

На правах рукописи

**КАНИЧЕВА Ирина Владимировна**

**ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА  
В АНАТОМИЧЕСКИХ СТРУКТУРАХ ТОЛСТОГО  
ОТДЕЛА КИШЕЧНИКА У ЯГНЯТ РОМАНОВСКОЙ  
ПОРОДЫ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

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

**Автореферат**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Москва - 2018

Диссертационная работа выполнена на кафедре терапии, хирургии, ветеринарного акушерства и фармакологии ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет»

**Научный руководитель: Усачев Иван Иванович**, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры терапии, хирургии, ветеринарного акушерства и фармакологии ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет» (тел: 8 (48341)24-7-96; E – mail: [kafter@bgsha.com](mailto:kafter@bgsha.com)).

Официальные оппоненты:

**Зайцева Елена Владимировна**, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Брянский государственный университет имени академика И.Г Петровского», декан Естественно - географического факультета (тел: 8(4832) 66-68-16; E – mail: [z\\_ev11@mail.ru](mailto:z_ev11@mail.ru)).

**Плешакова Валентина Ивановна**, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», заведующий кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней (тел: 8(3812) 25-05-19; E – mail: [lescheva@list.ru](mailto:lescheva@list.ru)).

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 года в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета **Д 006.033.02** действующего на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно - исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» по адресу: 109428, г. Москва, Рязанский проспект 24 к.1., тел.: 8(495)970-03-68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН <http://viev.ru>.

Автореферат диссертации разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук

Ездакова Ирина Юрьевна

## **Общая характеристика работы**

Актуальность темы. Важной задачей в ветеринарии является снижение потерь новорожденных животных от болезней, сопровождающихся поражением органов пищеварения (Г.Г. Гукасян, 2002; В.П. Крылов, 2006; М.А. Сидоров, 2006, 2008; С. Злобин, 2008). Широкое применение в аграрном секторе удобрений, пестицидов, гербицидов, бифинилов и других химических компонентов негативно влияет на жизнедеятельность автохтонных микроорганизмов, населяющих различные биотопы пищеварительной системы животных (В.А. Мищенко, 2006; В.Т. Головань, 2007; Л. Романенко, 2008; В.В. Субботин 2008). Различные патогены, внедрившиеся в такой макроорганизм, сравнительно легче адаптируются и реализуют свой вирулентный потенциал (М.А. Сидоров, 2000; В.В. Зорина, 2004; Г.М. Топурия, 2007; Л.Ю. Топурия, 2007; Г.Н. Спиридонов, 2007). Для коррекции микробного пейзажа кишечника животных предложен широкий выбор пробиотических и пребиотических препаратов. Их применение требует глубоких знаний микроэкологии отдельных биотопов пищеварительной системы, в том числе толстого отдела кишечника макроорганизма (R.D. Rolfe, 2000; K.L. Madsen, 2001; В. Левахин, 2006; И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, 2007; И.В. Каничева, И.И. Усачев, 2016, 2016). Однако, у ягнят романовской породы на ранних этапах жизни микробиоценоз слизистой оболочки и содержимого анатомических структур толстого отдела кишечника остается не выясненным, а данные, отражающие концентрацию различных популяций индигенной микрофлоры в фекалиях, не являются универсальными для всего кишечника животных (Н.Н. Чеченок, 2013, И.И. Усачев, 2014).

Следовательно, изучение особенностей микробиоценоза слизистой оболочки и содержимого слепой, ободочной и прямой кишок у ягнят в период их раннего постнатального развития является важной задачей, имеющей научно теоретическое и практическое значение.

Цель работы. Изучить формирование микробиоценоза в анатомических структурах толстого отдела кишечника, а именно: слизистой оболочке и содержимом слепой, ободочной и прямой кишок у ягнят романовской породы в раннем постнатальном онтогенезе (1 – 60 суток).

Задачи исследования. 1. Изучить динамику морфометрических показателей слепой, ободочной и прямой кишок у ягнят от рождения до двухмесячного возраста.

2. Изучить динамику бифидобактерий, лактобактерий, эшерихий (*E. coli*), энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид в слизистой оболочке и содержимом слепой, ободочной и прямой кишок ягнят.

3. Выяснить особенности количественного содержания и состава микробиальной флоры в анатомических структурах толстого отдела кишечника ягнят, первых двух месяцев жизни.

4. Провести сравнительную оценку накопления изучаемых микроорганизмов в слизистой оболочке, содержимом толстого отдела кишечника и фецесе ягнят в молозивный, молочный и смешанный периоды питания (1 – 60 суток).

Научная новизна. Установлены закономерности формирования микробиоценоза и накопления различных популяций микробиальной флоры: бифидобактерий, лактобактерий, эшерихий, энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид в слизистой оболочке и содержимом слепой, ободочной и прямой кишок у ягнят романовской породы в период их раннего постнатального развития (1 – 60 суток). Выявлены микроорганизмы, количественно доминирующие в изучаемом биотопе кишечника животных.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установлены особенности количественного содержания и качественного состава изучаемой микрофлоры в слизистой оболочке и содержимом слепой, ободочной и прямой кишок ягнят романовской породы в период раннего постнатального развития.

