0,1	98,8	8,4±0,1	101,2	8,1±0,1	100
Escherichia (E. coli)	8,4±0,1*	105	8,4±0,1*	105	7,4±0,2*	92,5	8,0±0,1	100
Enterococcus	6,4±0,1*	116,3	5,0±0	90,9	5,0±0	90,9	5,0±0	100
Bacillus	6,6±0,1*	101,5	7,0±0*	107,7	5,8±0,2	89,2	5,8±0,2	100
Candida	2,4±0,1	104,3	2,0±0*	86,9	2,4±0,1	104,3	2,4±0,1	100

#### 2.14. Микробиоценоз фецеса лактирующих маток

Выявлено, что микробиоценоз кишечника лактирующих маток характеризуется высокой концентрацией лактобактерий  $8,3 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек. и энтерококков  $6,5 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек. в молозивный период, бифидофлоры  $10,7$  lg КОЕ/г.фек. в молочный, эшерихий и кандид в смешанный период питания своего потомства,  $7,6 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек. и  $2,8 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек., соответственно.

Качественная и количественная оценка изучаемой микрофлоры фекалий лактирующих овец показали, что у этих животных наиболее стабильной являлась лактофлора, уровень которой изменялся в пределах 3,7%.

Отличия между минимальной и максимальной концентрациями у бифидобактерий, кишечной палочки, энтерококков и микроскопических грибов присутствующих в фекалиях овец этой физиологической группы составляли 16,1%; 11,1%; 14,7% и 34,8% соответственно.

Содержание микроорганизмов в фекалиях лактирующих маток романовской породы 3-5 летнего возраста ( $n=10$ ;  $M \pm m$  lg10 КОЕ/г.фек;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	Молозивный период 1-3 сутки		Молочный период 10-13 сутки		Молочный пе- риод 40-45 сутки		В среднем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	10,1±0,2*	96,2	10,7±0,1**	102	10,6±0,1**	101	10,5±0,1	100
Lactobacillus	8,3±0,1	102,4	8,0±0	98,8	8,0±0	98,8	8,1±0,1	100
Escherichia (E. coli)	7,3±0,1	101,3	6,8±0,1**	94,4	7,6±0,2*	105	7,2±0,1	100
Enterococcus	6,5±0,1*	106	6,1±0,2**	100	5,6±0,1**	91,8	6,1±0,1	100
Bacillus	6,0±0,2	101	5,6±0,1**	95,0	6,2±0,2	105	5,9±0,2	100
Candida	2,2±0,1	95,6	2,0±0	87,0	2,8±0,2**	121,7	2,3±0,1	100

### 2.15. Микробиоценоз фецеса овец в зимне-стойловый период технологического цикла при индивидуальном содержании животных

Установлено, что в зимне – стойловый период при индивидуальном содержании животных, границы, в пределах которых происходили количественные изменения изученных микроорганизмов в фекалиях овец, не одинаковы. Так у бифидобактерий эти изменения происходили в пределах 13,9%, у лактобактерий, содержание которых было более стабильным, на уровне 4,8%.

Диапазоны количественных изменений эшерихий и энтерококков составляли 16,2% и 8,4% соответственно, а уровень аэробных спорообразующих бацилл и микроскопических грибов рода *Candida* изменялся в пределах 42,1% и 28,5%, соответственно.

Содержание микроорганизмов в фекалиях овец романовской породы  
3-5 летнего возраста при индивидуальном содержании  
(n=10;  $M \pm m$  lg10 КОЕ/г.фек.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование		2-е исследование		3-е исследование		В среднем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	10,2±0,2	99,0	10,0±0,2	97,1	10,7±0,2	103,9	10,3±0,2	100
Lactobacillus	8,0±0	96,4	8,4±0,2	101,2	8,4±0,1	101,3	8,3±0,1	100
Escherichia (E. coli)	8,0±0	108,1	7,3±0,1	98,6	6,8±0,1	91,9	7,4±0,1	100
Enterococcus	6,2±0,2	105,0	5,7±0,2	96,6	5,7±0,1	96,6	5,9±0,2	100
Bacillus	6,6±0,1	115,8	6,3±0,1	110,5	4,2±0,1	73,7	5,7±0,1	100
Candida	2,9±0,2	107,4	2,4±0,1	88,9	2,8±0,1	103,7	2,7±0,1	100

### 2.16. Микробиоценоз фецеса овец при групповом содержании

Результаты исследований показали, что границы количественных изменений изучаемых микроорганизмов в фекалиях овец в зимне – стойловый период содержащихся групповым способом находились в пределах 2,2%; 2,6%;15,8%;40,7%;32,1% и 23,3%, соответственно для каждого рода микробов. При этом уровень бифидофлоры уменьшался до  $9,1 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек., лактофлоры  $7,9 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек., энтерококков  $4,9 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.фек. Содержание кишечной палочки и аэробных спорообразующих бацилл возрастало и находилось в пределах  $8,4 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек. и  $5,9 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.фек., соответственно.

Таким образом, в зимне-стойловый период технологического цикла групповое содержания овец (по 8-12 животных) сопровождалось высоким уровнем кишечной палочки, низкой концентрацией бифидобактерий, лактобактерий, энтерококков и широким диапазоном количественных изменений аэробных спорообразующих бацилл и кандид присутствующих в фекалиях животных этой экспериментальной группы.

Уровень микроорганизмов в фекалиях овец романовской породы  
3-5 летнего возраста при групповом содержании  
(n=10;  $M \pm m \lg_{10}$  КОЕ/г.фек.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микро- организмы (рода)	1-е исследование		2-е исследование		3-е исследование		В среднем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	9,2±0,1	101,0	9,0±0	98,9	9,2±0,1	101,0	9,1±0,2	100
Lactobacillus	7,8±0,2	98,7	8,0±0	101,3	7,8±0,1	98,7	7,9±0,1	100
Escherichia (E. coli)	8,7±0,1	103,6	8,3±0,1	98,8	8,2±0,2	97,6	8,4±0,1	100
Enterococcus	4,3±0,1	87,7	5,9±0,3	120,4	4,6±0,2	93,9	4,9±0,2	100
Bacillus	5,2±0,1	88,1	6,5±0,1	110,2	6,0±0	101,6	5,9±0,1	100
Candida	2,0±0	83,3	2,4±0,1	100	2,8±0,2	116,6	2,4±0,1	100

### 2.17. Микробиоценоз фецеса овец находящихся на выпасе

Полученные данные показывают, что у овец, находящихся на выпасе уровень бифидобактерий в большей степени на 2,4-2,6  $\lg$  КОЕ/ г.фек., превалировал над лактофлорой, концентрация которой находилась в исследуемом фецесе животных в пределах 8,0-8,2  $\lg$  КОЕ/ г.фек.

