

Кормовая добавка Целлобактерин®-Т с пролонгированным действием

Бочкарева Е.В., аспирант кафедры зоотехнии имени проф. С.А. Лапшина, зоотехник по кормам ООО «Авангард»

Агеев Б.В., аспирант кафедры зоотехнии имени проф. С.А. Лапшина, главный зоотехник ООО «Авангард»

Кистина А.А., доктор сельскохозяйственных наук, профессор, зав. кафедрой зоотехнии имени проф. С.А. Лапшина
ФГБОУ ВО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»

Бражник Е.А., аспирант ФГБОУ ВО «ВолГАУ», контролер по качеству

Большаков В.Н., кандидат сельскохозяйственных наук, начальник отдела продаж

Новикова Н.И., кандидат биологических наук, первый заместитель директора
ООО «БИОТРОФ», г. Санкт-Петербург

Аннотация: В производственных условиях было изучено сохранение эффекта пробиотической добавки Целлобактерин®-Т после отмены ее ввода в рацион кур-несушек. В опыте, проведенном в условиях птицефабрики «Авангард» (республика Мордовия), было задействовано 2 птичника (контрольная и опытная группы), в каждом из которых содержалось в клеточных батареях 130 тыс. голов несушек промышленного стада кросса Браун Ник. Птица контрольной группы в течение всех 60 дней эксперимента получала рацион без добавки; опытная группа получала тот же рацион, в который в течение первых 30 дней вводили добавку Целлобактерин®-Т (1 кг/т), а затем следующие 30 дней - рацион без добавки. В конце эксперимента проводился контрольный забой (60 голов от группы) со взятием образцов внутренних органов с последующим микробиологическим анализом для оценки пролонгированного действия добавки. Установлено, что в опытной группе количество условно-патогенной микрофлоры, выделенной из паренхиматозных органов и пазух головы кур, значительно снижалось, несмотря на отмену добавки: отмечено достоверное ($p < 0,05$) снижение встречаемости видов *Escherichia coli*, *Staphylococcus gallinarum*, *Avibacterium gallinarum* и *paragallinarum*, *Gallibacterium anatis*. Патогенных видов в обеих группах выделено не было. По сохранности и яйценоскости опытная группа практически не отличалась от контрольной. Полученные результаты исследований могут быть использованы в качестве основы для разработки профилактических мероприятий по снижению циркуляции патогенной и условно-патогенной микрофлоры на промышленных птицеводческих предприятиях.

Ключевые слова: кормовая добавка, куры-несушки, условно-патогенная микрофлора, продуктивность.

Введение. Многие бактериальные инфекции, при хорошем иммунитете птицы, не вызывают развития патологических процессов в организме. При производственном содержании птицы воз-

можно ослабление иммунитета, связанное со стрессом при скученном содержании и возможных погрешностях в кормлении. Некоторые бактериальные инфекции, не вызывая ярко выра-

женной клинической картины, могут протекать в скрытой форме, при этом снижается продуктивность птицы и повышаются затраты на корма. Установление микробиологического фона явля-





ется важным этапом на пути повышения эпизоотологического благополучия в птицеводческом хозяйстве. Птицефабрика ООО «Авангард» (Рузаевка, республика Мордовия) с целью выявления циркуляции патогенной микрофлоры среди кур-несушек проводит периодические бактериологические исследования внутренних органов птицы.

Кормовая добавка Целлобактерин®-Т выпускается компанией ООО «Биотроф» (г. Санкт-Петербург) и предназначена для повышения сохранности молодняка и увеличения продуктивности сельскохозяйственных животных, в том числе птицы. Добавка состоит из спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* штамма 1-85 и наполнителя - отрубей пшеничных или шрота подсолнечного. Бактерии рода *Bacillus* характеризуются способностью проявлять биологическую активность, выраженную в продуцировании ряда ферментов, аминокислот, витаминов и антибиотиков [1]. Антагонистическая активность пробиотических штаммов в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов делает их эффективной альтернативой при отказе от использования антибиотиков в кормах. Воздействуя противомикробными веществами и стимулируя иммунные сис-

темы организма, пробиотические бактерии угнетают патогенную микрофлору желудочно-кишечного тракта, тем самым оказывают благотворное влияние [2].