Разработаны и утверждены в установленном порядке Отделением ветеринарной медицины РАСХН:

- «Нормативы кишечной микрофлоры у овец»

Разработаны и утвержденные Управлением ветеринарии Брянской области:

- «Рекомендации по оценке микробиоценоза подвздошной, слепой, ободочной и прямой кишок ягнят в молозивный, молочный и смешанный периоды питания (1 – 60 суток)»

Публикация результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 1 монография, 2 методические разработки и 4 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ для опубликования диссертационных работ.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и получили положительную оценку на 26-й научной конференции студентов и аспирантов факультета ветеринарной медицины и биотехнологии Брянской ГСХА «Совершенствование технологии производства продукции животноводства, профилактики и лечения болезней» (г. Брянск, 20 мая 2010); Международной научно-практической конференции «Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества», посвященной 30-летию образования ФГОУ ВПО «Брянская государственная сельскохозяйственная академия» (Брянск, 23-24 июня 2010); II этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза Российской Федерации в Центральном федеральном округе, в номинации «Ветеринарные науки» (Белгород, 28 апреля 2011); III этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза России, в номинации «Ветеринарные науки» (Ставрополь, 30-31 мая 2011); Материалах международной научно - практической конференции «Интенсивность и

конкурентоспособность отраслей животноводства» (Брянск, 21 – 22 апреля 2016);

Межкафедральном совещании сотрудников института ветеринарной медицины и биотехнологии Брянского ГАУ (2018)

Внедрение результатов исследования. Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедре терапии, хирургии, веттакучерства и фармакологии института ветеринарной медицины и биотехнологии Брянского ГАУ, при чтении лекций по ветеринарной фармакологии студентам очной и заочной формы обучения.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Динамика морфометрических показателей слепой, ободочной и прямой кишок у ягнят от рождения до двухмесячного возраста.

2. Динамика бифидобактерий, лактобактерий, эшерихий (*E. coli*), энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид в слизистой оболочке и содержимом слепой, ободочной и прямой кишок ягнят.

3. Особенности количественного содержания и состава микробиальной флоры в анатомических структурах толстого отдела кишечника ягнят, первых двух месяцев жизни.

4. Сравнительная оценка накопления изучаемых микроорганизмов в слизистой оболочке, содержимом толстого отдела кишечника и фецесе ягнят в молочивный, молочный и смешанный периоды питания (1 – 60 суток).

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

Объем и структура диссертации. Диссертация включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, обсуждения результатов, выводы, практические предложения, список литературы и приложения. Диссертационная работа изложена на 202 страницах компьютерного текста, содержит 30 таблиц, 33 рисунка. Список литературы включает 208 источника, из них 51 иностранных авторов.

## 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материалы и методы

Работа выполнена в 2009 - 2016 гг. в экспериментальных условиях вивария кафедры терапии, хирургии ветеринарного акушерства и фармакологии ФГБОУ ВО Брянский ГАУ, а так же на базе крестьянско-фермерского хозяйства «А.А. Симонов», Выгоничского района Брянской области. Для проведения опыта было использовано 10 взрослых овец 3 - 5 – летнего возраста и 25 ягнят 1 - 60 суточного возраста романовской породы, которые содержались с овцематками в индивидуальных клетках, размером 2,2 x 1.2м.. Предварительно, взрослые овцы были обследованы на туберкулез и бруцеллез серологическими и аллергическими методами с отрицательным результатом. Животные вакцинированы против сибирской язвы, обработаны против желудочно-кишечных паразитов препаратом «Альбендазол», согласно инструкции, индивидуально, per os. Исследования выполнены на клинически здоровых животных. Концентрацию и динамику бифидобактерий, лактобактерий, энтерококка, кишечной палочки, аэробных спорообразующих бацилл и кандид в фецесе, содержимом и слизистой оболочке слепой, ободочной и прямой кишок у ягнят изучали в возрасте 1, 7, 15, 30, 60 суток на уровне рода.

Содержание животных, уход и эвтаназию проводили в соответствии с требованиями приказов МСХ 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).

Морфометрические показатели слепой, ободочной и прямой кишок, а именно: массу каждой кишки устанавливали путем взвешивания на лабораторных весах с точностью до  $\pm 0,1$  г (ГОСТ 7328-2001), длину кишок измеряли стандартной линейкой ГОСТ 17435-72. Ширину и толщину медиальных, проксимальных и дистальных участков слепой, ободочной и прямой кишок измеряли при помощи штангенциркуля и линейки.

Содержание вышеуказанных микроорганизмов в фекалиях подопытных животных изучали методом последовательных десятикратных разведений. Концентрацию интересующих нас микробов в химусе и слизистой оболочке проксимального, медиального и дистального участков слепой, ободочной и прямой кишок взрослых овец и ягнят определяли по А.А. Воробьеву (2003).

Количество выделенных микробов выражали в lg 10 КОЕ / г мат. Учет выросших колоний микроорганизмов проводили через 24 часа, а кандид через 48 часов. Для определения количественных величин указанных микроорганизмов использовали элективные питательные среды: среду Блаурокка в модификации Гончарова Г.И. (1990) – для бифидобактерий, лактобакагар – для лактобактерий, энтерококкагар – для энтерококков, среду Эндо – для кишечной палочки, среду Сабуро – для кандид.