Следует отметить стабильность, с которой высевались бифидобактерии от исследования к исследованию, при более высоком  $10,5 \pm 0,2 \lg$  КОЕ/ г.фек. их содержании, а количественные изменения микроорганизмов рода Bifidobacterium не превышали 2,0 %.

Энтерококки и микроорганизмы рода Bacillus близки по своему содержанию в исследуемом фецесе и находились на уровне  $6,7 \pm 0,1$  и  $6,0 \pm 0,3 \lg$  КОЕ г/фек., соответственно.

Однако, динамика количественных значений этих микроорганизмов, по сравнению с таковой у бифидобактерий отличалась более широким диапазоном. Для энтерококков границы количественных изменений находились в пределах 11,9%, для аэробных спорообразующих бацилл 13,3%.

Уровень кишечной палочки в фекалиях овец находящихся на пастбище максимально приближался к содержанию лактофлоры, а в третьем цикле исследований (август) их концентрации были идентичны  $8,0 \pm 0,4 \lg \text{КОЕ/ г.фек.}$  и  $8,0 \pm 0,4 \lg \text{КОЕ/ г.фек.}$ , соответственно .

Концентрация кандид в процессе исследований (июнь - август) изменялась более широко, на 16,4 %, от  $2,0 \pm 0,2$  до  $2,6 \pm 0,4 \lg \text{КОЕ/ г.фек.}$ , а средний их уровень равнялся  $2,4 \pm 0,3 \lg \text{КОЕ/ г.фек.}$

Таблица 17

Содержание микроорганизмов в фекалиях овец романовской породы  
3-5 летнего возраста в летне-пастбищный период технологического цикла.  
(n = 10;  $M \pm m \lg_{10} \text{КОЕ/г.фек.}$ ;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование		2-е исследование		3-е исследование		В среднем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	$10,4 \pm 0,2$	99,0	$10,6 \pm 0,2$	101	$10,6 \pm 0,2$	101	$10,5 \pm 0,2$	100
Lactobacillus	$8,2 \pm 0,2$	101	$8,2 \pm 0,2$	101	$8,0 \pm 0,2$	98,8	$8,1 \pm 0,2$	100
Escherichia (E. coli)	$7,6 \pm 0,4$	98,7	$7,6 \pm 0,4$	98,7	$8,0 \pm 0,4$	103,4	$7,7 \pm 0,4$	100
Enterococcus	$6,2 \pm 0,4$	92,5	$7,0 \pm 0$	104,4	$7,0 \pm 0$	104,4	$6,7 \pm 0,1$	100
Bacillus	$5,4 \pm 0,2^*$	90,0	$6,2 \pm 0,4$	103,3	$6,4 \pm 0,4$	106,6	$6,0 \pm 0,3$	100
Candida	$2,4 \pm 0,4$	100	$2,6 \pm 0,4$	108	$2,2 \pm 0,4$	91,6	$2,4 \pm 0,3$	100

Проведённые исследования позволили выяснить, что микробиоценоз кишечника овец в летне-пастбищный период технологического цикла, отличается высоким уровнем и стабильностью бактериальной флоры, за исключением аэробных спорообразующих бацилл и микроскопических грибов рода Candida, у которых границы физиологических изменений оказались более широкими, в пределах 16,4%-16,6% соответственно.

## 2.18. Микробиоценоз фецеса овец в летний период, при стойлово-выгульном содержании

Установлено, что уровень бифидобактерий изменялся в пределах 6,8%, содержание лактофлоры и кандид в фекалиях овец данной экспериментальной группы оставалось стабильным на протяжении всего цикла исследований  $8,0 \lg \text{КОЕ/ г.фек.}$  и  $2,2 \pm 0,2 \lg \text{КОЕ/ г.фек.}$ . Содержание кишечной палочки, энтерококков и представителей рода *Bacillus* находилось на уровне  $6,6 \pm 0,2 \lg \text{КОЕ/ г.фек.}$ ,  $5,6 \pm 0,2 \lg \text{КОЕ/ г.фек.}$  и  $5,4 \pm 0,2 \lg \text{КОЕ/ г.фек.}$ , соответственно.

Таблица 18

Уровень микроорганизмов в фекалиях овец романовской породы 3-5 летнего  
возраста в летний период, при стойлово-выгульном содержании.

(n = 10;  $M \pm m \lg_{10} \text{КОЕ/ г.фек.}$ ;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование		2-е исследование		3-е исследование		В сред- нем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
<i>Bifidobacterium</i>	$9,8 \pm 0,4$	100	$10,0 \pm 0,4$	102	$9,4 \pm 0,4$	95,9	$9,8 \pm 0,4$	100
<i>Lactobacillus</i>	$8,0 \pm 0$	100	$8,0 \pm 0$	100	$8,0 \pm 0$	100	$8,0 \pm 0$	100
<i>Escherichia (E. coli)</i>	$7,0 \pm 0^*$	107,7	$6,5 \pm 0,1$	98,4	$6,2 \pm 0,4$	95,4	$6,6 \pm 0,2$	100
<i>Enterococcus</i>	$5,0 \pm 0,2^*$	89,2	$6,0 \pm 0,2^*$	107	$5,8 \pm 0,2$	103,5	$5,6 \pm 0,2$	100
<i>Bacillus</i>	$5,8 \pm 0,2^*$	107	$5,0 \pm 0,2^*$	92,5	$5,5 \pm 0,2$	101,8	$5,4 \pm 0,2$	100
<i>Candida</i>	$2,2 \pm 0,2$	100	$2,2 \pm 0,2$	100	$2,2 \pm 0,2$	100	$2,2 \pm 0,2$	100

Следовательно, стойлово-выгульное содержание животных по-разному отражается на концентрации в пищеварительной системе таких представителей кишечной микрофлоры, как бифидобактерии, эшерихии, энтерококки, аэробные спорообразующие бациллы. Оказывает похожее влияние на жизнедеятельность лактобактерий и кандид, о чем свидетельствуют физиологические границы и характер количественных изменений этих бактерий, в процессе исследований.

## 2.19. Микробиоценоз фецеса овец породы прекос

Известно, что на формирование и состояние кишечной микрофлоры оказывают влияние и породные особенности животных.