Ранее проведенные на птицефабрике ООО «Авангард» исследования по применению кормовой добавки Целлобактерин®-Т показали ее благотворное влияние на снижение численности нежелательных микроорганизмов во внутренних органах птицы [3].

Целью настоящей работы было изучение сохранения антимикробного эффекта добавки Целлобактерин®-Т после исключения ее из рациона после ее применения в течение 1 месяца, а также оценка ее влияния на сохранность и продуктивность кур-несушек.

Материал и методика исследований. Производственный опыт проводился в условиях птицефабрики ООО «Авангард» на несушках промышленного стада яичного кросса Браун Ник в 2019 г. Несушки содержались в клеточных батареях фирмы «Биг Дачмен». Кормление проводилось в соответствии с рекомендациями для кросса с учетом возраста, условий содержания и физиологического состояния птицы. Для опыта было выделено 2 птичника по 130 тыс. голов в каждом, которые служили опытной и

контрольной группами. Контрольная группа в течение всего опыта получала рацион для несушек (основной рацион, ОР) без изучаемой добавки. Опытная группа в течение 30 дней в дополнение к ОР получала добавку Целлобактерин®-Т в дозировке, рекомендованной производителем (1 кг/т), и далее в течение 30 дней следовал период кормления ОР без добавки. Длительность всего опыта составила 60 дней.

В конце опыта для проведения бактериологических исследований был проведен контрольный убой клинически здоровой птицы в количестве 60 голов от каждой группы. Для анализа на присутствие бактериальных патогенов были взяты образцы органов убитой птицы (печень, селезенка, сердце, легкие, содержимое пазух головы, суставы и трахея).

Выделение микроорганизмов из внутренних органов проводилось в Государственном научном центре прикладной микробиологии и биотехнологии («ФБУН ГНЦ ПМБ»). Для исследования брали кусочки органов и помещали в 4,5 мл физиологического раствора с последующей гомогенизацией тканей и перемешиванием на вортексе. Патогены выделяли методом «прямого» посева исследуемого материала на питательные среды, а также после предварительного обогащения



образцов на неселективных и селективных средах: Endo Agar, Staphylococcus agar, Enterococcus agar, Streptococcus selection agar, Blood Agar Base (HiMedia, Индия). Идентификацию выделенных бактерий проводили с применением микротест-системы Lachema (Чехия). Дополнительно проводили идентификацию микроорганизмов на масс-спектрометре Bruker в режиме MALDI-TOF с использованием автоматической программы Bruker Taxonomy.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы RStudio, версии 1.1.453 [4]. Для анализа статистических связей между качественными признаками использовали симуляции Монте-Карло с функцией `chisq.test`, версии 3.5.0 для R [5,6,7]. Статистически значимыми различия считались при величине p -критерия $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. Из полученных образцов было выделено 16 изолятов условно-патогенных микроорганизмов. В незначи-

тельном количестве определялись: *Enterococcus faecalis* и *cecorum*, *Avibacterium endocarditidis*, *Streptococcus pluranimalium* и др. В основном условно-патогенная микрофлора была представлена тремя семействами: *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*), *Staphylococcaceae* (*Staphylococcus gallinarum*) и *Pasteurellaceae* (*Avibacterium gallinarum* и *paragallinarum*, *Gallibacterium anatis*). Патогенных микроорганизмов - *Salmonella spp*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Mycoplasma gallisepticum* и *synoviae* - выявлено не было.

Установлено достоверное отличие между группами по встречаемости ряда бактерий семейств *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcaceae* и *Pasteurellaceae* во всех изученных органах (табл. 1).

