

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ДУДЧЕНКО ЮЛІЯ АНДРІЇВНА

УДК: 619:615.28:614.48:636

ДИСЕРТАЦІЯ

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ
ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКІВ ПРИ ВИРОЩУВАННІ ТЕЛЯТ

21 – Ветеринарна медицина

212 – Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Ю.А. Дудченко

Науковий керівник: Шкромада Оксана Іванівна доктор ветеринарних наук,
професор

Суми – 2023

АНОТАЦІЯ

Дудченко Ю.А. Ветеринарно-санітарна оцінка ефективності застосування пробіотиків при вирощуванні телят. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 212 – Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза – Сумський національний аграрний університет, МОН України, Суми, 2023.

У дисертаційній роботі впроваджений новий метод профілактики інфекційних захворювань та лікування шлунково-кишкових розладів у молочних телят за рахунок застосування пробіотичних штамів *Bacillus* sp. Дослідницьким шляхом встановлений лікувальний ефект від застосування *Bacillus coagulans* ALM 86 при диспепсії у телят на відлученні, доведений позитивний вплив на мікробіом шлунково-кишкового тракту, метаболізм, функціональну активність рубця, приріст живої ваги; визначені основні причини виникнення дисбактеріозу в телят у господарствах, досліджені властивості пробіотичного штаму *B. coagulans* ALM 86.

Під час досліджень також встановлено, що штам *Bacillus coagulans* ALM86 є грампозитивною, паличкоподібною спороутворюючою бактерією, яка витримує вплив високих температур до 80 °С, високу кислотність шлунково-кишкового тракту та тиск. У процесі метаболізму *B. coagulans* використовує арабінозу, ксилозу, глюкозу, галактозу, манозу, фруктозу, мальтозу, сахарозу та трегалозу, не гідролізує крохмал, казеїн та желатин, не виділяє сірководень та індол, має негативний оксидазний тест.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що індекс адгезивності еритроцитів (ІАЕ) був $1,70 \pm 0,09$, що є показником низької активності відповідно до класифікації Бриліс. Крім того, коефіцієнт участі еритроцитів у адгезійному процесі (КУЕ) складав $75,23 \pm 1,13$, а середній показник адгезії (СПА) становив $1,40 \pm 0,03$. Низький показник адгезії до

еритроцитів *Bacillus coagulans* був пов'язаний з утворенням біоциду – коагуліну, який обумовлює бактерицидну активність пробіотичного штаму.

Також було виявлено високу чутливість *B. coagulans* до канаміцину, рифампіцину, гентаміцину, лінкоміцину, окситетрацикліну, стрептоміцину, хлорамфеніколу, ванкоміцину та фраміцетину. Перелічені антимікробні препарати становлять загрозу знищення *B. coagulans* при сумісному застосуванні.

Також виявлено, що основними збудниками захворювань молодняка великої рогатої худоби є *S. agalactiae* (23 %), *S. aureus* (11 %), *S. epidermidis* (18 %), *E. fecalis* (10 %), *E. coli* (12 %), *Mycoplasma spp.* (7 %), гриби *Candida* (9 %) та асоційована мікрофлора (10 %).

Результати проведених мікробіологічних досліджень показали, що *Bacillus coagulans* ALM 86 проявив антагоністичні властивості стосовно *S. agalactiae* на 18,93 % більше, порівняно з антибіотиком цефалексином. Колонії *S. aureus* виявили чутливість до *B. coagulans* ALM 86 більше на 15,56 %, до *B. megaterium* NCH 55 однакову з антибіотиком. Штам *Bacillus pumilus* LA 56 пригнічував ріст колоній *S. epidermidis* на 20,49 % більше ніж цефалексин.

Пробіотичний мікроорганізм *Bacillus megaterium* NCH 55 проявляв антагонізм стосовно *E. fecalis* на тому ж рівні що і антибіотик. Навколо *Bacillus pumilus* LA 56 зона затримки росту *E. coli* була більше на 28,78 %, порівняно з контролем. Дріжджові гриби роду *Candida* проявили більшу чутливість стосовно *Bacillus pumilus* LA 56 – на 7,33 %, та до *Bacillus coagulans* ALM 86 – на 29,16 %, порівняно з антибіотиком. Таким чином, визначено три пробіотичних штамів мікроорганізмів, до яких проявили найбільшу чутливість мікроорганізми ізольовані у приміщенні телятника.

За результатами досліджень встановлено, що *Bacillus coagulans* ALM 86 проявляв максимальні антагоністичні властивості порівняно з антибіотиком.

Мікроклімат у приміщенні для утримання телят на відлученні відповідав санітарно-гігієнічним нормам, за винятком показника мікробної

забрудненості, який перевищував допустимі межі в дослідному приміщенні восени на 10,21 %, взимку – на 23,53 % та навесні – на 12,81 %. У контрольному приміщенні утримання рівень мікробних тіл був вищий за норму восени – на 8,69 %, взимку – на 25,26 % та навесні – на 9,37 %.

У подальшому дослідженні з'ясовано вплив пробіотичних штамів *Bacillus* на формування мікрофлори шлунково-кишкового тракту та приріст живої маси у телят. Для достовірності результатів експеримент проводили протягом місяця і по закінченню дослідження визначали видовий склад мікрофлори шлунково-кишкового тракту у телят. Крім того, для запобігання непередбаченого впливу на організм телят щодо обраних пробіотичних штамів мікроорганізмів *Bacillus amyloliquefaciense*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* визначали рівень основних біохімічних показників у сироватці крові.

Було встановлено, що максимальний позитивний вплив на мікрофлору шлунково-кишкового тракту телят до 30 добового віку мав *B. coagulans* (1×10^9) при вживанні в дозі 5 г на тварину. При цьому кількість *Lactobacillus sp.* була максимальною і досягла 800 КУО/г, що більше на 80%, у порівнянні з контрольною групою. Разом з цим, рівень умовно-патогенних мікроорганізмів у дослідній групі з *B. coagulans* мав мінімальні показники і складав: *Clostridium* на 20 %; *Escherichia coli* – на 70 %; *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* та *Candida* – на 100 %, менше порівняно до контролю.

У хімусі телят, яким задавали *B. mucilaginosus*, була більша кількість *Candida* – до 300 КУО/г та *Enterobacteriaceae* – 200 КУО/г, що на 50 % менше порівняно до контролю. *B. megaterium* не пригнічував ріст *Clostridium*, *Staphylococcus* та *Candida* – на 10-15 % менше порівняно до контролю.

У групі, де застосовували в якості пробіотика *B. pumilus*, не значно зменшилась кількість *Clostridium*, *Candida* та *Enterobacteriaceae*, порівняно до контролю (на 35 %).

B. amyloliquefaciense не створював сприятливих умов для росту та розмноження *Lactobacillus sp.* (до 100 КУО/г). Однак при цьому рівень

Clostridium, *Staphylococcus* та *Enterobacteriaceae* не перевищував 200-100 КУО/г.

Жива маса телят, яким задавали *Bacillus coagulans* ALM 86, була вірогідно більше на 22,16 % та середньодобовий приріст – на 24 %, порівняно з групою контролю (* $p \leq 0,05$).

Доведено, що застосування телятам пробіотиків вплинуло на збільшення рівня загального протеїну з *B. coagulans* на 20 %; *B. mucilaginosus* – на 22%; *B. megaterium* – на 18 %; *B. pumilus* – на 10 %; *B. amyloliquefaciense* – на 12 %, порівняно до тварин контрольної групи. Також у дослідних групах збільшився рівень глобулінів з *B. coagulans* на 17 %; *B. mucilaginosus* – 20%; *B. megaterium* – на 18 %; *B. pumilus* – на 20 %; *B. amyloliquefaciense* – на 17 %, що вказує на імуностимулюючий вплив пробіотиків. Активність ферментів аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази була у межах фізіологічної норми.

Наступним етапом досліджень було проведення визначення терапевтичного ефекту від застосування *Bacillus coagulans* при диспепсії телят.

У процесі дослідження з'ясувалось, що в дослідній групі рівень лактобактерій збільшився в ході лікування порівняно до контрольної групи телят. На момент завершення дослідження рівень *Lactobacillus sp.* та *Bifidobacterium sp.* збільшився у першій дослідній групі на 130,8–469,8 %, у другій – на 151,58–272,7 % відповідно у порівнянні з початком лікування.

Після проведення лікування кількість *Enterobacter sp.* зменшилась у першій дослідній групі – на 44,3 %, у другій – на 69,38 %. Рівень *Citrobacter sp.* зменшився у групі телят, яку випоювали *B. Coagulans* у дозі 3 г на 62,18 %. У другій дослідній групі кількість *Citrobacter sp.* зменшилась на 75,97 %. В дослідній групі по закінченню експерименту відбувалось зменшення дріжджоподібних грибів на 76,5 %, у другій – на 95,16 %, порівняно з початком лікування. Проведені експерименти доводять, що *B. coagulans* ефективний як для лікування, так і для профілактики

діареї, спричиненої *Clostridium*. При проведенні експерименту було встановлено, що кількість *Clostridium sp.* зменшувалась при додаванні *B. coagulans* у першій дослідній групі на 73,7 %, у другій – на 90,18 % відповідно до контролю.

Проведене дослідження показало, що середньодобовий приріст телят тижневого віку та споживання корму були однаково невисокі у всіх групах через проблеми з травленням, що проявлялись у вигляді діареї. На двадцять першу добу експерименту у контрольній та дослідних групах телят проявів діареї не спостерігали. Також збільшився середньодобовий приріст у дослідній групі на 19,7 %, у другій – на 23,4 %, в порівнянні з контролем. Відповідно збільшилось і споживання корму у першій дослідній групі на 15,0 %, у другій – на 19,9 %. У даному дослідженні було доведено, що введення *B. coagulans* ALM 86 в концентрації 1×10^9 , КУО/г у дозі 3 – 5 г на кожну тварину зменшує частоту діареї, сприяє збільшенню середньодобового приросту та споживанню корму. В ході експерименту було встановлено, що початок роботи рубця у дослідних груп телят був раніше на чотири доби, порівняно з контрольною групою.

Для з'ясування впливу *B. coagulans* ALM 86 на метаболізм телят проводили біохімічне дослідження сироватки крові. Встановлено, що рівень загального протеїну був вищим у першій дослідній групі на 18,57 %, у другій – на 22,6 %, порівняно до контролю, за рахунок збільшення вмісту глобулінів. Рівень глобулінів був вірогідно більшим у першій дослідній групі на 49,3 %, у другій – на 57,37 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контролем.

Вміст сечовини у сироватці крові телят дослідних та контрольної груп був у межах фізіологічної норми, однак у тварин контрольної групи рівень сечовини наблизився до мінімальних показників. Також в результаті застосування телятам *B. coagulans* ALM 86 було встановлено зниження рівня загального холестерину у першій дослідній групі на 41,61 %, у другій – на 58,95 %, порівняно з контрольною. Встановлено, що у першій дослідній групі вміст креатиніну в крові був вірогідно менший на 17,11 %, у другій – на

22,16 %, порівняно до контролю ($p \leq 0,05$).

Рівень глюкози у сироватці крові тварин дослідних та контрольних груп був практично на одному рівні у межах фізіологічної норми, що також вказує на нормальний метаболізм в організмі.

Активність ферменту аланінамінотрансферази (АЛТ) в сироватці крові контрольної групи телят був на максимально допустимій межі референтного рівня, що вказує на інтоксикацію організму внаслідок диспепсії. У телят дослідної групи завдяки використанню пробіотика *B. coagulans* ALM 86 був достовірно нижчий АЛТ у першій групі на 60,22 %, у другій – на 63,06 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контрольною.

У телят першої дослідної групи рівень ферменту аспаратамінотрансферази (АСТ) був менший на 58,15 %, у другій на 63,07 % ($p \leq 0,05$), порівняно до контролю.

За результатами дослідження встановлено, що у телят контрольної та дослідних груп рівень циркулюючих імунних комплексів та серомукоїдів був однаковим у фізіологічних межах.

Наступним етапом досліджень було визначення впливу ферментно-пробіотичної добавки (ФПД) на розвиток шлунково-кишкового тракту молочних телят.

Результати спостереження свідчать, що серед телят, які отримували ферментно-пробіотичну добавку, протягом перших трьох діб життя не зареєстровано жодного випадку діареї. Тоді як у тварин, які не отримували пробіотики 66,7% мали розлади травлення – диспепсію. Під час захворювання тварини були пригніченими, малорухливими, із відсутнім апетитом, задня частина тіла забруднена фекальними масами. В подальшому такі тварини, хоч і незначно, мали меншу інтенсивність росту.

Отже, включення до одного з випоювань молока ферментно-пробіотичної добавки щоденно одноразово забезпечує надійну (100 %) профілактику розладів травлення.

Дані отримані в ході дослідження доводять, що через тиждень

проведення експерименту у дослідній групі кількість бактерій вірогідно збільшилась ($p \leq 0,05$) на 83,5 %; інфузорій – на 65,2 %; ентодіноморфів – на 24,3 %. Уже через два тижні проведення експерименту із застосування добавки телятам значно збільшило масу мікроорганізмів у рубці. При цьому фізіологічні показники телят: температура, пульс, частота дихання та скорочення рубця були в нормі, вони мали гарний апетит. На 30-ту добу експерименту у дослідній групі, чисельність бактерій вірогідно збільшилась на 94,3 %; інфузорій – на 40,5 %; ентодіноморфів – на 26,7 %, порівняно до контролю.

Отримані дані реєстрації першої жуйки у телят доводять, що складові ферментно-пробіотичної добавки на основі *B. coagulans* ALM 86 та ферментів ксилаза та філюлаза, прискорюють заселення мікрофлорою та розвиток рубцевого травлення у телят у 2,5 рази в порівнянні із телятами контрольної групи.

Ключові слова: молодняк великої рогатої худоби, шлунково-кишкові розлади, диспепсія, приріст живої ваги, метаболізм телят, імунодефіцит, антибіотикорезистентність, мікробіом, пробіотики, Bacillus sp, мікробний антагонізм.

ABSTRACT

Yu. A. Dudchenko. Veterinary-sanitary assessment of the effectiveness of the use of probiotics in raising calves. – Qualifying scientific work on manuscript rights. Dissertation for the Doctor of Philosophy degree in specialty 212 – Veterinary hygiene, sanitation and expertise – Sumy National Agrarian University, MES of Ukraine, Sumy, 2023.

The dissertation presents a new method for the prevention of infectious diseases and the treatment of gastrointestinal disorders in calves using probiotic strains of *Bacillus spp.*. The therapeutic effect of the use of *Bacillus coagulans* ALM 86 in dyspepsia in calves at weaning has been established experimentally, the positive effect on the microbiome of the gastrointestinal tract, metabolism, functional activity of the rumen, live weight gain has been proven; the main causes of calf dysbacteriosis in farms were determined, the properties of the probiotic strain *B. coagulans* ALM 86 were investigated.

Research has established, the *Bacillus coagulans* ALM 86 strain is a gram-positive, rod-shaped spore-forming bacterium that can withstand the effects of high temperatures up to 80 °C and high acidity of the gastrointestinal tract and pressure. *B. coagulans* uses arabinose, xylose, glucose, galactose, mannose, fructose, maltose, sucrose and trehalose, does not hydrolyze starch, casein and gelatin, does not release hydrogen sulfide and indole In the process of metabolism, has a negative oxidase test.

As a result of the research, it was established that the erythrocyte adhesion index (EAI) was $1,70 \pm 0,09$, which is an indicator of low activity according to the Brylis classification. In addition, the coefficient of erythrocytes participation in the adhesion process (CEP) was $75,23 \pm 1,13$, the average adhesion index (AAI) was $1,40 \pm 0,03$. The low rate of erythrocyte adhesion of *Bacillus coagulans* is associated with the formation of a biocide – coagulin, which determines the bactericidal activity of the probiotic strain.

Studies have shown high sensitivity of *B. coagulans* to kanamycin,

rifampicin, gentamicin, lincomycin, oxytetracycline, streptomycin, chloramphenicol, vancomycin, and framycetin. The listed antimicrobial drugs pose a threat of *B. coagulans* destruction when used together.

Research has established that the main causative agents of diseases in young cattle are *S. agalactiae* (23%), *S. aureus* (11%), *S. epidermidis* (18%), *E. faecalis* (10%), *E. coli* (12%), *Mycoplasma spp.* (7%), *Candida spp.* (9%) and associated microflora (10%).

According to the results of the conducted microbiological studies, it was established that *Bacillus coagulans* ALM 86 showed antagonistic properties against *S. agalactiae* by 18.93% more, compared to the antibiotic cephalexin. Colonies of *S. aureus* showed sensitivity to *B. coagulans* ALM 86 more by 15.56%, and to *B. megaterium* NCH 55 the same with the antibiotic. *Bacillus pumilus* LA 56 strain inhibited *S. epidermidis* colony growth by 20,49% more than cephalexin.

The probiotic microorganism *Bacillus megaterium* NCH 55 showed antagonism against *E. faecalis* at the same level as the antibiotic. Around *Bacillus pumilus* LA 56, the inhibition zone of *E. coli* was 28,78% larger than the control. Yeast fungi of the genus *Candida* showed greater sensitivity to *Bacillus pumilus* LA 56 – на 7,33 %, and to *Bacillus coagulans* ALM 86 – by 29,16 %, compared to the antibiotic. Thus, three probiotic strains of microorganisms were identified, to which the microorganisms isolated in the calf house showed the greatest sensitivity.

Based on the research results, it was established that *Bacillus coagulans* ALM 86 showed maximum antagonistic properties compared to the antibiotic.

The microclimate in the room for keeping calves at weaning met sanitary and hygienic standards. However, the indicator of microbial pollution exceeded the permissible limits in the experimental room by 10,21 % in autumn, by 23,53 % in winter, and by 12,81 % in spring. In the holding room (control room) the level of microbes was higher than the norm in autumn – by 8,69 %, in winter – by 25,26 % and in spring by 9,37 %.

In the following study, the influence of probiotic strains of *Bacillus* spp. on the formation of the gastrointestinal tract microflora and the increase in calves live weight was determined. For the reliability of the results, the experiment was carried out for a month, and at the end of the experiment, the species composition of the gastrointestinal tract microflora of calves was determined. In addition, in order to prevent unforeseen effects of selected probiotic strains of microorganisms *Bacillus amyloliquefaciense*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* on the calves body, the level of basic biochemical indicators in blood serum was determined.

It was established that the maximum positive effect on the gastrointestinal tract microflora of calves up to 30 days of age had *B. coagulans* (1×10^9) when drinking at a dose of 5 g per animal. At the same time, the amount of *Lactobacillus* spp. was the maximum and reached 800 CFU/g, which is 80% more compared to the control group. Along with this, the level of opportunistic pathogens in the experimental group with *B. coagulans* had minimal indicators and was: *Clostridium* – by 20 %; *Escherichia coli* – by 70 %; *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* and *Candida* – by 100 %, less compared to the control.

In the chyme of calves that were given *B. mucilaginosus*, there was a higher amount of *Candida* – up to 300 CFU/g and *Enterobacteriaceae* – 200 CFU/g; which is 50 % less compared to the control. *B. megaterium* did not suppress the growth of *Clostridium*, *Staphylococcus* and *Candida* – by 10-15%, less compared to the control.

In the group where *B. pumilus* was used as a probiotic, the number of *Clostridium*, *Candida* and *Enterobacteriaceae* did not significantly decrease compared to the control (by 35 %).

B. amyloliquefaciense did not create favorable conditions for the growth and reproduction of *Lactobacillus* sp. (up to 100 CFU/g). However, the level of *Clostridium*, *Staphylococcus* and *Enterobacteriaceae* did not exceed 200-100 CFU/g.

Calves fed *Bacillus coagulans* ALM 86 had a 22,16 % higher live weight and a 24% higher average daily gain compared to the control group (* $p \leq 0,05$).

It has been proven that the use of probiotics for calves increased the level of total protein with *B. coagulans* by 20 %; *B. mucilaginosus* – by 22 %; *B. megaterium* – by 18 %; *B. pumilus* – by 10 %; *B. amyloliquefaciense* – by 12 %, compared to animals of the control group. Also, the level of globulins with *B. coagulans* increases by 17 % in the experimental groups; *B. mucilaginosus* – 20 %; *B. megaterium* – by 18 %; *B. pumilus* – by 20 %; *B. amyloliquefaciense* – by 17 %, which indicates the immunostimulating effect of probiotics. The activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase enzymes was within the physiological norm.

The next stage of research was to determine the therapeutic effect of using *Bacillus coagulans* in calf dyspepsia.

In the course of the study, it was found that the level of lactobacilli in the experimental group increased during the treatment compared to the control group of calves. At the end of the study, the level of *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. increased in the first experimental group by 13,8–469,8 %, in the second – by 151,58–272,7 %, respectively, compared to the beginning of treatment.

After treatment, the number of *Enterobacter* spp. decreased in the first experimental group – by 44,3 % and in the second – by 69,38 %. The level of *Citrobacter* spp. decreased by 62,18 % in the group of calves that drank *B. coagulans* at a dose of 3 g. In the second experimental group, the number of *Citrobacter* spp. decreased by 75,97 %. In the experimental group, at the end of the experiment, yeast-like fungi decreased by 76,5 %, in the second group by 95,16 %, compared to the beginning of treatment. Experiments have shown that *B. coagulans* is effective both in the treatment and prevention of diarrhea caused by *Clostridium* spp.. During the experiment, it was established that the number of *Clostridium* spp. decreased with the addition of *B. coagulans* in the first experimental group by 73,7 %, in the second by 90,18 %.

The conducted study showed that the average daily gain of one-week-old calves and feed consumption were not equally high in all groups due to digestive problems, which were manifested in the form of diarrhea. On the twenty-first day of the experiment, no manifestations of diarrhea were observed in the control and experimental groups of calves. Also, the average daily growth in the experimental group increased by 19,7 %, in the second group by 23,4 %, compared to the control. Accordingly, feed consumption in the first experimental group increased by 15,0 %, in the second by 19,9 %. In this study, it was proven that the introduction of *B. coagulans* ALM 86 at a concentration of 1×10^9 , CFU/g at a dose of 3-5 g per animal reduces the frequency of diarrhea, contributes to an increase in average daily growth and feed consumption. In the course of the experiment, it was established that the start of the rumen work in the experimental groups of calves was four days earlier, compared to the control group.

To determine the effect of *B. coagulans* ALM 86 on the metabolism of calves, a biochemical study of blood serum was performed. It was established that the level of total protein was higher in the first experimental group by 18.57%, in the second by 22,6 %, compared to the control, due to an increase in the content of globulins. The level of globulin was significantly higher in the first experimental group by 49,3 %, in the second by 57,37 % ($p \leq 0,05$), compared to the control.

The content of urea in the calves blood serum of the experimental and control groups was within the physiological norm, but the level of urea in the animals of the control group approached the minimum values. Also, as a result of the application of *B. coagulans* ALM 86 to calves, a decrease in the level of total cholesterol was established in the first experimental group by 41,61 %, in the second – by 58,95 %, compared to the control group. It was established that in the first experimental group the creatinine content in the blood was lower by 17,11 %, in the second by 22,16 %, compared to the control ($p \leq 0,05$).

The level of glucose in the blood serum of the animals of the experimental and control groups was practically at the same level within the physiological norm, which also indicates normal metabolism in the body.

The activity of the enzyme alanine aminotransferase in the blood serum of calves of the control group was at the maximum permissible limit of the reference level, which indicates intoxication of the body as a result of dyspepsia. In the calves of the experimental group, thanks to the use of the probiotic *B. coagulans* ALM 86, ALT was significantly lower in the first group by 60,22 %, in the second by 63,06 % ($p \leq 0,05$), compared to the control.

In the blood serum of calves of the first experimental group, the level of AST enzyme was lower by 58,15 %, in the second by 63,07 % ($p \leq 0,05$), compared to the control.

According to the results of the study, it was established that the level of circulating immune complexes and seromucoids in calves of the control and experimental groups was the same within physiological limits.

The next stage of the research was to determine the effect of the enzyme-probiotic supplement (FPD) on the development of the gastrointestinal tract of dairy calves.

The results of the observation show that among the calves that received the enzyme-probiotic supplement, during the first three days of life, not a single case of diarrhea was registered. Whereas in animals that did not receive probiotics, 66,7 % had digestive disorders - dyspepsia. During the disease, the animals were depressed, sedentary, with no appetite, the rear part of the body was contaminated with fecal masses. In the future, such animals, albeit slightly, had a lower intensity of growth.

Therefore, adding an enzyme-probiotic supplement to one of the milk drinks daily, once, provides a reliable (100 %) prevention of digestive disorders.

The data obtained during the study prove that after a week of conducting the experiment, the number of bacteria in the experimental group probably increased ($p \leq 0,05$) by 83,5 %; infusoria – by 65,2 %; entodinomorphs – by 24,3 %. Already after two weeks, conducting an experiment on the use of probiotics in calves significantly increased the mass of rumen microorganisms. At the same time, the physiological parameters of the calves: temperature, pulse, respiratory rate and

reduction of the rumen were normal, they had a good appetite. On the 30th day of the experiment in the experimental group, the number of bacteria probably increased by 94,3 %; ciliates – by 40,5 %; entodinomorphs – by 26,7 %, compared to the control.

The obtained data of registration of the first chewing in calves prove that the components of the enzyme-probiotic supplement based on *B. coagulans* ALM 86 and enzymes: xylase and phyllulase accelerate the settlement of microflora and the development of rumen digestion in calves by 2,5 times compared to calves of the control group.

Key words: young cattle, gastrointestinal disorders, dyspepsia, live weight gain, calf metabolism, immunodeficiency, antibiotic resistance, microbiome, probiotics, Bacillus spp., microbial antagonism.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Scopus:

1. Shkromada O., Fotina, T., Berezovskyi, A., **Dudchenko, Yu.**, & Fotin, O. (2022). Determination of the therapeutic effect of the use of bacillus coagulans in calf dyspepsia. Scientific Horizons, 25(6), 9-20. [https://doi.org/10.48077/scihor.25\(6\).2022.9-20](https://doi.org/10.48077/scihor.25(6).2022.9-20) (Здобувач брала участь у проведенні досліджень, аналізі отриманих результатів та написанні статті).

Наукові праці опубліковані в виданнях країн ЕС:

2. Shkromada, O., **Dudchenko, Y.**, & Udovenko, Y. (2021). Use of probiotics for formation of microflora of gastrointestinal tract of calves. EUREKA: Health Sciences, (4), 94-100. <https://doi.org/10.21303/2504-5679.2021.001951> (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати й оформив статтю).

Наукові праці, опубліковані у наукових фахових виданнях України:

3. Rybachuk, Z., Shkromada, O., Predko, A., & **Dudchenko, Y.** (2020). Influence of probiotics “Immunobacterin-D” on biocenoses and development of the gastrointestinal tract of calves. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 22(98), 22-27. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9804> (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати й оформив статтю)

4. Shkromada, O., **Dudchenko, Y.**, & Udovenko, Y. (2020). Probiotic effect on a gastrointestinal microbiocenosis of calves. Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine, (1 (48), 3-8. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.1> (Здобувач брала участь у проведенні досліджень, аналізі отриманих результатів та написанні статті).

5. Shkromada, O. I., & **Dudchenko, Y. A.** (2021). STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PROBIOTIC STRAINS OF BACILLUS. Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine, (4 (55), 38-43. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2021.4.6> (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати й оформив статтю).

6. **Dudchenko, Y.** (2021). THE INFLUENCE OF KEEPING TECHNOLOGY ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF YOUNG CATTLE. Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology, 22(2), 130-135. <https://doi.org/10.36359/scivp.2021-22-2.15>

Інші видання:

7. Paliy, A.P., Gujvinska, S.O., Alrawashdeh, M.S., Shkromada, O.I., **Dudchenko, Yu.A.**, Kovalenko, L.M., Plyuta, L.V., Franchuk-Kryva, L.O., Kushch, L.L., Matsenko, O.V. (2020). Selection of technological regime and cryoprotector for lyophilization of lactobacteria (*Lactobacillus* spp.). Ukrainian Journal of Ecology, 10(4), 184-190. <https://www.ujecology.com/articles/selection-of-technological-regime-and-cryoprotector-for-lyophilization-of-lactobacteria-lactobacillus-spp.pdf> (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати й оформив статтю).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. **Дудченко Ю.А.** Вплив пробіотиків на шлунково-кишковий тракт молодняка II Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині» (м. Львів, Україна, 18-19 листопада 2021 року), С.52-53.

9. **Дудченко Ю.А.** Шлунково-кишкові проблеми при вирощуванні молодняка великої рогатої худоби. Матеріали науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 19 квітня

2021 року: тези доповіді. С. 210.

10. **Дудченко Ю.А.** Використання пробіотичних штамів для телят молочників. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та здобувачів освіти «Наукові здобутки у вирішенні актуальних проблем виробництва і переробки продукції тваринництва» 16 грудня 2021 року, м. Житомир, С. 129.

Методичні рекомендації

11. **Дудченко Ю.А., Шкромада О.І.** «Застосування пробіотиків при вирощуванні молодняка великої рогатої худоби». Суми, 2022. 28 с. (затверджені Вченою радою СНАУ, протокол № 12, від 25.04.2022 року). *(Здобувач проаналізував результати досліджень, підготував та оформив матеріали для методичних рекомендацій).*

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	21
ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1	28
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	28
1.1. Добробут молодняка великої рогатої худоби	28
1.2 Основні проблеми при вирощуванні молодняка ВРХ	31
1.2.1 Вплив системи утримання на здоров'я телят	31
1.2.2 Значення мікроклімату тваринницьких приміщень та фактори його формування	34
1.2.3 Формування роботи ШКТ у молодняка великої рогатої худоби	38
1.3 Проблеми формування імунітету у молодняка ВРХ	40
1.4 Використання пробіотиків при вирощуванні телят.....	49
1.5. Висновки з огляду літератури.....	52
РОЗДІЛ 2	54
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	54
2.1 Матеріали досліджень	54
2.2 Методи досліджень	55
РОЗДІЛ 3	61
РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	61
3.1 Дослідження властивостей <i>Bacillus coagulans</i> ALM86	61
3.1.1 Дослідження мікроскопічних та біохімічних властивостей штаму <i>Bacillus coagulans</i> ALM86	61
3.1.2 Визначення чистоти культури <i>Bacillus coagulans</i> ALM86.....	63
3.1.3 Визначення антагоністичних властивостей пробіотичних штамів <i>Bacillus</i>	65
3.2 Дослідження параметрів мікроклімату у приміщенні для утримання телят	69
3.3 Вплив пробіотичних штамів <i>Bacillus</i> на формування мікрофлори шлунково-кишкового тракту та приріст живої маси у телят.....	71

3.4 Дослідження впливу пробіотичних штамів <i>Bacillus</i> на метаболізм у телят	78
3.5 Визначення терапевтичного ефекту від застосування <i>Bacillus coagulans</i> при диспепсії телят	81
3.5.1 Дослідження мікробіому шлунково-кишкового тракту у телят.....	81
3.5.2 Результати дослідження фізіологічних показників телят за використання <i>B. coagulans</i>	86
3.5.3 Результати дослідження впливу <i>B. coagulans</i> ALM 86 на біохімічні показники крові телят	88
3.6 Вплив ферментно-пробіотичної добавки на розвиток шлунково-кишкового тракту молочних телят.....	91
РОЗДІЛ 4	97
УЗАГАЛЬНЕННЯ, АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	97
ВИСНОВКИ.....	107
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	110
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	111
ДОДАТКИ	136

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- FAO – Продовольча і сільськогосподарська організація
- Ig A – імуноглобулін А
- Ig G – імуноглобулін G
- Ig M – імуноглобулін M
- АЛТ – аланінамінотрансфераза
- АСТ – аспартатамінотрансфераза
- ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
- ВРХ – велика рогата худоба
- ГОСТ – Міждержавний стандарт
- ДСТУ – Національний стандарт України
- ЄС – Європейський Союз
- КУО – колонієутворювальні одиниці
- ЛЖК – леткі жирні кислоти
- МАФАНМ – мезофільні аеробні і факультативно анаеробні мікроорганізми
- МПА – м'ясопептонний агар
- МПБ – м'ясопептонний бульйон
- ОД – одиниці дії
- ПП – приватне підприємство
- ТОВ – товариство з обмеженою відповідальністю
- ФПД – ферментно-пробіотична добавка
- ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ВСТУП

Актуальність теми. Інтенсивні системи вирощування великої рогатої худоби передбачають окреме утримання телят і штучну відгодівлю заміном або цільним молоком. У новонароджених телят не встигає сформуватись шлунково-кишкова мікрофлора. Це уповільнює формування мікробних спільнот і може призвести до дисбактеріозу в травному тракті телят [99].

Ранній постнатальний період є критичним для формування кишкової мікрофлори для підтримки імунітету у новонароджених [111, 175]. Для формування імунітету слизової оболонки та запобігання колонізації патогенів важливі симбіотичні відносини між господарем і мікрофлорою кишечника. Рання колонізація кишечника корисною мікрофлорою має вирішальне значення для формування бар'єру в слизовій оболонці кишечника та імунної системи телят [33].

Низький рівень розвитку імунної системи у новонароджених телят пов'язаний з низкою захворювань, таких як стрес після відлучення та неонатальна діарея. Якщо терміново не вжити відповідні профілактичні заходи це негативно вплине на інтенсивність росту, фізіологічний стан і продуктивність телят [7].

Кормові добавки широко застосовуються у тваринництві [126, 141]. Пробіотики є однією з кормових добавок, яка має позитивний вплив на тварин. Пробіотики відносяться до живих мікроорганізмів, які сприяють балансу і діяльності шлунково-кишкового мікробіому, покращують обмін речовин та приріст у тварин [132, 84].

Науковці вивчали вплив пробіотиків на здоров'я та продуктивність молочних телят [84, 161]. Однак отримані результати суперечливі і не послідовні. Деякі дослідження показали, що пробіотики сприяють споживанню сухої речовини, збільшенню маси тіла та інтенсивності росту телят [29, 115].