Представленные данные показывают, что каждой популяции микробиальной флоры кишечного тракта в фекалиях животных свойственны не только индивидуальные количественные значения, но и динамика.

Так уровни бифидобактерий и эшерихий изменялись в пределах 2,1%, 1,3%, соответственно. Содержания лактофлоры были идентичны в течении всего периода исследований (60 суток).

Таблица 19

Содержание микроорганизмов в фекалиях овец породы прекос, 3-5 летнего возраста ( $n = 10$ ;  $M \pm m \lg_{10}$  КОЕ/ г.фек.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование		2-е исследование		3-е исследование		В сред- нем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	9,0±0	98,9	9,2±0,2	101,0	9,2±0,2	101,0	9,1±0,1	100
Lactobacillus	8,0±0	100,0	8,0±0,2	100,0	8,0±0,2	100,0	8,0±0,1	100
Escherichia (E. coli)	7,6±0,2	100,0	7,6±0,2	100,0	7,5±0,2	98,7	7,6±0,2	100
Enterococcus	5,8±0,2	96,7	5,8±0,2	96,7	6,4±0,2*	106,7	6,0±0,2	100
Bacillus	5,2±0,2	94,5	5,0±0*	90,9	6,2±0,2*	112,7	5,5±0,1	100
Candida	2,0±0,2	86,9	2,6±0,4	113,0	2,4±0,2	104,3	2,3±0,2	100

Диапазон количественных изменений энтерококков и аэробных спорообразующих бацилл и кандид соответствовал 10%, 21,8% и 26,1%.

Следовательно, микробиоценоз фекалий овец породы прекос характеризуется высоким и стабильным уровнем бифидобактерий, лактобактерий и кишечной палочки.

Энтерококки, аэробные спорообразующие бациллы и кандиды имели более широкий количественный диапазон, что позволяет отнести их к менее стабильным микроорганизмам кишечного тракта овец этой породы.

## 2.20. Микробиоценоз фецеса овец романовской породы

Известно, что овцы романовской породы отличаются своей многоплодностью, а мать относится к основным источникам формирования кишечного микробиоценоза у своего потомства.

Установлено, что в фекалиях овец этой породы рельефность количественных значений изучаемых микроорганизмов более выражена.

Таблица 20

Содержание микроорганизмов в фекалиях овец романовской породы, 3-5 летнего периода ( $n = 10$ ;  $M \pm m$  lg 10 КОЕ/ г.фек.;  $p \leq 0,05^*$ )

Микроорганизмы (рода)	1-е исследование		2-е исследование		3-е исследование		В среднем	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Bifidobacterium	$9,8 \pm 0,2$	102,1	$9,8 \pm 0,2$	102,1	$9,2 \pm 0,3^*$	95,8	$9,6 \pm 0,2$	100
Lactobacillus	$8,0 \pm 0,2$	100,0	$8,0 \pm 0$	100,0	$8,0 \pm 0,2$	100,0	$8,0 \pm 0,1$	100
Escherichia (E. coli)	$6,6 \pm 0,2$	98,5	$6,2 \pm 0,2^*$	92,5	$7,4 \pm 0,2$	110,4	$6,7 \pm 0,2$	100
Enterococcus	$6,0 \pm 0,2$	100,0	$5,6 \pm 0,2^*$	93,3	$6,4 \pm 0,2^*$	106,7	$6,0 \pm 0,2$	100
Bacillus	$5,2 \pm 0,2$	100,0	$5,0 \pm 0$	96,1	$5,4 \pm 0,2$	103,8	$5,2 \pm 0,2$	100
Candida	$2,0 \pm 0,2$	90,9	$2,2 \pm 0,4$	100,0	$2,4 \pm 0,2$	109,0	$2,2 \pm 0,2$	100

Средний уровень бифидобактерий равен  $9,6 \pm 0,2$  lg КОЕ/ г.фек., а диапазон содержания микроорганизмов рода Bifidobacterium в исследуемом фецесе полученном от овец романовской породы равен 6,3%.

Лактофлора отличалась стабильностью количественных значений. Трехкрат-

ный высеv на лактобакагар (элективную питательную среду для лактобактерий), показал аналогичные результаты:  $8,0 \lg$  КОЕ/ г.фек.

Кандиды в фекалиях овец романовской породы 3-5 летнего возраста имели наименьшие величины. Их уровень на протяжении всего цикла исследований не превышал  $2,4 \pm 0,2 \lg$  КОЕ/ г.фек.

Границы, в пределах которых проходили изменения концентрации энтерококков, кишечной палочки, аэробных спорообразующих бацилл и кандид в исследуемом фецесе овец романовской породы равны 13,4%, 17,9%, 7,7% и 18,1%, соответственно.

Следовательно, микробиоценоз кишечника овец романовской породы 3-5 летнего возраста характеризуется стабильным содержанием лактофлоры, широким количественным диапазоном энтерококков, кишечной палочки и кандид.

## **2.21. Теоретическое обоснование целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза у новорожденных ягнят с использованием микрофлоры материнского фецеса**

Проблема трансформации кишечной флоры, поставленная еще И.И. Мечниковым, получившая подтверждение своей значимости в работах Дистазо и Шиллера (1952) активно изучается и в настоящее время (Н. И. Малик, А.Н. Панин, 2001; Ф.С. Хазиахметов, А.А. Башаров, Г.О. Нугуманов, 2011).

Изменения качества и соотношения различных групп кормов, введение в рацион животных добавок, часто не отвечающих физиологии вида, с целью интенсификации накопления живой массы или увеличения получаемой от животных продукции, влияет и на кишечную микрофлору.

Для поддержания стабильности кишечной микрофлоры у различных видов сельскохозяйственных животных, предложен широкий выбор пробиотических препаратов (И.П. Кондрахин, 2003; А. Беденко, 2008).

В ряде научных публикаций их авторами показано, что минимальная эффективность этих средств или отсутствие таковой, может быть связана с назначением пробиотических препаратов без учета характера дисбактериозов (А.Л. Леванова, В.А. Алешкин, А.А. Воробьев, 2002; Е.В. Зинченко, 2003).

А некоторые исследователи: О.А. Веретенина, Н.В. Костина, Т.И. Новоселова, Я.Б. Новоселов, А.Г. Ронинсон (2003) в своих работах прямо говорят о том, что большинство из представленных на рынке эубиотиков выполняют заместительную функцию, подавляют рост патогенной микрофлоры, не заселяя кишечник.