Концентрацию аэробных спорообразующих бацилл определяли на МПА. Предварительно испытуемый материал помещали в стеклянную стерильную пробирку и прогревали при 80°C в течение 20 минут. Полученные в процессе исследований цифровые значения были подвергнуты стандартной, принятой в биологии, статистической обработке, по Г.Ф. Лакину (1980).

## **2.2. Динамика морфометрических показателей слепой, ободочной и прямой кишок у ягнят в молозивный, молочный и смешанный периоды питания**

Установлено, что у ягнят первых двух месяцев жизни рост и развитие каждой анатомической структуры толстого отдела кишечника индивидуальны.

Прямая кишка отличалась наиболее интенсивным ростом, а именно, 3,5% за одни сутки по сравнению с ее начальными размерами. Аналогичные критерии слепой и ободочной кишок подопытных ягнят не превышали 1,5% и 1,3% соответственно.



Таблица 1 - Длина слепой, ободочной и прямой кишок ягнят, ( $M \pm m$ ),  $n = 5$

Возраст животных (сутки)	Название кишок					
	Слепая (см)		Ободочная (см)		Прямая (см)	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
1	23,2±1,3*	19,4	87,4±7,9*	14,6	39,2±5,7*	32,7
7	26,5±2,6*	22,1	88,4±2,1*	14,8	48,5±1,9*	40,4
15	28,0±1,1*	23,4	127,8±3,1*	21,4	57,9±1,5*	48,3
30	32,0±1,3*	26,7	132,0±5,3*	22,1	97,4±5,2*	81,2
60	43,6±2,3*	36,4	156,0±6,2*	26,1	121,0±5,2*	100,8
Овцы 3 – 5 лет	119,8±2,8	100	598,5±13,7	100	120,0±5,0	100

Примечание: \* ( $P \leq 0,05$ ) – статистически достоверные результаты по отношению к овцам 3 – 5 лет.

Выявлено, что у ягнят в возрасте шестидесяти суток размеры прямой кишки ягнят соответствовали размерам кишки у взрослых овец 3 – 5 летнего возраста. У ягнят указанного возраста размеры слепой и ободочной кишок не превышали 36,4% и 26,1% от размеров соответствующих кишок у контрольных овец.

Накопление массы слепой, ободочной и прямой кишок у подопытных ягнят происходит гораздо медленнее, чем увеличение их размеров: 27,7%; 17,4% и 30,2% соответственно по отношению к контрольным животным.

Следует отметить, что у подопытных животных масса слепой кишки наиболее интенсивно увеличивалась в смешанный период питания, а именно с 30 по 60 сутки их жизни - 162,9%.

Масса ободочной и прямой кишок наиболее интенсивно возрастала у ягнят с 15 по 30 сутки их жизни: 63,1% и 57,9%.

Таким образом, у ягнят первых двух месяцев жизни рост и развитие каждой анатомической структуры, входящей в состав толстого отдела кишечника индивидуальны, что необходимо учитывать при выборе различных компонентов, стимулирующих деятельность этих кишок у животных на ранних этапах их жизни (1 – 60 суток).

Таблица 2 - Масса слепой, ободочной и прямой кишок у ягнят, ( $M \pm m$ ),  $n = 5$

Возраст животных (сутки)	Название кишок					
	Слепая (г)		Ободочная (г)		Прямая (г)	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
1	$6,1 \pm 0,3^*$	3,0	$10,0 \pm 0,8^*$	3,5	$6,8 \pm 1,2^*$	7,2
7	$13,3 \pm 1,6^*$	6,6	$12,6 \pm 0,4^*$	4,4	$12,1 \pm 0,5^*$	12,8
15	$18,0 \pm 1,0^*$	8,9	$24,1 \pm 0,1^*$	8,4	$15,2 \pm 0,6^*$	16,1
30	$21,3 \pm 1,0^*$	10,5	$39,3 \pm 2,2^*$	13,8	$24,0 \pm 0,9^*$	25,4
60	$56,0 \pm 2,6^*$	27,7	$49,8 \pm 1,6^*$	17,4	$28,5 \pm 1,3^*$	30,2
Овцы 3 – 5 лет	$202,2 \pm 25,0$	100	$285,6 \pm 42,3$	100	$94,4 \pm 2,8$	100

Примечание: \* ( $P \leq 0,05$ ) – статистически достоверные результаты по отношению к овцам 3 – 5 лет.

### 2.3. Микробиоценоз слизистой оболочки и химуса слепой кишки ягнят

Установлено, что в слепой кишке ягнят односуточного возраста, при минимальной концентрации изучаемых микроорганизмов  $17,6 \lg \text{ КОЕ/ г}$  слиз. –  $18,2 \lg \text{ КОЕ/ г}$  хим. их содержание в химусе было выше, чем в слизистой оболочке этой кишки на 3,4 %.

У ягнят семисуточного возраста изучаемые биоптаты, полученные из слепой кишки, содержали одинаковые величины интересующих нас микроорганизмов –  $29,6 \lg \text{ КОЕ/ г}$  мат.

Выявлено, что у подопытных животных в возрасте 15, 30 и 60 суток в слизистой оболочке этой кишки, суммарный уровень микробов был выше, чем в химусе на 2,7%, 4,7% и 4,2% соответственно.