Другі дослідники довели, що пробіотики не впливають на продуктивність та інтенсивність споживання корму [173].

Крім того, ряд науковців встановили, що пробіотики можуть збільшувати концентрацію IgA, IgG та IgM у крові та підвищувати імунітет телят [168].

Для системної оцінки впливу пробіотиків на телят був проведений ретельний аналіз у тваринництві. Дослідження показали, що пробіотики можуть збільшити середньодобовий приріст і знизити коефіцієнт конверсії корму, але це недостатньо доводить вплив пробіотиків на здоров'я телят [28, 94].

Крім того, дослідження були проведені на м'ясній породі великої рогатої худоби і був випробуваний обмежений спектр пробіотичних добавок. Таким чином, проведені дослідження є обмеженими і не дають повної картини впливу пробіотичних штамів мікроорганізмів на здоров'я молочних телят до відлучення [160, 174].

У дисертаційному дослідженні запропонований метод лікування діареї та сприяння формування шлунково-кишкової мікрофлори у молодняка великої рогатої худоби із застосуванням пробіотичних штамів бактерій родини *Bacillus*.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є окремим фрагментом науково-дослідної роботи Сумського національного аграрного університету за темою «Розробка та удосконалення ветеринарно-санітарних заходів для забезпечення профілактики, лікування, підвищення продуктивності та резистентності тварин» (державний реєстраційний номер 0119U101389).

Мета та завдання досліджень. Мета роботи – обґрунтування використання пробіотичних штамів бактерій родини *Bacillus* при вирощуванні молодняка великої рогатої худоби.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

- визначити біохімічні та мікроскопічні властивості штаму *Bacillus coagulans* ALM86;
- дослідити антагоністичні властивості штаму *Bacillus coagulans* ALM86 відносно умовно-патогенної мікрофлори;
- дослідити санітарно-гігієнічні умови утримання телят на відлученні;
- провести моніторинг мікроорганізмів циркулюючих у господарстві за вирощування молодняка великої рогатої худоби;
- визначити вплив пробіотичних штамів *Bacillus* на формування мікрофлори шлунково-кишкового тракту та приріст живої маси у телят;
- дослідити вплив пробіотичних штамів *Bacillus* на метаболізм у телят;
- визначити терапевтичний ефект від застосування *Bacillus coagulans* ALM86 за диспепсії телят на відлученні;
- визначити вплив ферментно-пробіотичної добавки на розвиток шлунково-кишкового тракту молочних телят.

Об'єкт дослідження – вплив пробіотиків на мікрофлору шлунково-кишкового тракту у телят та біохімічні показники їх крові за використання пробіотичних штамів бактерій родини *Bacillus*.

Предмет дослідження – імуностимулюючі, антагоністичні, метаболічні властивості пробіотичних штамів бактерій родини *Bacillus*, терапевтична ефективність використання пробіотику за шлунково-кишкових розладів.

Методи дослідження. У роботі використані такі методи досліджень: аналітичні (аналіз літературних джерел, узагальнення результатів досліджень), фізіологічні (визначення фізіологічного стану тварин), протимікробні (визначення мікробного антагонізму), мікробіологічні (дослідження складу шлунково-кишкової мікрофлори); метаболічні

(визначення біохімічного складу сироватки крові), продуктивні (вплив на продуктивність телят), статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше в Україні були випробувані пробіотичні штами бактерій родини *Bacillus* для вирощуванні молодняка великої рогатої худоби у виробничих умовах. Визначено ефективні терапевтичні дози пробіотиків для відновлення мікробіому шлунково-кишкового тракту у телят. Досліджені протимікробні властивості *Bacillus coagulans* ALM86 стосовно патогенної мікрофлори травного каналу телят. Встановлено приріст живої ваги та позитивний вплив на органи і тканини організму телят. Доведений вплив ферментно-пробіотичної добавки на функціональну активність рубця у молодняка великої рогатої худоби.

Вперше в Україні запропоновано застосування пробіотику для лікування диспепсії у телят, як альтернатива протимікробним препаратам.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами проведених досліджень розроблено листівку-вкладку по використанню пробіотичного штаму *Bacillus coagulans* ALM86 для телят молочного періоду, на основі чого впроваджено у виробництво в ПП «Кронос Агро» пробіотичної добавки.

Результати роботи ввійшли до практичних занять та курсу лекцій з дисципліни «Ветеринарна гігієна та санітарія тварин» при підготовці студентів у галузі 21 «Ветеринарна медицина» зі спеціальності 212 – Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза у Сумському національному аграрному університеті.

За результатами дисертаційного дослідження розроблені методичні рекомендації «Застосування пробіотиків при вирощуванні молодняка великої рогатої худоби», які можуть бути використані для практичного застосування лікарів ветеринарної медицини у господарствах, та в якості додаткового наукового літературного джерела для самостійної роботи студентів, лекційних та лабораторно-практичних занять зі спеціальності 212 – Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза.

Виробничу перевірку пробіотичних штамів мікроорганізмів проводили у господарстві з вирощування великої рогатої худоби ТОВ Агрофірма «Лан» с. Кіндратівка, Сумського району, Сумської області; ТОВ Агрофірма «Хлібодар» с. Головашівка Сумського району Сумської області Україна.

Особистий внесок здобувача полягає в самостійному проведенні дослідів, розробці програми експериментів, узагальненні та аналізі результатів роботи. Здобувач самостійно спланувала та провела виробничі дослідження у господарстві та відібрала матеріал для лабораторії. В результаті проведених експериментів була визначена ефективна терапевтична доза пробіотичного штаму *Bacillus coagulans* ALM86 для лікування шлунково-кишкових розладів у телят. Здобувач визначила вплив пробіотичних штамів *Bacillus* на мікробіом шлунково-кишкового тракту, метаболізм, функціональну активність рубця, приріст живої ваги, дослідила властивості пробіотичного штаму *B. coagulans* ALM 86. Здобувач визначила основні причини виникнення дисбактеріозу у телят в господарствах.

Інтерпретацію отриманих даних, узагальнення, висновки та пропозиції виробництву були оформлені за участі наукового керівника.

Апробація результатів досліджень. Основні положення дисертації викладено на Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів Сумського національного аграрного університету 2019-2023 р.р.; на II Міжнародній конференції Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій С.З.Гжицького «Сучасні методи діагностики лікування та профілактика у ветеринарній медицині» (м. Львів, Україна, 18-19 листопада 2021 року); на всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та здобувачів освіти «Наукові здобутки у вирішенні актуальних проблем виробництва і переробки продукції тваринництва». Технологічний факультет Поліського національного університету. (16 грудня 2021 м. Житомир).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових праць, у тому числі 1 – у науково-метричних базах (Scopus), 4 – у наукових фахових виданнях України, 1 – у виданні країн ЄС, 3 – у матеріалах конференцій, 1 – інші видання, 1 науково–методичні рекомендації.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 110 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 13 таблицями та 8 рисунками і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, результатів власних досліджень, узагальнення, аналізу та обговорення отриманих результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел, додатків. Список використаних джерел літератури включає 175 найменувань.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Добробут молодняка великої рогатої худоби

Збільшення розміру стада призводить до того, що щорічно на фермі народжується більше телят. Однак будь-яке збільшення розміру стада не повинно призводити до нестійких робочих навантажень і поганого самопочуття телят, спричинених неоптимальними методами управління та нестандартними приміщеннями [1, 124].

Структурні компоненти внутрішнього утримання можуть мати негативні наслідки для добробуту телят. Наприклад, недосконала система видалення гною може спричинити накопичення екскрементів з подальшим зростанням мікроорганізмів, що зрештою призведе до погіршення здоров'я телят [123]. Це може статися, коли існуючі будівлі переобладнують для вирощування телят. Такі споруди часто придатні лише для тимчасового використання і з часом вимагають спеціального перебудування об'єкта [153]. Виробничі дослідження показують, що телята піддаються більшому ризику важких респіраторних захворювань у таких приміщеннях. Хоча структурні елементи утримання телят впливають на добробут, управлінські рішення та методи, які застосовуються на фермі, також відіграють невід'ємну роль. Наприклад, телята, яких утримували в групах меншого розміру (<10 телят), мали менше проблем з диханням, ніж групи з 12–18 телят [154].

Відповідний повітряний простір (принаймні 7 м³/теля) і заборона використання спільного повітряного простору зі старшим поголів'ям допомагає запобігти респіраторним інфекціям [151]. Крім того, більший простір збільшує можливості для активної поведінки (тобто, соціальні взаємодії, ігри та прогулянки), ймовірно, задовольняючи потреби виконувати нормальний діапазон цих видів поведінки [152].

Таким чином, переміщення телят із вагою менше 150 кг на відкритому повітрі на ранній стадії може сприяти тому, що в цих ситуаціях допуски на простір переміщуються до нижньої межі нормативної шкали. Тим не менш, виділення простору є одним із багатьох управлінських рішень, прийнятих на рівні ферми, які впливають на добробут телят, наприклад, розмір групи і спільне використання повітряного простору [93]. У той час як більшість фермерів сказали, що розміри груп часто були > 12 телят/загін, весняне обстеження показало, що групи найчастіше були < 12 телят/загін. Це позитивно, оскільки менші групи телят (в ідеалі < 10 телят) пов'язані зі зменшенням респіраторних проблем і покращенням добробуту (вираження ігрової поведінки). Більші групи, ймовірно, збігаються з використанням автоматичної годівниці, яка також має певні переваги для добробуту [3].

Телятам на фермі зазвичай забезпечували достатній об'єм повітря, що позитивно впливає на здоров'я телят. Сприяння зміні повітря в будинку регулює температуру та вологість, мінімізуючи при цьому застій мікроорганізмів, що перебувають у повітрі [52]. Подібно до попереднього дослідження [119], у цьому дослідженні було виявлено взаємозв'язок, згідно з яким діарея була менш імовірною проблемою на фермі, якщо телятам було забезпечено достатню кількість повітря та площі підлоги. Повітряний простір не часто використовується для старшої худоби, і станки для отелення найчастіше знаходяться в іншому приміщенні, ніж у приміщенні для вирощування телят. Доросле поголів'я має тенденцію переносити та передавати патогени молодняку, що може загрожувати здоров'ю телят, особливо у зв'язку з респіраторними інфекціями [4].

Приміщення, в яких використовуються окремі загони, зазвичай відповідають мінімальним вимогам, однак більшість із них не забезпечують переднього та бічного контакту з сусідніми телятами. Враховуючи, що час, проведений у цих загонах, як правило, не перевищує п'яти днів (після цього відбувається перегрупування), соціальна ізоляція може не бути суттєвою проблемою протягом цього короткого проміжку часу. У природних умовах

телята починають групову соціалізацію та віддаляються від матері на другому тижні життя. Тим не менш, більшість ферм групують телят відразу після народження, тобто це не проблема [100].

Перегрупування після народження може заощадити працю, оскільки персонал може доглядати за телятами колективно, а не окремо. Це також може зменшити вимоги до обладнання (тобто групові годівниці, а не індивідуальні та групові годівниці). Більшість групових загонів не мали достатнього нахилу 1:20, що, ймовірно, спричиняло проблеми з дренажем. Це може спричинити накопичення екскрементів у загоні, насичуючи підстилку і, отже, збільшуючи ризики захворювання телят. У більшості будинків не було протягів (що визначаються як швидкість вітру понад 0,5 м/с на рівні ніг), однак у тих, де були, більшість не були на рівні литок. Оскільки очікується п'ять-шість змін повітря в будинку щогодини [156], цей рух повітря над головою може сприяти цим змінам. Повітряний потік згадується як спосіб захисту здоров'я теляти з точки зору регулювання температури, вологості, газів (наприклад, аміаку) і застійних мікроорганізмів, що є корисним для загального добробуту [6].

На фермах зазвичай можна побачити два телятника, що було певною мірою ймовірно через те, що основним критерієм розподілення до різних приміщень була стать. Це може бути запобіжним заходом біозахисту, щоб мінімізувати розповсюдження інфекції через значну скупченість поголів'я на обмеженій території [167].

Крім того, використання декількох приміщень дозволяє зменшити спалахи захворювань серед телят [112]. Якщо телята не були поділені в різних приміщеннях за статтю, більшість фермерів тримали биків і телиць в окремих загонах. Це добре, оскільки це показує, що групування телят буде більш статичним, ніж динамічним.

Динамічні групи – це групи, в які постійно вводять і відлучають нових телят, і це може мати негативні наслідки для здоров'я, росту та загального добробуту телят; соціальний стрес виявляється у п'ятимісячних молочних

телиць [122]. Телят різного віку часто утримують в одному стаціонарному загоні до тих пір поки він заповниться. Таке групування мінімізує вплив патогенів, а також полегшує дезінфекцію між груповими загонами [8, 82].

Створення сприятливих умов утримання для телят-відлучників є основним завданням на першому етапі з вирощування молодняка великої рогатої худоби.

1.2 Основні проблеми при вирощуванні молодняка ВРХ

1.2.1 Вплив системи утримання на здоров'я телят

У господарствах по вирощуванню великої рогатої худоби популярне поєднання закритого та відкритого вирощування телят. Для телят вихід на вулицю перед відлученням дозволяє споживати траву як джерело їжі, що потенційно покращує навички пошуку їжі.

Дослідження показують, що вівці добувають їжу ефективніше, коли вони раніше стикаються з рослинами, що також може стосуватися телят [14, 143]. Крім того, з плином сезону замкнуті телятники стають ідеальним середовищем для розповсюдження патогенів (теплі та вологі умови), і інфекції можуть експоненціально поширюватися серед телят [116].

Пересування на свіжому повітрі може зменшити вільний простір і тиск у сараї, зменшуючи пов'язані з цим ризики. Це безпосередньо вплине на роботу з вирощування телят, оскільки догляд за хворими телятами, ймовірно, є дуже трудомістким процесом [102]. Телята зазвичай виходять на вулицю після досягнення ними тритижневого віку; ця затримка може бути позитивною, оскільки з віком телята стають міцнішими, тобто покращується терморегуляція (старші телята мають кращу здатність до терморегуляції) і розвиток травлення (бродіння в рубці сприяє виробленню тепла) [134]. Крім того, для телят передбачено тепле приміщення, де вони можуть зігрітись та захиститись від змінних погодних умов весни [11].

Враховуючи, що молозиво є першою лінією захисту теляти від інфекції, надзвичайно важливо переконатися, що молозиво високої якості (висока якість означає >50 г/л IgG;) для створення колострального імунітету [170].

Небагато ферм сприяли контакту корів з телятами у формі смоктання після отелення (споживання молозива), жодна ферма не застосовувала цю практику після споживання молозива. Це вказує на те, що на молочних фермах контакт корови з телям не є поширеним явищем [160, 163].

Телятам зазвичай пропонують більше п'яти годувань заміником молока після молозива [23].

Хоча не якісне молоко частіше пропонують бикам, ніж телицям, не значна кількість господарств застосовує цю практику, що наражає на небезпеку пов'язаною з антимікробною резистентністю [18].

Цільне молоко найчастіше згодовують бикам, можливо, з економічних міркувань щодо вартості заміника молока, тоді як заміник молока найчастіше згодовують телицям, потенційно з міркувань біозахисту та передачі хвороб або для компенсації зменшення грошового потоку через зменшення обсягу реалізації молока. Asheim та ін., [16], порівняли кількісні показники застосування молока та його заміника в господарствах.

Молоко здебільшого згодовується вручну через годівницю, тому немає контролю над кількістю молока, яке споживають телята в груповому утриманні. Це викликає занепокоєння, особливо в умовах обмеженої годівлі, оскільки швидкість напування телят значно відрізняється [42]. Без контролю швидкості напування телята, які п'ють швидше, споживають значно більше молока, ніж телята, які п'ють повільніше. Автоматичні годівниці були відзначені як корисна технологія щодо вирощування телят. Було виявлено відносно низьке використання цього обладнання на фермі [12, 98].

Ручні системи годівлі також були більш популярними, ніж автоматизовані системи, у канадському дослідженні, згідно з яким фермери виявили, що витрати є перешкодою для інвестицій в автоматичні годівниці,

натомість їм сподобався рівень виявлення захворювань і легкість поводження з телятами, пов'язані з ручними системами [13, 80].

Хоча опитування не проводилося безпосередньо на основі міркувань, можливо, це також стосується фермерів у цьому опитуванні. Ще один момент, який викликає занепокоєння, пов'язаний з практикою годування, – це вік, коли починається годування один раз на день. Майже половина (42,9%) ферм впроваджує годівлю один раз на день до тритижневого віку, що викликає занепокоєння у добробуті. Годівлю один раз на день слід починати лише після того, як теля досягне 28-денного віку, оскільки його травна система не в змозі керувати нечастими великими об'ємами корму до цього моменту [34], однак це ще досить молодий вік. Крім того, це порушує здатність теляти виконувати природну поведінку смоктання, у спосіб, який імітував би природний сценарій з коровою (виділена перевага автоматичних годівниць [135, 169]).

Більшість ферм щодня миють обладнання для годівлі, причому більше половини використовують миючі засоби принаймні раз на тиждень (деякі частіше). Неадекватне та рідкісне очищення є великою проблемою при вирощуванні телят; управління гігієною (а також заходи біозахисту) може мінімізувати передачу інфекційного агента серед телят [22].

У господарствах загои вичищаються кожні два тижні, при цьому більшість також використовує дезінфікуючі засоби. Належна гігієна та дезінфекція навколишнього середовища є ефективним способом боротьби з поширенням збудників хвороб [59].

Фермери відзначили майже третину сараїв, які заявили, що потребують модифікації для підвищення ефективності праці під час прибирання. Це демонструє здатність критично дивитися на ферму та визначати сфери, які потребують покращення. Критичне мислення є важливою навичкою для досягнення на робочому місці, оскільки воно демонструє розвиток навичок комунікації, прийняття рішень, аналізу та вирішення проблем, що, ймовірно, сприятиме розвитку життєздатних методів ведення господарства [15, 25].

Таким чином, спосіб вирощування молочних телят у господарствах передбачає групове утримання у загонах, що є зручним з точки зору обслуговування, але має негативний вплив на імунітет тварин та передачу інфекцій у стаді.

1.2.2 Значення мікроклімату тваринницьких приміщень та фактори його формування

Створення та підтримання мікроклімату в тваринницьких приміщеннях є дуже важливим для вирощування молодняку великої рогатої худоби. Разом із повноцінною годівлею мікроклімат визначає здоров'я, відтворну здатність і виробничий потенціал тварин (отримання максимальної кількості якісної продукції). Сучасні технології тваринництва висувають високі вимоги до мікроклімату в тваринницьких приміщеннях. За оцінками зоотехніків, продуктивність тварин на 50–60 % визначається кормом, на 15–20 % – доглядом, на 10–30 % – мікрокліматом у тваринницькому приміщенні. Відхилення від встановлених меж параметрів мікроклімату призводить до зниження молочної продуктивності на 10–20 %, споживання додаткового корму з подальшим збільшенням живої маси на 20–33 %, збільшення відходів молодняку на 5–40 % та зниження імунітету, а також скорочення ресурсу обладнання, машинного парку та самих будівель [17, 89].

Забезпечення прийнятних умов для ефективної роботи тваринницької ферми взимку, особливо підтримання нормального температурного режиму, потребує значних ресурсів. Однак спроби утеплити стіни та встановити правильну систему опалення можуть бути марними, якщо тепло вільно просочується через вікна чи ворота. Особливо це стосується тваринницьких приміщень, у яких передні ворота відкриваються дуже часто або навіть залишаються відкритими протягом тривалого часу. Цю проблему вирішують встановленням повітряної завіси на вхідних дверях у тваринницьких тамбурах. Тому одним із важливих напрямів порядку денного щодо

збереження та ефективного використання паливно-енергетичних ресурсів є розробка та впровадження енергозберігаючого обладнання для створення мікроклімату у тваринницьких приміщеннях. Це означає не лише підвищення технологічних можливостей повітряних завіс, а й впровадження автоматизованих систем керування для підтримки параметрів процесу на заданому рівні [20, 21].

Тваринництво є одним із основних енергоспоживачів сільського господарства з часткою 17,2–21,3 % у загальному енергоспоживанні галузі. Крім того, ферми великої рогатої худоби є основними споживачами енергії у тваринництві (46-51,5% від загального енергоспоживання галузі). Проаналізувавши структуру енерговитрат на виробництво молока, встановлено, що найбільшу питому вагу в загальних витратах займають енерговитрати на створення та підтримання оптимального мікроклімату в тваринницьких приміщеннях. Тому одним із основних напрямків зниження загальних енерговитрат на виробництво молока, а отже і його загальної вартості, є розробка та впровадження енергозберігаючого обладнання для створення та підтримки рекомендованого мікроклімату у тваринницьких комплексах [26, 61].

Основними причинами незадовільного мікроклімату в приміщеннях є низький теплозахист огорожувальних конструкцій (стін, перекриттів, даху, воріт, вікон тощо) і вкрай недостатній рівень повітрообміну, а також не налагоджена робота системи каналізації та антисанітарний стан лігва (стійла, клітки). Взимку в таких приміщеннях створюються дуже несприятливі умови через низьку температуру і високу вологість повітря, вологі стіни, стелі або комбіновані покриття, які підвищують тепловіддачу від тіла тварин і сприяють їх охолодженню, а влітку - висока температура і вологість у приміщеннях викликають перегрів тварин і зниження їх продуктивності [32, 166]. При недотриманні правил експлуатації приміщень, недостатній повітрообмінній вентиляції, поганій каналізації та антисанітарному стані лігва для тварин у повітрі приміщень значно підвищується вологість і

концентрація вуглецю діоксиду, аміаку і сірководню, а також іонізація повітря і, зокрема, вміст негативних легеневих іонів [35, 58].

У повітряному басейні тваринницьких приміщень в мг/л повітря концентрація амоніаку не має перевищувати 0,0026%, вуглекислого газу – 0,25%, і сірководню – 0,001%, відповідно. Для підтримки необхідної температури, вологості і чистоти повітря найважливішим параметром регульованого мікроклімату в тваринницьких приміщеннях є повітрообмін. Кількість повітря, що подається за допомогою вентиляції на одну голову в м³/год приблизно повинна становити (за даними вітчизняних і зарубіжних авторів); для дорослої великої рогатої худоби 100-175, молодняку на відгодівлі 50-100, молочних телят 20-30. Для проектування вентиляції в зимових умовах рекомендовано наступні мінімальні витрати свіжого повітря в м³/год на голову: корови 100-160, телята 11-16. Влітку збільшити подачу повітря в 4-6 разів [37, 43].

Загалом очищення припливного повітря включає: видалення пилу, видалення запаху (дезодорацію), нейтралізацію (дезінфекцію), підігрів, зволоження, осушення, охолодження. Розробляючи технологічну схему обробки припливного повітря, прагнуть зробити цей процес максимально економічним, а автоматичне управління – найпростішим. Крім того, приміщення повинно бути сухим, теплим, добре освітленим і ізольованим від зовнішніх шумів [146, 155].

Важливу роль у формуванні параметрів мікроклімату відіграє будова приміщення та конструкції. Приміщення часто переохолоджуються, тварини хворіють на простудні захворювання. З усіх факторів мікроклімату найважливішу роль відіграє температура повітря в приміщенні, а також температура підлоги та інших поверхонь, оскільки вона безпосередньо впливає на терморегуляцію, теплообмін, обмін речовин в організмі та інші життєві процеси.

Вентиляція приміщень має велике значення. Примусова вентиляція забезпечує постійний повітрообмін незалежно від пори року. Відповідна

вентиляція забезпечує достатню кількість свіжого повітря, підтримує оптимальну температуру та вологість і розріджує газоподібні (наприклад, аміак) і тверді забруднювачі повітря, такі як (вдихуваний) пил та його забруднювачі. Вдихувані частинки органічного пилу (<100 мкм) походять із фрагментів рослин, луски шкіри, хутра та мікробів, таких як бактерії та гриби. Зовнішня клітинна стінка грамнегативних бактерій містить ліпополісахаридні структури, також відомі як ендотоксини [46]. Ендотоксини присутні в навколишньому середовищі; однак у професійному середовищі та сільськогосподарських умовах, таких як стайні для тварин, концентрації вищі [9, 38].

Крім того, аміак утворюється внаслідок активності бактерій на невсмоктаних поживних речовинах і сечовині в калі та сечі тварин. Викид аміаку корелює з температурою та вологістю навколишнього середовища. Як у людей, так і у тварин, високі концентрації ендотоксинів і аміаку, як повідомляється, пов'язані з гострими та хронічними респіраторними симптомами [162]. Таким чином, поряд із достатніми гігієнічними заходами, вольєри для тварин повинні мати постійну та достатню вентиляцію, щоб забезпечити здоров'я та благополуччя тварин та осіб, які доглядають за ними.

Сучасні технології тваринництва висувають високі вимоги до мікроклімату в тваринницьких приміщеннях. За оцінками зоотехніків, продуктивність тварин на 50–60 % визначається кормом, на 15–20 % – доглядом, на 10–30 % – мікрокліматом у тваринницькому приміщенні. Відхилення від встановлених меж параметрів мікроклімату призводить до зниження молочної продуктивності на 10–20 %, споживання додаткового корму з подальшим збільшенням живої маси на 20–33 %, збільшення відходів молодняку на 5–40 %, зниження несучості курей на 30–35 % та зниження імунітету, а також скорочення ресурсу обладнання, машинного парку та самих будівель [120, 135].

Забезпечення прийнятних умов для ефективної роботи тваринницької ферми взимку, особливо підтримання нормального температурного режиму,

потребує значних ресурсів. Однак спроби утеплити стіни та встановити правильну систему опалення можуть бути марними, якщо тепло вільно просочується через вікна чи ворота. Особливо це стосується тваринницьких приміщень, у яких передні ворота відкриваються дуже часто або навіть залишаються відкритими протягом тривалого часу [108, 118].

Регулювати мікроклімат можна за допомогою комплексу обладнання. Організм тварин знаходиться в постійній взаємодії із зовнішнім середовищем і, перш за все, з повітрям. Тому створення сприятливого мікроклімату в тваринницьких приміщеннях є однією з головних умов збереження здоров'я тварин і підвищення їх продуктивності [10, 39].

У тваринництві під мікрокліматом розуміють насамперед клімат приміщень для тварин, який визначається як сукупність агрегатного стану повітряного середовища, його загазованості, мікробної забрудненості з урахуванням стану самої будівлі та технологічного обладнання.

Мікроклімат – зовнішнє середовище, в якому протікає життя тварин і з яким вони перебувають у постійній взаємодії. Формування мікроклімату в тваринницьких приміщеннях залежить від кліматичних умов місцевості, об'ємно-планувальних рішень будівель, технології утримання тварин, ефективності систем вентиляції, опалення, теплотехнічних властивостей огорожувальних конструкцій, ефективності систем очищення гною, складу худоби, щільності розміщення, виду годівлі тварин, розпорядку дня, а також від дотримання санітарних вимог щодо утримання тварин та догляду за ними [41, 139].

Отже, економічна ефективність тваринництва залежить від умов раціонального утримання тварин.

1.2.3 Формування роботи ШКТ у молодняка великої рогатої худоби

Шлунково-кишковий тракт (ШКТ) відіграє важливу роль в енергетиці тварин, оскільки він використовує 20% кисню всієї тварини та відповідає за 30% метаболічної активності та синтезу білка корови [106, 107].

Рубець (з лівого боку тварини) є найбільшим із чотирьох відділів і розділений на кілька мішків. Він може вмістити 25 галонів або більше матеріалу, залежно від розміру корови. Завдяки своїм розмірам рубець діє як резервуар для зберігання корму. Рубець також є ферментаційним органом. Мікробна популяція в рубці перетравлює або ферментує корм, спожитий твариною. Умови в рубці сприяють росту мікроорганізмів.

Рубець поглинає більшу частину летких жирних кислот, які утворюються в результаті ферментації кормів мікробами рубця. Всмоктування летких жирних кислот і деяких інших продуктів травлення посилюється завдяки хорошему кровопостачанню стінок рубця. Крихітні виступи, які називаються сосочками, збільшують площу поверхні та всмоктувальну здатність рубця [103, 104].

Дослідження епітелію рубця розширилося протягом останніх п'яти років, при цьому особлива увага приділяється модуляції функції рубця у відповідь на збільшення кількості вуглеводів, що швидко зброджуються. Однак механізми, що контролюють відповіді, особливо в нижніх відділах кишечника, під час адаптації до дієти, погано вивчені [67].

Крім того, мікроби та метаболіти травлення та їх вплив на функцію та експресію генів нижнього відділу кишківника недостатньо добре охарактеризовані, що породжує потребу в подальших дослідженнях. Здатність модулювати функцію кишкового епітелію за допомогою поживних речовин і схем годівлі є важливою, оскільки це позитивно впливає на здоров'я та продуктивність молочних корів і телят [47, 129].

Склад і функції мікробна рубця були пов'язані з ацидозом рубця [114]. Серед великої рогатої худоби з SARA спостерігалось зменшення різноманітності бактерій із переважаючими типами *Firmicutes*, *Bacteroidetes* та всіх підгруп *Proteobacteria* [109]. Молоді телята, які не були адаптовані до раціону з високим вмістом зерна, особливо чутливі до гострого рубцевого ацидозу [56]. Швидше за все, це пов'язано з відсутністю добре розвиненої життєздатної популяції бактерій рубця, які можуть ефективно

використовувати молочну кислоту. Зміни в термінах і доступності складу харчового субстрату також були пов'язані зі змінами функції та складу бактеріального співтовариства рубця [172].

Аналіз змін і динаміки популяції мікробіому рубця у відповідь на ацидоз, спричинений кормом, може допомогти визначити біомаркери мікроорганізмів, що базуються на виді. Подальше застосування таких біомаркерів має потенціал для більш точної діагностики та подальшого профілактичного лікування.

Епітеліальна тканина рубця виконує багато метаболічних функцій, життєво важливих для здоров'я корови. До них належать поглинання поживних речовин, метаболізм, регуляція рН, а також імунна та бар'єрна функція. Незважаючи на ці важливі функціональні ролі, епітеліальні клітини рубця вразливі до ацидозу, який зазвичай призводить до паракератозу рубця, ерозії та виразки епітелію рубця [92]. Швидке бродіння, викликане зниженням рН, було пов'язане з порушенням бар'єрної функції в кишечнику. Кілька досліджень науковців, де вони оцінювали мікробні та транскриптомні зміни епітелію рубця, пов'язані з дієтами з високим вмістом зерна або клітковини під час переходу від відлучення телят [91]. Однак вплив спричиненого кормом рубцевого ацидозу на розвиток і здоров'я телят через тривалий час після відлучення не досліджувався. Зокрема, мало відомо про вплив спричиненого кормом ацидозу на транскриптом епітелію рубця та пов'язаний з ним склад мікробної популяції у телят після відлучення.

Спирання розвитку мікробіому у телят після народження зменшує ризики виникнення шлунково-кишкових розладів у тварин.

1.3 Проблеми формування імунітету у молодняка ВРХ

Інтенсифікація та розширення виробництва молока та яловичини неминуче призводить до підвищення ризику поширення та загострення інфекційних захворювань. Це вказує на те, що необхідно покращити розуміння імунної функції великої рогатої худоби, щоб забезпечити

оптимальні інструменти для боротьби з існуючими та майбутніми патогенами та покращити продовольчу безпеку. Незважаючи на те, що молочне та м'ясне скотарство є найважливішою галуззю сільського господарства у світі, на даний момент існує небагато комплексних оглядів імунобіології великої рогатої худоби. Високопродуктивна молочна худоба та її телята більш вразливі до різних захворювань, що призводить до скорочення тривалості життя та погіршення екологічної придатності [50, 159].

Новонароджені телята одразу після народження залежать від споживання молозива для забезпечення поживними речовинами та для створення пасивного імунітету. Окрім високого вмісту поживних речовин та імуноглобулінів, молозиво містить велику кількість непоживних біологічно активних речовин, таких як гормони та фактори росту [121], які можуть мати місцевий і системний вплив на постнатальне дозрівання новонароджених телят [125].

Споживання молозива відразу після народження має велике значення для підтримки колострального імунітету та формуванню мікробіому шлунково-кишкового тракту новонародженого теляти [63].

Постачання глюкози явно покращилося у телят, яких годували молозивом, порівняно з телятами, яких годували сумішшю з таким самим вмістом лактози, як у молозиві, але з набагато меншою кількістю біологічно активних факторів [57].

Споживання молозива впливає на неонатальний метаболізм та системи органів після першого споживання молозива [130].

Споживання молозива стимулює вироблення тепла у новонароджених телят та сприяє розвитку терморегуляції, яка важлива для адаптації до нових умов навколишнього середовища. Однак менше відомо про вплив першого згодовування молозива на використання поживних речовин усім тілом протягом першого тижня життя новонароджених телят і про те, чи відбувається довготривалий вплив на вуглеводи і окислення жирів через згодовування молозива.

Рання внутрішньоутробна та неонатальна смертність телят є основним фактором збільшення витрат виробництва. Крім того, під час перехідного періоду (3 тижні до і 3 тижні після отелення) молочні корови відчують імунний та метаболічний дисбаланс, що робить їх дуже вразливими до різних інфекційних та неінфекційних захворювань. Незважаючи на широку доступність вакцин і антимікробних речовин, інфекційні захворювання продовжують спричиняти значну захворюваність, смертність і економічні втрати для тваринництва [87].

Для підтримки оптимального здоров'я в стаді великої рогатої худоби надзвичайно важливо розуміти механізми природного імунітету та те, як слід використовувати вакцинацію, біозахист, годівлю, утримання та практику догляду за телятами для підтримки та посилення імунного захисту. Поява нових високопродуктивних технологій секвенування та публікація повного геному великої рогатої худоби прискорили дослідження, які значно розширили знання про імунну відповідь тварин [51, 145].