Заселяют кишечный тракт, после подавления патогенной микрофлоры, остатки собственных колоний, жизнедеятельность которых активируется после появления надлежащих условий в желудочно-кишечном тракте макроорганизма.

Известно, что материнский организм и окружающая среда являются основными источниками формирования кишечного микробиоценоза у своего потомства. В качестве такого источника можно использовать фецес макроорганизма. В частности, фецес самого индивидуума, или материнский фецес, если речь идёт о кишечном микробиоценозе новорожденных (Н.М. Шустрова, 1983; В.А. Стрельцова, 2004; И.И. Усачев, 2010).

Следовательно, представленные данные научной литературы позволяют рассматривать фецес клинически здоровых животных, в том числе и овцематок, как высокоспецифичный, доступный в условиях производства источник полезной микрофлоры.

## **2.22. Экспериментальное подтверждение целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза у новорождённых ягнят с использованием микрофлоры материнского фецеса**

В качестве экспериментальных факторов подтверждающих возможность использования фекальной микрофлоры маток для целенаправленного формирования микробиоценоза кишечного тракта у новорождённых ягнят, нами представлены результаты исследований общего жира, общего белка, общих углеводов и золы в молозиве и молоке лактирующих овец. Сопряженность уровней различных микроорганизмов в фекалиях овцематок и полученных от них ягнят 15-60 – суточного возраста. Экспериментальные данные, отражающие пробиотическую эффективность микрофлоры фецеса овцематок при устранении медикаментозного дисбактериоза кишечника у полученных от них ягнят.

Установлено, что содержание общего жира в молозиве и молоке овец, в течении первых 5 суток после их окота находилось в пределах 4,3-4,8г%, в молоке овец его содержание выше на 4-5%. Содержание общего белка в молозиве было больше чем в молоке овец 15,0±0,4 г%, а в последующем его уровень постепенно уменьшался до 6,2±0,1г%. Углеводов содержащихся в молозиве меньше, чем в молоке 4,5±0,01 и 5,5±0,02г.%, соответственно. Содержание золы в молозиве выше аналогичного показателя в молоке и находилось в пределах 0,8±0,04 – 0,77±0,02 г.%.

В процессе исследований выяснено, что концентрации лактобактерий, энтерококков и аэробных спорообразующих бацилл, в фецесе овцематок и полученных от них ягнят были идентичны, то есть имели 100% количественные соответствия.

Содержание бифидобактерий и кишечной палочки в фекалиях овцематок и их потомства отличались на 3,2% и 1,3% соответственно.

Таблица 21

Содержание микроорганизмов в фекалиях животных

(n=5; M±m lg10 КОЕ/г.фек.; p≤0,05\*)

Микроорганизмы	Овцематки (3-5 лет)		Ягнята (15-60 суток)		Овцы (3-5 лет)	
	M±m	%	M±m	%	M±m	%
Bifidobacterium	9,1±0,2	96,8	9,4±0,2	100	9,8±0,2*	104,3
Lactobacillus	8,0±0,2	100	8,0±0,2	100	8,0±0,2	100
Escherichia (E. coli)	7,5±0,2	98,6	7,6±0,2	100	6,6±0,1*	86,8
Enterococcus	6,0±0,2	100	6,0±0,2	100	5,6±0,1*	93,3
Bacillus	5,4±0,2	100	5,4±0,2	100	5,2±0,2	96,3
Candida	2,3±0,2	76,6	3,0±0,5	100	2,2±0,2	73,3

Следует отметить, что уровень кандид в фекалиях новорожденных ягнят и взрослых овец обеих групп, отличался на 23,4-26,7% соответственно.

В фекалиях овец, не являющихся матерями подопытных ягнят, ни одна популяция микроорганизмов, за исключением лактофлоры, не имела 100% количественного соответствия с фекальной микрофлорой новорожденных животных.

Уровни бифидобактерий, кишечной палочки, энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл отличались на 4,3%, 13,2%, 6,3% и 3,7% соответственно.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет сделать вывод, что между кишечной микрофлорой, то есть микробиоценозами кишечного тракта (в пределах изучаемых микробов) овцематок и полученных от них ягнят существует высокая степень сопряженности, а именно 50%.

Нами проведена оценка пробиотической эффективности микрофлоры фецеса овцематок содержащейся в десятикратных ( $10^4$ г./фек.) разведениях, при устранении кишечного дисбактериоза ягнят, полученных от этих маток. Дисбактериоз кишечника у животных вызван пероральным применением 10% раствора энрофлона (0,2 мг/кг).

Исследования выполнены в сравнении с бифитрилаком, поликомпонентным пробиотиком широко применяемом в животноводстве, в экспериментальных условиях вивария Брянской ГСХА, на овцах романовской породы.

Установлено, что в фекалиях клинически здоровых ягнят контрольной группы, физиологические уровни (фон) исследуемых микроорганизмов бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки, энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид находились в пределах –  $9,9 \pm 0,3$  lg КОЕ/г.фек.;  $8,0 \pm 0$  lg КОЕ/г.фек.;  $7,0 \pm 0$  lg КОЕ/г.фек.;  $5,7 \pm 0,3$  lg КОЕ/г.фек.;  $4,7 \pm 0,3$  lg КОЕ/г.фек. и  $2,3 \pm 0,3$  lg КОЕ/г.фек., соответственно для каждой популяции микробов.

Пероральное применение 10% раствора энрофлона в рекомендуемой дозировке (0,2мг/кг), приводило к уменьшению концентрации изучаемых бактерий в фекалиях ягнят, находящихся в контрольной группе, на 25,3%.

При этом своих стабильных, близких к фоновым, количественных значений бифидофлора достигла на 12-е сутки –  $9,7 \pm 0,3$  lg КОЕ/г.фек., что ниже физиологического уровня на 2,1%. В фекалиях ягнят первой опытной группы пятисуточный курс 10% раствора энрофлона (per os), приводил к уменьшению содержания изучаемых микробов на 23,3%.

Пробиотик бифитрилак, применяемый согласно наставления, по 0,3 гр. на ягненка в режиме аналогичном энрофлону, способствовал более раннему восстановлению микрофлоры содержащейся в фекалиях животных первой опытной группы,

по сравнению с контрольными ягнятами  $39,4 \lg \text{КОЕ/г.фек.}$  и  $39,0 \lg \text{КОЕ/г.фек.}$ , соответственно, на 9-е сутки.

Ягнятам второй опытной группы коррекцию дисбактериоза кишечной микрофлоры проводили десятикратными разведениями ( $10^4 \text{ г./фек.}$ ) фецеса овцематок, от которых получены ягнята этой группы.