Установлено так же, что у ягнят с первых по шестидесятые сутки их жизни, как и у взрослых животных контрольной группы 3 – 5 лет, в этой анатомической структуре толстого отдела кишечника, бифидобактерии, лактобактерии и кишечная палочка доминировали над энтерококками, аэробными спорообразующими бациллами и кандидами, составляя при этом 68,2%, 87,2%, 80,7%, 85,5%, 88,0% и 93,2% соответственно.

Таблица 3 - Содержание микроорганизмов в химусе и слизистой оболочке слепой кишки ягнят и овец 3 – 5 летнего возраста (n = 5; M ± m lg 10 КОЕ/ г мат.)

Микроорганизмы (рода)	Возраст животных (сутки)											
	1		7		15		30		60		Овцы 3-5 лет	
	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка
Bifidobacterium	5,0±0*	5,0±0*	10,8±0,2*	11,0±0*	11,6±0,2*	12,4±0,2*	12,8±0,4*	13,2±0,4*	11,6±0,6*	11,2±0,6*	12,0±0,6	11,8±0,6
Lactobacillus	3,4±0,2*	3,0±0*	5,2±0,2*	5,2±0,2*	7,4±0,2*	7,4±0,6*	6,0±0*	6,8±0,4*	7,4±0,6	7,8±0,4	7,8±0,4	8,0±0,4
Escherichia (E. coli)	4,0±0*	4,0±0*	9,0±0,4	9,6±0,2*	9,4±0,6	9,4±0,6*	9,4±0,2	9,4±0,2*	9,8±0,4	10,4±0,2	9,4±0,2	10,4±0,4
Enterococcus	3,0±0*	2,6±0,2*	2,2±0,2*	2,4±0,2*	3,0±0*	3,0±0*	2,0±0*	1,2±0,4*	1,8±0,4*	1,8±0,4*	0,6±0,2	0,6±0,2
Bacillus	0,4±0,2*	0,6±0,2*	0,6±0,2	0,2±0,2*	1,8±0,2*	1,8±0,2*	2,4±0,2*	3,4±0,2*	0,6±0,2	1,4±0,2*	0,6±0,2	1,0±0
Candida	2,4±0,2*	2,4±0,2*	1,8±0,2*	1,2±0,2*	2,0±0*	2,2±0,2*	0,2±0,2*	0,4±0,4	0,8±0*	0,8±0,2*	1,4±0,2	0,6±0,2

Примечание: \* (P≤0,05) – статистически достоверные результаты по отношению к овцам 3 – 5 лет.

## **2.4. Микробиоценоз слизистой оболочки и химуса**

### **ободочной кишки ягнят**

Результаты исследований показали, что в содержимом и слизистой оболочке ободочной кишки ягнят односуточного возраста присутствуют представители всех изучаемых родов микрофлоры: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia* (*E. coli*), *Enterococcus*, *Bacillus* и *Candida*.

У односуточных животных концентрация этих микробов в слизистой оболочке и химусе указанной кишки отличалась на 11,4%, а их абсолютные величины находились в пределах 17,6 lg КОЕ/ г слиз. и 19,6 lg КОЕ/ г хим. У животных в возрасте 1, 15, 30 суток, и у овец контрольной группы 3-5 лет, в химусе ободочной кишки, суммарное содержание изучаемых микробов на 11,0%, 8,1%, 7,9% и 3,3%, выше, чем в ее слизистой оболочке. Исключение составляли ягнята 7 и 60 суточного возраста, у которых слизистая оболочка ободочной кишки была богаче изучаемыми микробами, чем ее химус на 1,9% и 3,6% соответственно.

Установлено, что у ягнят 30 и 60 суточного возраста, как и у взрослых животных в возрасте 3 – 5 лет, в слизистой оболочке слепой и ободочной кишок содержание изучаемых микроорганизмов было весьма близким, а количественные отличия не превышали 0,1%, 0,6% соответственно. Представленные данные подтверждают стабильность микробиоценоза, как одной из важнейших систем жизнеобеспечения животных указанного возраста.

В ободочной кишке ягнят в молозивный, молочный и смешанный период питания, до 60 суточного их возраста, как и у овец контрольной группы, преобладающие величины принадлежат бифидобактериям, лактобактериям и эшерихиям (*E. coli*), суммарное содержание которых находилось в пределах: 73,9%, 80,3%, 88,8%, 86,1%, 87,4% и 93,3% соответственно для каждого возраста животных.

Таблица 4 - Содержание микроорганизмов в химусе и слизистой оболочке ободочной кишки ягнят и овец 3 – 5 летнего возраста (n = 5; M ± m lg 10 КОЕ/ г мат.)