Мікобактерії та збудники маститу представляють дві основні загрози, що впливають на глобальне виробництво продукції скотарства та досягають 35 мільярдів доларів щорічних витрат у всьому світі. Респіраторні інфекції зазвичай пов'язані з кількома збудниками, тому їх називають комплексом респіраторних захворювань великої рогатої худоби. Вони є основними факторами значних економічних втрат в м'ясній та молочній промисловості. Відомо, що низка бактерій і вірусів пов'язана у поєднанні з іншими факторами стресу, включаючи спеку, холод, втому, недостатню гідратацію або харчування, травму або забруднення навколишнього середовища пилом. Подібним чином відомо, що кілька вірусних і бактеріальних збудників викликають важкі кишкові захворювання у телят і дорослої великої рогатої худоби [19].

Оскільки більшість вакцин проти кишкових патогенів мають низьку ефективність або не мають широкого захисту, загроза стійкості до антимікробних препаратів і, як наслідок, зменшення використання

антимікробних препаратів і часто різноманітна природа подразників, підтримання здорового стада може стати проблемою [53, 117].

Інші патогени, важливі для тваринництва, включають вірус ящуру – один із найбільш заразних і широко поширених вірусів, відомих, який може інфікувати кілька видів, включаючи людей; вірус лейкозу великої рогатої худоби, паратуберкульоз, криптоспоридіоз, лептоспіроз і бруцельоз. Окрім впливу на виробництво великої рогатої худоби, велика кількість бактеріальних (лептоспіроз, бруцельоз) і деяких вірусних збудників пов'язана із зоонозами, які можуть спричинити різноманітні, а часом і важкі захворювання у людей [64, 95].

Таким чином, збереження здоров'я великої рогатої худоби є надзвичайно важливим для національної та глобальної продовольчої безпеки та добробуту людей. На молочних корів і телят найбільше впливають технологічні вимоги, згідно з якими молодняк відокремлюється від корів майже відразу після народження. Така практика призводить до фізіологічного стресу та неоптимальної імунної функції у корів і високої вразливості їхніх телят. Таким чином, необхідне глибоке та всебічне розуміння імунної функції цих важливих тварин в контексті поточної практики управління стадом [2].

У великої рогатої худоби, як і в багатьох інших тварин, першою лінією захисту є фізичні бар'єри та механізми, включаючи шкіру та слизові оболонки, а також усунення проникаючих мікроорганізмів шляхом кашлю, чхання, блювоти та діареї. Окрім формування механічних бар'єрів дихальних, шлунково-кишкових та сечостатевого шляхів, епітеліальні клітини виділяють низку антимікробних факторів, включаючи антимікробні пептиди та дефензини, і таким чином відіграють важливу роль у вродженій імунній відповіді [24].

Інші відомі критичні клітинні компоненти вродженої імунної системи великої рогатої худоби включають нейтрофіли; природні клітини-кілери, дендритні клітини, гамма-дельта Т-клітини; асоційовані зі слизовою

оболонкою інваріантні Т-клітини; макрофаги, і гранулоцити. Унікальність великої рогатої худоби полягає в тому, що новонароджені телята мають надзвичайно велику кількість циркулюючих $\gamma\delta$ Т-клітин (до 60% лімфоцитів) [36, 65].

Таким чином, незважаючи на численні подібності з іншими видами, вроджена імунна система великої рогатої худоби має деякі унікальні особливості, які, ймовірно, разом із відмінною анатомією жуйних тварин сприяють їх резистентності або підвищеній чутливості до бактеріальних і метаболічних захворювань [68, 158].

Розвиток і становлення мікробіому кишечника є динамічним процесом, на який можуть впливати кілька внутрішніх і зовнішніх факторів. Внутрішні (господарські) фактори включають функціональну зрілість кишківника та імунної системи, виділення жовчі та репертуар бактеріальних рецепторів слизової оболонки. Перелік зовнішніх факторів є ширшим, включаючи все в середовищі теляти, включаючи стан харчування теляти, мікробний склад калу та молока корови, використання антибіотиків тощо. [27, 69]

У рубці – анаеробному та метаногенному передшлунку – міститься рясна та складна мікробіота ($\sim 10^{10}$ – 10^{11} клітин/мл та понад 200 видів), відповідальна за дивовижну здатність великої рогатої худоби перетворювати неперетравну рослинну масу на необхідні поживні речовини. Бактерії є найпоширенішими мікробами в рубці, і їх склад визначається низкою факторів, включаючи дієту, енергетичні потреби та стійкість до певних метаболічних побічних продуктів, токсичних для деяких видів. Декілька досліджень показали, що мікробіом в рубці тварин, раціон яких містив високий вміст зернових, в основному складався з грамнегативних або грампозитивних бактерій (включаючи *Lactobacillus*), відповідно, у той час як збільшення частки кукурудзяного силосу призвело до збільшення *Prevotella* та зменшення кількості протозойних.

Численні дослідження показали, що великий мікробний компонент залишається некультивованим, тоді як у вмісті глікозидгідролази були

відзначені фундаментальні відмінності, пов'язані з раціоном. Інше нове дослідження підкреслює важливість мікробіому рубця та припускає, що різні породи молочних корів мають різні метаболічні, імунологічні та продуктивні властивості [62, 70].

Харчовий статус молочної корови та метаболізм певних поживних речовин є критично важливими для адекватного імунітету та інших функцій клітин. Вплив харчування може бути прямим через поживні речовини або непрямим через метаболіти. Більшість проблем зі здоров'ям у молочної худоби виникає під час пологів через гормональні зрушення та необхідність адаптації до підвищених потреб у поживних речовинах під час лактації, що призводить до негативного енергетичного балансу [130].

Неконтрольоване запалення, пов'язане з дієтою, вважається основним фактором, що сприяє розвитку кількох метаболічних захворювань, поширених у молочної худоби, включаючи мастит, затримку посліду, метрит, зміщення сичуга та кетоз. Попередні дослідження показали, що корови з надлишковим або недостатнім харчуванням були більш сприйнятливими до різних інфекційних захворювань порівняно з коровами з адекватним харчовим статусом у передпологовий період [30].

Забезпечення належними антиоксидантами, включаючи омега-3 поліненасичені жирні кислоти, кон'юговану лінолеву кислоту та вітамін D, сприяє протизапальній реакції. Дефіцит певних поживних мікроелементів (вітамінів і мікроелементів) пов'язаний із збільшенням випадків маститу, затримки посліду та метриту. Імуномодулюючі та антиоксидантні ефекти різних макро- та мікроелементів впливають на частоту розладів здоров'я у молочної худоби. Ці імунологічні та метаболічні порушення у лактуючих корів, а також практика годівлі молочних телят можуть призвести до неоптимального харчування та імунного захисту новонароджених телят [71, 131].

Молочні телята забезпечують заміну тварин, що має важливе значення для майбутнього молочного виробництва. Пасивний імунітет у телят

оцінюють шляхом кількісного визначення рівнів сироваткового IgG або загального білка протягом перших 7 днів життя. Годівля м'ясних і молочних телят регулюється по-різному, м'ясним телятам дають смоктати, тоді як молочних телят відокремлюють від маток при народженні або незабаром після цього, годують молозивом і дають замітники молока. Ці відмінності в управлінні молозивом можуть вплинути на ранній імунний розвиток телят [113].

Молозиво та молоко корови забезпечують основні поживні речовини та пасивний захист новонароджених телят. Компоненти молозива/молока також включають казеїн, лактоферин, сироваткові білки та лактопероксидазу, а також епітеліальні та імунні клітини (макрофаги, Т- і В-лімфоцити). Ці клітини долають неонатальний кишковий бар'єр і заселяють периферичні та центральні лімфоїдні тканини, сприяючи розвитку імунітету теляти. Молозиво великої рогатої худоби також містить потужні біологічно активні компоненти, які сприяють росту (EGF і TGF β) і протидіють патогенним мікроорганізмам (протизапальні цитокіни: IL1 β , IL6, TNF α і IFN α), покращують функцію лімфоцитів і сприяють дозріванню кишкової імунної системи новонароджених. Концентрації цитокінів у молозиві великої рогатої худоби значно вищі, ніж у зрілому молоці, що сприяє виробленню секреторного IgA, а також відповідей Th1 і Th2 [136].

Молозиво також містить материнські імуноглобуліни та імуномодулюючі фактори, які пригнічують розвиток активного імунітету. Таким чином, окрім харчування, виділення молочних залоз відіграють принаймні ще дві важливі ролі: формування толерантності до харчових антигенів і комменсальної мікробіоти, одночасно сприяючи розвитку імунітету та імунній відповіді на патогени [72, 127].

Оскільки пасивна передача лактогенних розчинних і клітинних компонентів від матері до теляти до закриття кишечника (припинення транспорту макромолекул через кишковий бар'єр) є основним засобом протиінфекційного захисту відразу після народження, його недостатність

(FPT) через погіршення здоров'я матері, пізнє годування телят або годування неякісним молозивом пов'язане з >30% смертності телят перед відлученням. Незважаючи на те, що низьке споживання молозива при народженні є фактором ризику розвитку FPT для всіх телят, телята від молодших (особливо первісток) мають нижчу концентрацію Ig у сироватці порівняно з тими, народженими від старших корів, що також сприяє підвищенню захворюваності та смертності [55].

Більшість молочних телят вирощують на пастеризованому відпрацьованому молоці та заміниках молока, і вони мають вищий ризик зазнати негативних наслідків для здоров'я через FPT. Недавні дослідження показали, що годування молозивом 2 проти 1 після народження призвело до зниження ризику FPT, зниження захворюваності та покращення темпів росту. Зрештою, захист від пасивного імунітету, переданого телятам, досягає максимуму через 1–2 дні, а потім починає знижуватися. Доступні на даний момент комерційні заміники молока, як правило, виготовлені з сухого знежиреного молока, рослинного або тваринного жиру, сухої пахти, сироваткового білка, соєвого лецитину та вітамінно-мінерального преміксу. Хоча їх харчова цінність покращилася за останні десятиліття, вони залишаються дефіцитними імунологічними компонентами та компонентами, що сприяють росту та розвитку, що призводить до підвищення рівня інфекційних захворювань [73, 147].

Ці спостереження підкреслюють, що поточну практику годівлі попередньо відлучених молочних телят необхідно додатково оптимізувати, включаючи введення багаторазового годування молозивом. Подібним чином стратегії вакцинації тільних корів вимагають поглибленої оцінки для забезпечення оптимального здоров'я матері та пасивного захисту їхнього потомства [74, 164].

Недостатні базові знання про імунну функцію великої рогатої худоби та відсутність розробленого інструментарію для імунологічних досліджень перешкоджають нашій здатності створювати та підтримувати оптимальне

здоров'я тварин. Це особливо складно для новонароджених молочних телят (через імунну незрілість) і молочних корів у перехідний період (через метаболічну та імунну дисфункцію). Подальша оцінка та оптимізація існуючих вакцин у широкомасштабних польових випробуваннях є критично важливою. Поглиблені дослідження впливу різноманітних макро- та мікроелементів, коменсальних і пробіотичних бактерій на імунну функцію великої рогатої худоби, ймовірно, дадуть нові та терміново необхідні заходи для боротьби з інфекційними захворюваннями та запальними розладами організму тварин [105].

Існуючі дані свідчать про те, що забезпечення коров'ячого молозива та молока в достатній кількості протягом першого тижня життя та оптимізація годівлі великої рогатої худоби відповідно до стадії виробництва та групи сприяють розвитку імунітету та допомагають підтримувати імунну функцію, і повинні бути широко впроваджені. Крім того, нові дані свідчать про те, що друге годування молозивом незабаром після першого може принести відчутну користь для здоров'я [138].

Регулярна імунізація телят, телиць і тільних корів проти захворювань, яким можна запобігти за допомогою вакцини, і усунення патогенів, які підривають або скомпрометують імунну систему, є важливими стратегіями, які можуть допомогти підтримувати здорове стадо [62].

Крім того, проведення додаткових досліджень для визначення оптимального часу для вакцинації та застосування нових вакцин і ад'ювантів (мікроелементів, пробіотиків тощо) дозволить вдосконалити вакцини та протоколи вакцинації (наприклад, вакцинацію недавно транспортованої худоби під стресом) для досягнення кращого захисту новими або існуючими вакцинами [40, 75].

Таким чином, поєднання доступних допоміжних стратегій, розглянутих вище, включаючи годування пробіотиками та пребіотиками, добавки IgY Ab, контроль рН сичуга та збереження цілісності епітелію, а також мінімізацію

використання антимікробних засобів, як очікується, матиме позитивний вплив на телят.

1.4 Використання пробіотиків при вирощуванні телят

Пробіотики використовуються у тваринництві протягом багатьох років, але інформація про їхню користь у ранньому віці телят суперечлива.

Продовольча і сільськогосподарська організація (FAO) і Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) визначили пробіотики як «живі мікроорганізми, які при введенні в достатніх кількостях сприяють здоров'ю господаря». Це визначення було широко прийнято Міжнародною науковою асоціацією пробіотиків і пребіотиків. Це стосується як харчування людей, так і тварин; це не обмежує позитивний вплив на здоров'я травного тракту, не вимагає зміни мікробіоти кишечника, але вимагає споживання відповідної кількості (хоча ця кількість точно не визначена) і щоб мікроорганізм був у живому стані під час прийому. Пробіотики для телят – це мікроорганізми, які при згодовуванні можуть допомогти покращити травлення, продуктивність телят і формування імунної системи [66, 77].

Найпоширенішими мікроорганізмами, які використовуються в пробіотиках, є види *Lactobacillus* і бактерії *Bifidobacter bifidis*, хоча інші незначні види бактерій і дріжджі можуть бути присутніми в деяких пробіотичних композиціях. Види *Lactobacillus* і *Bifidobacter bifidis* зазвичай вважаються основними пробіотичними компонентами для використання людьми і тваринами [78, 149].

Грампозитивні штами бактерій *Bacillus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* і *Streptococcus*, а також дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* і *Kluyveromyces* є найбільш використовуваними пробіотичними агентами в кормових добавках в Європейському Союзі. Відповідно, вигідно, якщо вид є членом нормальної кишкової флори цільової тварини, виробляє антибактеріальні речовини проти потенційних патогенів, є генетично

стабільним і може прилипати до слизової оболонки кишечника, а також колонізувати її [79, 133].

За даними досліджень, пробіотики знижують рН кишкового вмісту, виробляють антибактеріальні речовини, зменшують кількість аміаку та токсичних амінів, посилюють неспецифічні імунні відповіді, покращують смакові якості корму та засвоюваність вуглеводів, а також синтезують амінокислоти і вітаміни. Зміни мікробіоти травного тракту також впливають на здоров'я та продуктивність тварин; отже, ферментацією в рубці можна маніпулювати, щоб покращити виробництво (наприклад, покращити надої та якість молока, приріст живої ваги та коефіцієнт конверсії корму телят). На сьогоднішній день найбільш значущий позитивний ефект пробіотичних добавок у жуйних тварин для здоров'я та продуктивності був досягнутий у періоди високого стресу для тварини та її кишкової флори, тобто під час періодів відлучення, початку лактації та переходу на корму, багатого легкозасвоюваними вуглеводами. Важливо враховувати, що пробіотики відносно повільно діють, для чого також потребують створення сприятливих умов для розмноження еубіотичних мікроорганізмів, відповідно, і тому їх можна використовувати переважно як профілактичні засоби [81, 157].

Шлунково-кишковий тракт теля має складний кишковий мікробіом, який являє собою плавильний котел кишкових бактерій. Корисні бактерії у пробіотиках підтримують мікробіом, допомагаючи створити сильну імунну систему. Пробіотики виробляють антибактеріальні сполуки, такі як кислоти та бактеріоцини (речовини, подібні до антибіотиків), які допомагають зміцнити шлунково-кишковий тракт. Погані, хвороботворні бактерії витісняються, звільняючи місце для хороших бактерій, що підтримують імунітет. Дослідження показують, що пробіотики для телят успішно зменшують захворювання, пов'язані з кишечником, та покращують зростання телят перед відлученням [49, 83].

Постійне годування телят пробіотиками на етапі до відлучення забезпечує страховий поліс для захисту від непередбачених проблем зі здоров'ям молочних телят. Пробіотики, включені безпосередньо до замітника молока для телят, допомагають вам спати спокійно, знаючи, що телята отримують постійний рівень пробіотиків при кожній годівлі. Пробіотичні добавки можуть дати імпульс, коли телята найбільше цього потребують, наприклад, критичні перші три тижні життя, або під час годування або зміни вмісту, а також при холодовому і тепловому стресі. На додаток до постійного харчування пробіотиками із заміником молока, телятам може бути корисно давати великі дози додаткових пробіотиків під час стресу [85, 137].

Пробіотики можуть покращити продуктивність росту, споживання корму та ефективність, ферментацію рубця, імунну та антиоксидантну здатність, а також здоров'я телят перед відлученням. Однак розміри ефекту мають бути пов'язані з дозуванням, складом і методами додавання пробіотиків [86, 90].

Численні дослідження вивчали вплив пробіотиків на продуктивність і здоров'я молочних телят. Однак результати непослідовні і навіть суперечливі. Деякі дослідження показали, що пробіотики можуть сприяти загальному споживанню сухої речовини, масі тіла і швидкості росту телят. Крім того, деякі дослідження показали, що пробіотики можуть підвищувати концентрацію IgA, IgG та IgM у крові та, відповідно, покращувати імунітет телят; інші не спостерігали впливу пробіотиків на концентрацію цих трьох імуноглобулінів. Крім того, деякі дослідження показали, що пробіотики можуть зменшити кількість фекалій телят [88, 96].

Пробіотики можуть сприяти виробленню та функціонуванню травних ферментів, таких як целюлаза, амілаза, протеаза та інші, збалансувати та стабілізувати корисну мікробну екосистему в шлунково-кишковому тракті та відновити мікрофлору кишечника. Додавання *Lactobacillus rhamnosus* у період перед відлученням може збільшити мікробну різноманітність і

змінити порядок домінуючих бактерій і відносну чисельність родин бактерій у рубці теляти, таким чином збільшуючи виробництво ЛЖК [97, 101].

Пробіотики підвищують мінеральну біодоступність, здатність до травлення та засвоєння поживних речовин у телят.

1.5. Висновки з огляду літератури

Телята одразу після народження є псевдомоногастральними тваринами з недорозвиненим ретикуло-руменом, та споживають виключно молоко. У відлучених телят молоко потрапляє в сичуг, тому тонкий і товстий кишечник беруть активну участь у травленні.

Система передшлунка у новонароджених телят значно змінюється протягом першого року життя, зі зрушенням активності кишкових ферментів (лактази та мальтази), що сприяє розвитку слиновидільного апарату, інших відділів травлення та жуйки у телят.

Початок функціонування рубця є дуже важливим для росту та розвитку телят. Тому для сприяння прискоренню цього процесу у господарствах використовують грубі корми, ферменти та пробіотики.

В процесі розвитку у телят збільшується об'єм рубця, форма та розміри сосочків. Створюються сприятливі умови для мікробної колонізації рубця та його подальшого функціонування. Одночасно відбувається зміна склад мікробіому шлунково-кишкового тракту у відлучених молочних телят.

Крім того, велике значення для нормального росту та розвитку телят має створення належних умов утримання та формування сприятливого мікроклімату. Низькі температури у приміщенні та підвищена вологість призводять до переохолодження телят через не сформовану терморегуляцію організму. Також підвищений вміст мікроорганізмів у приміщеннях для телят створюють загрозу виникнення інфекційних захворювань, до яких імунна система ще не здатний опиратись. Оскільки після народження телята отримують імуноглобуліни тільки з молозива і не виробляють власних, його безпечність мають вирішальне значення для здоров'я тварин.

Раціон телят поступово змінюється з молока на замінник молока та грубий корм протягом перших кількох тижнів їхнього життя. Зміни в харчуванні мають негативний вплив на мікробіом новонароджених телят. Тому підтримка корисних мікроорганізмів та сприяння засвоєнню кормів завдяки використанню пробіотичних штамів мікроорганізмів *Bacillus* є альтернативним засобом профілактики дисбактеріозу та зниженню резистентності у телят.

Пробіотики не є лікувальним препаратом, однак мають позитивний вплив на органи та системи організму телят, особливо у ранній період формування імунітету та розвитку шлунково-кишкового тракту.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Матеріали досліджень

Дисертаційну роботу виконано в період із 2019 до 2023 року на кафедрі акушерства та хірургії Сумського національного аграрного університету. Виробничі дослідження проводились у господарствах з вирощування великої рогатої худоби породи голштин ТОВ Агрофірма «Лан» с. Кіндратівка, Сумського району, Сумської області; ТОВ Агрофірма «Хлібодар» с. Головашівка Сумського району Сумської області Україна. Дослідження проводились відповідно до директиви 2010/63/ЄС, затвержені висновком комісії з питань етики та біоетики факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету від 15.03.2023 року.

Перший етап роботи проводили в лабораторних умовах і визначали біохімічні, мікроскопічні та антагоністичні властивості штаму *Bacillus coagulans* ALM86.

На **другому етапі** роботи досліджували мікроклімат у приміщеннях для утримання телят.

На **третьому етапі** роботи визначали вплив пробіотичних штамів *Bacillus* на формування мікрофлори шлунково-кишкового тракту та приріст живої маси у телят.

Четвертий етап присвячений дослідженню впливу пробіотичних штамів *Bacillus* на метаболізм у телят.

На **п'ятому етапі** визначали терапевтичний ефект від застосування *Bacillus coagulans* при диспепсії телят.

Шостий етап досліджень був присвячений визначенню впливу ферментно-пробіотичної добавки на розвиток шлунково-кишкового тракту молочних телят.

Дослідження проводили за схемою яка наведена на рис. 2.1.



Рис.2.1. Загальна схема проведення досліджень

2.2 Методи досліджень

Дослідження мікроклімату в телятнику. Для визначення температурного режиму у корівниках фіксували дані в різні пори року, температуру визначали максимальним ртутним термометром, 0С.

До одного з важливих показників санітарно-гігієнічних умов утримання телят відноситься вуглекислий газ (CO₂). Концентрація вуглекислого газу у повітрі будівель знаходиться в пропорційній залежності від кількості кисню

та інших газів. Різноманітні типи вентиляційних систем, рівень загазованості та вміст вологи повітря підтримуються у допустимих межах. Рівень концентрації вуглекислого газу визначали титрометричним методом Субботіна-Нагорського.

При порушенні режиму видалення гною та великій скупченості тварин у приміщеннях, може накопичуватися у повітрі небезпечний газ аміак. Рівень амоніаку (NH_3) досліджували експрес-методом з 0,001 нормальним розчином H_2SO_4 та індикатором Тоширо. Досліджували рівень сірководню експрес методом з 0,001 нормальним розчином йоду та 0,001 нормальним розчином крохмалю. Значення середнього показника відносної вологості у повітряному басейні приміщень повинен бути у межах 70-75 %. Рівень відносної вологості повітря у приміщеннях визначали за допомогою статичного психрометра Августа, а бактеріальну забрудненість повітряного басейну – приладом Ю. А. Кротова за стандартними методами.

Дослідження мікрофлори телятника. Для проведення моніторингу мікроорганізмів у господарстві застосовували бактеріальний метод і визначали їх кількість і видову належність. В якості елективного середовища для *Escherichia* використовували агар Ендо; визначення *Staphylococcus aureus* проводили на агарі Чистовича, визначення грибів та дріжджів – на агарі Сабуро. Застосовували полімеразну ланцюгову реакцію для визначення *Mycoplasma spp.*

Дослідження властивостей *Bacillus coagulans*. Вивчення культуральних властивостей *Bacillus coagulans* проводили на мясо'пептонному агарі при температурі 37 °С з експозицією 72 години. Визначали колір та форму колоній за допомогою мікроскопії. Активність ферментів для колоній *Bacillus coagulans* досліджували при змішуванні 1 мл 0,05 цитрат-фосфатного буфера рН 4,8 з 0,5 мл відповідного ферменту. Потім проводили інкубацію бактерій при температурі 50 °С протягом 60 хвилин. Для зупинки реакції додавали 3 мл 3,5-динітросаліцилової кислоти. Для дослідження використовували спектрофотометр з довжиною хвилі 575 нм.

Адгезивні властивості *Bacillus coagulans* визначали методом В.І. Бриліса. Визначали коефіцієнт участі еритроцитів (КУЕ), індекс адгезивності еритроцитів (ІАЕ) та середній показник адгезії (СПА) [31].

Розрахунок цих показників здійснювали за формулою (1):

$$IAE = SPA \times 100 / KUE \quad (1)$$

Визначення антагоністичних властивостей пробіотиків. Визначали методом дифузії в агарові лунки. Визначали розмір зони затримки росту у мм навколо різних штамів: *Bacillus amyloliquefaciense* NR 59, *Bacillus mucilaginosus* АСН 82, *Bacillus coagulans* АLM86, *Bacillus megaterium* NCH 55, *Bacillus pumilus* LA 56 в розведенні 1×10^9 , КУО/г. В якості контролю використовували диски з антибіотиком цефалексином [54]. В кожен лунку з м'ясо-пепетонним агаром з відповідним ізолятом вливали відповідний штам пробіотичного мікроорганізму. Далі проводили інкубацію протягом 24 годин за температури 37 °С та визначали демаркаційну зону навколо кожної лунки. Штами пробіотичних мікроорганізмів депоновані і виробляються фірмою «Кронос Агро» Україна.

Дослідження біохімічних властивостей сироватки крові у телят. З метою встановлення зміни біохімічних показників сироватки крові при впоюванні пробіотиків, проводили токсико-біохімічні дослідження на наявність можливих метаболічних зрушень в організмі телят. Дослідження визначали за біохімічними показниками у пробах сироваток крові телят (n=30). Загальний протеїн (СОП-БП-02-2017), альбуміни (СОП-БП-25-2018), загальні глобуліни (розрахунковим методом), сечовина (СОП-БП-03-2017), загальний холестерин (СОП-БП-07-2017), аланінамінотрансферазу (АЛТ) (СОП-БП-09-2017), аспартатамінотрансферазу (АСТ) (СОП-БП-08-2017), лужну фосфатазу (ЛФ) (СОП-БП-04-2017), вимірювали за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора із застосуванням відповідних діагностичних систем. Визначали глюкозу глюкозо-оксидазним методом, креатинін за допомогою колориметр-нефелометр фотоелектричний ФЭК – 56М, реакцією Яффе) [60].

Визначення серомукоїдів у пробах сироваток крові проводили за методом Веймера та Мошина; циркулюючих імунних комплексів (ЦК) проводили за методом Гриневича Ю.А., шляхом преципітації 3,5% розчином поліетиленгліколю ПЕГ-тест ОЦ 280 [165].

Дослідження шлунково-кишкової мікрофлори у телят. Для дослідження мікрофлори шлунково-кишкового тракту у телят застосовували бактеріальний метод і визначали склад мікроорганізмів та їх кількість: *Lactobacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Clostridium* та *Candida*. Підрахунок мікроорганізмів проводили після культивування на елективних середовищах, визначали кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г фекалій (КУО/г).

З метою встановлення мікробіоценозу кишечника у телят бактеріологічними методами проводили дослідження на наявність патогенних колоній мікроорганізмів, лактобактерій, бактерій групи кишкової палички, сальмонел, *сульфітредукуючих клостридій*, стафілококів, псевдомонад, біфідобактерій, дріжджоподібних грибів, та інших бактерій з родини *Enterobacteriaceae*. Виявляли в фекальних масах мікроорганізми, які мають фактори патогенності, такі як лицитіназу, гемолізину та плазмокоагулазу. Проводили десятикратне розведення проб матеріалу та посів на селективні середовища. Після культивування мікроорганізмів підраховували кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г фекалій (КУО/г).

Для виділення сальмонел та псевдомонад додатково робили висіви на середовища для накопичення даних мікроорганізмів, зокрема Магнієве середовище (для сальмонел) та середовище №8 (для псевдомонад), виробництва ФБУН ГНЦ та ТОВ «Фармактив». Видову належність ізольованих культур мікроорганізмів визначали за тестами, що рекомендовані у «Bergey's Manual of Systematics Bacteriology», застосовували МПБ з феноловим червоним (Phenol Red Broth Base), для диференціальної діагностики мікроорганізмів диски та смужки виробництва «Himedia Laboratories Pvt. Limited» (Індія). Суху цитратну плазму кролика

використовували для визначення плазмокоагулази (виробництво ПАТ «Фармстандарт-Біолік» (Україна), гемолізинів – 5 % кров'яний агар, лецитовітелази (лецитинази) – жовтково-сольовий агар.

Відбирали фекалії від хворих на диспепсію телят в контролі та досліді. Зразки матеріалу досліджували бактеріологічними методами з метою встановлення мікробіоценозу кишечника у тварин. Визначали кількість бактерій групи кишкової палички, *сульфітредукуючих клостридій*, лактобактерій, біфідобактерій, стафілококів, псевдомонад, дріжджоподібних грибів, сальмонел та інших бактерій з родини *Enterobacteriaceae*. Встановлювали наявність в матеріалі мікроорганізмів, що мають фактори патогенності, зокрема гемолізину, лецитиназу та плазмокоагулазу.

Для дослідження робили десятикратне розведення проб фекалій та посіви на селективні середовища. Використовували сертифіковані середовища виробництва ТОВ «Фармактив» (Україна) та «HiMedia Laboratories Pvt. Limited» (Індія). Для виділення лактобактерій та біфідобактерій відповідні розведення висівали на Лактобакагар та середовище Блаурокка, ентеробактерій – на середовище Ендо, Вісмут-сульфіт-агар та Ксилоза-лізин-дезоксіхолатне середовище, стафілококи – на сольовий агар (середовище №10), дріжджі – на середовище Сабуро, клостридії – агаризоване середовище Вільсона-Блера. Посіви інкубували в термостаті за температури 37°C протягом 24-48 годин. Після культивування підраховували кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г фекалій (КУО/г). Для визначення видової належності культур мікроорганізмів користувались тестами «Bergey's Manual of Systematics Bacteriology», 2007 р., використовуючи основу бульйону з феноловим червоним (Phenol Red Broth Base), диски та смужки для диференціальної діагностики мікроорганізмів виробництва «HiMedia Laboratories Pvt. Limited» (Індія).

Для визначення плазмокоагулази використовували суху цитратну плазму кролика (виробництво ПАТ «Фармстандарт-Біолік» (Україна),

лецитовітелази (лецитинази) – жовтково-сольовий агар, гемолізинів – 5 % кров'яний агар.

Визначення чутливості мікрофлори до антибіотиків. Попередньо ізольовані мікроорганізми досліджували на чутливість до антибіотиків методом дисків на агарі в чашках Петрі. Досліджували 20 препаратів з різних груп для максимального результату.

Дослідження фізіологічних показників телят. У телят контрольної та дослідних груп від першої до 21 доби життя визначали приріст ваги, споживання корму, частоту діареї, початок рубцевого травлення. Живу масу телят визначали на вагах із точністю до 1 кг.

Середньодобовий приріст телят розраховували за формулою:

$$СДП = \frac{W_t + W_0}{t}$$

де W_t – жива маса (промір) наприкінці спостереження;

W_0 – величина показника на початку спостереження;

t – проміжок часу (діб) між попереднім і наступним зважуванням (взяттям промірів) телят.

Частоту діареї визначали візуальним спостереженням за тваринами. Початок рубцевого травлення визначали методом аускультативної та пальпації рубця, також оглядом відмічали появу відрижки та жуйки у телят.

Статистичний аналіз. Аналіз експериментальних досліджень проводили з використанням програми Microsoft Excel 2010. Результати, отримані в роботі статистично обраховані за допомогою методу Фішера-Стьюдента з урахування статистичних похибок та вірогідності показників, які порівнювали. Вважали вірогідними показники з рівнем більше 95% ($p < 0,05$).

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Дослідження властивостей *Bacillus coagulans* ALM86

3.1.1 Дослідження мікроскопічних та біохімічних властивостей штаму *Bacillus coagulans* ALM86

Пробіотики – це корисні живі бактерії, якщо їх додавати в корм для телят, вони можуть сприяти росту, здоров'ю кишечника та імунітету тварин до інфекцій. Крім того, пробіотики можуть модулювати метаболізм ліпідів і знижувати рівень холестерину в сироватці крові шляхом декон'югації солей жовчних кислот ферм 1).

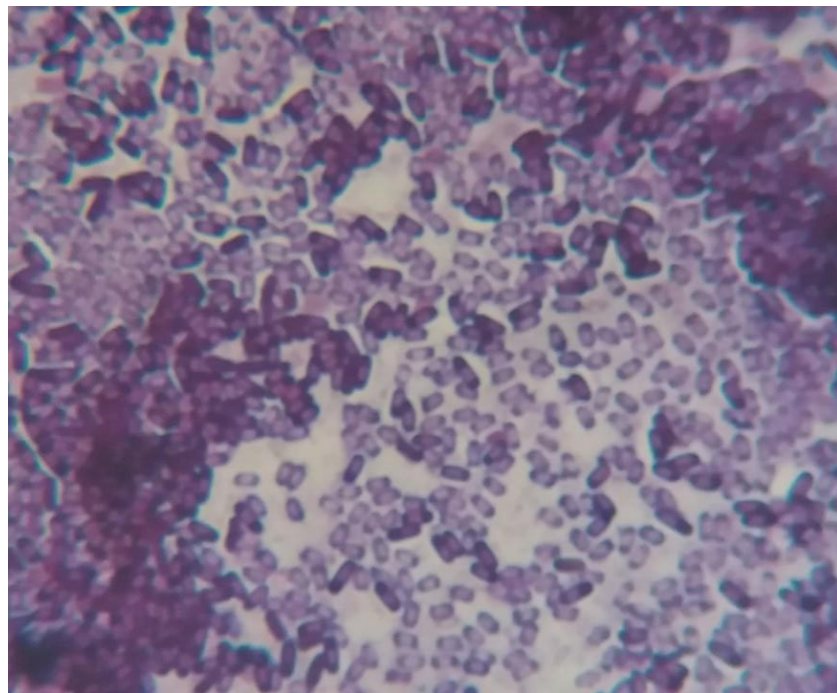


Рис.3.1 Світлове мікроскопічне зображення (збільшення $\times 4000$)

Бактерії *Bacillus* вважаються одними з найкращих виявлених пробіотиків через їхні величезні властивості вивільнення антимікробних речовин, ефективних проти патогенних мікроорганізмів, а також їх здатність виживати в суворих умовах. *Bacillus coagulans* належить до роду *Bacillus*.