Установлено, что десятипроцентный раствор энрофлона применяемый животным *per os*, ингибирует указанные микроорганизмы, а их концентрация в фекалиях ягнят второй опытной группы уменьшилась на 25,1%.

Разведения ( $10^4$ ) г./фек. материнского фецеса, применяемые в режиме аналогичном бифитрилаку восстанавливают уровень изучаемых микроорганизмов в фекалиях ягнят этой группы, до физиологических величин, на 9-е сутки.

Следовательно, десятикратные ( $10^4 \text{ г./фек.}$ ) разведения фецеса овцематок по своей пробиотической эффективности не уступают бифитрилаку, при устранении медикаментозного дисбактериоза кишечника ягнят полученных от этих маток, вызванного 10% раствором энрофлона, предназначенного для перорального применения.

### **2.23. Целенаправленное формирование кишечного микробиоценоза у новорождённых ягнят, с использованием микрофлоры материнского фецеса**

Принцип целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза у новорождённых ягнят сводился к следующему: ягнят после рождения обтирали сухим полотенцем, освобождали ротовую и носовую полости от слизи, обрезали и санировали пуповину 5% настойкой йода, ожидая проявления сосательного рефлекса. После этого новорожденным ягнятам вводили синбиотическую композицию, состоящую из 4,5 мл взвеси фекалий овцематок в разведении  $10^4 \text{ г./фек.}$ , 0,25 элеовита и 0,25 седимина, в объеме 5 мл.

Заселение кишечного тракта новорожденных ягнят микрофлорой материнского фецеса, содержащийся в используемой смеси, проводили по схеме 1,5 – 2 часа; 12 часов; 1,3,6,9 и 12 сутки жизни животных. Ягнятам контрольной группы перорально вводили по 5мл дистиллированной воды в аналогичном режиме. Ягнята находились

под наблюдением в течение двух месяцев. Содержание овцематок с новорожденными животными было индивидуально.

Эффективность предложенной нами разработки и оценку клинического состояния ягнят определяли по следующим критериям: динамика массы тела ягнят, температуры, частоты пульса и дыхания, концентрации иммуноглобулинов классов М и G в сыворотке крови животных, интенсивности накопления бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки, энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид в фекалиях ягнят в процессе молозивного, молочного и смешанного периодов питания, до 60-ти суточного их возраста. Регистрировали количество заболевших, павших и клинически здоровых ягнят за истекший период.

Установлено, что в сыворотке крови этих ягнят суммарный уровень иммуноглобулинов классов М и G выше на 2,7%. В фекалиях ягнят с целенаправленно сформированным микробиоценозом кишечного тракта (15-60 суток) интенсивность накопления различных популяций микрофлоры выше, а именно: бифидобактерий на 6,1% - 10,2%; лактобактерий на 2,5% - 10,5%; энтерококков на 10,0% - 13,1%; аэробных спорообразующих бацилл на 11,1%.

Следует отметить, что стабилизация бифидобактерий, лактобактерий и энтерококков в фецесе таких ягнят происходит в более ранние сроки, к десятисуточному их возрасту. В конечном итоге живая масса 60-ти суточных ягнят с целенаправленным сконструированным микробиоценозом кишечника выше на 5,6%, а сохранность (n = 30) на 13,3% по сравнению с ягнятами у которых кишечный микробиоценоз формировался без нашего вмешательства.

Таким образом, доступность используемых материалов, простота исполнения, а так же представленные результаты, позволяют рекомендовать разработанный нами метод и схему целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза у новорожденных ягнят, в условиях практического овцеводства, как неотъемлемую часть технологического цикла, с целью повышения их жизнеспособности и сохранности.

## Выводы

1. Определен микробиоценоз и разработаны нормативы микрофлоры (на уровне рода) в составе: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Escherichia* (*E.coli*), *Bacillus* и *Candida* в кишечнике новорожденных ягнят, а также у различных половозрастных групп овец пород Романовской и Прекос в различные периоды технологического цикла и физиологического состояния.

2. Установлено, что микробиоценоз кишечника овец в составе: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Escherichia* (*E.coli*), *Bacillus* и *Candida* в количественном отношении, не является универсальным для различных кишок, составляющих его анатомически, каждая кишка этих животных отличается концентрацией и динамикой изучаемой микрофлоры, присутствующей в слизистой оболочке и содержимом.

3. У овец 3-5 летнего возраста Романовской породы в слизистой оболочке и химусе двенадцатиперстной кишки присутствует самая низкая концентрация изучаемых популяций микробов : 13,0 lg КОЕ/г.слиз. и 14,4 lg КОЕ/г.хим., а суммарное содержание, микроорганизмов в химусе этой кишки выше, чем в её слизистой оболочке на 10,7%.

4. У овец указанного возраста в слизистой оболочке и химусе тощей кишки, по сравнению с другими структурами, анатомически составляющими тонкий отдел кишечника животных, представители родов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Escherichia* (*E.coli*), *Bacillus* и *Candida* содержатся в наибольшем количестве: 39,9 lg КОЕ/г.слиз. и 40,3 lg КОЕ/г.хим. Исследуемые биоптаты этой кишки отличаются содержанием микробов на 1,2%.

5. В слизистой оболочке и химусе подвздошной кишки овец, по сравнению с двенадцатиперстной и тощей кишками этих животных, выявлены промежуточные количественные величины бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки, энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид: 33,8 lg КОЕ/г.слиз. и 31,8 lg КОЕ/г.хим., а уровень этих популяций микробов в слизистой оболочке подвздошной кишки животных выше, чем в её химусе на 6,3%.

6. В тонком отделе кишечника овец 3-5 летнего возраста, как едином биотопе пищеварительной системы, отличающимся своей функцией, микроорганизмы рода *Bifidobacterium* количественно преобладали над остальными популяциями микробов - 30,5%, микробы рода *Escherichia* (*E.coli*) занимали вторую позицию - 23,2%, содержание бактерий рода *Lactobacillus* было равным - 19,0% , микроорганизмы рода *Enterococcus* составляли 9%, доля представителей рода *Bacillus* находилась в пределах 12,8%, а уровень кандид не превышал 5,5%.