Микроорганизмы (рода)	Возраст животных (сутки)											
	1		7		15		30		60		Овцы 3-5 лет	
	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка	химус	слизистая оболочка
<i>Bifidobacterium</i>	6,2±0,2*	5,4±0,2*	10,8±0,2	10,8±0,2*	10,4±0,2	11,6±0,2	13,0±0,4*	13,2±0,2*	12,4±0,2*	12,4±0,2*	10,8±0,4	11,2±0,4
<i>Lactobacillus</i>	4,0±0*	3,4±0,2*	6,2±0,4*	7,0±0,4	8,0±0*	6,8±0,4	7,0±0,4	6,0±0,6*	6,8±0,4*	7,2±0,4	7,4±0,2	7,0±0,4
<i>Escherichia</i> ( <i>E. coli</i> )	4,4±0,2*	4,2±0,2*	9,2±0,4*	10,0±0	10,6±0,2*	10,0±0,4	9,6±0,2	9,2±0,4*	10,4±0,2*	11±0*	9,8±0,2	9,8±0,2
<i>Enterococcus</i>	3,0±0*	2,8±0,2*	3,0±0,4*	3,0±0,4*	3,4±0,2*	2,0±0,4*	2,4±0,2*	1,0±0	2,2±0,2*	2,2±0,2*	1,0±0	1,0±0
<i>Bacillus</i>	0,4±0,2*	0,2±0,2*	1,0±0	0,2±0,2*	0,4±0,2	0,6±0,2*	3,4±0,2*	3,0±0,4*	1,8±0,4*	1,4±0,2*	0,8±0,2	0,4±0,2
<i>Candida</i>	1,6±0,4*	1,6±0,2*	1,6±0,2*	1,4±0,2*	1,8±0,2*	1,0±0,2*	0,2±0,2*	0,6±0,2	0,2±0,2*	0,8±0,2*	1,2±0,2	0,6±0,2

Примечание: \* (P≤0,05) – статистически достоверные результаты по отношению к овцам 3 – 5 лет.

## 2.5. Микробиоценоз слизистой оболочки и содержимого прямой кишки ягнят

Нами выявлено, что у ягнят от рождения до двухмесячного возраста, в содержимом и слизистой оболочке прямой кишки накопление изучаемых микробов происходит неодинаково и тесно взаимосвязано с периодом питания животных.

У ягнят односуточного возраста в этой кишке присутствуют все интересующие нас микроорганизмы, содержание которых находилось на уровне 15,0 lg КОЕ/ г слиз. и 18,4 lg КОЕ / г хим. Слизистая оболочка прямой кишки ягнят указанного возраста беднее микрофлорой, чем ее содержимое на 22,7%.

У ягнят семисуточного и тридцати суточного возраста слизистая оболочка прямой кишки богаче изучаемой микрофлорой, чем ее содержимое на 7,3% и 2,8%, соответственно. Исключение составляли ягнята пятнадцати суточного возраста, у которых указанные биоптаты, полученные из прямой кишки содержали одинаковую концентрацию изучаемых микробов: 36,0 lg КОЕ/ г сод. и 36,2 lg КОЕ/ г слиз.

Установлено, что у ягнят в период раннего постнатального онтогенеза (1 – 60 суток), а так же у контрольных овец в исследуемых биоптатах, полученных из прямой кишки, представители родов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Escherichia* (*E. coli*), количественно доминировали над энтерококками, аэробными спорообразующими бациллами и кандидами, составляя 66,7%, 74,7%, 81,8%, 80,7%, 74,4% и 69,1% соответственно.

У подопытных ягнят 30 и 60 суточного возраста, а так же у контрольных овец в возрасте 3 – 5 лет, концентрация изучаемых микробов в слизистой оболочке и содержимом прямой кишки ниже, чем в аналогичных биоптатах, полученных из слепой и ободочной кишок на 4,8% – 5,4%, 13,6% – 14,4% и 24,4% соответственно.

Таблица 5 - Содержание микроорганизмов в содержимом и слизистой оболочке прямой кишки ягнят и овец 3 – 5 летнего возраста (n = 5; M ± m lg 10 КОЕ/ г мат.)

Микроорганизмы (рода)	Возраст животных (сутки)											
	1		7		15		30		60		Овцы 3-5 лет	
	содержимое	слизистая оболочка	содержимое	слизистая оболочка	содержимое	слизистая оболочка	содержимое	слизистая оболочка	содержимое	слизистая оболочка	содержимое	слизистая оболочка
Bifidobacterium	5,4±0,2*	5,2±0,2*	8,2±0,2*	10,6±0,2	10,2±0,2	11,4±0,2*	9,6±0,2	9,2±0,2*	9,4±0,2*	8,4±0,2*	10,0±0,4	10,4±0,2
Lactobacillus	3,4±0,2*	2,2±0,2*	7,2±0,2*	6,2±0,4*	8,2±0,2	8,2±0,2*	7,8±0,4	9±0*	8,0±0	5,2±0,2	8,0±0,2	5,0±0,4
Escherichia (E. coli)	2,8±0,2*	2,6±0,2*	6,4±0,2*	7,4±0,2	7,6±0,2*	10±0,6*	10,2±0,4*	11±0*	7,4±0,2	5,6±0,2*	7,2±0,4	7,0±0,4
Enterococcus	3,0±0*	2,4±0,2*	3,4±0,2*	3,6±0,2*	4,4±0,2*	4±0,4	2,4±0,2*	2,4±0,2*	4,8±0,2*	2,2±0,2*	5,8±0,4	4,2±0,2
Bacillus	1,6±0,2*	0,8±0,2*	2,8±0,4*	2,2±0,4*	3,2±0,4*	0,4±0,4*	2,8±0,4*	3,2±0,2*	5,0±0*	2,4±0,2*	5,6±0,4	4,2±0,4
Candida	2,2±0,2	1,8±0,2*	2,2±0,2	2,4±0,2*	2,4±0,2	2,2±0,2*	2,4±0,2	1,4±0,2*	0,6±0,2*	2±0,2*	2,2±0,2	1,6±0,2

Примечание: \* (P≤0,05) – статистически достоверные результаты по отношению к овцам 3 – 5 лет.