Бактерії *B. coagulans* є грампозитивними, паличкоподібними і можуть виживати як в аеробних, так і в анаеробних умовах. *B. coagulans* добре відомий своєю здатністю утворювати спори, які витримують включаючи високі температури до 80 °С, високу кислотність шлунково-кишкового тракту і тиск.

Також були проведені дослідження біохімічних властивостей штаму *Bacillus coagulans* ALM86 (табл.3.2).

Таблиця 3.2

Біохімічні властивості *Bacillus coagulans* ALM86

Показники	<i>Bacillus coagulans</i>
глюкоза	+
галактоза	+
ксилоза	+
фруктоза	+
мальтоза	+
маноза	+
сахароза	+
трегалоза	+
рамноза	-
арабіноза	+
сорбіт	-
каталаза	+
оксидаза	-

Bacillus coagulans використовує в процесі метаболізму арабінозу, ксилозу, глюкозу, галактозу, маннозу, фруктозу, мальтозу, сахарозу та трегалозу. Не гідролізує крохмаль, казеїн та желатин. *B. coagulans* не виділяє сірководень та індол, має негативний оксидазний тест.

Проводили визначення адгезивних властивостей *Bacillus coagulans* (рис.3.2).

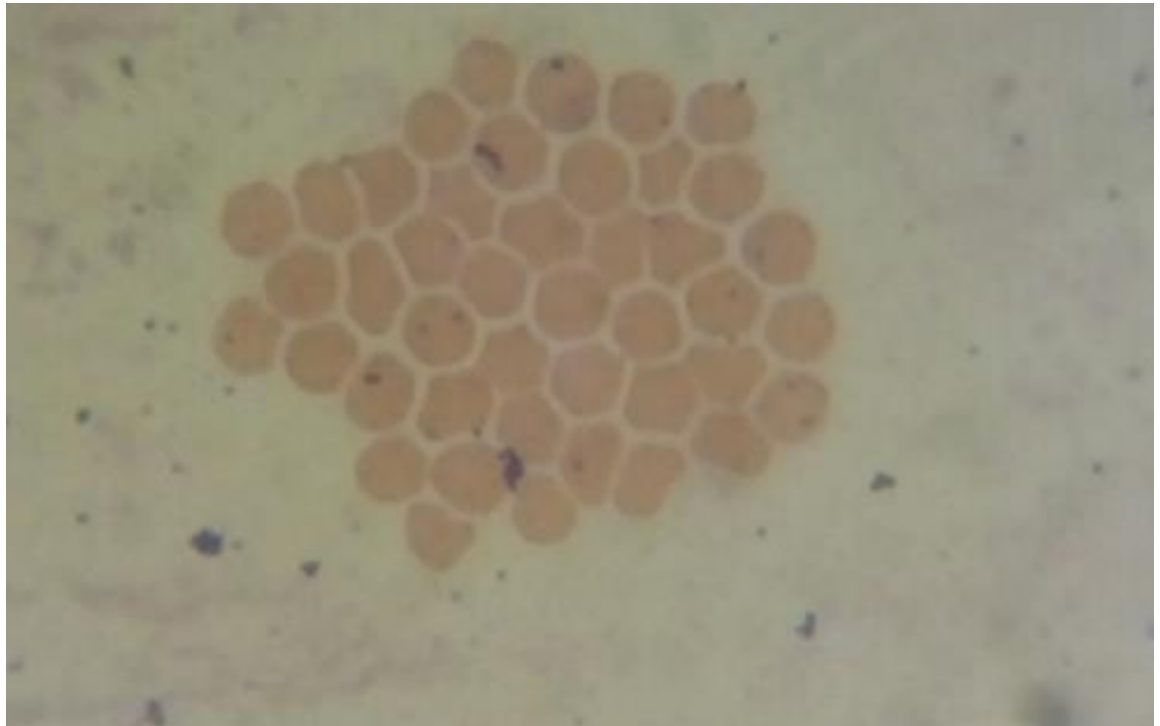


Рис.3.2 Світлова мікроскопія визначення адгезивних властивостей *Bacillus coagulans* на еритроцитах корови (збільшення $\times 1000$)

В результаті проведених досліджень було встановлено, що індекс адгезійності еритроцитів (ІАЕ) був $1,7,00 \pm 0,09$, що є показником низької активності відповідно до класифікації Бриліс. Крім того, коефіцієнт участі еритроцитів в адгезійному процесі (КУЕ) складав $75,23 \pm 1,13$, середній показник адгезії (СПА) був $1,40 \pm 0,03$. Низький показник адгезії до еритроцитів *Bacillus coagulans* пов'язаний з утворенням біоциду – коагуліну, який обумовлює бактерицидну активність пробіотичного штаму.

3.1.2 Визначення чистоти культури *Bacillus coagulans* ALM86

Для дослідження чистоти культури *B. coagulans* ALM86 визначали її антибіотикорезистентність (табл.3.3).

Таблиця 3.3

Антибіотикорезистентність культури *Bacillus coagulans* ALM86

Назва антибіотика	Діаметр зони затримки росту, мм (разом з діаметром диску 6 мм)
канаміцин 30 мкг	25,0
бацитрацин 10 од	12,0
рифампіцин 5 мкг	15,0
гентаміцин 10 мкг	22,0
лінкоміцин 15 мкг	19,0
окситетрациклін 30 мкг	23,0
ампіцилін 10 мкг	12,0
стрептоміцин 10 мкг	28,0
хлорамфенікол 30 мкг	22,0
пеніцилін g 10 мкг	12,0
ванкоміцин 30 мкг	16,0
оксацилін 1 мкг	8,0
поліміксин в 300 од	12,0
фраміцетин 100 мкг	20,0
метіцилін 5 мкг	6,0
бензилпеніцилін 6 од	6,0

Дослідженнями встановлено високу чутливість *B. coagulans* до канаміцину, рифампіцину, гентаміцину, лінкоміцину, окситетрацикліну, стрептоміцину, хлорамфеніколу, ванкоміцину та фраміцетину. Перелічені антимікробні препарати становлять загрозу знищення *B. coagulans* при сумісному застосуванні (рис. 3.3).

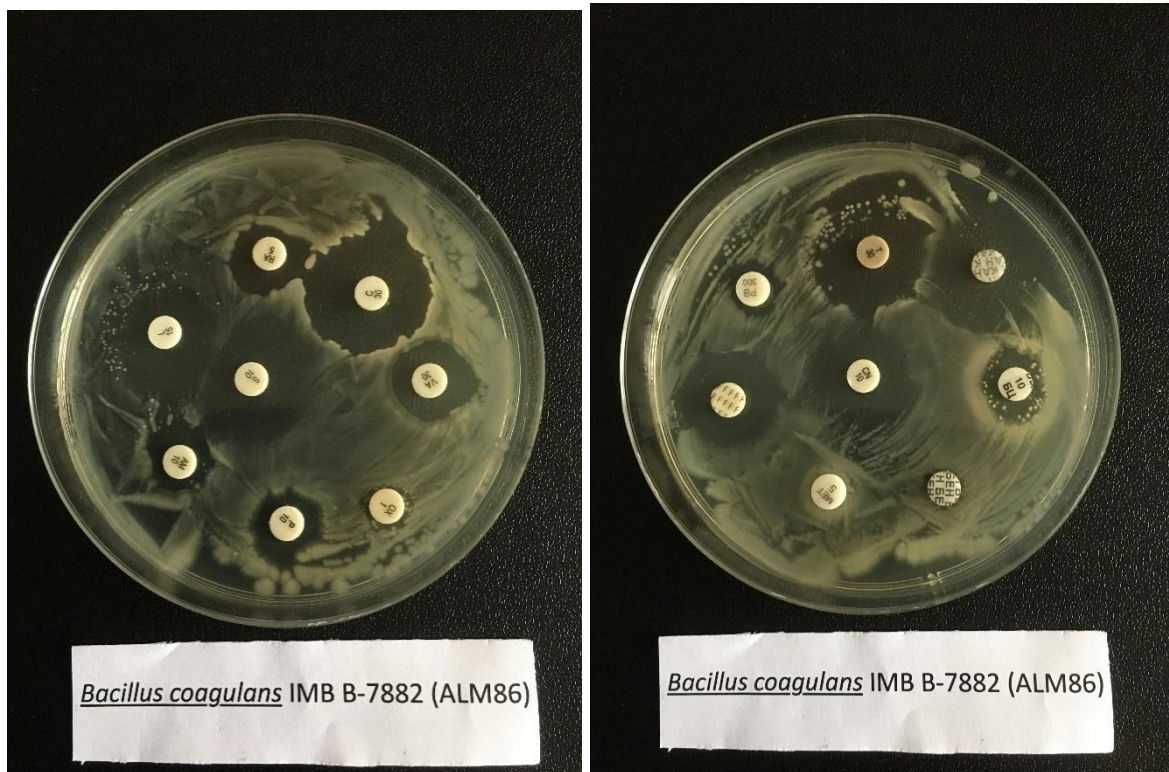


Рис. 3.3 Результати дослідження чутливості культури *Bacillus coagulans* ALM86 до антимікробних засобів

Результати проведеного дослідження вказують на чистоту культури та *Bacillus coagulans* ALM86 та низьку резистентність до більшості випробуваних антибіотиків.

3.1.3 Визначення антагоністичних властивостей пробіотичних штамів *Bacillus*

Тварини разом з видихальним повітрям, фекальними масами та сечею виділяють у зовнішнє середовище тисячі мікроорганізмів, серед яких можуть бути збудники захворювань. Найбільш чутливі телята молочного періоду до хвороб дихальних шляхів та шлунково-шлункового тракту. Через несформовану імунну систему молодняк дуже чутливий до патогенних мікроорганізмів. Виробники продукції намагаються захистити телят за рахунок застосування вакцинації та колострального імунітету. Однак ці заходи не дають абсолютного захисту. Крім того, в корівнику у повітрі та на

огороджувальних конструкціях міститься велика кількість мікроорганізмів, яка циркулює і передається з потоком повітря від однієї тварини до іншої. Тому є високі ризики що до захворювань телят і необхідність їх лікування. Для визначення основних збудників захворювань у телятнику був проведений моніторинг у господарстві з вирощуванню великої рогатої худоби.

Проби для мікробіологічних досліджень були отримані з повітря тваринницьких приміщень, огороджувальних конструкцій, годівниць, шкіри тварин, зразках фекальних мас та сечі. Як бачимо з отриманих даних визначено, що основними збудниками захворювань молодняка великої рогатої худоби є *S. agalactiae* (23 %), *S. aureus* (11 %), *S. epidermidis* (18 %), *E. fecalis* (10 %), *E. coli* (12 %), *Mycoplasma spp.* (7 %), гриби *Candida* (9 %) та асоційована мікрофлора (10 %) (рис.3.4).



Рис. 3.4 Мікроорганізми ізольовані у приміщенні для утримання телят

В результаті проведених мікробіологічних досліджень можна зробити висновок, що бактеріальний тиск на телят є достатньо високим, як і ризику виникнення захворювань. Лікування бактеріальних та грибкових захворювань передбачає використання антибіотиків, що є небажаним для тваринництва в цілому. Крім того, використання хімотерапевтичних протимікробних препаратів для молодняка, у якого не сформований імунітет і рубцева мікробіота може призвести до загибелі тварин від дисбактеріозу (табл.3.4).

Таблиця 3.4

Результати визначення антагоністичних властивостей пробіотичних штамів *Bacillus*, ($M \pm m$), $n=5$

Культури виділених мікро-організмів	Розведення культури					
	Цефа лексин	<i>B. amylolique-faciense</i> NR 59	<i>B. tucilaginosis</i> ACH 82	<i>B. pumilus</i> LA 56	<i>B. megaterium</i> NCH 55	<i>B. coagulans</i> ALM86
	Зона затримки росту, мм					
<i>S. agalactiae</i>	30,15 ±0,25	15,46 ±0,06	6,18 ±0,07	18,35 ±0,34	28,56 ±0,39	35,86 ±0,43*
<i>S. aureus</i>	40,24 ±0,34	5,28 ±0,04	10,13 ±0,10	25,47 ±0,31	40,73 ±0,29	46,50 ±0,19*
<i>S. epidermidis</i>	35,27 ±0,50	10,48 ±0,27	24,57 ±0,22	42,50 ±0,56*	18,36 ±0,23	25,40 ±0,20
<i>E. fecalis</i>	40,23 ±0,29	4,74 ±0,03	5,89 ±0,07	12,50 ±0,10	40,34 ±0,54	26,35 ±0,22
<i>E. coli</i>	35,12 ±0,83	20,12 ±0,25	12,36 ±0,08	45,23 ±0,51	27,45 ±0,67	19,89 ±0,15
<i>Candida</i>	23,46 ±0,60	2,40 ±0,04	5,60 ±0,09	25,18 ±0,22	18,52 ±0,21	30,30 ±0,12*

Примітка: * - $P \leq 0,05$ порівняно з антибіотиком цефалексин

Одним з недоліків антибіотиків є знищення всіх мікроорганізмів у організмі тварини, включаючи корисну мікрофлору. При вирощуванні молочних телят є важливим завданням раннього формування мікробіоти рубця і початку рубцевого травлення. Тому в дослідженні як альтернативу антибіотикам використовували пробіотичні штами *Bacillus*.

Для визначення чутливості мікроорганізмів, які були ізольовані у телятнику, обрали п'ять штамів *Bacillus*, які мають різні властивості.

За результатами проведених мікробіологічних досліджень встановлено, що *Bacillus coagulans* ALM 86 проявляв антагоністичні властивості стосовно *S. agalactiae* на 18,93 % більше, порівняно з антибіотиком цефалексином. Колонії *S. aureus* проявляли чутливість до *B. megaterium* NCH 55 однаково з антибіотиком, *B. coagulans* ALM 86 – на 15,56 % більше. Штам *Bacillus pumilus* LA 56 пригнічував ріст колоній *S. epidermidis* на 20,49 % більше ніж цефалексин.

Пробіотичний мікроорганізм *Bacillus megaterium* NCH 55 проявляв антагонізм стосовно *E. fecalis* на тому ж рівні що і антибіотик. Навколо *Bacillus pumilus* LA 56 зона затримки росту *E. coli* була більше на 28,78 %, порівняно з антибіотиком. Дріжджові гриби роду *Candida* проявили більшу чутливість стосовно *Bacillus pumilus* LA 56 – на 7,33 %, та до *Bacillus coagulans* ALM 86 – на 29,16 %, порівняно з антибіотиком. Таким чином, визначено три пробіотичних штамів мікроорганізмів, до яких проявили найбільшу чутливість мікроорганізми ізольовані у приміщенні телятника.

Тому у подальших дослідженнях з телятами, очевидно, буде досліджений терапевтичний ефект *Bacillus megaterium* NCH 55, *Bacillus coagulans* ALM 86 та *Bacillus pumilus* LA 56.

3.2 Дослідження параметрів мікроклімату у приміщенні для утримання телят

Вирощування здорових телят є дуже важливим, оскільки це впливає на їх ріст, розвиток і в подальшому на продуктивність молока у дорослому житті. Тому розвиток телят надзвичайно важливий для всієї молочної промисловості. Телята піддаються впливу ряду факторів стресу після їх народження, включаючи зміни в оточенні. Для визначення параметрів мікроклімату у молочних господарствах були проведені дослідження (табл.3.5).

Таблиця 3.5

Показники мікроклімату у телятнику, $M \pm m$, $n=10$

Групи	Період проведення досліджу	Показники мікроклімату						
		температура, °C	відносна вологість, %	Мікробна забрудненість, тис.м ³	Вміст CO ₂ , %	Вміст аміаку, (NH ₃), мг/м ³	Вміст сірководню, (H ₂ S), мг/м ³	Мікробна забрудненість, тис. КУО/м ³
Норма		16-18	50– 5	45-50	0,15-0,25	10-15	5-10	70–120
Дослідна	Осінь	9,35 ±0,19	74,25 ±1,36	38,56 ±1,32	0,18 ±0,02	9,22 ±0,42	5,20 ±0,12	132,25 ±6,45*
	Зима	9,73 ±0,25	76,56 ±1,14	48,23 ±1,65	0,23 ±0,05	13,24 ±0,35	7,26 ±0,25	148,24 ±7,31*
	Весна	13,32 ±0,33	75,74 ±1,64	36,33 ±2,79	0,13 ±0,09	10,33 ±0,28	6,45 ±0,68	135,38 ±5,26*
Контрольна	Осінь	9,37 ±0,21	78,72 ±0,87	39,25 ±2,66	0,15 ±0,06	11,25 ±0,37	6,98 ±0,39	130,43 ±4,52*
	Зима	8,51 ±0,24	79,23 ±1,41	49,24 ±1,32	0,24 ±0,02	13,24 ±0,41	8,32 ±0,56	150,31 ±4,50*
	Весна	11,22 ±0,26	81,3 ±1,53	37,37 ±1,55	0,17 ±0,05	10,37 ±0,32	6,45 ±0,45	131,25 ±3,56*

Примітка.* – $P \leq 0,05$ порівняно з нормою.

Завданням експерименту було створення максимально сприятливих умов утримання для телят, тому телята дослідної та контрольної груп утримувалися в різних приміщеннях. Виходячи зі створених умов, при досліджуванні показники мікроклімату в телятнику практично не відрізнялись.

При оцінці умов утримання тварин можна сказати, що температура і відносна вологість у приміщенні відповідали нормативним показникам і коливались лише при зміні сезонів. Оскільки в телятнику система вентиляції природня, то відповідно до зміни пори року мікробна забрудненість та вміст газів (вуглекислого газу, аміаку та сірководню) зменшувались або збільшувались. Підсумовуючи отримані результати, можна зробити висновок, що мікроклімат у приміщенні для утримання телят відповідав санітарно-гігієнічним нормам. Однак показник мікробної забрудненості перевищував допустимі межі в приміщенні для утримання дослідної групи восени – на 10,21 %, взимку – на 23,53 % та навесні на 12,81 %. В приміщенні утримання контрольної групи рівень мікробних тіл був вище за норму восени – на 8,69 %, взимку – на 25,26 % та навесні на 9,37 %.

Здоров'я телят, ріст і продуктивність у значній мірі залежать від годівлі та умов їх утримання. Для вирощування молодняку телят від народження до відлучення необхідно створити сприятливі умови для нормальної мікрофлори в рубці телят. Це дуже складне та важливе завдання у тваринництві. В перший місяць після народження у телят формується імунітет та мікрофлора шлунково-кишкового тракту. Використання пробіотиків для телят повинно сприяти вирішенню проблем пов'язаних з формуванням імунітету та формуванням мікробіоти шлунково-кишкового тракту.

3.3 Вплив пробіотичних штамів *Bacillus* на формування мікрофлори шлунково-кишкового тракту та приріст живої маси у телят

Дослідження проводили у господарстві ТОВ Агрофірма «Лан» с. Кіндратівка, Сумського району, Сумської області з вирощування великої рогатої худоби породи голштин. Для дослідження впливу пробіотиків для формування мікрофлори шлунково-кишкового тракту телят були сформовані п'ять дослідних груп по п'ять телят тижневого віку у кожній та одна – контрольна. Телят утримували окремо в однакових умовах на одному раціоні, але з випоюванням разом із заміником молозива пробіотики (1×10^9) по п'ять грам кожній тварині: *Bacillus amyloliquefaciense*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*. Штами депоновані і виробляються фірмою «Кронос Агро» Україна. У телят був вільний доступ до води та сіна. Від тварин після завершення дослідження були відібрані зразки сироватки крові.

Для дослідження мікрофлори шлунково-кишкового тракту у телят застосовували бактеріальний метод і визначали склад мікроорганізмів та їх кількість: *Lactobacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Clostridium* та *Candida*. Підрахунок мікроорганізмів проводили після культивування на елективних середовищах, визначали кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г фекалій (КУО/г).

Вирощування здорового молодняка великої рогатої худоби тривалий та відповідальний процес, який вплине на їх ріст і продуктивність в майбутньому. Розвиток шлунково-кишкового тракту у телят, заселення його мікроорганізмами може безпосередньо впливати на споживання корму, засвоюваність поживних речовин і загальне зростання.

Навіть незначні зміни в режимі годувлі можуть вплинути на розвиток формування мікробіоти системи травлення, що призведе до значних наслідків на здоров'я і продуктивних якостей тварин.

Результати дослідження впливу пробіотиків на мікрофлору шлунково-кишкового тракту у телят наведені у рис. 3.5.

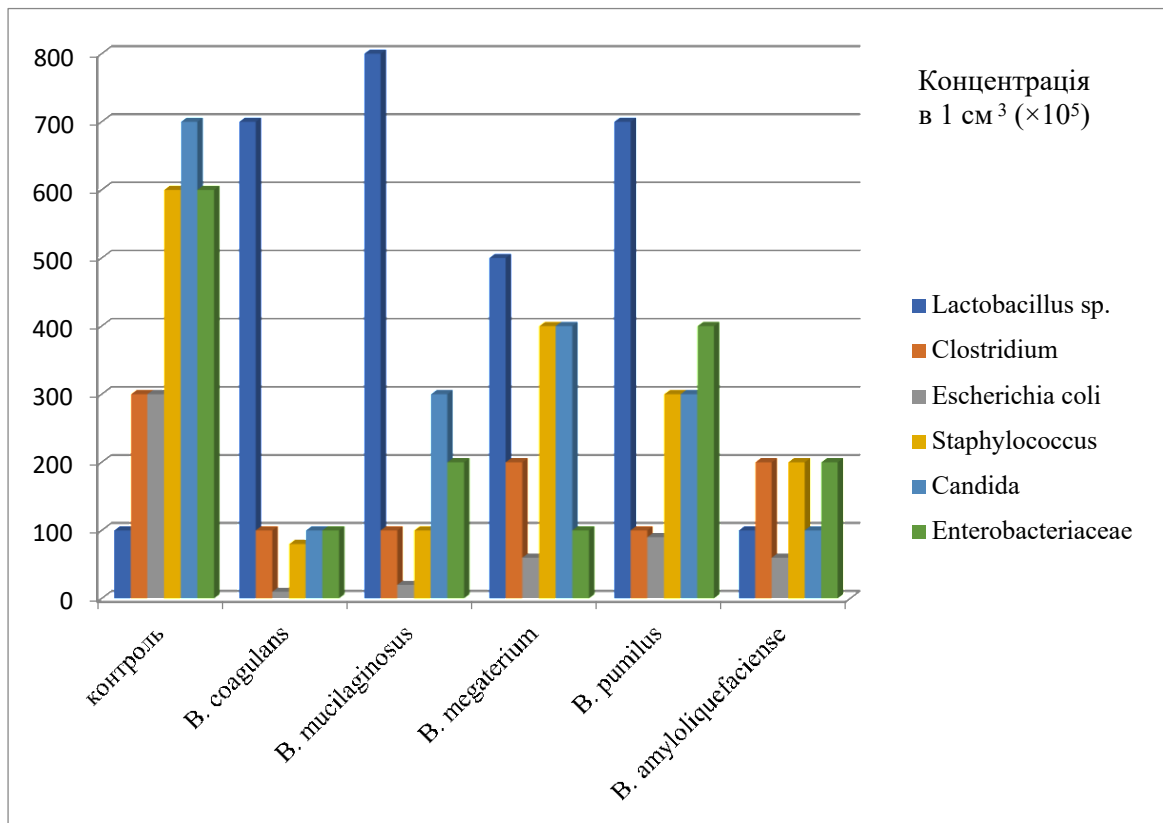


Рис. 3.5 Вплив пробіотиків на формування мікрофлори шлунково-кишкового тракту у телят

В результаті проведених досліджень встановлено, що при випоюванні телятам *B. coagulans*, *B. pumilus* та *B. mucilaginosus* кількість *Lactobacillus sp.* була максимальною і досягла 700–800 КУО/г, що більше на 80% , порівняно до контрольної групи. Рівень умовно-патогенних мікроорганізмів у дослідній групі з *B. coagulans* мав мінімальні показники і складав: *Clostridium* на 20 % *Escherichia coli* – на 70 %; *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* та *Candida* – на 100 %, менше порівняно до контролю. Тварини у групі, де задавали *B. mucilaginosus* мали більшу кількість *Candida* – до 300 КУО/г та *Enterobacteriaceae* – 200 КУО/г; що на 50 % менше порівняно, до контрольних груп, але більше ніж у досліді з *B. coagulans*.

B. megaterium не пригнічував ріст *Clostridium* та *Staphylococcus*. Разом з тим *B. megaterium* пригнічував ріст *Candida* – на 10-15 %, менше порівняно до контролю.

В групі, де застосовували в якості пробіотику *B. pumilus* не значно зменшилась кількість *Clostridium*, *Candida* та *Enterobacteriaceae*, порівняно до контролю (на 35 %).

B. amyloliquefaciense не створював сприятливих умов для росту та розмноженню *Lactobacillus sp.*(до 100 КУО/г). Однак при цьому рівень *Clostridium*, *Staphylococcus* та *Enterobacteriaceae* не перевищував 200-100 КУО/г.

Виходячи з отриманих результатів, що до застосування пробіотичних штамів *Bacillus* встановлено, що максимальний позитивний вплив на мікрофлору шлунково-кишкового тракту телят до 30 добового віку мав *B. coagulans*.

Експеримент проводили в умовах ТОВ АФ «Хлібодар» с. Головашівка Сумського району Сумської області, в якому вирощують велику рогату худобу різних технологічних груп. Для дослідження були залучені п'ять дослідних груп телят по п'ять тварин у кожній, яким впоювали пробіотичні штами *Bacillus sp.* В контрольній групі пробіотики не задавали.

Телятам дослідних груп одразу після народження впоювали разом з заміником молока пробіотики *Bacillus sp.* З розрахунку 5 грам на тварину. Всім телятам був забезпечений вільний доступ до якісного сіна та води. Від телят після завершення дослідів були відібрані зразки фекалій.

Підтримка нормальної мікрофлори в рубці телят є дуже складним та важливим завданням у тваринництві. В перший місяць після народження у телят формується імунітет та мікрофлора шлунково-кишкового тракту. Важливим є ефективна робота елементів резистентності, де значну роль відіграє мікробіота шлунково-кишкового тракту тварини.

Зменшення технологічного стресу, жорстке дотримання санітарних умов та якісна годівля сприяє у досягненні максимальних приростів та міцному здоров'ю тварин (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Результати визначення мікробіоценозу кишечника у телят

Показники, в 1 см ³	Телята					Контроль
	<i>B. coagulans</i>	<i>B. mucilaginosus</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. amyloliquefaciense</i>	
Лактобактерії (<i>Lactobacillus</i> sp.)	7x10 ⁴	8x10 ⁶	5x10 ⁶	7x10 ⁵	1x10 ⁶	1x10 ⁵
Біфідобактерії (<i>Bifidobacterium</i>)	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵
Бактерії роду <i>Clostridium</i>	Нижче 10 ¹	Нижче 10 ¹	2x10 ²	1x10 ¹	2x10 ²	3x10 ¹
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ²	2x10 ⁴	6x10 ⁴	9x10 ⁴	6x10 ⁴	3x10 ⁴
<i>Escherichia coli</i> , які мають гемолітичну активність	+	немає	немає	+	немає	+
Умовно патогенні м/о з родини <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i>)	Нижче 10 ¹	2x10 ²	Нижче 10 ¹	4x10 ²	2x10 ²	6x10 ²
<i>Salmonella</i>	немає	немає	немає	немає	немає	немає
<i>Pseudomonas</i>	немає	немає	немає	немає	немає	немає
Дріжджоподібні гриби	3x10 ¹	3x10 ²	4x10 ²	3x10 ²	1x10 ²	7x10 ¹
Стафілококи	8x10 ³	1x10 ⁴	4x10 ⁴	3x10 ⁴	2x10 ⁴	6x10 ³
Стафілококи, які мають гемолітичні властивості	немає	немає	немає	немає	немає	немає
Стафілококи, які мають цитіназну активність	немає	немає	немає	немає	немає	+
Стафілококи, які мають плазмокоагулазну активність	немає	немає	немає	немає	немає	немає

Слід зазначити, що у дослідному господарстві епізоотична ситуація благополучна стосовно інфекцій які уражують шлунково-кишковий тракт

молодняка великої рогатої худоби. Однак у тварин спостерігали періодичні випадки діареї. Використання пробіотиків для телят повинно сприяти вирішенню проблем пов'язаних з формуванням імунітету та мікробіоти шлунково-кишкового тракту.

Результати отримані в ході експерименту доводять, що випоювання телятам дослідної групи *B. coagulans* не сприяло росту лактобактерій 7×10^4 . Однак *B. coagulans* добре зменшує кількість умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* 10^1 , порівняно з контрольною групою телят без пробіотику 3×10^1 . Бактерії *Escherichia coli*, які мають гемолітичну активність *B. coagulans* не знищували. Кишкова паличка з гемолітичною активністю за умов низької кількості біфідо- і лактобактерій може бути причиною шлунково-кишкових розладів.

Крім того, *E. coli* може набувати біоагресивності, долати захисні бар'єри господаря та спричиняти системні захворювання. Кількість *Escherichia coli* складала 1×10^2 , порівняно до контрольної групи 3×10^4 . Умовно патогенні мікроорганізми з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) в фекаліях телят дослідної групи, яким випоювали *B. coagulans* були на рівні 10^1 , що значно нижче ніж у контролі – 6×10^2 , що пов'язано з антогоністичною активністю пробіотику.

Стафілококи, які мають гемолітичні властивості, лицитіназу та плазмокоагулазну активність також не були виявлені в пробах фекалій отриманих від дослідних тварин. Дріжджоподібні гриби були виявлені в меншій кількості 3×10^1 , порівняно до контрольної групи – 7×10^1 .

При проведенні експерименту клінічні показники телят: пульс, температура, частота дихання та скорочення рубця були в межах фізіологічної норми, мали добрий апетит. *B. mucilaginosus* сприяв розмноженню *Lactobacillus sp.* до 8×10^6 , порівняно до контрольної групи 1×10^5 . Також пробіотик пригнічував ріст умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* нижче 10^1 . При випоювання телятам *B. mucilaginosus* був відсутній ріст *Escherichia coli*, які мають гемолітичну активність та

зменшення кількості *Escherichia coli* до 2×10^4 . Дріжджоподібні гриби були виявлені в кількості 3×10^2 , що більше ніж в контролі 7×10^1 . *B. mucilaginosus* не пригнічував ріс стафілококів 1×10^4 . Умовно патогенні мікроорганізми з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) в фекаліях телят дослідної групи, яким випоювали *B. coagulans* було на рівні 2×10^2 , що з нижче ніж у контролі – 6×10^2 .

B. megaterium позитивно впливає на ріс *Lactobacillus sp.* 5×10^6 . На жаль при цьому збільшується кількість *Escherichia coli* 6×10^4 , порівняно з контрольною групою 3×10^1 - 3×10^4 відповідно. *B. megaterium* не зменшує ріс дріжджоподібних грибів 4×10^2 та стафілококів 4×10^4 . Пробиотичний штам здатний знищувати кишкову паличку з гемолітичними властивостями. Кількість мікроорганізмів з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) при застосуванні *B. megaterium* зменшилось до 10^1 , що значно нижче ніж у контролі – 6×10^2 .

B. pumilus сприяє росту та розмноженню лакторбактерій 7×10^5 , порівняно до контролю – 1×10^5 . Не значно пригнічує ріс *Clostridium ta Enterobacteriaceae*. Не знищує кишкову паличку з гемолітичною активністю. Збільшується ріс кишкової палички, стафілококів та дріжджоподібних грибів, порівняно з контролем.

B. amyloliquefaciense створював сприятливі умови для росту *Lactobacillus sp.* 1×10^6 . Пробиотик не є антагоністом для *Clostridium* 2×10^2 та *Escherichia coli* 6×10^4 . *B. amyloliquefaciense* знищує гемолітичну кишкову паличку, однак при цьому зменшується ріс дріжджоподібних грибів до 1×10^2 , стафілококів до 2×10^4 порівняно з контрольною групою 7×10^1 та 6×10^3 відповідно.

Бактерії *Salmonella*, *Pseudomonas* не були виявлені в фекальних масах телят дослідних та контрольних груп, що вказує на благополуччя господарства стосовно шлунково-кишкових захворювань бактеріального походження. Кількість біфідобактерій у всіх дослідних та контрольній групі

було виявлено до 10^5 . Тому для гарного росту телят ми додали пробіотики у раціон тварин, порівняли дані приросту (табл. 3.7).

Таблиця 3.7
Результати приросту живої маси телят $M \pm m$, $n=5$

Вік телят, жива маса, середньо- добовий приріст	Дослідні групи з додаванням до раціону пробіотиків					Контро- льна група
	<i>B.</i> <i>coagula</i> <i>ns</i>	<i>B.</i> <i>mucilagin</i> <i>osus</i>	<i>B.</i> <i>megateri</i> <i>um</i>	<i>B.</i> <i>pumi</i> <i>lus</i>	<i>B.</i> <i>amyloli-</i> <i>quefacie</i> <i>ns</i> <i>e</i>	
10 діб жива маса телят, кг	40,34 $\pm 0,37$	38,35 $\pm 0,26$	39,52 $\pm 0,29$	39,18 $\pm 0,25$	39,64 $\pm 0,22$	39,45 $\pm 0,27$
Середньо добовий приріст, г	534,12 $\pm 0,45$	520,37 $\pm 0,43$	518,30 $\pm 0,38$	542,18 $\pm 0,54$	526,14 $\pm 0,39$	516,12 $\pm 0,87$
20 діб жива маса телят, кг	54,81 $\pm 0,97$	52,54 $\pm 0,55$	50,26 $\pm 0,62$	52,14 $\pm 0,82$	51,37 $\pm 0,50$	51,15 $\pm 0,83$
Середнь одобовий приріст, г	684,23 $\pm 0,56$	610,42 $\pm 0,78$	623,56 $\pm 0,62$	653,26 $\pm 0,42$	647,80 $\pm 0,67$	607,53 $\pm 0,21$
30 діб жива маса телят, кг	75,95 $\pm 1,39^*$	73,69 $\pm 0,75^*$	63,57 $\pm 0,73$	64,62 $\pm 0,74$	63,45 $\pm 1,10$	62,17 $\pm 0,75$
Середньо добовий приріст, г	815,45 $\pm 0,56^*$	768,34 $\pm 0,25^*$	723,12 $\pm 0,46$	685,41 $\pm 0,23$	712,52 \pm 0,74	657,27 \pm 0,32

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно до контролю

Дослідженнями встановлено, що за сприятливих умов дотримання мікроклімату і догляду у телят-молочників виявлені зміни у живій масі.