7. В толстом отделе кишечника овец слизистая оболочка и содержимое каждой анатомической структурой отличается своей микроэкологией, а именно: наиболее высокая концентрация изучаемых микробов присутствует в слизистой оболочке и содержимом прямой кишки животных 32,4 lg КОЕ/г.слиз. и 38,8 lg КОЕ/г.фек., минимальное содержание 30,0 lg КОЕ/г.слиз. и 31,0 lg КОЕ/г.хим. выявлено в ободочной кишке, а промежуточные величины 31,6 lg КОЕ/г.слиз. и 32,6 lg КОЕ/г.хим. в слепой кишке животных. В слизистых оболочках, указанных кишок по сравнению с их содержимым, уровень микрофлоры ниже на 3,1%, 3,3% и 19,7% соответственно.

8. Формирование кишечного микробиоценоза у ягнят после рождения завершается к 12 - 15 суткам их жизни и находится в определенной взаимосвязи с динамикой общего белка, общего жира и общих углеводов и золы в молозиве и молоке их матерей.

9. В фецесе овцематок и полученных от них ягнят 15 - 60 суточного возраста лактобактерии, энтерококки и аэробные спорообразующие бациллы содержатся в одинаковом количестве. В фецесе овец того же возраста, что и овцематке (3-5 лет), содержащихся в аналогичных условиях, но не являющихся матерями новорожденных животных, ни одна популяция микробов, за исключением лактофлоры, не имела 100% количественного соответствия.

10. Выявлено, что микробиоценозы кишечника молодняка овец 3, 4 и 5 месячного возраста, баранов - производителей, холостых, суягных и лактирующих маток отличаются содержанием в фецесе животных микроорганизмов, относящихся к родам *Bifidobacterium*, *Escherichia* (*E.coli*), *Enterococcus*, *Bacillus* и *Candida* на 5,9%, 24,6%, 41,1% и 10,3%, соответственно.

11. Микробиоценоз кишечника овец Романовской породы и Прекос отличается содержанием бактерий рода *Bifidobacterium* и *Escherichia* (*E.coli*) на 5,4% и 11,9%, величины представителей родов *Lactobacillus* и *Enterococcus* идентичны - 8,0 lg КОЕ/г.фек. и 6,0 lg КОЕ/г.фек., а микроорганизмы рода *Bacillus* и *Candida*, количественно близки, их отличия не превышали 4,5% - 5,7%, соответственно.

12. В процессе зимне - стойлового периода технологического цикла в пищеварительной системе овец уменьшается содержание бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки, энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид на 10,5%, 1,3%, 7,8%, 10,4%, 10,6%, 4,2% соответственно, выявленная закономерность характерна для всех экспериментальных групп животных.

13. В пищеварительной системе овец, каждый род микрофлоры имеет не только количественную, но и качественную стабильность, что отражается на соотношениях между различными популяциями микробов, присутствующими в фецесе животных, а именно: наибольший удельный вес 25,8% принадлежит микроорганизмам рода *Bifidobacterium*, род *Lactobacillus* занимает вторую позицию - 20,9%, бактерии рода *Escherichia* (*E.coli*) - 18,9%, микробы рода *Enterococcus* – 14,5%, представители рода *Bacillus* - 13,7%, а уровень кандид находился в пределах 6,2%. Чем ниже концентрация бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки и энтерококков, тем выше содержание кандид, что отчетливо проявляется у новорожденных ягнят молозивного и молочного периодов питания, у которых указанные бактерии не достигли своей стабильности.

14. У ягнят 65 – 70 суточного возраста при устранении медикаментозного дисбактериоза кишечника, вызванного (0,2 мг/кг) пероральным применением 10% раствора энрофлона, микрофлора фецеса овцематок, от которых получены ягнята, в разведении  $10^4$  г/фек., по своей пробиотической эффективности аналогична действию поликомпонентного пробиотика - бифитрилака. Элеовит и седимин при совместном их применении *in vitro* по 0,25 мл способствует увеличению содержания бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки и аэробных спорообразующих бацилл в фекалиях овец на 32,3%, а концентрация кандид под действием этих препаратов снижается на 16,7% – 41,7%.

15. Разработанный метод целенаправленного формирования микробиоценоза кишечника у новорожденных ягнят с использованием синбиотической композиции (4,5 мл взвеси фецеса овцематок в разведении  $10^4$  Ig/г.фек. + 0,25 мл элеовита + 0,25 мл седимина) применяемой *per os* по разработанной схеме 1,5 – 2 час., 12 час., 24 час., 3, 6, 9 и 12 сутки, повышает уровень микрофлоры различных родов, содержащейся в фекалиях ягнят в молозивный, молочный и смешанный периоды питания: *Bifidobacterium* на 6,1% - 10,2%, *Lactobacillus* на 2,5% - 10,5% , *Enterococcus* на 10.0-13.1% и *Bacillus* на 11,1%. Сокращают период стабилизации исследуемых микроорганизмов в фекалиях этих животных.

16. Полученные результаты количественного и качественного составов микроорганизмов слизистой, химуса и фецеса овец могут являться критерием при изучении защитной, пищеварительной, метаболической, иммуномодулирующей, антиму-тагенной и антиканцерогенной функции организма, а так же служить основанием при выборе бактерий пробионтов и разработке пробиотических препаратов, применяемых с целью устранения дисбиотических процессов в кишечнике животных.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. Метод [Воробьев, 2003] определения содержания различных популяций микробов в слизистой оболочке кишечника лабораторных животных (крыс), отработанный нами на овцах, предлагаем как метод научных исследований с целью качественной и количественной оценки микробиоценоза указанного биоптата кишечника животных различных видов.

2. Результаты наших исследований, отражающие количественные величины, закономерности динамики и физиологические границы микроорганизмов относящихся к родам: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia* (*E. coli*), *Enterococcus*, *Bacillus*, *Candida* в различных структурах анатомически составляющих тонкий и толстый отделы кишечника у овец романовской породы, рекомендуем при выборе пробиотических препаратов, используемых для коррекции микробиоценоза (в пределах изучаемых нами микроорганизмов) в различных биотопах кишечника этих животных.

3. Установленные нами уровни и границы физиологических изменений микро-

флоры относящейся к родам: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia* (*E. coli*), *Enterococcus*, *Vacillus*, *Candida* в фекалиях овец породы прекос и овец романовской породы, в процессе зимне-стойлового и летне-пастбищного периодов технологического цикла, у различных физиологических и половозрастных групп овец, при разных способах (групповое и индивидуальное) содержания этих животных, рекомендуем в качестве нормативов при оценке микробиального гомеостаза пищеварительной системы овец, на различных этапах их жизни.