## **2.6. Микробиоценоз слизистой оболочки и содержимого толстого отдела кишечника ягнят**

Анализ полученных данных показал, что у ягнят односуточного возраста концентрация бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки, энтерококков, аэробных спорообразующих бацилл и кандид в слизистой оболочке толстого отдела кишечника меньше, чем в его содержимом на 12,0%. Выявленная особенность указывает, что у новорожденных ягнят в этом отделе кишечника, как единой части пищеварительной системы, просветная микрофлора количественно преобладает над пристеночной.

У ягнят в возрасте семи суток, то есть к концу молозивного периода питания, в слизистой оболочке толстого отдела кишечника накапливается 99,7% изучаемых микроорганизмов. В молочный и смешанный периоды питания (15, 30 и 60 суток) содержание микроорганизмов в изучаемом биоптате соответствовала аналогичному критерию овец контрольной группы: 34,8 lg КОЕ/ г слиз., 34,6 lg КОЕ/ г слиз., 31,4 lg КОЕ/ г слиз. и 31,6 lg КОЕ/ г слиз. соответственно.

Установлено, что в содержимом, как и в слизистой оболочке толстого отдела кишечника ягнят от рождения до двухмесячного возраста, накопление каждой популяции изучаемых микробов носит индивидуальный характер.

У ягнят 15, 30 и 60 суточного возраста в содержимом толстого отдела кишечника бифидобактерии, лактобактерии и кишечная палочка, количественно доминировавшие над остальными микробами, стабилизировались на уровне 10,7 – 11,1 lg КОЕ/ г сод., 7,4 – 7,9 lg КОЕ/ г сод. и 9,2 – 9,7 lg КОЕ/ г сод. соответственно.

В фецесе подопытных ягнят эти микробы количественно стабилизировались к концу молочного периода питания и находились в пределах: 9,6 – 9,8 lg КОЕ/ г фек., 8,0 lg КОЕ/ г фек., 7,6 lg КОЕ/ г фек., 6,0 lg КОЕ/ г фек., 5,2-5,6 lg КОЕ/ г фек. и 3,0-3,5 lg КОЕ/ г фек. соответственно для каждой популяции микрофлоры.



Таблица 6 - Концентрация микроорганизмов в слизистой оболочке толстого отдела кишечника ягнят и овец 3 – 5 летнего возраста (n = 5;  $M \pm m \lg 10$  КОЕ/ г слиз.)

Возраст животных (сутки)	Bifidobacterium		Lactobacillus		Escherichia (E. coli)		Enterococcus		Bacillus		Candida	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
1	5,2±0,1*	46,7	2,9±0,1*	43,0	3,6±0,1*	39,7	2,6±0,2*	134,5	0,5±0,2*	28,6	1,9±0,2*	207,1
7	10,8±0,1	97,0	6,1±0,3*	92,0	9,0±0,1	99,3	3,0±0,3*	155,2	0,9±0,3*	46,4	1,7±0,2*	178,6
15	11,8±0,2*	106,0	7,5±0,4*	112,0	9,8±0,5*	108,1	3,0±0,3*	155,2	0,9±0,3*	50,0	1,8±0,2*	192,9
30	11,9±0,3*	106,6	7,3±0,3*	109,0	9,9±0,2*	108,8	1,5±0,2*	79,3	3,2±0,3*	171,4	0,8±0,3*	85,7
60	10,7±0,3	95,8	6,7±0,3	101,0	9,0±0,1	99,3	2,1±0,3*	106,9	1,7±0,2*	92,9	1,2±0,2*	128,6
Овцы 3 – 5 лет	11,1±0,4	100,0	6,7±0,4	100,0	9,1±0,3	100,0	1,9±0,1	100,0	1,9±0,2	100,0	0,9±0,2	100,0

Примечание: \* ( $P \leq 0,05$ ) – статистически достоверные результаты по отношению к овцам 3 – 5 лет.

Таблица 7 - Концентрация микроорганизмов в содержимом толстого отдела кишечника ягнят и овец 3 – 5 летнего возраста (n = 5; M ± m lg 10 КОЕ/ г мат.)