Дані таблиці свідчать, що на початку досліду телята мали приблизно однакову масу тіла і були аналогами. Через десять діб експерименту різниця

в середній живій масі між групами не перевищувала 5-7 % та не була статистично значущою. Помітити дію пробіотиків клінічно на організм тварин достатньо складно. Однак, через певний проміжок часу можна встановити покращення метаболічних процесів в організмі тварин.

На 30 день досліджень у дослідній групі, де задавали телятам *B. coagulans* жива маса була вірогідно більшою на 22,16 % та середньодобовий приріст – на 24 %, порівняно з групою контролю (* $p \leq 0,05$). Дещо менш різниця, але також вірогідна у групі телят з *B. mucilaginosus*, де жива маса була вища на 18,5 % та середньодобовий приріст – на 16,9 %, порівняно з групою контролю (* $p \leq 0,05$).

Пробіотики мають здатність покращувати здоров'я кишечника, стимулюючи розвиток здорової мікробіоти (в якій переважають корисні бактерії), запобігаючи колонізацію кишкових патогенів, підвищуючи травну здатність, знижуючи рН і покращуючи імунітет слизових оболонок. Важливо, щоб введені мікроорганізми не турбували існуючу мікрофлору, яка вже адаптована до середовища шлунково-кишкового тракту для роботи як на господаря, так і з ним. Враховуючи тенденцію збільшення живої маси телят, можна стверджувати, що сприятливі умови дотримання мікроклімату та додавання у раціон тварин пробіотиків мають позитивний вплив на середньодобові прирости загалом за весь період.

3.4 Дослідження впливу пробіотичних штамів *Bacillus* на метаболізм у телят

Для уточнення отриманих результатів та встановлення можливого токсичного впливу на організм телят було проведене біохімічне дослідження сироватки крові по завершенню дослідження (30 діб).

Результати біохімічних досліджень сироваток крові телят зведені в таблицю 3.8.

Таблиця 3.8

**Рівень основних біохімічних показників у сироватці крові
молодняка ВРХ (n=5)**

показники	Дослідні групи, в яких задавали пробіотики:					Конт роль	Рефе- рентни й рівень
	<i>B. coagulan s</i>	<i>B. mucilaginos us</i>	<i>B. megateriu m</i>	<i>B. pumilu s</i>	<i>B. amyloli- quefacie nse</i>		
Загальні протеїни, г/л	72,4 ±0,32	74,2 ±0,22	71,3 ±0,25	68,4 ±0,31	69,8 ±0,22	60,3 ±0,23	55,0- 76,0
Альбуміни, г/л	34,6 ±0,12	33,6 ±0,15	33,7 ±0,17	30,5 ±0,16	31,8 ±0,19	29,1 ±0,15	25,0- 37,5
Загальні глобуліни, г/л	37,8 ±0,23	38,2 ±0,14	36,7 ±0,22	38,0 ±0,33	37,7 ±0,20	31,2 ±0,22	25,0- 38,5
Сечовина, ммоль/л	3,02 ±0,18	3,51 ±0,22	3,06 ±0,34	3,56 ±0,15	3,34 ±0,22	3,07 ±0,18	3,0- 6,5
Загальний холестерин, мкмоль/л	2,02 ±0,20	3,82 ±0,34	3,41 ±0,18	3,42 ±0,20	3,78 ±0,23	3,46 ±0,22	1,3- 4,0
Глюкоза, ммоль/л	3,38 ±0,27	3,21 ±0,32	3,08 ±0,22	3,62 ±0,28	3,55 ±0,30	3,13 ±0,35	3,0- 4,2
Активність АЛТ, ммоль/год л	0,89 ±0,28	0,77 ±0,18	0,78 ±0,34	0,69 ±0,31	0,61 ±0,22	0,73 ±0,20	0,6- 1,8
Активність АСТ, ммоль/год л	1,49 ±0,18	1,61 ±0,33	1,36 ±0,24	1,16 ±0,21	1,32 ±0,32	1,34 ±0,42	0,6- 3,0
Креатинін, мкмоль/л	94,2 ±0,24	76,2 ±0,22	81,6 ±0,19	89,9 ±0,21	78,0 ±0,12	89,0 ±0,22	70- 110
ЛФ, Од/л	149,21 ±0,32	187,31 ±0,21	177,83 ±0,22	178,45 ±0,22	165,79 ±0,34	172,27 ±0,24	100- 200
Циркулюючі імунні комплекси, мг/мл	0,07 ±0,06	0,05 ±0,04	0,08 ±0,02	0,06 ±0,04	0,05 ±0,03	0,09 ±0,02	-
Серомукоїди, мг/мл	0,13 ±0,07	0,17 ±0,04	0,14 ±0,05	0,18 ±0,02	0,14 ±0,05	0,18 ±0,07	-

Отримані результати дають підставу вважати, що застосування телятам пробіотиків вплинуло на збільшення рівня загального протеїну з *B. coagulans*

на 20 %; *B. mucilaginosus* – 22%; *B. megaterium* – на 18 %; *B. pumilus* – на 10 %; *B. amyloliquefaciense* – на 12 %, порівняно до контрольної групи за рахунок покращення процесу травлення. При цьому аналогічно збільшується рівень альбумінів, за рахунок покращення травлення і засвоєння кормів. Разом з тим рівень сечовини у дослідних групах тварин зберігається у межах референтного рівня. Також у дослідних групах збільшується рівень глобулінів з *B. coagulans* на 17 %; *B. mucilaginosus* – 20%; *B. megaterium* – на 18 %; *B. pumilus* – на 20 %; *B. amyloliquefaciense* – на 17 %, порівняно до тварин контрольної групи. Це вказує на імуностимулюючий вплив пробіотиків, а саме кишковий імунітет.

Активність ферментів аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспартатамінотрансферази (АСТ) була у межах фізіологічної норми, що показує відсутність руйнуючого впливу пробіотичних штамів на внутрішні органи і тканини. Однак у дослідних групах вміст аланінамінотрансферази був більшим з *B. coagulans* на 21 %; *B. mucilaginosus* та *B. megaterium* – на 5 %; порівняно з контролем, в результаті стимуляції обмінних процесів в організмі.

Рівень глюкози та загального холестерину у тварин дослідних та контрольної груп був на одному рівні і у межах фізіологічної норми, що підтверджує відсутність інтоксикації з боку внутрішніх органів. Активність лужної фосфатази знаходилась у межах фізіологічної норми як у дослідних, так і у контрольних тварин. Дослідженнями доведено, що токсичного впливу на печінку дослідних тварин при вживанні пробіотиків не було.

Збільшення кількості циркулюючих імунних комплексів та серомукоїдів свідчить про наявні алергічні реакції або хронічні запальні процеси. За результатами експерименту встановлено, що їх рівень в межах фізіологічної норми у всіх дослідних групах телят.

Креатинін є кінцевим продуктом метаболізму протеїнів в організмі. Рівень креатиніну в сироватці крові телят вказує на функціональний стан

нирок. В цьому експерименті рівень креатиніну у дослідних тварин знаходиться в межах референтного рівня.

Підсумовуючи отримані результати біохімічного дослідження сироватки крові у телят було встановлено відсутність токсичного впливу пробіотичних штамів: *Bacillus amyloliquefaciense*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* на внутрішні органи тварин.

3.5 Визначення терапевтичного ефекту від застосування *Bacillus coagulans* при диспепсії телят

3.5.1 Дослідження мікробіому шлунково-кишкового тракту у телят

Діарея молочних телят має багатовекторну етіологію, яка також залежить від рівня резистентності і патогенності збудника. Ентерогеморагічна *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Salmonella enterica* найбільш часті патогени, які викликають диспепсію новонародженого молодняку. Присутність у шлунково-кишковому тракті одного або декількох з цих мікроорганізмів може збільшити рівень захворюваності телят та їх загибель.

Оскільки телята дуже залежать від безпечного харчування – молока, в дослідженні використовували заміник молока для виключення фактору зараження. Крім того, молоко кожної корови має відмінності за вмістом жирів, білків, вітамінів та мінералів. Визначали спектр мікрофлори шлунково-кишкового тракту у телят хворих на діарею контрольної та дослідної груп, до початку та по завершенню дослідження (рис.3.6).

За результатами отриманими в ході експерименту було встановлено, що на початку лікування рівень ентерогеморагічної *E. coli* виділяли у межах

21,08-28,06 КУО/г у фекаліях телят хворих на диспепсію в контрольній та дослідних групах.

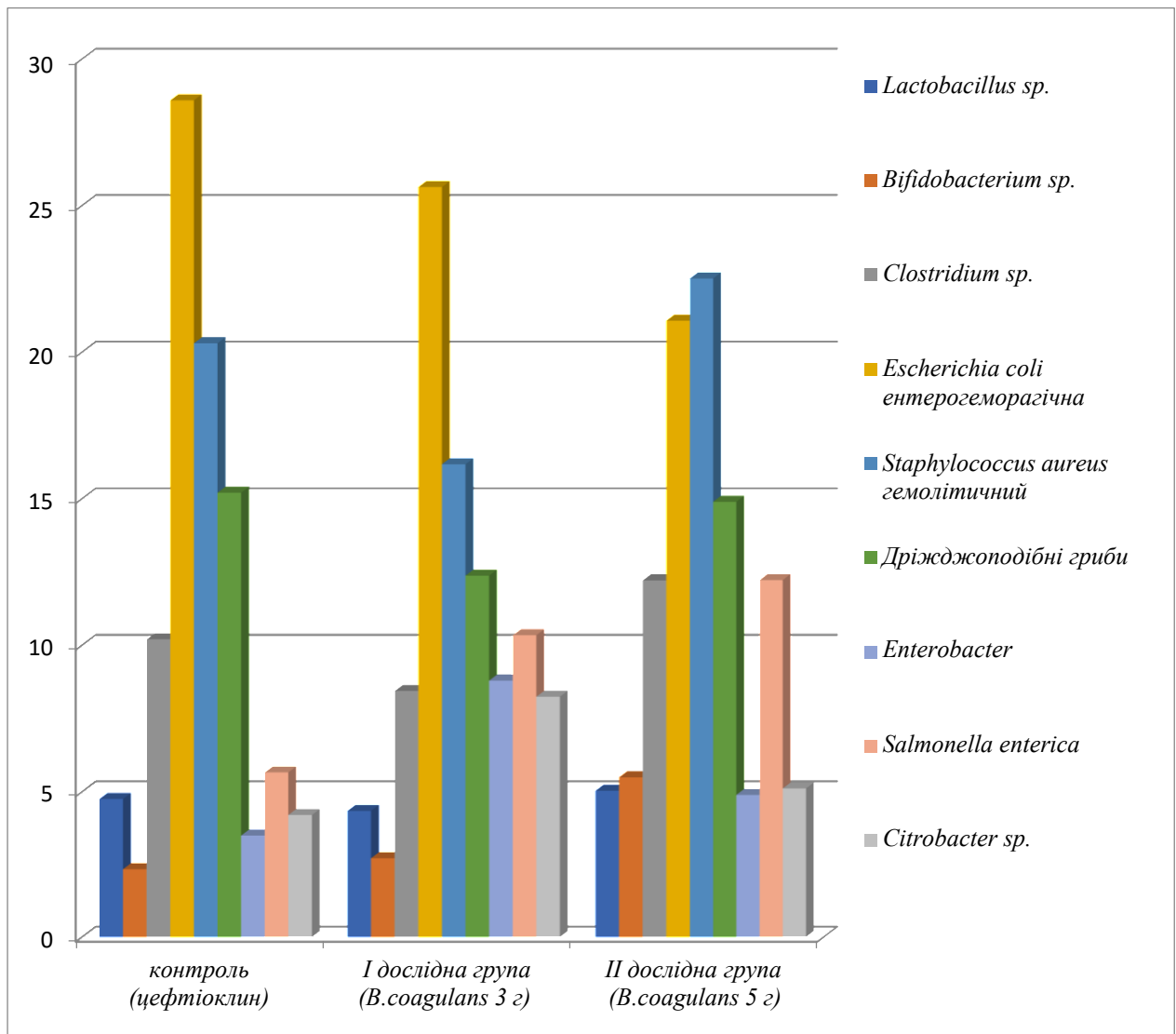


Рис. 3.6 Результати дослідження спектру мікрофлори телят, хворих на діарею на початку дослідження

Гемолітичний *Staphylococcus aureus* та *Salmonella enterica* на початку захворювання телят були ізольовані з дослідного матеріалу у кількості 16,18 та 22,52 КУО/г відповідно. Дріжджоподібні гриби склали 12,38-15,21 КУО/г в контрольній та дослідних групах.

Телят дослідної групи піддавали лікуванню з використанням *Bacillus coagulans* ALM 86 у різній концентрації. В контрольній групі телята

отримували антибіотик, до якого проявили максимальну чутливість виділена патогенна мікрофлора (табл. 3.9).

Таблиця 3.9.

Чутливість ізольованої шлунково-кишкової умовно-патогенної мікрофлори до антибактеріальних препаратів

Антибіотики		Чутливість ізолятів	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
група пеніцилін	Ампіцилін	-	+
	Амоксицилін+клавулонова кислота	-	-
	Жлоксацилін	+	+
група аміногліко	Гентаміцин	+	+
	Стрептоміцин	-	±
	Жканаміцин	+	-
	Жнеоміцин	+	+
Група макро-	Тілозин	-	--
	Жазитроміцин	+	-
	Жспіраміцин	±	±
похідні хінолону	Енрофлоксацин	+	±
	Норфлоксацин	±	±
	Ципрофлоксацин	+	±
	Левофлоксацин	+	+
Різні групи	Окситетрациклін	+	+
	Левоміцетин (Хлорамфенікол)	+	+
	Ко-Тримаксазол	-	+
	Цефтіоклін	+	+
	Цефалексин	+	+
	Новобіоцин	-	+

Примітка: «+» – чутливі до антибіотику, «±» – помірно чутливі до антибіотику, «-» – не чутливі до антибіотику

За результатами визначення чутливості антибіотиків до виділеної мікрофлори *S. aureus* та *E. coli* було встановлено, що з двадцяти перевірених

препаратів максимальну чутливість проявляли до семи препаратів. Серед антимікробних засобів обрали антибіотик широкого спектру дії – цефтіоклін для лікування телят контрольної групи з симптомом діареї.

Після закінчення лікування у телят контрольної та дослідної груп визначали склад мікробіома (рис. 3.7).

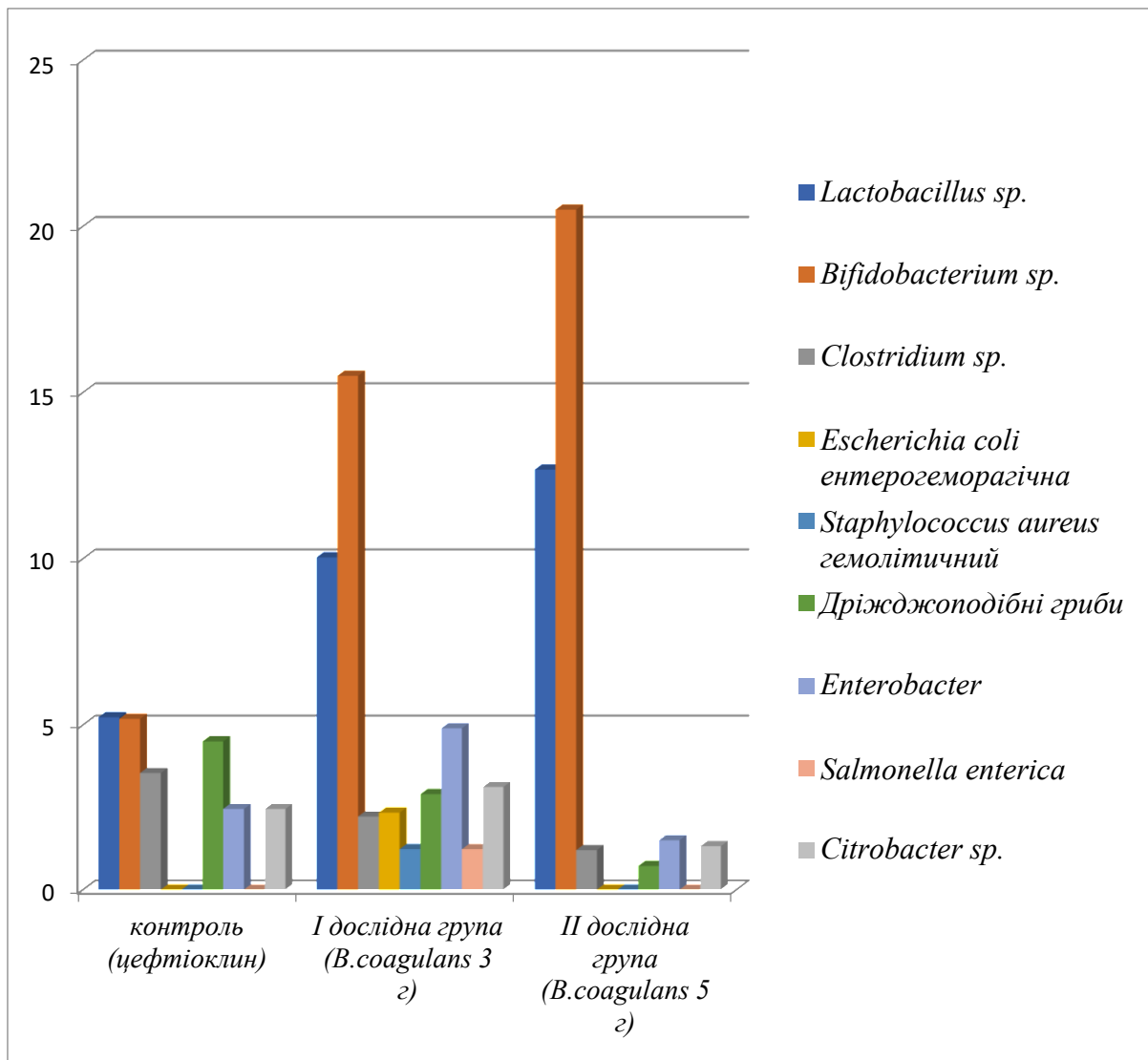


Рис. 3.7. Склад мікробіома телят дослідних та контрольної груп після закінчення лікування

У контрольній групі після застосування антибіотику встановлено зменшення *Clostridium sp.* на 65,3 %, дріжджоподібних грибів – на 70,41 %, *Enterobacter* – на 30,0 % та *Citrobacter sp.* – на 41,8 %, порівняно з початком

лікування. Не виділялись після лікування у телят контрольної групи з фекаліями *E. coli*, *S. aureus* та *S. enterica*, що вказує на правильно обраний протимікробний препарат. Однак кількість корисної мікрофлори не значно підвищилась, через пригнічуючу властивість антибіотику. Кількість *Lactobacillus sp.* після лікування збільшилась на 9,8 %, *Bifidobacterium sp.* – на 12,3 %, що є невисоким показником, в порівнянні з дослідними групами.

У першій дослідній групі тварин на момент завершення дослідження виділяли менше *E. coli* – на 90,8 %, *S. aureus* – на 92,4 %, *S. enterica* – на 88,01 %. Зменшення виділення патогенів пов'язано з властивостями *B. coagulans*, який у процесі метаболізму виділяє бактеріоцин – коагулін. Крім того, пробіотичний штам *Bacillus coagulans* ALM 86 діє за принципом бактеріального антагонізму, коли бактерія в процесі росту та розвитку витісняє інші мікроорганізми. У другій дослідній групі тварин по закінченню експерименту *E. coli*, *S. aureus* та *S. enterica* не виділяли.

Також в процесі дослідження з'ясувалось, що в дослідній групі рівень лактобактерій збільшився в ході лікування порівняно до контрольної групи телят. Механізм впливу *Bacillus coagulans* на кишкову мікрофлору полягає у заміні функцій лактобактерій у шлунково-кишковому тракті. Через недостатню кількість *Lactobacillus sp.* та *Bifidobacterium sp.* пробіотик *B. coagulans* виконував в процесі лікування бактерицидну функцію та брав участь у метаболізмі. На момент завершення дослідження рівень *Lactobacillus sp.* та *Bifidobacterium sp.* збільшився у першій дослідній групі на 130,8–469,8 %, у другій – на 151,58–272,7 % відповідно, порівняно з початком лікування. При цьому *B. coagulans* не може колонізувати кишечник і знаходиться там лише не тривалий час, тому його потрібно постійно вводити в організм тварини для підтримування необхідної концентрації (1×10^9 , КУО/г).

У процесі життєдіяльності *B. coagulans* виробляє антибактеріальну пептидну речовину а також молочну кислоту, яка є інгібітором для мікроорганізмів *Enterobacter sp.* та *Citrobacter sp.*

Після проведення лікування кількість *Enterobacter sp.* зменшилась у першій дослідній групі – на 44,3 %; у другій – на 69,38 %. Рівень *Citrobacter sp.* зменшився у групі телят, де випоювали *B. coagulans* у дозі 3 г на 62,18 %. У другій дослідній групі кількість *Citrobacter sp.* зменшилась на 75,97 %.

Дріжджоподібни гриби були виявлені у складі шлунково-кишкової мікрофлори телят. Вони є постійними представниками нормальної мікробіоти, однак їх кількість може значно збільшуватись при запальних процесах у кишечнику. В першій дослідній групі по закінченню експерименту відбувалось зменшення дріжджоподібних грибів на 76,5 %, у другій – на 95,16 %, порівняно з початком лікування.

Проведені експерименти доводять, що *B. coagulans* ефективний як для лікування, так і для профілактики діареї, спричиненої *Clostridium*. При проведенні експерименту було встановлено, що кількість *Clostridium sp.* зменшувалась при додаванні *B. coagulans* у першій дослідній групі на 73,7 %, у другій – у на 90,18 %.

3.5.2 Результати дослідження фізіологічних показників телят за використання *B. coagulans*

Під час проведення дослідження було встановлено, що частота диспепсії у телят значно зменшилась, особливо після 14 діб лікування.

Проведене дослідження показало, що середньодобовий приріст телят тижневого віку та споживання корму були однаково не високі у всіх групах через проблеми з травленням, які проявлялись у вигляді діареї. У телят двох тижневого віку частота діареї зменшилась, порівняно до початку дослідження. Середньодобовий приріст та споживання корму було практично однаковим у телят контрольної та дослідних груп і достовірно не відрізнялись (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Результати дослідження фізіологічних показників телят

Показники	Контрольна група	I Дослідна група	II Дослідна група
0-7 доба досліджень			
частота діареї, %	8,56±0,10	10,35±0,12	6,22±0,15
середньодобовий приріст, г	518,10± 0,69	508,22±0,35	510,30± 0,44
середньодобове споживання корму, г	522,12± 0,34	500,22±0,25	508,07± 0,45
7-14 доба досліджень			
частота діареї, %	4,56±0,10	2,42±0,08	0,42±0,06
середньодобовий приріст, г	600,25± 0,59	605,17± 0,45	607,50± 0,59
середньодобове споживання корму, г	1003,27± 0,56	905,20±0,46	908,34± 0,72
14-21 доба досліджень			
початок роботи рубця	11,30±0,4	7,80±0,32*	7,50±0,18*
частота діареї, %	відсутня	відсутня	відсутня
середньодобовий приріст, г	622,52±0,74	745,45± 0,79*	768,34± 0,38*
середньодобове споживання корму, г	1429,12± 0,38	1610,37±0,43*	1680,12± 0,75*

Примітки: *P<0,05 – результати вірогідні порівняно з контролем

На двадцять першу добу експерименту у контрольній та дослідних групах телят проявів діареї не спостерігали. Також збільшився середньодобовий приріст у першій дослідній групі на 19,7 %, у другій – на 23,4 %, в порівнянні з контролем. Відповідно збільшилось і споживання корму у першій дослідній групі на 15,0 %, у другій – на 19,9 %.

У даному дослідженні було доведено, що введення *B. coagulans* ALM 86 в концентрації 1×10^9 , КУО/г у дозі 3 – 5 г на кожну тварину зменшує частоту діареї, сприяє збільшенню середньодобового приросту та споживанню корму. Застосування в раціоні телят антибіотиків перешкоджають бактеріям рубця розщеплювати целюлозу та виробляти летючі жирні кислоти. Також було встановлено, що використання антибіотиків телятам сприяло збільшенню бродильних процесів в рубці та затримці росту рубцевих сосочків.

В ході експерименту було встановлено, що початок роботи рубця у дослідних груп телят був раніше на чотири доби, порівняно з контрольною групою. Встановлено, що *B. coagulans* ALM 86 прискорив розвиток рубцевого травлення у молочних телят. Встановлено, що колонізація кишечника тварин корисною мікрофлорою пришвидшують розвиток рубця. Це стало можливим завдяки пробіотику, який прискорює заселення мікрофлорою рубця та розвиток рубцевого травлення.

3.5.3 Результати дослідження впливу *B. coagulans* ALM 86 на біохімічні показники крові телят

Для встановлення впливу *B. coagulans* ALM 86 на метаболізм телят проводили біохімічне дослідження сироватки крові по завершенню експерименту (табл.3.11).

Отримані результати (табл.3.11.) доводять, що рівень загального протеїну був вищим у першій дослідній групі на 18,57 %, у другій на 22,6 %, відповідно до контролю, за рахунок збільшення вмісту загальних глобулінів. Оскільки харчування у телят було якісним та повноцінним в усіх групах, то рівень альбумінів був у межах референтного рівня. Крім того, високий рівень обміну протеїнів у крові телят є додатковим свідченням успішного лікування діареї у телят дослідних та контрольної груп. Однак рівень

загальних глобулінів був вірогідно більше у першій дослідній групі на 49,3 %, у другій – на 57,37 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контролем.

Таблиця 3.11

Результати впливу *B. coagulans* ALM 86 на біохімічні показники телят ($M \pm m$), $n=10$

Показники	I Дослідна група	II Дослідна група	Контроль	Референтний рівень
Загальні протеїни, г/л	71,74±0,24*	74,21±0,31*	60,50±0,20	55,0-76,0
Альбуміни, г/л	35,40±0,12	33,22±0,10	30,41±0,17	25,0-37,5
Загальні глобуліни, г/л	35,34±0,14*	37,25±0,20*	23,67±0,25	25,0-38,5
Сечовина, ммоль/л	4,56±0,04	4,47±0,05	3,05±0,02	3,0-6,5
Загальний холестерин, мкмоль/л	2,02±0,03*	1,42±0,02*	3,46±0,02	1,3-4,0
Глюкоза, ммоль/л	3,55±0,07	3,63±0,02	3,22±0,04	3,0-4,2
АЛТ, ммоль/год л	0,70±0,04*	0,65±0,05*	1,76±0,02	0,6-1,8
АСТ, ммоль/год л	1,36±0,08*	1,20±0,03*	3,25±0,02	0,6-3,0
Креатинін, мкмоль/л	80,4±0,52*	75,5±0,45*	97,0±0,32	70-110
Циркуючі імунні комплекси, мг/мл	0,05±0,03	0,07±0,05	0,08±0,03	-
Серомукоїди, мг/мл	0,14±0,04	0,15±0,05	0,16±0,02	-

Примітка: * - $p \leq 0,05$ порівняно з контролем

Використання пробіотиків для тварин покращує мікробну популяцію за рахунок стимуляції імунної відповіді та конкурентного витіснення патогенних мікроорганізмів у шлунково-кишковому тракті.

Вміст сечовини у телят дослідної та контрольної груп був у межах фізіологічної норми, однак у тварин контрольної групи рівень сечовини наблизився до мінімальних показників. Зниження рівня сечовини (гіпоазотемія) у тварин може бути наслідком аліментарного виснаження, порушення функції печінки або комбінованої патології нирок і печінки. Вважаємо, що організм телят контрольної групи зазнав більшого виснаження в наслідок діареї, ніж телята дослідних груп, що приймали пробіотик.

Також в результаті застосування телятам *B. coagulans* ALM 86 був встановлений факт зниження рівня загального холестерину у першій дослідній групі на 41,61 %, у другій – на 58,95 %, порівняно з контрольною. Рівень холестерину в організмі пов'язаний із серцево-судинними захворюваннями. Збільшення або зменшення показника холестерину може негативно вплинути на здоров'я тварин. За результатами дослідження рівень креатиніну був у межах фізіологічної норми у всіх групах телят. Однак у першій дослідній групі вміст креатиніну в крові був вірогідно меншим на 17,11 %, у другій – на 22,16 %, відповідно до контролю ($p \leq 0,05$). Рівень креатиніну може підвищуватися при зневодненні організму в наслідок діареї та інтоксикації організму.

Рівень глюкози у тварин дослідних та контрольної груп був практично на одному рівні у межах фізіологічної норми, що також вказує на нормальний метаболізм в організмі.

Активність ферменту аланінамінотрансферази (АЛТ) у контрольній групі телят був на максимально допустимій межі референтного рівня, що вказує на інтоксикацію організму в наслідок диспепсії. У телят завдяки використанню пробіотика *B. coagulans* ALM 86 був достовірно нижчий АЛТ у першій групі на 60,22 %, у другій – на 63,06 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контрольною. Оскільки максимальна концентрація аланінамінотрансферази локалізується в печінці, то підвищений рівень ферменту вказує на ураження органу та одночасно знижується рівень перетравленого протеїну, що можна побачити з отриманих результатів.

Фермент аспартатамінотрансфераза (АСТ) також є показником функціонування печінки та м'язових органів. Підвищення АСТ вказує на ураження печінки та серцевого м'язу. У телят першої дослідної групи рівень ферменту АСТ був менший на 58,15 %, у другій на 63,07 % ($p \leq 0,05$), порівняно до контролю.

Циркуючі імунні комплекси та серомукоїди є показниками прояву токсичних реакцій та запальних процесів в організмі тварини. За результатами дослідження встановлено, що у телят контрольної та дослідних груп рівень циркулюючих імунних комплексів та серомукоїдів був однаковим у фізіологічних межах.

Телята, яким задавали пробіотики мали підсилену регуляцію імунних факторів у сироватці крові, слизовій оболонці кишечника та мезентеріальних лімфатичних вузлах. Це стало можливим завдяки активності *B. coagulans* ALM 86.

За результатами проведених досліджень встановлено позитивний вплив *B. coagulans* ALM 86 на метаболізм телят та фізіологічні показники. Також в роботі доведено терапевтичний ефект *B. coagulans* ALM 86 за диспепсії у молочних телят.

3.6 Вплив ферментно-пробіотичної добавки на розвиток шлунково-кишкового тракту молочних телят

Збереження новонароджених телят є актуальною проблемою у тваринництві, оскільки багато чинників в процесі тільності та відразу після народження впливають на їхню життєздатність. Основою є ефективне функціонування факторів резистентності, важливу роль серед яких займає мікробний пейзаж новонародженого. Тому зменшення мікробного навантаження на організм новонародженого (якісне молозиво, дотримання санітарно-зоогігієнічних умов отелу та умов утримання) сприяє нормальному росту та розвитку телят.

Після народження протягом 1,5 години працівник тваринницької ферми випоюював теляті від 1,5 до 2 л молозива, що відповідало загальноприйнятим нормам 30 мл на 1 кг маси тіла теляти.