4. Предлагаем разработанные нами нормативы микрофлоры содержащейся в фекалиях овец, в качестве элемента диспансеризационных мероприятий при контроле за состоянием здоровья животных, содержащихся в условиях товарных овцеферм различных форм собственности.

5. Предлагаем разработанный нами метод целенаправленного формирования кишечного микробиоценоза у новорожденных ягнят с использованием микрофлоры фекалий маток от которых получены эти ягнята, в качестве неотъемлемой части технологического цикла, направленной на поддержание стабильности различных популяций микробов в пищеварительной системе ягнят, а также с целью повышения их жизнеспособности и сохранности в период раннего постнатального (1-60 суток) развития.

### **По теме диссертации опубликовано**

#### **Монографии:**

1. Роль бактериоценоза желудочно-кишечного тракта в жизнедеятельности животных /И.И. Усачев, В.Ф. Поляков. Издат. Брянской ГСХА, №1070, 2007. -138 с.
2. Роль иммуноглобулинов в жизнедеятельности животных /И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, Издат. Брянской ГСХА, №1069, 2007. - 84 с.
3. Микробиоценоз различных отделов кишечника и фецеса у овец /И.И. Усачев, В.Ф. Поляков. Издат. Брянской ГСХА, №2436, 2013.- 260 с.

#### **Методические разработки:**

4. Методическое пособие по целенаправленному формированию кишечного микробиоценоза у новорожденных ягнят с использованием микрофлоры материнского фецеса /И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, В.В. Пономарев. Издат. Брянской ГСХА, №2415, 2012.- 32 с.

5. Нормативы кишечной микрофлоры у овец / И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, В.В. Пономарев, Н.Н. Чеченок, К.И. Усачев, И.В. Каничева, О.В. Гомонова. Издат. Брянской ГСХА, №2629, 2013.-48 с.

#### **Публикации в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ:**

6. Усачев И.И., Поляков В.Ф. Оценка физиологического состояния овец по составу основных компонентов молозива и молока. // Ветеринария и кормление, 2009. - №2.- С. 24 -25.
7. Усачев И.И., Усачев К.И. Влияние энтерального микробиоценоза маток на микробиоценоз желудочно-кишечного тракта новорожденных ягнят. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2009. - №3.- С. 68-70.
8. Усачев И.И. Динамика микроорганизмов в химусе тонкого отдела кишечника овец. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2010, №3. - С. 73-74.
9. Усачев И.И. Содержание микроорганизмов в слепой, ободочной и прямой кишках взрослых овец. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2010.- №3.- С. 82-84.
10. Усачев И.И. Бактериоценоз желудочно-кишечного тракта новорожденных ягнят при естественном и экспериментальном его формировании. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2010.- №4. - С. 76-78.
11. Усачев И.И. Содержание микроорганизмов в слизистых оболочка толстого отдела кишечника овец.// Овцы, козы, шерстяное дело, 2012.- №3.- С. 75-77.
12. Микробиоценоз взрослых овец в различные сезоны года. / Н.Н. Чеченок, О.В. Савченко, И.И. Усачев, К.И. Усачев. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2009. - №3.- С. 71-72.
13. Усачев И.И. Особенности микробиоценоза слизистых оболочек двенадцатиперстной, тощей, подвздошной кишок у овец. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2012. - №3. - С. 73-74.
14. Усачёв К.И., Усачёв И.И. Результаты исследований микробиоценоза слизистой оболочки подвздошной кишки. // Вестник Орёл ГАУ, 2012.- т.38.- №5.- С. 135-137.
15. Усачев И.И. Отличие микробиоценозов фекалий холостых, суягных лактирующих маток. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2012.- №3.- С. 71-72.

16. Усачев И.И. Характеристика микробиоценоза фецеса овец при стойлово-выгульном содержании и на пастбище. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2014.- №3.- С. 56-57.
17. Усачев И.И. Динамика иммуноглобулинов в сыворотке крови ягнят при естественном и экспериментальном формировании кишечного микробиоценоза. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2014.- №2.- С. 32-34.
18. Усачев И.И. Влияние перорального применения энрофлона на микробиоценоз фекалий у ягнят. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2014.- №3.- С. 60-62.
19. Усачев И.И. Сравнительная оценка микрофлоры бифитрилака и фецеса овцематок при коррекции дисбактериоза кишечника у полученных от них ягнят. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2014. - №2.- С. 34-36.
20. Усачев И.И. Особенности микробиоценоза фекалий овец при индивидуальном и групповом их содержании. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2014.- №3. - С. 54-55.
21. Усачев И.И. Влияние элеовита и седимина на микрофлору фецеса овец. // Овцы, козы, шерстяное дело, 2014.- №2. - С.30-32.

**Публикации в других периодических изданиях, в материалах научных конференций и сборниках научных трудов**

22. Динамика микроорганизмов в фекалиях взрослых овец в различные периоды технологического цикла. / И.И. Усачев, Н.Н. Чеченок, О.В. Савченко, К.И. Усачев, В.Ф. Поляков // Междунар. научно – практ. конференция « Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных», посвященная 80 – летию кафедры анатомии и гистологии с.-х. животных, 110-летию со дня рождения профессора Н.И. Акаевского и 15 – летию кинологического центра. – Троицк, 2009.- С. 260-263.
23. Мельникова И.В., Усачев И.И. Сравнительная оценка уровней микроорганизмов в содержимом и слизистой оболочке толстого отдела кишечника овец. // Междунар. научно-практ. конф. "Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения её качества". Брянск, 2010. - С. 366-369.
24. Роль желудочно-кишечного бактериоценоза для жизнеобеспечения животных /