Возраст животных (сутки)	Bifidobacterium		Lactobacillus		Escherichia (E. coli)		Enterococcus		Bacillus		Candida	
	M ± m	%	M ± m	%	M ± m	%	M ± m	%	M ± m	%	M ± m	%
1	5,5±0,1*	50,6	3,6±0,1*	46,6	3,7±0,1*	42,4	3,0±0*	121,6	0,8±0,2*	34,3	2,1±0,3	129,2
7	9,9±0,2*	90,9	6,2±0,3*	80,2	8,2±0,3*	93,2	2,9±0,3*	116,2	1,5±0,2*	62,9	1,9±0,2	116,7
15	10,7±0,2	98,2	7,9±0,1	101,7	9,2±0,3	104,5	3,6±0,1*	145,9	1,8±0,3*	77,1	2,1±0,1	129,2
30	11,8±0,3*	107,9	6,9±0,3*	89,7	9,7±0,3*	110,6	2,3±0,1*	91,9	2,9±0,3*	122,9	0,9±0,2	58,3
60	11,1±0,3	101,8	7,4±0,3	95,7	9,2±0,3	104,5	2,9±0,3*	118,9	2,5±0,2	105,7	0,5±0,1	33,3
Овцы 3 – 5 лет	10,9±0,5	100,0	7,7±0,3	100,0	8,8±0,3	100,0	2,5±0,2	100,0	2,3±0,3	100,0	1,6±0,2	100,0

Примечание: \* (P<0,05) – статистически достоверные результаты по отношению к овцам 3 – 5 лет.

Таблица 8 - Концентрация микроорганизмов в фекалиях ягнят в молозивный, молочный и смешанный периоды питания (1 – 60 суток)  
(n = 5; M ± m lg 10 КОЕ/ г фек.)

Микроорганизмы (рода)	Возраст животного				
	1	7	15	30	60
	M±m	M±m	M±m	M±m	M±m
Bifidobacterium	2,8±0,2*	8,0±0,2*	9,8±0,2	9,6±0,2	9,8±0,2
Lactobacillus	2,3±0,3*	7,0±0,2*	8,0 ±0,2	8,0 ±0,2	8,0 ±0,2
Escherichia (E. coli)	2,1±0,2*	6,6±0,2*	7,6±0,2	7,6±0,2	7,6±0,2
Enterococcus	2,3±0,3*	5,4±0,2*	6,0±0,2	6,0±0,2	6,0±0,2
Bacillus	1,2±0,2*	5,0±0,2*	5,2±0,2*	5,6±0,3	5,4±0,2
Candida	1,0±0,1*	3,0±0,2	3,0±0,3	3,5±0,2*	3,0±0,2

Примечание: \* (P≤0,05) – статистически достоверные результаты по отношению к овцам 3 – 5 лет

Результаты исследований свидетельствуют, что микробиоценоз (в пределах изучаемых нами микробов) слизистой оболочки и содержимого каждой кишки, а так же толстого отдела кишечника в целом, тесно взаимосвязан с периодом питания и качеством пищи поступающей в организм ягнят. Его формирование происходит в период молозивного и молочного (1 – 15 суток) питания животных

### Выводы

1. Установлено, что у ягнят в течение первых двух месяцев жизни ни одна кишка входящая в состав толстого отдела кишечника не достигает своей морфометрической стабильности, а размеры и масса слепой, ободочной, прямой кишок у шестидесятисуточных животных составляют 36,4%, 26,1%,

100,8% и 27,7%, 17,4%, 30,2% от аналогичных кишок контрольных овец 3 – 5 летнего возраста.

2. Выявлено, что микробиоценоз (на уровне рода) слизистой оболочки и содержимого толстого отдела кишечника ягнят в составе *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia* (*E. coli*), *Enterococcus*, *Bacillus* и *Candida* формируется в процессе молозивного и молочного периодов питания животных. Каждая кишка, входящая в его состав, отличается концентрацией и динамикой изучаемой микрофлоры, присутствующей в слизистой оболочке и содержимом.

3. Установлено, что у ягнят 1, 7, 15, 30 и 60 суточного возраста микробиоценоз слизистой оболочки и химуса слепой кишки представлен преимущественно бифидобактериями, лактобактериями и кишечной палочкой – 68,2%, 87,2%, 80,7%, 85,5% и 88,0%. У животных в возрасте 15, 30 и 60 суток исследуемые биоптаты этой кишки отличаются содержанием микробов на 2,7%, 4,7% и 4,2% соответственно.

4. Результаты исследований свидетельствуют, что у ягнят первых двух месяцев жизни в слизистой оболочке и химусе ободочной кишки, концентрация бифидобактерий, лактобактерий и кишечной палочки, количественно преобладающих над остальными микробами, составляет: 73,9%, 80,3%, 88,8%, 86,1% и 87,4% соответственно. Слизистая оболочка этой кишки животных шестидесятисуточного возраста богаче изучаемой микрофлорой, чем ее химус на 3,6%.

5. Исследования показали, что у ягнят в период их раннего постнатального развития (1 – 60 суток) в слизистой оболочке и содержимом прямой кишки бифидобактерии, лактобактерии и эшерихии (*E. coli*) доминировали над энтерококками, аэробными спорообразующими бациллами и кандидами, составляя 66,7%, 74,7%, 81,8%, 80,7% и 74,4%. У животных 7 и 30 суточного возраста, в слизистой оболочке прямой кишки, концентрация этих микробов выше, чем в химусе на 7,2% и 2,8% соответственно.

6. Выяснено, что у ягнят 15, 30 и 60 суточного возраста микробиоценоз слизистой оболочки и содержимого слепой, ободочной и прямой кишок, а так же фецеса в количественном отношении представляет стабильную систему, где абсолютные величины изучаемых микроорганизмов находятся в пределах: 33,4 – 36,2 lg КОЕ / г слиз. и 32,0 – 35,2 lg КОЕ / г хим.; 32,0 – 35,0 lg КОЕ / г слиз. и 33,8 – 34,6 lg КОЕ / г хим.; 25,8 – 36,2 lg КОЕ / г слиз. и 35,2 – 36,0 lg КОЕ / г сод.; 39,6 – 39,8 lg КОЕ / г фек.