Слід зауважити, що господарство в якому проводились дослідження, було епізоотично благополучним щодо інфекційних хвороб, які супроводжуються ураженням шлунково-кишкового тракту. Не зважаючи на це, у новонароджених телят реєстрували розлади травлення при незначній зміні режиму годівлі чи разової даванки молока. Зважаючи на це було прийнято рішення ввести до випоювання телятам ферментно-пробіотичну добавку (ФПД) на основі ферментів (ксилаза та філюлаза) та пробіотику *B. coagulans*. Результати клінічного спостереження представлено у рис. 3.8

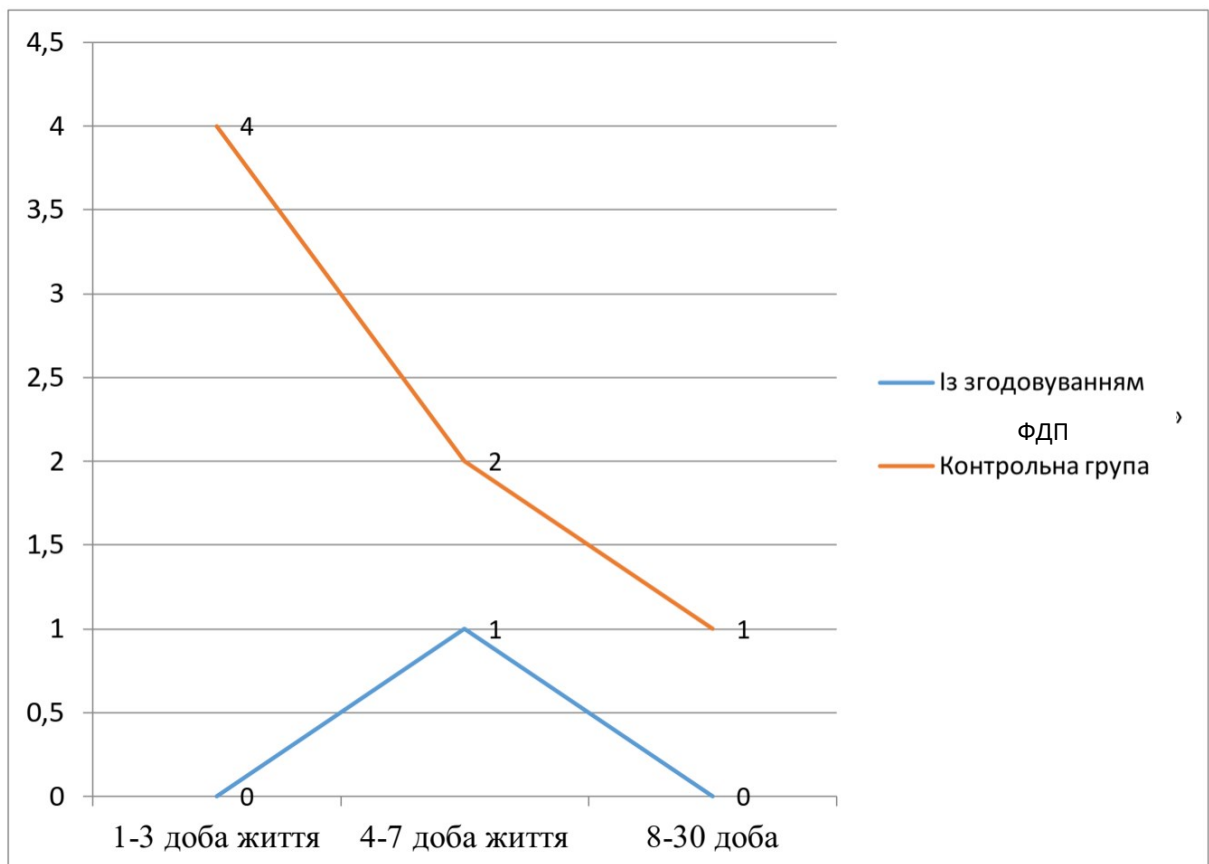


Рис.3.8 Діарея у телят протягом першого місяця життя у дослідній та контрольній групах

Результати спостереження свідчать, що серед телят, які отримували ферментно-пробіотичну добавку, протягом перших трьох діб життя не зареєстровано жодного випадку діареї. Тоді як у тварин, які не отримували пробіотики 66,7% мали розлади травлення – диспепсію. Під час захворювання тварини були пригніченими, малорухливими, із відсутнім апетитом, задня частина тіла забруднена фекальними масами. В подальшому такі тварини, хоч і незначно, мали меншу інтенсивність росту.

Клінічний стан хворих тварин потребував застосування ветеринарних препаратів фармакологічна дія яких забезпечувала антибактеріальну (антибіотики та сульфаніламідні препарати) і загальнозміцнюючу (антиоксидантна та стимуляція факторів резистентності, які містили жиророзчинні вітаміни А, Е та лікарську речовину піперидин 2-[5-(фуран-2-іл)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-ілтіо] ацетату) дії. Вважаємо, що проведення антибіотикотерапії частково обумовлювала порушення мікробного пейзажу шлунково-кишкового тракту, що підтверджується рецидивами протягом наступних 7 діб частини перехворілих телят.

Отже, включення до одного з випоювань молока ферментно-пробіотичну добавку щоденно, одноразово забезпечує надійну (100 %) профілактику розладів травлення.

Важливу роль у забезпеченні здоров'я телят має розвиток передшлунків, адже в рубці розвивається симбіотична мікрофлора, яка забезпечує розщеплення целюлози, вуглеводів. Вважається, що у розвитку травної системи у жуйних необхідно розрізняють три періоди.

Зокрема, молочний, який триває здебільшого до 21 доби життя, другий розвитку передшлунків, який триває до повного виключення молока із раціону телят. В цей період відбувається інтенсивний розвиток передшлунків і в т. ч. і слизової оболонки. Важливо, що на інтенсивність росту безпосередній вплив має тип годівлі. Третій – післямолочний (після повного виключення молока) жуйний, при якому жуйний тип травлення домінує над первинним кишковим. Загалом елементом стимулювання розвитку рубця,

який у новонароджених займає лише 25 % від усіх передшлунків, є використання грубих кормів, штучна фаунізація (заселення корисною мікрофлорою), раннє привчання до гранульованих предстартерних комбікормів, плющеного чи цілого зерна.

Використання пробіотиковмісних лікарських засобів інтенсивно збільшує кількість корисних мікроорганізмів в порівнянні із використанням якісного сіна, що забезпечує швидке формування позитивного мікробного пейзажу, що унеможливорює розвиток патогенних бактерій та унеможливорює антигенне навантаження організму теляти. Оскільки ФПД містить *B. coagulans* та ферменти це забезпечує полівекторну дію в травному тракті загалом та рубці зокрема (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Результати впливу ферментно-пробіотичної добавки на склад мікрофлори рубця телят (M±m, n=6)

Експозиція	Бактерії, млрд/мл	Інфузорії, тис./мл	Ентодіноморфи, %
Дослідна група			
1-7 доба	8,5±0,34	634,2±6,28	75,8±0,26
8-14 доба	16,3±0,29	848,5±10,45*	89,9±0,34*
15-30 доба	18,3±0,25*	918,2±12,33*	95,5±0,34*
Контрольна група			
1-7 доба	8,2±0,56	518,4±11,12	56,2±0,43
8-14 доба	8,5±0,56	530,0±9,22	59,5±0,43
15-30 доба	9,2±0,68	645,7±6,45	64,9±0,30

Примітки: : * - $p \leq 0,05$ - результати вірогідні порівняно з контролем

Дані отримані в ході дослідження доводять, що випоювання ФПД телятам дослідної групи сприяє вірогідному збільшенню кількості бактерій та простіших у рубці телят. Через тиждень проведення експерименту у дослідній групі кількість бактерій вірогідно збільшилась (* $P < 0,001$) на

83,5 %; інфузорій – на 65,2 %; ентодиноморфів – на 24,3 %. Уже через два тижні проведення експерименту із застосування пробіотику телятам значно збільшило масу мікроорганізмів у рубці. При цьому фізіологічні показники телят: температура, пульс, частота дихання та скорочення рубця були в нормі, вони мали гарний апетит.

На 30-ту добу експерименту у дослідній групі, чисельність бактерій вірогідно збільшилась на 94,3 %; інфузорій – на 40,5 %; ентодиноморфів – на 26,7 %, порівняно до контролю (* $P < 0,001$). За результатами проведеного експерименту можна стверджувати, що ферментно-пробіотична добавка збільшує кількісний і покращує якісний склад мікроорганізмів в рубці телят.

Рандомізовані контрольовані дослідження проводились, враховуючи використання комплексного пробіотику. Важливо, що усіх телят випоювали протягом перших семи діб життя молозивом в кількості 8-9 л, тричі на добу. Після випоювання в ротову порожнину теляті клали невеличкий жмут м'якого сіна суміші трав грясниці, тимофіївки та люцерни високої якості.

Така маніпуляція зменшувала ризик смоктання телятами навколишніх предметів та сприяла розвитку жувальних м'язів. Адже власне якісне сіно (як грубий корм) сприяє розвитку м'язів передшлунків у телят та заселенню корисною мікрофлорою, яка міститься на сухих рослинах та за вегетаційного періоду рослини була епіфітною. Клінічний прояв впливу на розвиток рубцевого травлення ферментно-пробіотичної добавки представлено в таблиці 3.13.

Таблиця 3.13

**Поява жуйки у телят за використання ферментно-пробіотичної
добавки, n=6**

Експеримент	Дослідна група	Контрольна група
M±m, діб	11,7±0,56*	28±0,6

*Примітки: : * - $p \leq 0,05$ - результати вірогідні порівняно з контролем*

Отримані дані реєстрації першої жуйки у телят доводять, що складові ферментно-пробіотичної добавки прискорюють заселення мікрофлорою та розвиток рубцевого травлення у телят у 2,5 рази в порівнянні із телятами контрольної групи. Цікаво, що дані щодо реєстрації першої жуйки у телят дослідних груп, які отримували апробований лікарський засіб з перших днів життя достовірно ($P \leq 0,001$) різнилися від даних телят, які отримані від корів в раціоні яких був включений пробіотик.

Вважаємо, що швидкому розвитку передшлунків сприяв комплекс заходів, який проводився в господарстві при вирощуванні телят, але провідну роль в цьому мали два чинники – використання ферментно-пробіотичної добавки комплексного пробіотику та якісного сіна.

Як уже вказувалось раніше, складові згаданої добавки мають полівекторну дію. А саме, ферменти амілаза і протеаза переважно діють на перетравність білку у шлунково-кишковому тракті. Наслідком їхньої діяльності є розщеплення до амінокислот білків, що суттєво допомагає природнім ензимам (пепсину у сичузі та трипсину у 12-палій кишці). Ксиланаза є ферментом із родини глікозилгідрарази 11 (целюлази G), класу гідролаз і підкласу глюкозидаз, тобто ензимів що здійснюють гідроліз O- чи S- зв'язки глікозидів.

Бактерії роду *Bacillus* є спороутворюючими, що захищає їх від негативного впливу факторів резистентності при "проходженні» від ротової порожнини до товстого відділу кишечника. *Bacillus coagulans* є представником видів мікроорганізмів роду *Bacillus*, які мають позитивний вплив на функціонування організму в цілому і є транзиторними мікроорганізмами. Вони пригнічують ріст деяких умовно-патогенних мікроорганізмів, забезпечують часткове руйнування мікотоксинів, сприяють відновленню мікрофлори.

Зважаючи на отримані результати, стає зрозуміло, що складові ферментно-пробіотичної добавки мають позитивний вплив на формування рубцевого травлення у телят.

РОЗДІЛ 4

УЗАГАЛЬНЕННЯ, АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

На новонароджених телят впливає ряд негативних факторів таких як стрес після народження та зміна температури. Через початок формування рубця та мікрофлори в молочних телят будь-яке втручання зовнішнього середовища або зміни в харчуванні можуть різко вплинути на їх розвиток [76]. Деякі з проблем включають діарею і повільне збільшення у вазі, а також захворювання дихальних шляхів, які можуть привести до високих рівнів захворюваності та смертності і створюють серйозні проблеми для розведення [144].

Видовий склад, а також пов'язані з ним функції мікробіоти рубця визначають найбільш важливі виробничі якості жуйних тварин [5]. Формування мікрофлори для ефективного покращення продуктивних якостей тварин є метою багатьох дослідників [44]. Частіше використовували дієтичні добавки (премікси), але були позитивні та негативні результати в цих експериментах. Крім того мікрофлора у шлунково-кишкового тракту телят не достатньо стабільна. Також для одержання впевненого результату дослід повинний бути тривалий, що збільшує вартість годування. Однак, при ефективних дозах можуть виникати побічні ефекти у вигляді інтоксикацій, алергічних реакцій та діареї [140, 150].

За результатами мікроскопічних досліджень було встановлено, що Бактерії *B. coagulans* є грампозитивними, паличкоподібними і можуть виживати як в аеробних, так і в анаеробних умовах *B. coagulans* добре відомий своєю здатністю утворювати спори, спори можуть виживати в суворих умовах, включаючи високі температури, кислотність і тиск. Також були проведені дослідження біохімічних властивостей штаму *Bacillus coagulans* ALM8.

Встановили, що *Bacillus coagulans* використовує арабінозу, ксилозу, глюкозу, галактозу, маннозу, фруктозу, мальтозу, сахарозу та трегалозу. Не гідролізує крохмаль, казеїн та желатин. *B. coagulans* не виділяє сірководень та індол, має негативний оксидазний тест.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що індекс адгезивності еритроцитів (ІАЕ) був $1,70 \pm 0,09$, що є показником низької активності відповідно до класифікації Бриліс. Крім того, коефіцієнт участі еритроцитів в адгезивному процесі (КУЕ) складав $75,23 \pm 1,13$, середній показник адгезії (СПА) був $1,40 \pm 0,03$. Низький показник адгезії до еритроцитів *Bacillus coagulans* пов'язаний з утворенням біоциду – коагуліну, який обумовлює бактерицидну активність пробіотичного штаму.

Дослідженнями встановлено високу чутливість *B. coagulans* до канаміцину, рифампіцину, гентаміцину, лінкоміцину, окситетрацикліну, стрептоміцину, хлорамфеніколу, ванкоміцину та фраміцетину. Перелічені антимікробні препарати становлять загрозу знищення *B. coagulans* при сумісному застосуванні.

Проби для мікробіологічних досліджень були отримані з повітря тваринницьких приміщень, огорожувальних конструкцій, годівниць, шкіри тварин, зразках фекальних мас та сечі. Дослідженнями встановлено, що основними збудниками захворювань молодняка великої рогатої худоби є *S. agalactiae* (23 %), *S. aureus* (11 %), *S. epidermidis* (18 %), *E. fecalis* (10 %), *E. coli* (12 %), *Mycoplasma spp.* (7 %), мікрогриби *Candida* (9 %) та асоційована мікрофлора (10 %).

За результатами проведених мікробіологічних досліджень встановлено, що *Bacillus coagulans* ALM 86 проявляв антагоністичні властивості стосовно *S. agalactiae* на 18,93 % більше, порівняно з антибіотиком цефалексином. Колонії *S. aureus* проявляли чутливість до *B. megaterium* NCH 55 однаково з антибіотиком, *B. coagulans* ALM 86 – на 15,56 % більше. Штам *Bacillus pumilus* LA 56 пригнічував ріст колоній *S. epidermidis* на 20,49 % більше ніж цефалексин.

Пробіотичний мікроорганізм *Bacillus megaterium* NCH 55 проявляв антагонізм стосовно *E. fecalis* на тому ж рівні що і антибіотик. Навколо *Bacillus pumilus* LA 56 зона затримки росту *E. coli* була більшою на 28,78 %, порівняно з контролем. Дріжджові гриби роду *Candida* проявили більшу чутливість стосовно *Bacillus pumilus* LA 56 – на 7,33 %, та до *Bacillus coagulans* ALM 86 – на 29,16 %, порівняно з антибіотиком. Таким чином, визначено три пробіотичних штамів мікроорганізмів, до яких проявили найбільшу чутливість мікроорганізми ізольовані у приміщенні телятника.

В наступному дослідженні визначали вплив пробіотичних штамів *Bacillus* на формування мікрофлори шлунково-кишкового тракту та приріст живої маси у телят. Для достовірності результатів експеримент проводили протягом місяця і по закінченню досліду визначали видовий склад мікрофлори шлунково-кишкового тракту у телят. Крім того, для запобігання непередбаченого впливу на організм телят обраних пробіотичних штамів мікроорганізмів *Bacillus amyloliquefaciense*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* визначали рівень основних біохімічних показників у сироватці крові. Дослідження проводили у господарстві ТОВ Агрофірма «Лан» с. Кіндратівка, Сумського району, Сумської області з вирощування великої рогатої худоби породи голштин.

В результаті проведених досліджень встановлено, що при випоюванні телятам *B. coagulans*, *B. pumilus* та *B. mucilaginosus* кількість *Lactobacillus sp.* була максимальною і досягла 700–800 КУО/г, що більше на 80% , порівняно до контрольної групи. Рівень умовно-патогенних мікроорганізмів у дослідній групі з *B. coagulans* мав мінімальні показники і складав: *Clostridium* на 20 % *Escherichia coli* – на 70 %; *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* та *Candida* – на 100 %, менше порівняно до контролю. Тварини у групі, де задавали *B. mucilaginosus* мали більшу кількість *Candida* – до 300 КУО/г та *Enterobacteriaceae* – 200 КУО/г; що на 50 % менше порівняно, до контрольних груп, але більше ніж у досліді з *B. coagulans*.

B. megaterium не пригнічував ріст *Clostridium* та *Staphylococcus* та *Candida* – на 10-15 %, менше порівняно до контролю.

В групі, де застосовували в якості пробіотику *B. pumilus* не значно зменшилась кількість *Clostridium*, *Candida* та *Enterobacteriaceae*, порівняно до контролю (на 35 %).

B. amyloliquefaciense не створював сприятливих умов для росту та розмноження *Lactobacillus sp.*(до 100 КУО/г). Однак при цьому рівень *Clostridium*, *Staphylococcus* та *Enterobacteriaceae* не перевищував 200-100 КУО/г.

Виходячи з отриманих результатів, що до застосування пробіотичних штамів *Bacillus* встановлено, що максимальний позитивний вплив на мікрофлору шлунково-кишкового тракту телят до 30 добового віку мав *B. coagulans*.

Аналогічний експеримент проводили в умовах ТОВ АФ «Хлібодар» с. Головашивка Сумського району Сумської області, в якому вирощують велику рогату худобу різних технологічних груп. Результати отримані в ході експерименту доводять, що випоювання телятам дослідної групи *B. coagulans* не сприяло росту лактобактерій 7×10^4 . Однак *B. coagulans* добре зменшує кількість умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* до рівня 10^1 , порівняно з контрольною групою телят без пробіотику 3×10^1 . Дослідженнями встановлено, що *B. coagulans* не знищував *Escherichia coli*, яка має гемолітичну активність. Кишкова паличка з гемолітичною активністю за умов низької кількості біфідо- і лактобактерій може бути причиною шлунково-кишкових розладів.

Крім того, на 30 день досліджень у дослідній групі, де задавали телятам *B. coagulans* жива маса була вірогідно більше на 22,16 % та середньодобовий приріст – на 24 %, порівняно з групою контролю (* $p \leq 0,05$). Дещо менш різниця, але також вірогідна у групі телят з *B. mucilaginosus*, де жива маса була вища на 18,5 % та середньодобовий приріст – на 16,9 %, порівняно з групою контролю (* $p \leq 0,05$).

Відомо, що біохімічні реакції речовин в організмі тісно взаємопов'язані. Мало того, реакції обміну речовин гранично узгоджені між собою. Біохімічні показники є своєрідним індикатором процесів, що відбуваються в організмі.

У рубці великої рогатої худоби створені оптимальні умови для існуванні мікрофлори – це рН та постійна температура тіла. Мікробіота шлунково-кишкового тракту бере участь у метаболізмі вуглеводів, ліпідів, жирів та білків, які потрапляють з кормом [142].

Дисбаланс кислотності або зміна температурного балансу може призвести до зменшення або загибелі значної частини мікрофлори шлунково-кишкового тракту жуйних [48]. Основою раціону жуйних тварин є корма рослинного походження і тому целюлозні бактерії мають значну роль у травленні [142]. Крохмаль є важливим джерелом енергії у кормах телят. Використання концентрованих зернових кормів у раціоні дуже ефективно для стимуляції росту та розвитку тварин, але вони можуть порушувати метаболізм.

Порушення мікробіоцинозу шлунково-кишкового тракту телят веде до порушення процесів абсорбції, запалення слизової оболонки кишечника. На фоні виникнення інтоксикації організму виникають ентерит, діарея порушення водно-сольового балансу організму. Одним з шляхів подолання цієї проблеми можуть бути пробіотичні мікроорганізми.

Для уточнення отриманих результатів та встановлення можливого токсичного впливу на організм телят було проведене біохімічне дослідження сироватки крові по завершенню дослідження (30 діб).

Отримані результати дають підставу вважати, що застосування телятам пробіотиків вплинуло на збільшення рівня загального протеїну з *B. coagulans* на 20 %; *B. mucilaginosus* – 22%; *B. megaterium* – на 18 %; *B. pumilus* – на 10 %; *B. amyloliquefaciense* – на 12 %, порівняно до контрольної групи за рахунок покращення процесу травлення. При цьому аналогічно збільшується рівень альбумінів, за рахунок покращення травлення і засвоєння кормів.

Разом з тим рівень сечовини у дослідних групах тварин зберігається у межах референтного рівня. Також у дослідних групах збільшується рівень глобулінів з *B. coagulans* на 17 %; *B. mucilaginosus* – 20%; *B. megaterium* – на 18 %; *B. pumilus* – на 20 %; *B. amyloliquefaciens* – на 17 %, порівняно до тварин контрольної групи. Це вказує на імуностимулюючий вплив пробіотиків, а саме кишковий імунітет.

Активність ферментів аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспартатамінотрансферази (АСТ) була у межах фізіологічної норми, що показує відсутність руйнуючого впливу пробіотичних штамів на внутрішні органи і тканини. Однак у дослідних групах аланінамінотрансфераза більше з *B. coagulans* на 21 %; *B. mucilaginosus* та *B. megaterium* – на 5 %; порівняно з контролем, в результаті стимуляції обмінних процесів в організмі. Підсумовуючи отримані результати біохімічного дослідження сироватки крові у телят було встановлено відсутність токсичного впливу пробіотичних штамів *Bacillus* [110].

Дослідники застосовували пробіотичні штами спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus* sp для годівлі телят замість складних схем раціонів. Бациліози зменшують утворення молочної кислоти в рубці за рахунок пригнічення мікроорганізмів *Streptococcus bovis* та *Lactobacillus* spp. [45].

Безпосереднє введення пробіотичних мікроорганізмів для регуляції мікробіоти шлунково-кишкового тракту та підвищення продуктивності тварин набуло максимального поширення протягом останніх 10 років. Існують два основних шляхи введення мікроорганізмів, які можливі для використання в молочному скотарстві для контролю мікробіоти шлунково-кишкового тракту та рН рубця: перший – застосування мікроорганізмів, які виробляють молочну кислоту, і другий – використання пробіотичних штамів бактерій, здатних використовувати молочну кислоту [171].

В першому випадку використання таких видів мікроорганізмів як *Enterococcus*, призводить до збільшення молочної кислоти в рубці. Поступово відбувається адаптація мікробіоти шлунково-кишкового тракту. Однак ці

заходи не забезпечують надійного контролю ацидозу та пригнічення умовно-патогенної мікрофлори [5]. З іншого боку є ефективним додавання безпосередньо специфічних видів пробіотичних штамів спороутворюючих мікроорганізмів таких як *Bacillus* sp, які здатні до використання молочної кислоти для свого метаболізму і тим самим знижують її вміст у рубці [150].

Наступним етапом досліджень було визначення терапевтичного ефекту від застосування *Bacillus coagulans* за диспепсії телят.

В процесі дослідження з'ясувалось, що в дослідній групі рівень лактобактерій збільшився в ході лікування порівняно до контрольної групи телят. На момент завершення дослідження рівень *Lactobacillus* sp. та *Bifidobacterium* sp. збільшився у першій дослідній групі на 130,8–469,8 %, у другій – на 151,58–272,7 % відповідно, порівняно з початком лікування.

Після проведення лікування кількість *Enterobacter* sp. зменшилась у першій дослідній групі – на 44,3 %; у другій – на 69,38 %. Рівень *Citrobacter* sp. зменшився у групі телят, де випоювали *B. coagulans* у дозі 3 г на 62,18 %. У другій дослідній групі кількість *Citrobacter* sp. зменшилась на 75,97 %. В дослідній групі по закінченню експерименту відбувалось зменшення дріжджоподібних грибів на 76,5 %, у другій – на 95,16 %, порівняно з початком лікування. Проведені експерименти доводять, що *B. coagulans* ефективний як для лікування, так і для профілактики діареї, спричиненої *Clostridium*. При проведенні експерименту було встановлено, що кількість *Clostridium* sp. зменшувалась при додаванні *B. coagulans* у першій дослідній групі на 73,7 %, у другій – у на 90,18 %.

Дослідниками доведено, що *B. coagulans* може виробляти біоцид, який має назву коагулін. Також треба вказати, що вказаний штам не здатний закріплюватись на епітелії кишечника і повністю виводиться з організму через чотири-п'ять діб, якщо його періодично не вводити в організм. Тому *B. coagulans* необхідно тривалий термін застосовувати для того щоб отримати максимальний пробіотичний ефект [140].

Пробіотичний штам *B. coagulans* добре зменшує кількість умовно

патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium*, *Escherichia coli* та дріжджоподібних грибів. Також потрібно уточнити, що пробіотичні штами *Bacillus* sp. пригнічують ту чи іншу умовно патогенну мікрофлору, не впливаючи на іншу. Таким чином знищуючи наприклад колонії *Escherichia coli*, ми провокуємо збільшення колоній дріжджоподібних грибів [44].

Проводили дослідження фізіологічних показників телят за використання *B. coagulans*. Під час проведення дослідження було встановлено, що частота диспепсії у телят значно зменшилась, особливо після 14 діб лікування.

Проведене дослідження показало, що середньодобовий приріст телят тижневого віку та споживання корму були однаково не високі у всіх групах через проблеми з травленням, які проявлялись у вигляді діареї. На двадцять першу добу експерименту у контрольній та дослідних групах телят проявів діареї не спостерігали. Також збільшився середньодобовий приріст у дослідній групі на 19,7 %, у другій – на 23,4 %, в порівнянні з контролем. Відповідно збільшилось і споживання корму у першій дослідній групі на 15,0 %, у другій – на 19,9 %. У даному дослідженні було доведено, що введення *B. coagulans* ALM 86 в концентрації 1×10^9 , КУО/г у дозі 3 – 5 г на кожну тварину зменшує частоту діареї, сприяє збільшенню середньодобового приросту та споживанню корму. Застосування в раціоні телят антибіотиків перешкоджають бактеріям рубця розщеплювати целюлозу та виробляти летючі жирні кислоти [157].

В ході експерименту було встановлено, що початок роботи рубця у дослідних груп телят був раніше на чотири доби, порівняно з контрольною групою. Для встановлення впливу *B. coagulans* ALM 86 на метаболізм телят проводили біохімічне дослідження сироватки крові по завершенню експерименту

Встановлено, що рівень загального протеїну був вищим у першій дослідній групі на 18,57 %, у другій на 22,6 %, порівняно до контролю, за рахунок збільшення вмісту загальних глобулінів. Рівень загальних глобулінів

був вірогідно більшим у першій дослідній групі на 49,3 %, у другій – на 57,37 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контролем.

Дослідженнями доведено, що вміст сечовини у телят дослідних та контрольної груп був у межах фізіологічної норми, однак у тварин контрольної групи рівень сечовини наблизився до мінімальних показників. Також в результаті застосування телятам *B. coagulans* ALM 86 було встановлено зниження рівня загального холестерину у першій дослідній групі на 41,61 %, у другій – на 58,95 %, порівняно з контрольною. Встановлено, що у першій дослідній групі вміст креатиніну в крові був вірогідно меншим на 17,11 %, у другій – на 22,16 %, порівняно до контролю ($p \leq 0,05$) [168]. Рівень глюкози у тварин дослідних та контрольної груп був практично на одному рівні у межах фізіологічної норми, що також вказує на нормальний метаболізм в організмі.

Активність ферменту аланінамінотрансферази (АЛТ) у контрольній групі телят був на максимально допустимій межі референтного рівня, що вказує на інтоксикацію організму в наслідок диспепсії. У телят завдяки використанню пробіотика *B. coagulans* ALM 86 був достовірно нижчий рівень АЛТ у першій групі на 60,22 %, у другій – на 63,06 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контрольною.

У телят першої дослідної групи рівень ферменту АСТ був менший на 58,15 %, у другій на 63,07 % ($p \leq 0,05$), порівняно до контролю.

За результатами дослідження встановлено, що у телят контрольної та дослідних груп рівень циркулюючих імунних комплексів та серомукоїдів був у межах фізіологічної норми.

За результатами проведених досліджень встановлено позитивний вплив *B. coagulans* ALM 86 на метаболізм телят та фізіологічні показники. Також в роботі доведено терапевтичний ефект *B. coagulans* ALM 86 за диспепсії у молочних телят.

Наступним етапом досліджень було визначення впливу ферментно-пробіотичної добавки (ФПД) на розвиток шлунково-кишкового тракту

молочних телят.

Результати спостереження свідчать, що серед телят, які отримували ферментно-пробіотичну добавку, протягом перших трьох діб життя не зареєстровано жодного випадку діареї. Тоді як у тварин, які не отримували пробіотики 66,7% мали розлади травлення – диспепсію. Під час захворювання тварини були пригніченими, малорухливими, із відсутнім апетитом, задня частина тіла забруднена фекальними масами. В подальшому такі тварини, хоч і незначно, мали меншу інтенсивність росту.

Отже, включення до одного із випоювань молока ферментно-пробіотичної добавки щоденно забезпечує надійну (100 %) профілактику розладів травлення.

Дані отримані в ході дослідження доводять, що через тиждень проведення експерименту у дослідній групі кількість бактерій вірогідно збільшилась на 83,5 %; інфузорій – на 65,2 %; ентодіноморфів – на 24,3 %. Уже через два тижні проведення експерименту із застосування пробіотику телятам значно збільшило масу мікроорганізмів у рубці. При цьому фізіологічні показники телят: температура, пульс, частота дихання та скорочення рубця були в нормі, вони мали гарний апетит. На 30-ту добу експерименту у дослідній групі, чисельність бактерій вірогідно збільшилась на 94,3 %; інфузорій – на 40,5 %; ентодіноморфів – на 26,7 %, порівняно до контролю. Рандомізовані контрольовані дослідження проводились, враховуючи використання ФПД. Важливо, що усіх телят випоювали протягом перших семи діб життя молозивом в кількості 8-9 л, тричі на добу. Після випоювання в ротову порожнину теляті клали невеличкий жмут м'якого сіна суміші трав грясниці, тимофіївки та люцерни високої якості [32, 53]. Отримані дані реєстрації першої жуйки у телят доводять, що складові ферментно-пробіотичної добавки прискорюють заселення мікрофлорою та розвиток рубцевого травлення у телят у 2,5 рази в порівнянні із телятами контрольної групи.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі впроваджений новий метод профілактики інфекційних захворювань та лікування шлунково-кишкових розладів у молочних телят за рахунок застосування пробіотичних штамів *Bacillus* sp.. Дослідницьким шляхом встановлений лікувальний ефект від застосування *Bacillus coagulans* ALM 86 при диспепсії у телят на відлученні, доведений позитивний вплив на мікробіом шлунково-кишкового тракту, метаболізм, функціональну активність рубця, приріст живої ваги; визначені основні причини виникнення дисбактеріозу у телят в господарствах, досліджені властивості пробіотичного штаму *B. coagulans* ALM 86.

1. Дослідженнями встановлено, що штам *Bacillus coagulans* ALM86 є грампозитивною, паличкоподібною спороутворюючою бактерією, яка витримує вплив високих температур до 80 °С, високу кислотність шлунково-кишкового тракту і тиск. В процесі метаболізму *B. coagulans* використовує арабінозу, ксилозу, глюкозу, галактозу, манозу, фруктозу, мальтозу, сахарозу та трегалозу, не гідролізує крохмаль, казеїн та желатин, не виділяє сірководень та індол, має негативний оксидазний тест.

2. Встановлено, що *Bacillus coagulans* ALM 86 проявляв максимальні антагоністичні властивості порівняно з антибіотиком та іншими пробіотичними штамми стосовно *S. agalactiae* – на 18,93 %; *Candida* – на 29,16 %; *S. aureus* – на 15,56 %. Штам *Bacillus pumilus* LA 56 пригнічував ріст колоній *S. epidermidis* на 20,49 %; *E. coli* – на 28,78 %; *Candida* – на 7,33 %. *B. megaterium* NCH 55 проявляв протимікробні властивості до *S. aureus* та *E. fecalis* однаково з антибіотиком цефалексином.

3. Мікроклімат у приміщенні для утримання телят на відлученні відповідав санітарно-гігієнічним нормам. Однак показник мікробної забрудненості перевищував допустимі межі в дослідному приміщенні восени – на 10,21 %, взимку – на 23,53 % та навесні на 12,81 %. В приміщенні

утримання контрольному приміщенні рівень мікробних тіл був вище за норму восени – на 8,69 %, взимку – на 25,26 % та навесні на 9,37 %.

4. Визначені основні збудники інфекційних захворювань молочних телят на фермі: *S. agalactiae* (23 %), *S. aureus* (11 %), *S. epidermidis* (18 %), *E. fecalis* (10 %), *E. coli* (12 %), *Mycoplasma spp.* (7 %), гриби *Candida* (9 %) та асоційована мікрофлора (10 %).

5. Встановлено, що максимальний позитивний вплив на мікрофлору шлунково-кишкового тракту телят до 30 добового віку мав *B. coagulans* (1×10^9) при впоюванні в дозі 5 г на тварину. При цьому кількість *Lactobacillus sp.* була максимальною і досягла 800 КУО/г, що більше на 80%, порівняно до контрольної групи. Разом з цим, рівень умовно-патогенних мікроорганізмів у дослідній групі з *B. coagulans* мав мінімальні показники і складав: *Clostridium* на 20 % *Escherichia coli* – на 70 %; *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* та *Candida* – на 100 %, менше порівняно до контролю. Жива маса телят була вірогідно більше на 22,16 % та середньодобовий приріст – на 24 %, порівняно з групою контролю (* $p \leq 0,05$).

6. Доведено, що застосування телятам пробіотиків вплинуло на збільшення рівня загального протеїну з *B. coagulans* на 20 %; *B. mucilaginosus* – 22%; *B. megaterium* – на 18 %; *B. pumilus* – на 10 %; *B. amyloliquefaciense* – на 12 %, відповідно до тварин контрольної групи. Також у дослідних групах збільшується рівень глобулінів з *B. coagulans* на 17 %; *B. mucilaginosus* – 20 %; *B. megaterium* – на 18 %; *B. pumilus* – на 20 %; *B. amyloliquefaciense* – на 17 %, що вказує на імуностимулюючий вплив пробіотиків. Активність ферментів аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази була у межах фізіологічної норми.

7. Дослідженнями доведено, що введення з *B. coagulans* ALM 86 в концентрації 1×10^9 , КУО/г у дозі 5 г на кожну тварину зменшує частоту діареї, покращує фізіологічні показники та прискорює початок рубцевого травлення у молочних телят. Доведено збільшення середньодобового приросту на 23,4 % та споживання корму – на 19,9 %, в порівнянні з

контролем. Встановлено зниження рівня загального холестерину на 58,95 %, збільшення глобулінів – на 57,37 % ($p \leq 0,05$). Активність ферментів, циркулюючих імунних комплексів та серомукоїдів була у межах фізіологічної норми, що вказує на відсутність токсичного впливу запропонованої дози *B. coagulans* ALM 86 для лікування диспепсії у телят.