- И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, О.В. Савченко, Н.Н. Чеченок // Междунар. научно-практ. конф. "Селекционно-технологические аспекты повышения продуктивности сельскохозяйственных животных в условиях современного аграрного производства". / Брянск, 2008. - С. 53-57.
25. Савченко О.В. Усачев И.И. Микробиоценозы химуса тощей кишки овец и ягнят в раннем постнатальном онтогенезе. // Экологические и селекционные проблемы племенного животноводства. Брянск, 2009.- Вып. 2. - С. 106-107.
26. Усачев И.И. Иммуноглобулиновый статус тонкого отдела кишечника у ягнят в процессе онтогенеза. // Междунар. научно-практ. конф. "Использование достижений современной биологической науки при разработке технологий в агрономии, зоотехнике и ветеринарии". Брянск 2002.- С. 185-186.
27. Усачев И.И. Сравнительная характеристика динамики сывороточных и секреторных иммуноглобулинов у ягнят раннего возраста. // Междунар. научно-практ. конф. "Использование достижений современной биологической науки при разработке технологий в агрономии, зоотехнии и ветеринарии".- Брянск, 2002.- С.187-188.
28. Усачев И.И. Усачев К.И. Способы повышения жизнестойкости животных в раннем постнатальном онтогенезе. // Вестник Брянской ГСХА, 2007. - №6. - С. 56-61.
29. Усачев И.И. Влияние энтерококков на состояние здоровья и жизнеспособность макроорганизма. // Междунар. научно-практ. конф. "Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества". Брянск, 2007.- С. 496-498.
30. Усачев И.И. Биоценотическое значение микроорганизмов рода *Escherichia*. // Междунар. научно-практ. конф. "Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества". Брянск, 2007. - С. 492-496.
31. Усачев И.И., Савченко О.В., Чеченок Н.Н. Значение микроорганизмов рода *Bacillus* в жизнедеятельности животных. // Междунар. научно-практ. конф. "Селекционно-технологические аспекты повышения продуктивности сельскохозяйственных животных в условиях современного аграрного производства". Брянск, 2008. - С. 65-67.
32. Усачев И.И. Динамика иммуноглобулинов в слизистой оболочке тонкого отде-

- ла кишечника ягнят в процессе онтогенеза. // Междунар. научно-практ. конф. «Достижения супрамолекулярной химии и биологии в ветеринарии и зоотехнии». - Москва, 2008. – С 124-126.
33. Усачев И.И., Чеченок Н.Н., Савченко О.В. Значение микроорганизмов рода *Lactobacillus* в жизнедеятельности животных. // Междунар. научно-практ. конф. "Селекционно-технологические аспекты повышения продуктивности сельскохозяйственных животных в условиях современного аграрного производства". Брянск, 2008. - С. 58-62.
34. Усачев И.И., Чеченок Н.Н., Савченко О.В. Динамика бифидофлоры в энтеральном тракте овец и их влияние на жизнеспособность животных. // Междунар. научно-практ. конф. "Селекционно-технологические аспекты повышения продуктивности сельскохозяйственных животных в условиях современного аграрного производства". Брянск, 2008. - С. 63-67.
35. Усачев И.И. Влияние экологических изменений на взаимоотношения макроорганизма с энторальной микрофлорой и жизнеспособность животных. // Междунар. научно-практ. конф. "Селекционно-технологические аспекты повышения продуктивности сельскохозяйственных животных в условиях современного аграрного производства". Брянск, 2008. - С. 48 – 52.
36. Усачев И.И. Сравнительная оценка концентрации микроорганизмов в содержимом кишечника и фекалиях овец. // Междунар. научно-практ. конф. "Научное обеспечение агропромышленного комплекса". Курск, 2010.- ч.1.- С 239-241.
37. Усачев И.И. Особенности желудочно-кишечного микробиоценоза баранов производителей и холостых маток. // Междунар. научно-практ. конф. "Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения её качества". Брянск, 2010.- С. 454-456.
38. Усачев И.И., Поляков В.Ф. Влияние особенностей технологического цикла на микробиоценоз фекалий овец различных пород. // Труды ВИЭВ, 2010.- т. №76.- С. 236-240.
39. Усачев И.И., Мельникова И.В. Динамика микрофлоры химуса толстого отдела кишечника взрослых овец в современных экологических условиях. // Экологические и селекционные проблемы племенного животноводства. Брянск 2009. - вы-

пуск – 2.- С. 104-105.

40. Усачев И.И., Поляков В.Ф. Динамика микроорганизмов в фекалиях лактирующих овцематок. // Труды ВИЭВ, 2010. - том №76, С. 233 – 235.
41. Усачев И.И. Сравнительная оценка концентрации микроорганизмов в содержимом кишечника и фекалиях овец. // Междунар. научно-практ. конф. "Научное обеспечение агропромышленного комплекса". Курск, 2010.- ч.1. - С. 239-241.
42. Усачев И.И. Особенности желудочно-кишечного микробиоценоза баранов производителей и холостых маток. // Междунар. научно-практ. конф. "Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения её качества". Брянск, 2010.- С. 454-456.
43. Усачев И.И., Усачев К.И., Гамко Л.Н. Особенности микроэкологии химуса и слизистой оболочки подвздошной кишки у овец. // Междунар. научно-практ. конф. "Современные проблемы развития животноводства". Брянск, 2012. - С. 186-188.
44. Усачёв И.И. Микробиоценоз кишечника ягнят в онтогенезе. // Междунар. научно-практ. конф. „Состояние и перспективы развития ветеринарной науки России,,. Посвящается 115-летию ВИЭВ им. Я.Р. Коваленко. Москва, октябрь 2013. -Труды ВИЭВ.- т.77. - С. 340-345.
45. Усачёв И.И. Моделирование микробиоценоза кишечника у новорожденных ягнят. // Международ. научно-практ. конф. „Состояние и перспективы развития ветеринарной науки России,,. Посвящается 115-летию ВИЭВ им. Я.Р. Коваленко. Москва, октябрь, 2013.- Труды ВИЭВ. -т.77. - С. 336-340.
46. Усачёв И.И., Поляков В.Ф. Коррекция энтеральных дисбиотических нарушений у животных. // Вестник Брянской ГСХА, 2009.-№2.-С. 53-58.
47. Усачёв И.И., Усачёв К.И. Комплексное влияние биологически активных веществ на сохранность кроликов при вирусной геморрагической болезни./Междунар. научно-практ. конф. «Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества». Брянск, 2004. – С. 364-367.
48. Чеченок Н.Н., Усачев И.И. Бактериоценоз химуса двенадцатиперстной кишки ягнят в молозивный, молочный и смешанный периоды питания. // Экологические и селекционные проблемы племенного животноводства. Брянск, 2009.- Выпуск – 2.- С. 107-108.
49. Энтеральный микробиоценоз ягнят в раннем постнатальном онтогенезе. / И.И.

Усачев, Н.Н. Чеченок, О.В. Савченко, К.И. Усачев // Междунар. научно – практ. конференция «Современные научные тенденции в животноводстве», посвящённая 100-летию со дня рождения П.Г. Петровского. – Киров, 2009. – С. 230-232.

Автор выражает благодарность за оказанную помощь в проведении научных исследований ректору Брянской ГСХА, доктору сельскохозяйственных наук, профессору Н.М. Белоусу; начальнику Управления ветеринарией Брянской области, кандидату биологических наук В.В. Пономареву; директору СПК «Будлянский» Г.В. Фориновой.