7. Установлено, что у овец объективная оценка микробиоценоза толстого отдела кишечника возможна только на основании результатов исследования микрофлоры химуса и слизистой оболочки каждой анатомической структуры, входящей в его состав. Поскольку концентрация микроорганизмов в 1 грамме слизистой оболочки слепой, ободочной и прямой кишок может быть выше, чем в аналогичном количестве содержимого этих кишок, судить о состоянии микробиоценоза указанной части пищеварительной системы только по химусу, а тем более по фецесу, невозможно.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. Результаты наших исследований рекомендуем в качестве нормативов, а также при выборе бактерий - пробионтов и разработке пробиотических композиций, применяемых с целью поддержания стабильной микрофлоры в слизистой оболочке и содержимом слепой, ободочной и прямой кишок у ягнят в период их раннего постнатального развития, а именно 1 – 60 суток.

2. Предлагаем наши методические разработки использовать в системе диспансеризационных мероприятий, при контроле, за состоянием здоровья и его поддержанием у овец в личных подсобных и крестьянских фермерских хозяйствах Брянской области.

3. Результаты диссертационной работы рекомендуем использовать в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно – практических занятий по клиническим дисциплинам ветеринарного профиля, а так же

в научно – исследовательской и практической деятельности ветеринарных специалистов.

4. Результаты количественного содержания и состава изучаемых микробов, присутствующих в слизистой оболочке и содержимом каждой анатомической структуры толстого отдела кишечника ягнят романовской породы в молозивный, молочный и смешанный периоды питания, могут являться клиническими, диагностическими и прогностическими критериями, при оценке микробиального гомеостаза, служить основанием выбора препаратов и бактерий - пробионтов, применяемых для поддержания стабильной микрофлоры в этой части пищеварительной системы овец, в период их раннего постнатального развития (1 – 60 суток).

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

#### **Монография:**

1. Микробиоценоз анатомических структур толстого отдела кишечника ягнят романовской породы в раннем постнатальном онтогенезе / И.И. Усачев, И.В. Каничева, В.Ф. Поляков. Издат. Брянский ГАУ, № 5140, 2016. – 209с.

#### **Методические разработки:**

2. 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.

3. Рекомендации по оценке микробиоценоза подвздошной, слепой, ободочной и прямой кишок ягнят в молозивный, молочный и смешанный периоды питания (1 – 60 суток)/ И.И. Усачев, В.Ф. Поляков, И.В. Каничева, К.И. Усачев. – Брянск: Издательство Брянского ГАУ, № 4925, 2015. – 165 с.

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

4. Каничева И.В. Микробиоценоз слизистых оболочек толстого отдела кишечника ягнят раннего возраста. //Вестник Орел ГАУ, 2012. – № 1 (34). – С. 119 – 121.

5. Каничева И.В. Микробиоценоз содержимого толстого отдела кишечника ягнят раннего возраста. //Вестник Орел ГАУ, 2012. - № 4 (37) – С. 107 – 109.

6. Каничева И.В. Динамика различных представителей кишечной микрофлоры в слизистой оболочке и химусе слепой кишки ягнят в молозивный, молочный и смешанный периоды питания/ И.В. Каничева, И.И. Усачев, В.Ф. Поляков // Вестник Бурятской ГСХА. 2016.- № 2 (43). - С. 53 - 58.

7. Каничева И.В. Особенности формирования микробиоценоза слизистой оболочки и содержимого ободочной кишки у ягнят раннего возраста / И.В. Каничева, И.И. Усачев, В.Ф. Поляков // Вестник Бурятской ГСХА. 2016.- № 4 (45). – С. 59 – 66.

### **Публикации в других периодических изданиях и научных конференциях:**

8. Мельникова И.В., Усачев И.И. Динамика микрофлоры химуса толстого отдела кишечника взрослых овец в современных экологических условиях. // Экологические и селекционные проблемы племенного животноводства. Брянск 2009. – Вып. 2.- С. 104-105.

9. Мельникова И.В., Усачев И.И. Микробиоценоз слизистых оболочек толстого отдела кишечника взрослых овец. // Сборник научных трудов Междунар. научно-практ. конф. "Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения её качества". Брянск, 2010.- С. 362-365.

10. Мельникова И.В., Усачев И.И. Сравнительная оценка уровней микроорганизмов в содержимом и слизистых оболочек толстого отдела кишечника овец. // Сборник научных трудов Междунар. научно-практ. конф. "Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения её качества". Брянск, 2010.- С. 366-369.

11. Мельникова И.В., Усачев И.И. Сравнительная оценка содержания микроорганизмов в слизистых оболочках толстого отдела кишечника и фекалиях взрослых овец. // Экологические и селекционные проблемы племенного животноводства. Брянск 2010. – Вып. 4.- С. 90–91.

Автор выражает благодарность за оказание научно – методической помощи доктору биологических наук, профессору В.Ф. Полякову.