8. За використання телятам ферментно-пробіотичної добавки через тиждень кількість корисної мікрофлори вірогідно збільшилась ($p \leq 0,05$) на 83,5 %; інфузорій – на 65,2 %; ентодіноморфів – на 24,3 %, на 30-ту добу кількість корисної мікрофлори збільшилась на 94,3 %; інфузорій – на 40,5 %; ентодіноморфів – на 26,7 %, відповідно до контролю. Отримані дані реєстрації першої жуйки у телят доводять, що складові ферментно-пробіотичної добавки прискорюють заселення мікрофлорою та розвиток рубцевого травлення у телят у 2,5 рази в порівнянні із телятами контрольної групи.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. У господарствах з вирощування великої рогатої худоби телятам на відлученні рекомендується застосовувати *Bacillus coagulans* ALM 86 у концентрації 1×10^9 КУО/г в дозі 5 г на тварину для профілактики інфекційних захворювань та лікування шлунково-кишкових розладів.

2. Впроваджувати в господарствах з вирощування великої рогатої худоби розроблені методичні рекомендації «Застосування пробіотиків при вирощуванні молодняка великої рогатої худоби», затверджені Вченою радою СНАУ, протокол № 12, від 25.04.2022 року.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abriouel, H., Franz, C.M.A.P., Omar, N.B., Galvez, A. (2011). Diversity and applications of Bacillus bacteriocins. *FEMS Micr Rev.* 35, 201-232. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00244.x>
2. Ackermann, M. R., Derscheid, R., & Roth, J. A. (2010). Innate immunology of bovine respiratory disease. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 26(2), 215–228. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.03.001>
3. Aebi, M., van den Borne, B. H., Raemy, A., Steiner, A., Pilo, P., & Bodmer, M. (2015). Mycoplasma bovis infections in Swiss dairy cattle: a clinical investigation. *Acta veterinaria Scandinavica*, 57(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0099-x>
4. Aghamohammadi, M., Haine, D., Kelton, D. F., Barkema, H. W., Hogeveen, H., Keefe, G. P., & Dufour, S. (2018). Herd-Level Mastitis-Associated Costs on Canadian Dairy Farms. *Frontiers in veterinary science*, 5, 100. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00100>
5. Aikman, P.C., Henning, P.H., Humphries, D.J., Horn, C.H. (2010). Rumen pH and fermentation characteristics in dairy cows supplemented with *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125 in early lactation. *J. Dairy Sci.* 94, 2840–2849. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3783>
6. Akhtar, M., Guo, S., Guo, Y. F., Zahoor, A., Shaukat, A., Chen, Y., Umar, T., Deng, P. G., & Guo, M. (2020). Upregulated-gene expression of pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β and IL-6) via TLRs following NF- κ B and MAPKs in bovine mastitis. *Acta tropica*, 207, 105458. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105458>
7. Alawneh, J. I., Barreto, M. O., Moore, R. J., Soust, M., Al-Harbi, H., James, A. S., Krishnan, D., & Olchoway, T. W. J. (2020). Systematic review of an intervention: the use of probiotics to improve health and productivity of calves.

- Preventive veterinary medicine, 183, 105147.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105147>
8. Al-Farha, A. A., Hemmatzadeh, F., Khazandi, M., Hoare, A., & Petrovski, K. (2017). Evaluation of effects of *Mycoplasma mastitis* on milk composition in dairy cattle from South Australia. *BMC veterinary research*, 13(1), 351. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1274-2>
 9. Amat-Valero, M., Calero-Torralbo, M. A., & Valera, F. (2013). Temperature during the free-living phase of an ectoparasite influences the emergence pattern of the infective phase. *Parasitology*, 140(11), 1357–1367. <https://doi.org/10.1017/S0031182013000929>
 10. Amat-Valero, M., Calero-Torralbo, M. A., Václav, R., & Valera, F. (2014). Cavity types and microclimate: implications for ecological, evolutionary, and conservation studies. *International journal of biometeorology*, 58(9), 1983–1994. <https://doi.org/10.1007/s00484-014-0801-0>
 11. Anderson, K. L., Wesen, D. P., & Fetrow, J. (1991). Influence of inoculum volume in diagnosis of environmental mastitis from clinical quarters. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 3(2), 165–167. <https://doi.org/10.1177/104063879100300212>
 12. Andrews, T., Neher, D. A., Weicht, T. R., & Barlow, J. W. (2019). Mammary microbiome of lactating organic dairy cows varies by time, tissue site, and infection status. *PloS one*, 14(11), e0225001. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225001>
 13. Andriani, Y. (2015). Assessment on cow rumen fluid celluloseamylase enzyme activity as an alternative source of crude fiber degrading enzyme in fish feed materials. *Scientific Papers-Animal Science Series: Lucrări Științifice-Seria Zootehnie*, 63, 242-245.
 14. Andriani, Y., Rochima, E., Safitri, R., & Rahayuningsih, S. R. (2017). Characterization of *Bacillus megaterium* and *Bacillus mycoides* Bacteria as

Probiotic Bacteria in Fish and Shrimp Feed. *KnE Life Sciences*, 2(6), 127-135.

<https://doi.org/10.18502/kls.v2i6.1029>

15. Angelopoulou, A., Warda, A. K., Hill, C., & Ross, R. P. (2019). Non-antibiotic microbial solutions for bovine mastitis - live biotherapeutics, bacteriophage, and phage lysins. *Critical reviews in microbiology*, 45(5-6), 564–580. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2019.1648381>

16. Asheim, L.J., Johnsen, J.F., Havrevoll, Ø. et al. The economic effects of suckling and milk feeding to calves in dual purpose dairy and beef farming. *Rev Agric Food Environ Stud* 97, 225–236 (2016). <https://doi.org/10.1007/s41130-016-0023-4>

17. Ashraf, A., & Imran, M. (2020). Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Animal health research reviews*, 21(1), 36–49. <https://doi.org/10.1017/S1466252319000094>

18. Aust, V., Knappstein, K., Kunz, H. J., Kaspar, H., Wallmann, J., & Kaske, M. (2013). Feeding untreated and pasteurized waste milk and bulk milk to calves: effects on calf performance, health status and antibiotic resistance of faecal bacteria. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 97(6), 1091–1103. <https://doi.org/10.1111/jpn.12019>.

19. Bagnell, C. A., & Bartol, F. F. (2019). Review: Maternal programming of development in the pig and the lactocrine hypothesis. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 13(12), 2978–2985. <https://doi.org/10.1017/S1751731119001654>.

20. Bang, N. N., Gaughan, J. B., Hayes, B. J., Lyons, R. E., Chanh, N. V., Trach, N. X., Khang, D. N., & McNeill, D. M. (2021). Characteristics of Cowsheds in Vietnamese Smallholder Dairy Farms and Their Associations with Microclimate-A Preliminary Study. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(2), 351. <https://doi.org/10.3390/ani11020351>

21. Bannerman D. D. (2009). Pathogen-dependent induction of cytokines and other soluble inflammatory mediators during intramammary infection of dairy

cows. *Journal of animal science*, 87(13 Suppl), 10–25.
<https://doi.org/10.2527/jas.2008-1187>

22. Barry, J., Bokkers, E. A. M., Berry, D. P., de Boer, I. J. M., McClure, J., & Kennedy, E. (2019). Associations between colostrum management, passive immunity, calf-related hygiene practices, and rates of mortality in preweaning dairy calves. *Journal of dairy science*, 102(11), 10266–10276.
<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16815> .

23. Barry, J., Bokkers, E. A. M., de Boer, I. J. M., & Kennedy, E. (2020). Pre-weaning management of calves on commercial dairy farms and its influence on calf welfare and mortality. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 14(12), 2580–2587. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001615>

24. Baumrucker, C. R., Macrina, A. L., & Bruckmaier, R. M. (2021). Colostrogenesis: Role and Mechanism of the Bovine Fc Receptor of the Neonate (FcRn). *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 26(4), 419–453.
<https://doi.org/10.1007/s10911-021-09506-2>.

25. Bell, D. J., Robertson, J., Macrae, A. I., Jennings, A., Mason, C. S., & Haskell, M. J. (2021). The Effect of the Climatic Housing Environment on the Growth of Dairy-Bred Calves in the First Month of Life on a Scottish Farm. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(9), 2516.
<https://doi.org/10.3390/ani11092516>

26. Bennett, R., Christiansen, K., & Clifton-Hadley, R. (1999). Preliminary estimates of the direct costs associated with endemic diseases of livestock in Great Britain. *Preventive veterinary medicine*, 39(3), 155–171.
[https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(99\)00003-3](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(99)00003-3)

27. Berge, A. C., Besser, T. E., Moore, D. A., & Sischo, W. M. (2009). Evaluation of the effects of oral colostrum supplementation during the first fourteen days on the health and performance of preweaned calves. *Journal of dairy science*, 92(1), 286–295. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1433>

28. Biben, I. A., Alenin, I. K., Larionov, D. P., ShavloO. O., Sosnitskyi, O. I., Zazharsky, V. V., & Zazharska, N. (2020). PHYSIOLOGICAL

STIMULATION BY THE HUMIC DRUGS OF GROWTH POTENTIALS OF CHICKEN-BROILERS. Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology, 21(1), 31-45.
<https://doi.org/10.36359/scivp.2020-21-1.03>

29. Biben, I. A., Sosnytskyi, O. I., Zazharskyi, V. V., Sosnytska, A. O., & Useeva, N. G. (2023). POTENTIATION OF PROBIOTIC ACTIVITY BY SIMULTANEOUS USE OF AEROCOCCUS VIRIDANS AND MYCOBACTERIUM VACCAE. Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology, 24(1), 18-26.
<https://doi.org/10.36359/scivp.2023-24-1.02>.

30. Bigler, N. A., Gross, J. J., Baumrucker, C. R., & Bruckmaier, R. M. (2023). Endocrine changes during the peripartal period related to colostrogenesis in mammalian species. Journal of animal science, 101, skad146.
<https://doi.org/10.1093/jas/skad146>.

31. Brilis, V.I., Brilene, T.A., Lentsener, Kh.P., Lentsener, A.A. (1986) Methodology for studying the adhesive process of microorganisms, Laboratory work. №4, C. 210-212 <https://core.ac.uk/download/pdf/14485721.pdf>.

32. Caixeta, L. S., & Omontese, B. O. (2021). Monitoring and Improving the Metabolic Health of Dairy Cows during the Transition Period. Animals : an open access journal from MDPI, 11(2), 352. <https://doi.org/10.3390/ani11020352>

33. Cangiano, L. R., Yohe, T. T., Steele, M. A., & Renaud, D. L. (2020). Invited Review: Strategic use of microbial-based probiotics and prebiotics in dairy calf rearing. Applied Animal Science, 36(5), 630-651.

34. CatalinaMedrano-Galarza, Stephen J.LeBlanc, AndriaJones-Bitton, Trevor J.DeVries, JeffreyRushen, Anne Mariede Passillé, and Derek B.Haley. 2017. Producer perceptions of manual and automated milk feeding systems for dairy calves in Canada. Canadian Journal of Animal Science. 98(2): 250-259.
<https://doi.org/10.1139/cjas-2017-0038>

35. Chakraborty, S., Dhama, K., Tiwari, R., Iqbal Yattoo, M., Khurana, S. K., Khandia, R., Munjal, A., Munuswamy, P., Kumar, M. A., Singh, M., Singh, R., Gupta, V. K., & Chaicumpa, W. (2019). Technological interventions and advances in the diagnosis of intramammary infections in animals with emphasis on bovine population-a review. *The veterinary quarterly*, 39(1), 76–94. <https://doi.org/10.1080/01652176.2019.1642546>
36. Chamorro, M. F., Cernicchiaro, N., & Haines, D. M. (2017). Evaluation of the effects of colostrum replacer supplementation of the milk replacer ration on the occurrence of disease, antibiotic therapy, and performance of pre-weaned dairy calves. *Journal of dairy science*, 100(2), 1378–1387. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11652>
37. Clemente, J. C., Manasson, J., & Scher, J. U. (2018). The role of the gut microbiome in systemic inflammatory disease. *BMJ (Clinical research ed.)*, 360, j5145. <https://doi.org/10.1136/bmj.j5145>
38. Costa, A., Lopez-Villalobos, N., Sneddon, N. W., Shalloo, L., Franzoi, M., De Marchi, M., & Penasa, M. (2019). Invited review: Milk lactose-Current status and future challenges in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 102(7), 5883–5898. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15955>
39. Crispie, F., Alonso-Gómez, M., O'Loughlin, C., Klostermann, K., Flynn, J., Arkins, S., Meaney, W., Paul Ross, R., & Hill, C. (2008). Intramammary infusion of a live culture for treatment of bovine mastitis: effect of live lactococci on the mammary immune response. *The Journal of dairy research*, 75(3), 374–384. <https://doi.org/10.1017/S0022029908003385>
40. Cuttance, E. L., Regnerus, C., & Laven, R. A. (2019). A review of diagnostic tests for diagnosing failure of transfer of passive immunity in dairy calves in New Zealand. *New Zealand veterinary journal*, 67(6), 277–286. <https://doi.org/10.1080/00480169.2019.1654945>
41. da Silva Duarte, V., Treu, L., Sartori, C., Dias, R. S., da Silva Paes, I., Vieira, M. S., Santana, G. R., Marcondes, M. I., Giacomini, A., Corich, V., Campanaro, S., da Silva, C. C., & de Paula, S. O. (2020). Milk microbial

composition of Brazilian dairy cows entering the dry period and genomic comparison between *Staphylococcus aureus* strains susceptible to the bacteriophage vB_SauM-UFV_DC4. *Scientific reports*, 10(1), 5520. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62499-6>

42. Damiaans, B., Renault, V., Sarrazin, S., Berge, A. C., Pardon, B., Ribbens, S., Saegerman, C., & Dewulf, J. (2019). Biosecurity practices in Belgian veal calf farming: Level of implementation, attitudes, strengths, weaknesses and constraints. *Preventive veterinary medicine*, 172, 104768. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104768>.

43. de Castro Júnior, S. L., & Silva, I. J. O. D. (2021). The specific enthalpy of air as an indicator of heat stress in livestock animals. *International journal of biometeorology*, 65(2), 149–161. <https://doi.org/10.1007/s00484-020-02022-8>

44. Diao, Q., Zhang, R., Tu, Y. (2017). Current research progresses on calf rearing and nutrition in China. *J. Integr.* 16, 2805–2814. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61767-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61767-2)

45. Dias, J., Marcondes, M. I., Motta de Souza, S., Cardoso da Mata E Silva, B., Fontes Noronha, M., Tassinari Resende, R., Machado, F. S., Cuquetto Mantovani, H., Dill-McFarland, K. A., & Suen, G. (2018). Bacterial Community Dynamics across the Gastrointestinal Tracts of Dairy Calves during Preweaning Development. *Applied and environmental microbiology*, 84(9), e02675-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02675-17>

46. Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N., & Heederik, D. (2003). Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *The Annals of occupational hygiene*, 47(3), 187–200. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meg032>.

47. Ezzat Alnakip, M., Quintela-Baluja, M., Böhme, K., Fernández-No, I., Caamaño-Antelo, S., Calo-Mata, P., & Barros-Velázquez, J. (2014). The Immunology of Mammary Gland of Dairy Ruminants between Healthy and Inflammatory Conditions. *Journal of veterinary medicine*, 2014, 659801. <https://doi.org/10.1155/2014/659801>

48. Fan, P., Li, L., Rezaei, A., Eslamfam, S., Che, D., Ma, X. (2015). Metabolites of dietary protein and peptides by intestinal microbes and their impacts on the gut. *Curr Protein Pept Sci.* 16, 646–654. <https://doi.org/10.2174/1389203716666150630133657>.
49. Fong, F. L., Shah, N. P., Kirjavainen, P., & El-Nezami, H. (2016). Mechanism of Action of Probiotic Bacteria on Intestinal and Systemic Immunities and Antigen-Presenting Cells. *International reviews of immunology*, 35(3), 179–188. <https://doi.org/10.3109/08830185.2015.1096937>
50. Foutz, C. A., Godden, S. M., Bender, J. B., Diez-Gonzalez, F., Akhtar, M., & Vatulin, A. (2018). Exposure to antimicrobials through the milk diet or systemic therapy is associated with a transient increase in antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* of dairy calves. *Journal of dairy science*, 101(11), 10126–10141. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14598>
51. Fox L. K. (2012). *Mycoplasma mastitis: causes, transmission, and control*. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 28(2), 225–237. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.007>
52. Gandini, G., Stella, A., Del Corvo, M., & Jansen, G. B. (2014). Selection with inbreeding control in simulated young bull schemes for local dairy cattle breeds. *Journal of dairy science*, 97(3), 1790–1798. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7184>
53. Garcia, S. N., Osburn, B. I., & Cullor, J. S. (2019). A one health perspective on dairy production and dairy food safety. *One health (Amsterdam, Netherlands)*, 7, 100086. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2019.100086>
54. Garkavenko, TO, Gorbatyuk, OI, Kozytska, TG, Anriashchuk, VO, Garkavenko, VM, Dybkova, SM, Azirkina IM (2021) Methodical recommendations for determining the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs, K. : DNDILVSE, 101.
55. Gazi, I., Reiding, K. R., Groeneveld, A., Bastiaans, J., Huppertz, T., & Heck, A. J. R. (2023). Key changes in bovine milk immunoglobulin G during lactation: NeuAc sialylation is a hallmark of colostrum immunoglobulin G N-

glycosylation. *Glycobiology*, 33(2), 115–125.
<https://doi.org/10.1093/glycob/cwad001>.

56. Graham, C., Gatherar, I., Haslam, I., Glanville, M., & Simmons, N. L. (2007). Expression and localization of monocarboxylate transporters and sodium/proton exchangers in bovine rumen epithelium. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 292(2), R997–R1007. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00343.2006>

57. Gruse, J., Görs, S., Tuchscherer, A., Otten, W., Weitzel, J. M., Metges, C. C., Wolffram, S., & Hammon, H. M. (2015). The Effects of Oral Quercetin Supplementation on Splanchnic Glucose Metabolism in 1-Week-Old Calves Depend on Diet after Birth. *The Journal of nutrition*, 145(11), 2486–2495. <https://doi.org/10.3945/jn.115.218271>.

58. Grzyb, J., Podstawski, Z., & Bulski, K. (2022). Bacterial aerosol, particulate matter, and microclimatic parameters in the horse stables in Poland. *Environmental science and pollution research international*, 29(18), 26992–27006. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18142-6>

59. Gulliksen, S. M., Jor, E., Lie, K. I., Hammes, I. S., Løken, T., Akerstedt, J., & Osterås, O. (2009). Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *Journal of dairy science*, 92(10), 5057–5066. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2080>.

60. Gultekin, M., Voyvoda, H., Ural, K., Erdogan, H., Balikci, C., & Gultekin, G. (2019). Plasma citrulline, arginine, nitric oxide, and blood ammonia levels in neonatal calves with acute diarrhea. *Journal of veterinary internal medicine*, 33(2), 987–998. <https://doi.org/10.1111/jvim.15459>

61. Haider, N., Cuellar, A. C., Kjær, L. J., Sørensen, J. H., & Bødker, R. (2018). Microclimatic temperatures at Danish cattle farms, 2000-2016: quantifying the temporal and spatial variation in the transmission potential of Schmallenberg virus. *Parasites & vectors*, 11(1), 128. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2709-8>

62. Hammon, H. M., Liermann, W., Frieten, D., & Koch, C. (2020). Review: Importance of colostrum supply and milk feeding intensity on

gastrointestinal and systemic development in calves. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 14(S1), s133–s143.
<https://doi.org/10.1017/S1751731119003148>

63. Hammon, H. M., Steinhoff-Wagner, J., Schönhusen, U., Metges, C. C., & Blum, J. W. (2012). Energy metabolism in the newborn farm animal with emphasis on the calf: endocrine changes and responses to milk-borne and systemic hormones. *Domestic animal endocrinology*, 43(2), 171–185.
<https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2012.02.005>.

64. Hartung, T. (2010). Comparative analysis of the revised Directive 2010/63/EU for the protection of laboratory animals with its predecessor 86/609/EEC – a t4 report. *ALTEX*, 27(4), 285-303. doi: 10.14573/altex.2010.4.285

65. Holko, I., Tančin, V., Vršková, M., & Tvarožková, K. (2019). Prevalence and antimicrobial susceptibility of udder pathogens isolated from dairy cows in Slovakia. *The Journal of dairy research*, 86(4), 436–439.
<https://doi.org/10.1017/S0022029919000694>

66. Holzapfel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., & Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2 Suppl), 365S–373S.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.365s>

67. Hook, S. E., Steele, M. A., Northwood, K. S., Dijkstra, J., France, J., Wright, A. D., & McBride, B. W. (2011). Impact of subacute ruminal acidosis (SARA) adaptation and recovery on the density and diversity of bacteria in the rumen of dairy cows. *FEMS microbiology ecology*, 78(2), 275–284.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01154.x>.

68. Hoque, M. N., Das, Z. C., Rahman, A., & Hoque, M. M. (2016). Effect of administration of vitamin E, selenium and antimicrobial therapy on incidence of mastitis, productive and reproductive performances in dairy cows. *International journal of veterinary science and medicine*, 4(2), 63–70.
<https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2016.11.001>

69. Horiuk, Y. V., Kukhtyn, M. D., Horiuk, V. V., Sytnik, V. A., Dashkovskyy, O. O. (2021). Effect of Phage SAvB14 combined with antibiotics on *Staphylococcus aureus* variant bovis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12 (3), 531–536. <https://doi.org/10.15421/022173>
70. Horiuk, Y., Kukhtyn, M., Horiuk, V., Kernychnyi, S., Tarasenko, L. (2020). Characteristics of bacteriophages of the *Staphylococcus aureus* variant bovis. *Veterinárni Medicína*, 65 (10), 421–426. <https://doi.org/10.17221/55/2020-VETMED>
71. Horiuk, Y., Kukhtyn, M., Kernychnyi, S., Laiter-Moskaliuk, S., Prosyanyi, S., Boltyk, N. (2021). Sensitivity of *Staphylococcus aureus* cultures of different biological origin to commercial bacteriophages and phages of *Staphylococcus aureus* var. bovis. *Veterinary World*, 14 (6), 1588–1593. www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.1588-1593
72. Horwood, P. F., Schibrowski, M. I., Fowler, E. V., Gibson, J. S., Barnes, T. S., & Mahony, T. J. (2014). Is *Mycoplasma bovis* a missing component of the bovine respiratory disease complex in Australia?. *Australian veterinary journal*, 92(6), 185–191. <https://doi.org/10.1111/avj.12184>
73. Hussein, H. A., El-Razik, K., Gomaa, A. M., Elbayoumy, M. K., Abdelrahman, K. A., & Hosein, H. I. (2018). Milk amyloid A as a biomarker for diagnosis of subclinical mastitis in cattle. *Veterinary world*, 11(1), 34–41. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.34-41>
74. Ianieva, O. D., Voronina, G. O., & Pidgorskyi, V. S. (2013). Isolation and characteristics of the lactose-fermenting yeasts *Candida kefyr*. *Cytology and genetics*, 47(6), 359-365.
75. Ivashkiv L. B. (2018). IFN γ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. *Nature reviews. Immunology*, 18(9), 545–558. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0029-z>
76. Izuddin, W. I., Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samsudin, A. A. (2020). Dietary Postbiotic *Lactobacillus plantarum* Improves Serum and Ruminal Antioxidant Activity and Upregulates Hepatic Antioxidant Enzymes and

Ruminal Barrier Function in Post-Weaning Lambs. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 9(3), 250. <https://doi.org/10.3390/antiox9030250>

77. Jagielski, T., Krukowski, H., Bochniarz, M., Piech, T., Roeske, K., Bakula, Z., Wlazlo, L., & Woch, P. (2019). Prevalence of *Prototheca* spp. on dairy farms in Poland - a cross-country study. *Microbial biotechnology*, 12(3), 556–566. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13394>

78. Jagielski, T., Roeske, K., Bakula, Z., Piech, T., Wlazlo, L., Bochniarz, M., Woch, P., & Krukowski, H. (2019). A survey on the incidence of *Prototheca* mastitis in dairy herds in Lublin province, Poland. *Journal of dairy science*, 102(1), 619–628. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15495>

79. Jasper D. E. (1982). The role of *Mycoplasma* in bovine mastitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 181(2), 158–162.

80. Jensen, M. B., Duve, L. R., & Weary, D. M. (2015). Pair housing and enhanced milk allowance increase play behavior and improve performance in dairy calves. *Journal of dairy science*, 98(4), 2568–2575. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8272>

81. Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C., & Chassard, C. (2013). Assessment of bacterial diversity in breast milk using culture-dependent and culture-independent approaches. *The British journal of nutrition*, 110(7), 1253–1262. <https://doi.org/10.1017/S0007114513000597>

82. Judge, M. M., Pabiou, T., Conroy, S., Fanning, R., Kinsella, M., Aspel, D., Cromie, A. R., & Berry, D. P. (2019). Factors associated with the weight of individual primal cuts and their inter-relationship in cattle. *Translational animal science*, 3(4), 1593–1605. <https://doi.org/10.1093/tas/txz134>

83. Kalliolias, G. D., & Ivashkiv, L. B. (2016). TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nature reviews. Rheumatology*, 12(1), 49–62. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.169>

84. Karavansky, M., Rud, V., & Tarasenko, L. (2021). Research of factors affecting high sanitary and hygienic quality milk production (risk assessment for milk production). *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and*

Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 23(101), 82-85.
<https://doi.org/10.32718/nvlvet10114>.

85. Kaur, S., Bansal, Y., Kumar, R., & Bansal, G. (2020). A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 28(5), 115327. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115327>

86. Kayano, M., Itoh, M., Kusaba, N., Hayashiguchi, O., Kida, K., Tanaka, Y., Kawamoto, K., & Gröhn, Y. T. (2018). Associations of the first occurrence of pathogen-specific clinical mastitis with milk yield and milk composition in dairy cows. *The Journal of dairy research*, 85(3), 309–316. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000456>

87. Kesser, J., Hill, M., Heinz, J. F., Koch, C., Rehage, J., Steinhoff-Wagner, J., Hammon, H. M., Mielenz, B., Sauerwein, H., & Sadri, H. (2015). The rapid increase of circulating adiponectin in neonatal calves depends on colostrum intake. *Journal of dairy science*, 98(10), 7044–7051. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9726> .

88. Khasapane, N. G., Nkhebenyane, J. S., Kwenda, S., Khumalo, Z., Mtshali, P. S., Taioe, M. O., & Thekiso, O. (2021). Application of culture, PCR, and PacBio sequencing for determination of microbial composition of milk from subclinical mastitis dairy cows of smallholder farms. *Open life sciences*, 16(1), 800–808. <https://doi.org/10.1515/biol-2021-0080>

89. Kiktev, N., Lendiel, T., Vasilenkov, V., Kapralyuk, O., Hutsol, T., Glowacki, S., Kuboń, M., & Kowalczyk, Z. (2021). Automated Microclimate Regulation in Agricultural Facilities Using the Air Curtain System. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 21(24), 8182. <https://doi.org/10.3390/s21248182>

90. Kim, B. S., Park, Y. J., & Chung, Y. (2016). Targeting IL-17 in autoimmunity and inflammation. *Archives of pharmacal research*, 39(11), 1537–1547. <https://doi.org/10.1007/s12272-016-0823-8>, Chen, K., & Kolls, J. K. (2017). Interleukin-17A (IL17A). *Gene*, 614, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.01.016>

91. Kim, Y. H., Nagata, R., Ohtani, N., Ichijo, T., Ikuta, K., & Sato, S. (2016). Effects of Dietary Forage and Calf Starter Diet on Ruminal pH and Bacteria in Holstein Calves during Weaning Transition. *Frontiers in microbiology*, 7, 1575. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01575>
92. Kim, Y. H., Toji, N., Kizaki, K., Kushibiki, S., Ichijo, T., & Sato, S. (2016). Effects of dietary forage and calf starter on ruminal pH and transcriptomic adaptation of the rumen epithelium in Holstein calves during the weaning transition. *Physiological genomics*, 48(11), 803–809. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00086.2016>
93. Kohl, S., Wellmann, R., & Herold, P. (2020). Implementation of advanced Optimum Contribution Selection in small-scale breeding schemes: prospects and challenges in Vorderwald cattle. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 14(3), 452–463. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002295>
94. Kong, L., Yang, C., Dong, L., Diao, Q., Si, B., Ma, J., & Tu, Y. (2019). Rumen Fermentation Characteristics in Pre- and Post-Weaning Calves upon Feeding with Mulberry Leaf Flavonoids and *Candida tropicalis* Individually or in Combination as a Supplement. *Animals : an open access journal from MDPI*, 9(11), 990. <https://doi.org/10.3390/ani9110990>
95. Konnai, S., Murata, S., & Ohashi, K. (2017). Immune exhaustion during chronic infections in cattle. *The Journal of veterinary medical science*, 79(1), 1–5. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0354>
96. Krömker, V., & Leimbach, S. (2017). Mastitis treatment-Reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 52 Suppl 3, 21–29. <https://doi.org/10.1111/rda.13032>
97. Lemosquet, S., Delamaire, E., Lapierre, H., Blum, J. W., & Peyraud, J. L. (2009). Effects of glucose, propionic acid, and nonessential amino acids on glucose metabolism and milk yield in Holstein dairy cows. *Journal of dairy science*, 92(7), 3244–3257. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1610>
98. Liu, S., Ma, J., Li, J., Alugongo, G. M., Wu, Z., Wang, Y., Li, S., & Cao, Z. (2019). Effects of Pair Versus Individual Housing on Performance, Health,

and Behavior of Dairy Calves. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10(1), 50. <https://doi.org/10.3390/ani10010050>

99. Lopes, R. B., Bernal-Córdoba, C., Fausak, E. D., & Silva-Del-Río, N. (2021). Effect of prebiotics on growth and health of dairy calves: A protocol for a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 16(6), e0253379. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253379>

100. Lundborg, G. K., Svensson, E. C., & Oltenacu, P. A. (2005). Herd-level risk factors for infectious diseases in Swedish dairy calves aged 0-90 days. *Preventive veterinary medicine*, 68(2-4), 123–143. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.11.014>.

101. Ma, C., Sun, Z., Zeng, B., Huang, S., Zhao, J., Zhang, Y., Su, X., Xu, J., Wei, H., & Zhang, H. (2018). Cow-to-mouse fecal transplantations suggest intestinal microbiome as one cause of mastitis. *Microbiome*, 6(1), 200. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0578-1>

102. Mahendran, S. A., Wathes, D. C., Booth, R. E., & Blackie, N. (2021). The Health and Behavioural Effects of Individual versus Pair Housing of Calves at Different Ages on a UK Commercial Dairy Farm. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(3), 612. <https://doi.org/10.3390/ani11030612>

103. Maia, N. L., de Barros, M., de Oliveira, L. L., Cardoso, S. A., Dos Santos, M. H., Pieri, F. A., Ramalho, T. C., da Cunha, E., & Moreira, M. (2018). Synergism of Plant Compound With Traditional Antimicrobials Against *Streptococcus* spp. Isolated From Bovine Mastitis. *Frontiers in microbiology*, 9, 1203. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01203>

104. Malinowski, E., Lassa, H., Kłossowska, A., Smulski, S., Markiewicz, H., & Kaczmarowski, M. (2006). Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. *Polish journal of veterinary sciences*, 9(3), 191–194.

105. Malmuthuge, N., Griebel, P. J., & Guan, leL. (2014). Taxonomic identification of commensal bacteria associated with the mucosa and digesta throughout the gastrointestinal tracts of preweaned calves. *Applied and*

- environmental microbiology, 80(6), 2021–2028.
<https://doi.org/10.1128/AEM.03864-13>.
106. Malvisi, M., Stuknytė, M., Magro, G., Minozzi, G., Giardini, A., De Noni, I., & Piccinini, R. (2016). Antibacterial activity and immunomodulatory effects on a bovine mammary epithelial cell line exerted by nisin A-producing *Lactococcus lactis* strains. *Journal of dairy science*, 99(3), 2288–2296.
<https://doi.org/10.3168/jds.2015-10161>
107. Manso-Silván, L., Dupuy, V., Lysnyansky, I., Ozdemir, U., & Thiaucourt, F. (2012). Phylogeny and molecular typing of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis* by multilocus sequencing. *Veterinary microbiology*, 161(1-2), 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.07.015>
108. Manyi-Loh, C., Mamphweli, S., Meyer, E., & Okoh, A. (2018). Antibiotic Use in Agriculture and Its Consequential Resistance in Environmental Sources: Potential Public Health Implications. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(4), 795. <https://doi.org/10.3390/molecules23040795>
109. Mao, S. Y., Zhang, R. Y., Wang, D. S., & Zhu, W. Y. (2013). Impact of subacute ruminal acidosis (SARA) adaptation on rumen microbiota in dairy cattle using pyrosequencing. *Anaerobe*, 24, 12–19.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.08.003>
110. Mariadassou, M., Nouvel, L. X., Constant, F., Morgavi, D. P., Rault, L., Barbey, S., Helloin, E., Rué, O., Schbath, S., Launay, F., Sandra, O., Lefebvre, R., Le Loir, Y., Germon, P., Citti, C., & Even, S. (2023). Microbiota members from body sites of dairy cows are largely shared within individual hosts throughout lactation but sharing is limited in the herd. *Animal microbiome*, 5(1), 32.
<https://doi.org/10.1186/s42523-023-00252-w>
111. Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2018). The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut pathogens*, 10, 21.
<https://doi.org/10.1186/s13099-018-0250-0>

112. Maunsell, F., & Donovan, G. A. (2008). Biosecurity and risk management for dairy replacements. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 24(1), 155–190. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.007>
113. Mayer, B., Doleschall, M., Bender, B., Bartyik, J., Bosze, Z., Frenyó, L. V., & Kacsokovics, I. (2005). Expression of the neonatal Fc receptor (FcRn) in the bovine mammary gland. *The Journal of dairy research*, 72 Spec No, 107–112. <https://doi.org/10.1017/s0022029905001135>.
114. McCann, J. C., Luan, S., Cardoso, F. C., Derakhshani, H., Khafipour, E., & Looor, J. J. (2016). Induction of Subacute Ruminant Acidosis Affects the Ruminant Microbiome and Epithelium. *Frontiers in microbiology*, 7, 701. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00701>.
115. McCurdy, D. E., Wilkins, K. R., Hiltz, R. L., Moreland, S., Klanderman, K., & Laarman, A. H. (2019). Effects of supplemental butyrate and weaning on rumen fermentation in Holstein calves. *Journal of dairy science*, 102(10), 8874–8882. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16652>
116. McGuirk, S. M., & Steps, I. (2003, September). Solving calf morbidity and mortality problems. In *American Association of Bovine Practitioners, 36th Annual Conference*.
117. Meade K. G. (2015). Advances in bovine immunology - new tools and new insights to tackle old foes. *Frontiers in immunology*, 6, 71. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00071>
118. Miglior, F., Sewalem, A., Jamrozik, J., Bohmanova, J., Lefebvre, D. M., & Moore, R. K. (2007). Genetic analysis of milk urea nitrogen and lactose and their relationships with other production traits in Canadian Holstein cattle. *Journal of dairy science*, 90(5), 2468–2479. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-487>
119. Muktar, Y., Mamo, G., Tesfaye, B., & Belina, D. (2015). A review on major bacterial causes of calf diarrhea and its diagnostic method. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 7(5), 173-185
120. Murphy, M. P., Niedziela, D. A., Leonard, F. C., & Keane, O. M. (2019). The in vitro host cell immune response to bovine-adapted *Staphylococcus*

- aureus varies according to bacterial lineage. *Scientific reports*, 9(1), 6134. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42424-2>
121. Nissen, A., Andersen, P. H., Bendixen, E., Ingvarsten, K. L., & Røntved, C. M. (2017). Colostrum and milk protein rankings and ratios of importance to neonatal calf health using a proteomics approach. *Journal of dairy science*, 100(4), 2711–2728. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11722>
122. Nogues, E., Lecorps, B., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2020). Individual Variability in Response to Social Stress in Dairy Heifers. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10(8), 1440. <https://doi.org/10.3390/ani10081440>
123. Nordlund, K. V., & Halbach, C. E. (2019). Calf Barn Design to Optimize Health and Ease of Management. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 35(1), 29–45. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.10.002>
124. Omer, E. A. M., Addo, S., Roessler, R., Schäler, J., & Hinrichs, D. (2020). Exploration of production conditions: a step towards the development of a community-based breeding program for Butana cattle. *Tropical animal health and production*, 53(1), 9. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02459-4>
125. Ontsouka, E. C., Albrecht, C., & Bruckmaier, R. M. (2016). Invited review: Growth-promoting effects of colostrum in calves based on interaction with intestinal cell surface receptors and receptor-like transporters. *Journal of dairy science*, 99(6), 4111–4123. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9741>
126. Paliy A.P., Gujvinska S.O., Livoshchenko L.P., Nalivayko L.I., Livoshchenko Ye.M., Risovaniy V.I., Dubin R.A., Berezna N.V., Palii A.P., Petrov R.V. (2019). Specific composition of indigenous microflora (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactococcus* spp.) in farm animals. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(1), 43-48. 2019
127. Palomares R. A. (2022). Trace Minerals Supplementation with Great Impact on Beef Cattle Immunity and Health. *Animals : an open access journal from MDPI*, 12(20), 2839. <https://doi.org/10.3390/ani12202839>

128. Parker, A. M., Sheehy, P. A., Hazelton, M. S., Bosward, K. L., & House, J. K. (2018). A review of mycoplasma diagnostics in cattle. *Journal of veterinary internal medicine*, 32(3), 1241–1252. <https://doi.org/10.1111/jvim.15135>
129. Peek, S. F., Mcguirk, S. M., Sweeney, R. W., & Cummings, K. J. (2018). Infectious Diseases of the Gastrointestinal Tract. *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, 249–356. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39055-2.00006-1>
130. Qi, Y., Zhao, X., Huang, D., Pan, X., Yang, Y., Zhao, H., Hu, H., & Cheng, G. (2018). Exploration of the Relationship between Intestinal Colostrum or Milk, and Serum Metabolites in Neonatal Calves by Metabolomics Analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(27), 7200–7208. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01621>.
131. Quigley, J. D., Deikun, L., Hill, T. M., Suarez-Mena, F. X., Dennis, T. S., & Hu, W. (2019). Effects of colostrum and milk replacer feeding rates on intake, growth, and digestibility in calves. *Journal of dairy science*, 102(12), 11016–11025. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16682>
132. Retta, K. S. (2016). Role of probiotics in rumen fermentation and animal performance: a review. *International journal of livestock production*, 7(5), 24-32.
133. Ripamonti, B., Agazzi, A., Bersani, C., De Dea, P., Pecorini, C., Pirani, S., Rebucci, R., Savoini, G., Stella, S., Stenico, A., Tirloni, E., & Domeneghini, C. (2011). Screening of species-specific lactic acid bacteria for veal calves multi-strain probiotic adjuncts. *Anaerobe*, 17(3), 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.05.001>
134. Roland, L., Drillich, M., Klein-Jöbstl, D., & Iwersen, M. (2016). Invited review: Influence of climatic conditions on the development, performance, and health of calves. *Journal of dairy science*, 99(4), 2438–2452. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9901>
135. Roussel, P., Cunha, P., Porcherie, A., Petzl, W., Gilbert, F. B., Riollet, C., Zerbe, H., Rainard, P., & Germon, P. (2015). Investigating the contribution of

IL-17A and IL-17F to the host response during *Escherichia coli* mastitis. *Veterinary research*, 46(1), 56. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0201-4>

136. Samarütel, J., Baumrucker, C. R., Gross, J. J., Dechow, C. D., & Bruckmaier, R. M. (2016). Quarter variation and correlations of colostrum albumin, immunoglobulin G1 and G2 in dairy cows. *The Journal of dairy research*, 83(2), 209–218. <https://doi.org/10.1017/S0022029916000091>

137. Sandes, S., Alvim, L., Silva, B., Acurcio, L., Santos, C., Campos, M., Santos, C., Nicoli, J., Neumann, E., & Nunes, Á. (2017). Selection of new lactic acid bacteria strains bearing probiotic features from mucosal microbiota of healthy calves: Looking for immunobiotics through in vitro and in vivo approaches for immunoprophylaxis applications. *Microbiological research*, 200, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.03.008>

138. Schäff, C. T., Gruse, J., Maciej, J., Mielenz, M., Wirthgen, E., Hoeflich, A., Schmicke, M., Pfuhl, R., Jawor, P., Stefaniak, T., & Hammon, H. M. (2016). Effects of Feeding Milk Replacer Ad Libitum or in Restricted Amounts for the First Five Weeks of Life on the Growth, Metabolic Adaptation, and Immune Status of Newborn Calves. *PloS one*, 11(12), e0168974. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168974>

139. Schwartz, T., Genouville, A., & Besnard, A. (2020). Increased microclimatic variation in artificial nests does not create ecological traps for a secondary cavity breeder, the European roller. *Ecology and evolution*, 10(24), 13649–13663. <https://doi.org/10.1002/ece3.6871>

140. Shinde, T., Vemuri, R., Shastri, M.D., Perera, A.P., Tristram, S., Stanley, R., Eri, R. (2019). Probiotic *Bacillus coagulans* MTCC 5856 spores exhibit excellent in-vitro functional efficacy in simulated gastric survival, mucosal adhesion and immunomodulation. *J. Funct. Foods*, 52, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.031>.

141. Shkromada Oksana, Pikhtirova Alina, Pecka-Kiełb Ewa, Skliar Oleksandr and Musiienko Yurii. Use of Probiotic *Bacillus megaterium* NCH 55 for

Treatment of Subclinical Mastitis in Cows – Preliminary Study. Macedonian Veterinary Review, vol.45, no.2, 2022, pp.209-214.

142. Silva, L.D.D., Pereira, O.G., Silva, T.C.D., Valadares Filho, S.C., Ribeiro, K.G. (2016) Effects of silage crop and dietary crude protein levels on digestibility ruminal fermentation, nitrogen use efficiency, and performance of finishing beef cattle. *Anim Feed Sci Technol.* 220, 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.07.008>

143. Sinnott, A. M., Bokkers, E. A. M., Murphy, J. P., & Kennedy, E. (2022). A comparison of indoor and outdoor calf housing systems using automated and manual feeding methods and their effect on calf health, behavior, growth, and labor. *Journal of animal science*, 100(4), skac079. <https://doi.org/10.1093/jas/skac079>

144. Soares, M.S., Oliveira, P.S., Debom, G.N., DaSilveira, M.B., Polachini, C.R., Baldissarelli, J., et al. (2017). Chronic administration of methionine and/or methionine sulfoxide alters oxidative stress parameters and ALA-D activity in liver and kidney of young rats. *Amino Acids.* 49(1), 129–138. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2340-y>

145. Sordillo L. M. (2016). Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *Journal of dairy science*, 99(6), 4967–4982. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10354>

146. Souza, R., Rault, L., Seyffert, N., Azevedo, V., Le Loir, Y., & Even, S. (2018). *Lactobacillus casei* BL23 modulates the innate immune response in *Staphylococcus aureus*-stimulated bovine mammary epithelial cells. *Beneficial microbes*, 9(6), 985–995. <https://doi.org/10.3920/BM2018.0010>

147. Stilwell, G., & Carvalho, R. C. (2011). Clinical outcome of calves with failure of passive transfer as diagnosed by a commercially available IgG quick test kit. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 52(5), 524–526.

148. Stover, P.J., Durga, J., Field, M.S. (2017). Folate nutrition and blood–brain barrier dysfunction. *Curr Opin Biotechnol.* 44, 146–152. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.01.006>.
149. Sul, S. Y., Kim, H. J., Kim, T. W., & Kim, H. Y. (2007). Rapid identification of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in probiotic products using multiplex PCR. *Journal of microbiology and biotechnology*, 17(3), 490–495.
150. Sun, P., Wang, J.Q., Zhang, H.T. (2010). Effects of *Bacillus subtilis* natto on performance and immune function of preweaning calves. *J Dairy Sci.* 93(12), 5851–5855. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3263>
151. Sutherland, M. A., Worth, G. M., & Stewart, M. (2014). The effect of rearing substrate and space allowance on the behavior and physiology of dairy calves. *Journal of dairy science*, 97(7), 4455–4463. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7822>.
152. Sutherland, M. A., Worth, G. M., Cameron, C., Ross, C. M., & Rapp, D. (2017). Health, physiology, and behavior of dairy calves reared on 4 different substrates. *Journal of dairy science*, 100(3), 2148–2156. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12074>.
153. Svensson, C., & Liberg, P. (2006). The effect of group size on health and growth rate of Swedish dairy calves housed in pens with automatic milk-feeders. *Preventive veterinary medicine*, 73(1), 43–53. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.08.021>.
154. Svensson, C., Hultgren, J., & Oltenacu, P. A. (2006). Morbidity in 3–7-month-old dairy calves in south-western Sweden, and risk factors for diarrhoea and respiratory disease. *Preventive veterinary medicine*, 74(2-3), 162–179. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.11.008>.
155. Tanih, N. F., Sekwadi, E., Ndip, R. N., & Bessong, P. O. (2015). Detection of pathogenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from cattle and pigs slaughtered in abattoirs in Vhembe District, South Africa. *TheScientificWorldJournal*, 2015, 195972. <https://doi.org/10.1155/2015/195972>

156. Twomey, A. J., Cromie, A. R., McHugh, N., & Berry, D. P. (2020). Validation of a beef cattle maternal breeding objective based on a cross-sectional analysis of a large national cattle database. *Journal of animal science*, 98(11), skaa322. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa322>
157. van Baarlen, P., Wells, J. M., & Kleerebezem, M. (2013). Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli. *Trends in immunology*, 34(5), 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.it.2013.01.005>
158. Van Soest, B., Cullens, F., VandeHaar, M. J., & Nielsen, M. W. (2020). Short communication: Effects of transition milk and milk replacer supplemented with colostrum replacer on growth and health of dairy calves. *Journal of dairy science*, 103(12), 12104–12108. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18361>
159. Vlasova, A. N., & Saif, L. J. (2021). Bovine Immunology: Implications for Dairy Cattle. *Frontiers in immunology*, 12, 643206. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.643206>
160. Wang L, Zhao X, Xia X, Zhu C, Qin W, Xu Y, Hang B, Sun Y, Chen S, Zhang H, Jiang J, Hu J, Fotina H, Zhang G. Antimicrobial Peptide JH-3 Effectively Kills Salmonella enterica Serovar Typhimurium Strain CVCC541 and Reduces Its Pathogenicity in Mice. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2019 Dec;11(4):1379-1390. doi: 10.1007/s12602-019-09533-w. PMID: 31001786. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12602-019-09533-w>
161. Wang, H., Yu, Z., Gao, Z., Li, Q., Qiu, X., Wu, F., Guan, T., Cao, B., & Su, H. (2022). Effects of compound probiotics on growth performance, rumen fermentation, blood parameters, and health status of neonatal Holstein calves. *Journal of dairy science*, 105(3), 2190–2200. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20721>
162. Wang, Q., Wang, M., Liu, C., Huang, L., Gao, Y., Yu, M., Zhao, S., & Li, X. (2020). Ammonia Exposure Induced Cilia Dysfunction of Nasal Mucosa in the Piglets. *BioMed research international*, 2020, 1705387. <https://doi.org/10.1155/2020/1705387>

163. Wang, Y., Nan, X., Zhao, Y., Jiang, L., Wang, M., Wang, H., Zhang, F., Xue, F., Hua, D., Liu, J., Yao, J., & Xiong, B. (2021). Rumen microbiome structure and metabolites activity in dairy cows with clinical and subclinical mastitis. *Journal of animal science and biotechnology*, 12(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00543-1>
164. Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E., & Barrington, G. M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of veterinary internal medicine*, 14(6), 569–577. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2000\)014<0569:ptocii>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2000)014<0569:ptocii>2.3.co;2)
165. Wenker, M. L., Verwer, C. M., Bokkers, E., Te Beest, D. E., Gort, G., de Oliveira, D., Koets, A., Bruckmaier, R. M., Gross, J. J., & van Reenen, C. G. (2022). Effect of Type of Cow-Calf Contact on Health, Blood Parameters, and Performance of Dairy Cows and Calves. *Frontiers in veterinary science*, 9, 855086. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.855086>
166. West J. W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 86(6), 2131–2144. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73803-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73803-X)
167. Wilson, D. J., Canning, D., Giacomazzi, T., Keels, K., Lothrop, R., Renaud, D. L., Sillett, N., Taylor, D., Van Huigenbos, H., Wynands, B., Zuest, D., & Fraser, D. (2020). Hot topic: Health and welfare challenges in the marketing of male dairy calves-Findings and consensus of an expert consultation. *Journal of dairy science*, 103(12), 11628–11635. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18438>.
168. Wu, Y., Wang, L., Luo, R., Chen, H., Nie, C., Niu, J., Chen, C., Xu, Y., Li, X., & Zhang, W. (2021). Effect of a Multispecies Probiotic Mixture on the Growth and Incidence of Diarrhea, Immune Function, and Fecal Microbiota of Pre-weaning Dairy Calves. *Frontiers in microbiology*, 12, 681014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.681014>
169. Xiong, W., Sun, Y., & Zeng, Z. (2018). Antimicrobial use and antimicrobial resistance in food animals. *Environmental science and pollution*

research international, 25(19), 18377–18384. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1852-2>

170. Yang, M., Zou, Y., Wu, Z. H., Li, S. L., & Cao, Z. J. (2015). Colostrum quality affects immune system establishment and intestinal development of neonatal calves. *Journal of dairy science*, 98(10), 7153–7163. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9238>.

171. Yeoman, C. J., Ishaq, S. L., Bichi, E., Olivo, S. K., Lowe, J., & Aldridge, B. M. (2018). Biogeographical Differences in the Influence of Maternal Microbial Sources on the Early Successional Development of the Bovine Neonatal Gastrointestinal tract. *Scientific reports*, 8(1), 3197. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21440-8>

172. Zebeli, Q., Tafaj, M., Weber, I., Dijkstra, J., Steingass, H., & Drochner, W. (2007). Effects of varying dietary forage particle size in two concentrate levels on chewing activity, ruminal mat characteristics, and passage in dairy cows. *Journal of dairy science*, 90(4), 1929–1942. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-354>

173. Zhang, L., Jiang, X., Liu, X., Zhao, X., Liu, S., Li, Y., & Zhang, Y. (2019). Growth, health, rumen fermentation, and bacterial community of Holstein calves fed *Lactobacillus rhamnosus* GG during the preweaning stage1. *Journal of animal science*, 97(6), 2598–2608. <https://doi.org/10.1093/jas/skz126>

174. Zhang, X., Cheng, C., Lv, J., Bai, H., Sun, F., Liu, C., Liu, C., Zhang, Y., & Xin, H. (2023). Effects of waste milk feeding on rumen fermentation and bacterial community of pre-weaned and post-weaned dairy calves. *Frontiers in microbiology*, 13, 1063523. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1063523>

175. Zhao, X., Wang, L., Zhu, C., Xia, X., Zhang, S., Wang, Y., Zhang, H., Xu, Y., Chen, S., Jiang, J., Liu, S., Wu, Y., Wu, X., Zhang, G., Bai, Y., Fotina, H., & Hu, J. (2021). The Antimicrobial Peptide Mastoparan X Protects Against Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Infection, Inhibits Inflammation, and Enhances the Intestinal Epithelial Barrier. *Frontiers in microbiology*, 12, 644887. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.644887>

ДОДАТКИ

Додаток А**Список праць, опублікованих за темою дисертації**

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Scopus:

1. Shkromada O., Fotina, T., Berezovskyi, A., **Dudchenko, Yu.**, & Fotin, O. (2022). Determination of the therapeutic effect of the use of bacillus coagulans in calf dyspepsia. *Scientific Horizons*, 25(6), 9-20. [https://doi.org/10.48077/scihor.25\(6\).2022.9-20](https://doi.org/10.48077/scihor.25(6).2022.9-20) (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати й оформив статтю).

Наукові праці опубліковані в виданнях країн ЕС:

2. Shkromada, O., **Dudchenko, Y.**, & Udovenko, Y. (2021). Use of probiotics for formation of microflora of gastrointestinal tract of calves. *EUREKA: Health Sciences*, (4), 94-100. <https://doi.org/10.21303/2504-5679.2021.001951> (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати й оформив статтю).

Наукові праці, опубліковані у наукових фахових виданнях України:

3. Rybachuk, Z., Shkromada, O., Predko, A., & **Dudchenko, Y.** (2020). Influence of probiotics “Immunobacterin-D” on biocenoses and development of the gastrointestinal tract of calves. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 22-27. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9804> (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати й оформив статтю)

4. Shkromada, O., **Dudchenko, Y.**, & Udovenko, Y. (2020). Probiotic effect on a gastrointestinal microbiocenosis of calves. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, (1 (48), 3-8. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.1> (Здобувач брала участь у проведенні досліджень, аналізі отриманих результатів та написанні статті).

5. Shkromada, O. I., & **Dudchenko, Y. A.** (2021). STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PROBIOTIC STRAINS OF BACILLUS. Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine, (4 (55), 38-43. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2021.4.6> (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати й оформив статтю).

6. **Dudchenko, Y.** (2021). THE INFLUENCE OF KEEPING TECHNOLOGY ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF YOUNG CATTLE. Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology, 22(2), 130-135. <https://doi.org/10.36359/scivp.2021-22-2.15>

Інші видання:

7. Paliy, A.P., Gujvinska, S.O., Alrawashdeh, M.S., Shkromada, O.I., **Dudchenko, Yu.A.**, Kovalenko, L.M., Plyuta, L.V., Franchuk-Kryva, L.O., Kushch, L.L., Matsenko, O.V. (2020). Selection of technological regime and cryoprotector for lyophilization of lactobacteria (*Lactobacillus* spp.). Ukrainian Journal of Ecology, 10(4), 184-190. <https://www.ujecology.com/articles/selection-of-technological-regime-and-cryoprotector-for-lyophilization-of-lactobacteria-lactobacillus-spp.pdf> (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати й оформив статтю).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. **Дудченко Ю.А.** Вплив пробіотиків на шлунково-кишковий тракт молодняка II Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині» (м. Львів, Україна, 18-19 листопада 2021 року), С.52-53.

9. **Дудченко Ю.А.** Шлунково-кишкові проблеми при вирощуванні молодняка великої рогатої худоби. Матеріали науково-практичної

конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 19 квітня 2021 року: тези доповіді. С. 210.

10. **Дудченко Ю.А.** Використання пробіотичних штамів для телят молочників. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та здобувачів освіти «Наукові здобутки у вирішенні актуальних проблем виробництва і переробки продукції тваринництва» 16 грудня 2021 року, м. Житомир, С. 129.

Методичні рекомендації

11. **Дудченко Ю.А., Шкромада О.І.** «Застосування пробіотиків при вирощуванні молодняка великої рогатої худоби». Суми, 2022. 28 с. (затверджені Вченою радою СНАУ, протокол № 12, від 25.04.2022 року). *(Здобувач проаналізував результати досліджень, підготував та оформив матеріали для методичних рекомендацій).*

Додаток Б
Методичні рекомендації

Методичні вказівки

**«ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКІВ ПРИ ВИРОЩУВАННІ
МОЛОДНЯКА ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ»**

для проведення лабораторно-практичних занять та самостійної роботи студентів 3-4 курсу студентів денної форми навчання з дисципліни «Ветеринарна гігієна» денної форми навчання, студентів скороченого терміну, магістрів спеціальності 212 – Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза

Укладачі:

Дудченко Ю.А. аспірант кафедри акушерства та хірургії,
Шкромда О.І., д.вет.н., професор, завідувач кафедри акушерства та хірургії,

Застосування пробіотиків при вирощуванні телят. Методичні вказівки для проведення лабораторно-практичних занять та самостійної роботи студентів з дисципліни «Ветеринарна гігієна» денної форми навчання спеціальності 212 – Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза. – Суми, 2022. – 28 с.

Дані методичні вказівки містять інформацію про альтернативні методи лікування диспепсії у телят, що застосовуються в тваринництві, вказуються та порівнюються способи різних засобів лікування. Рекомендовані як додатковий матеріал при виконанні лабораторно-практичних занять та самостійної роботи студентів спеціальності 212 – Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза.

Рецензенти:

Р.В. Петров, професор, завідувач кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського НАУ,
О.І. Коваленко, к. вет. н., директор Сумської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби.

Відповідальний за випуск Дудченко Ю.А., аспірант кафедри акушерства та хірургії

Розглянуто та рекомендовано до видання:
навчально-методичною радою факультету ветеринарної медицини СНАУ, протокол № 9 від «18» квітня 2022 року.
Вченою радою СНАУ, протокол №12 від «25» квітня 2022 року.

Додаток В
Акт виробничого випробування

ПРОТОКОЛ ВИПРОБУВАННЯ
(біохімічні)

№ 0370/БХ (частина II) від 25.05.2021 р.

Замовник ТОВ «Агрофірма Лан», Сумська обл., Сумський р-н., с. Кіндратівка, вул. Центральна, буд. №4

Назва зразка та метод випробування 6 зразків сироватки крові ВРХ (телята), біохімічні випробування: загальний білок – СОП-БП-02-2017; альбумін – СОП-БП-25-2018; сечовина – СОП-БП-03-2017; неорганічний Фосфор – СОП-БП-04-2017; загальний Кальцій – СОП-БП-05-2017; загальний холестерин – СОП-БП-07-2017; АЛТ – СОП-БП-08-2017; АСТ – СОП-БП-09-2017; *глобуліни, *білковий коефіцієнт (А/Г), *індекс де Рітца (АСТ/АЛТ), *Са/Р, *азот сечовини – розрахунковим способом; Магній – СОП-БП-06-2017; Калій – СОП-БП-11-2017; об'єднані проби – дослідна група і контрольна група – *вітамін Е – СОП-БП-12-2018; *вітамін А – СОП-БП-14-2018, *неорганічні мікроелементи (*Zn, *Cu, *Fe, *Mn, *Se, *Pb, *Ni, *Sr, *Co, *Br) – СОП-БП-15-2018

Мета випробування визначення фізіолого-біохімічного стану тварин Результати випробування

Таблиця 1. Результати біохімічних досліджень зразків сироватки крові телят

№ з/п	Інвентарний №	Назва параметрів, що визначаються, одиниці вимірювання							
		Загальний білок, г/л	Альбуміни, г/л	*Глобуліни, г/л	*Альбуміни, %	*Глобуліни, %	*(А/Г), од	Сечовина, ммоль/л	*Азот сечовини, мг/дл
Позначення НД на методи випробувань		СОП-БП-02-2017	СОП-БП-25-2018	Розрахунок			СОП-БП-03-2017	Розрахунок	
Телята (дослідна група – хелати)									
17	0231	63,74	30,91	32,83	48,49	51,51	0,94	4,68	13,12
18	0236	66,23	32,17	34,06	48,57	51,43	0,94	4,96	13,90
19	0230	65,38	32,19	33,19	49,24	50,76	0,97	5,21	14,60
Телята (контрольна група)									
20	0227	64,02	30,37	33,65	47,44	52,56	0,90	3,99	11,18
21	0224	63,89	31,23	32,66	48,88	51,12	0,96	4,56	12,78
22	0225	64,76	31,05	33,71	47,95	52,05	0,92	4,44	12,44
Референтні значення для телят до 1 міс. віку		42-62	26-35	-	40-70	-	-	3,0-5,0	-
телят до 6 міс. віку		55-70 ¹	26-35 ¹	-	40-60 ¹	-	-	3,0-6,5 ¹	-

Таблиця 2. Результати біохімічних досліджень зразків сироватки крові телят

№ з/п	Інвентарний №	Назва параметрів, що визначаються, одиниці вимірювання						
		Заг. холестерин, ммоль/л	АСТ, од/л	АЛТ, од/л	*(АСТ/АЛТ), од	Загальний Са, ммоль/л	Неорганіч. Р, ммоль/л	*Са/Р, од
Позначення НД на методи випробувань		СОП-БП-07-2017	СОП-БП-09-2017	СОП-БП-08-2017	Розрахунок	СОП-БП-05-2017	СОП-БП-04-2017	Розрахунок
Телята (дослідна група – хелати)								
17	0231	2,71	46,44	25,38	1,83	2,78	2,29	1,21
18	0236	2,94	47,91	21,67	2,21	2,59	1,95	1,33
19	0230	2,88	44,48	25,83	1,72	2,85	2,27	1,26
Телята (контрольна група)								
20	0227	2,73	48,57	29,83	1,63	2,63	2,25	1,17
21	0224	2,69	46,26	23,05	2,01	2,45	2,19	1,12
22	0225	2,93	45,61	21,96	2,08	2,91	2,06	1,41
Референтні значення для телят до 1 міс. віку		-	-	-	-	2,6-3,2	2,0-4,5	-
телят до 6 міс. віку		1,3-4,0 ¹	10-70 ¹	7-20 ¹	-	2,0-3,0 ¹	1,8-2,4 ¹	-

Таблиця 3. Результати біохімічних досліджень зразків сироватки крові телят

№ з/п	Інвентарний №	Назва параметрів, що визначаються, одиниці вимірювання			
		Магній, ммоль/л	Калій, ммоль/л	*Вітамін А, мкг/100мл	*Вітамін Е, мкг/мл
Позначення НД на методи випробувань		СОП-БП-06-2017	СОП-БП-11-2017	СОП-БП-14-2018	СОП-БП-12-2018
Телята (дослідна група – хелати)					
17	0231	0,94	4,57	16,1	0,7
18	0236	0,87	4,60		
19	0230	0,83	4,42		
Телята (контрольна група)					
20	0227	0,81	4,49	15,8	0,7
21	0224	0,84	4,41		
22	0225	0,86	4,58		
Референтні значення для корів		0,50-1,15 ¹	4,3-5,3 ²	12,5-25,0 ¹	0,3-2,0 ¹

Таблиця 4. Вміст неорганічних елементів в збірних пробах сироваток крові телят по групах

Назва параметрів, що визначаються, одиниці вимірювання	№ з/п зразка		Референтні значення
	Телята (дослідна група – хелати)	Телята (контрольна група)	
Позначення НД на методи випробувань: СОП-БП-15-2018			
*Цинк (Zn), мкг%	139,7	118,3	104,00-160,00 ¹
*Купрум (Cu), мкг%	89,2	84,7	65,00-102,00 ¹
*Ферум (Fe), мкг%	196,8	182,3	84,00-140,00 ¹
*Манган (Mn), мкг%	4,9	4,7	4,00-6,00 ¹
*Селен (Se), мкг%	8,3	8,0	7,50-16,00 ¹
*Плюмбум (Pb), мкг%	Не виявлено	Не виявлено	-
*Нікель (Ni), мкг%	2,9	2,8	2,80-5,40
*Стронцій (Sr), мкг%	Не виявлено	Не виявлено	-
*Кобальт (Co), мкг%	3,54	3,01	2,30-5,90 ¹
*Бром (Br), мг%	0,86	0,89	0,70-1,30

Примітки: * – випробування поза сферою акредитації.

1. – Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / за ред. В.В. Влізла. – Львів : СПОЛОМ, 2012. 764 с.

Особа, що проводила випробування

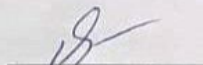
Фахівець з якості, К. С.-Г. Н.
(посада)


(підпис)

Л. В. Шуліка
(ініціали та прізвище)

Відповідальний за складання протоколу

Завідувач лабораторії
(посада)


(підпис)

Т. В. Шаповалова
(ініціали та прізвище)
тел. 068-66-29-616

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

Сумського НАУ

д. е. н., професор

Данько Ю.І.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор

ТОВ «Агрофірма Лан»

Кіріченко Є. С.





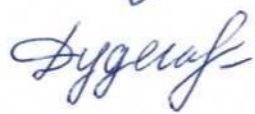
АКТ

виробничої перевірки пробіотиків в умовах ТОВ «Агрофірма Лан» с. Кіндратівка , Сумського району, Сумської області»

Ми, що нижче підписалися, лікар ветеринарної медицини Титух Я.В.; д. вет. наук., професор, завідуючий кафедри акушерства та хірургії Шкромада О.І.; аспірант Дудченко Ю. А. склали даний акт про те, що в умовах дослідного господарства ТОВ «Агрофірма Лан» були випробувані пробіотики на телятах. Визначали вплив пробіотиків на ріст та розвиток молодняка великої рогатої худоби.

Всі експерименти були проведені згідно науково-дослідної роботи Сумського національного аграрного університету за темою «Розробка та удосконалення ветеринарно-санітарних заходів для забезпечення профілактики, лікування, підвищення продуктивності та резистентності тварин» (державний реєстраційний номер 0119U101389).

Підписи:

 Я.В. Титух
 О.І. Шкромада
 Ю.А. Дудченко

Додаток Г
Висновок комісії з біоетики

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової та міжнародної діяльності
Сумського національного аграрного університету,
д.с.н., професор



Юрій ДАНЬКО

» березня 2023 р.

ВИСНОВОК ЗАСІДАННЯ КОМІСІЇ З БІОЕТИКИ

від 15 березня 2023 р. протокол № 6

Комісія з біоетики Сумського національного аграрного університету, затверджена рішенням вченої ради СНАУ протокол № 5 від «3» жовтня 2022 р. в складі:

Голова комісії: Шкромада Оксана Іванівна, д.вет.н., професор, завідувач кафедри акушерства та хірургії;

Заступник голови комісії: Хмельничий Леонтій Михайлович, д.с.-г.н., професор, завідувач кафедри генетики, селекції та біотехнології тварин;

Секретар: Чекан Олександр Миколайович, к.в.н., доцент кафедри акушерства та хірургії

Члени комісії:

Касяненко Оксана Іванівна, д.вет.н., професор, завідувач кафедри епізоотології та паразитології;

Петров Роман Вікторович, д.вет.н., професор, завідувач кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці;

Улько Лариса Григорівна, д.вет.н., професор, завідувач кафедри фармакології, терапії та клінічної діагностики.

Фотіна Ганна Анатоліївна, д.вет.н., професор, професор кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва;

Вивчила матеріали експериментальних досліджень, аспіранта кафедри акушерства та хірургії Дудченко Юлії Андріївни на тему: «Ветеринарно-санітарна оцінка ефективності застосування пробіотиків при вирощуванні

телят», проведені на телятах молочного віку (до 30 діб). Експерименти проводились протягом 2019-2023 р.р. телятах породи голштин: здорових та хворих на діарею з використанням пробіотичних штамів мікроорганізмів. Тварини піддавались діагностичним дослідженням, утримувалися в належних умовах та отримували корм згідно віку.

Кількість тварин у групах була мінімальною для проведення дослідів. При утриманні дослідних тварин дотримувалися основних принципів біоетики, а саме не допускали спраги, недоїдання, голоду, дискомфорту при утриманні та стресу при проведенні досліджень. Тварини не піддавались вимушеній евтаназії.

Висновок: Експериментальні дослідження, що викладені в дисертаційній роботі Дудченко Юлії Андріївни на тему: «Ветеринарно-санітарна оцінка ефективності застосування пробіотиків при вирощуванні телят», ґрунтувалися на принципах моральних цінностей людини, не нанесення шкоди тваринам, милосердя та справедливості до них. При проведенні експериментальних досліджень Дудченко Ю.А. за темою дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 212 – «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза», були дотримані всі біоетичні вимоги, згідно Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 440-ІХ від 14.01.2020.

Підписи:

Голова комісії



Оксана ШКРОМАДА

Секретар комісії:



Олександр ЧЕКАН