Так, в опытной группе отмечено достоверное снижение числа *E. coli* по сравнению с контрольной в 4,5 раза. Бактерии *E. coli* входят в состав нормальной микрофлоры кишечника здоровой птицы. Вызываемые ими заболевания -

эшерихиозы - часто связаны с факторами снижения резистентности и развития стрессовых ситуаций для птицы. Исследования показали, что важным участком для проникновения кишечной палочки в кровотоки птицы являются легкие и воздушные мешки. Одним из принципов в профилактике инфекции является контроль параметров окружающей среды влажности воздуха и скорости воздухообмена (вентиляции). Антибиотикотерапия против этого вида хотя и применяется, но часто не приносит желаемого результата в связи с развитием устойчивости бактерий к широкому спектру антибиотиков [8].

Семейство *Staphylococcaceae* было представлено бактериями *Staphylococcus gallinarum*. В образцах от опытной группы данных бактерий обнаружено не было, а в контрольной группе частота их встречаемости составила 49,0%. Известно, что *S. gallinarum* первоначально был выделен из кожи кур и фазанов, имеет широкое распространение в природе и в основном регистрируется у домашней птицы [9]. Большинство штаммов демонстрируют приобретенную устойчивость к антибиотикам тетрациклину и стрептомицину [10]. *S. gallinarum* относится к непатогенным видам, так как имеет умеренную чувствительность к лизоцимам, что пре-

Таблица 1. Частота встречаемости некоторых условно-патогенных видов микроорганизмов с достоверными различиями между группами

| Виды микроорганизмов | Частота встречаемости в микробной популяции группы, %: | | χ^2 / p -критерий |
|------------------------------------|--|-------------|--------------------------|
| | опытной | контрольной | |
| <i>Escherichia coli</i> | 17,5 | 77,9 | 73,12 / 0,0005 |
| <i>Staphylococcus gallinarum</i> | 0 | 49,0 | 64,90 / 0,0005 |
| <i>Avibacterium gallinarum</i> | 0 | 18,6 | 20,57 / 0,0005 |
| <i>Avibacterium paragallinarum</i> | 3,5 | 16,9 | 9,80 / 0,0025 |
| <i>Gallibacterium anatis</i> | 0 | 32,2 | 38,38 / 0,0005 |



пятствует колонизации бактериями кожи и слизистых оболочек у человека и животных, в отличие от *S. aureus* [11].

Бактерии семейства *Pasteurellaceae* были представлены тремя видами: *Avibacterium gallinarum* и *paragallinarum*, а также *Gallibacterium anatis*. Виды *Avibacterium gallinarum* и *Gallibacterium anatis* в опытной группе обнаружены не были, а в контрольной частота их встречаемости составила 18,6 и 32,2% соответственно.

Род бактерий *Gallibacterium* был выделен в качестве нового рода семейства *Pasteurellaceae* лишь в 1981 г.; ранее представители этого вида были описаны в литературе как *Pasteurella anatis*, «*Actinobacillus salpingitidis*» и «птичьи *Pasteurella haemolytica*-подобные организмы» [12]. Бактерии являются условно-патогенными и встречаются в верхних дыхательных и нижних половых путях у кур и других видов птиц [13]. Отмечены случаи выделения культур бактерий от больных кур, с сальпингитом, оофоритом, перитонитом, перикардитом, гепатитом, септицемией и поражением верхних дыхательных путей. Данные бактерии обладают рядом детерминант вирулентности, одной из наиболее изученных является RTX-токсин (GtxA), обладающий сильным гемолити-

Таблица 2. Суммарная частота встречаемости условных патогенов во внутренних органах несушек

| | Паренхиматозные органы | | Голова и пазухи головы | | Яйцевод и суставы | | Все органы | |
|--------------------|--------------------------|----------|-------------------------|----------|-------------------------|----------|--------------------------|----------|
| | опыт | контроль | опыт | контроль | опыт | контроль | опыт | контроль |
| Выявлено, % | 6,9 | 46,4 | 54,2 | 74,1 | 6,9 | 14,3 | 22,7 | 44,9 |
| Результат теста | $\chi^2=39,84, p=0,0005$ | | $\chi^2=8,64, p=0,0025$ | | $\chi^2=2,84, p=0,0709$ | | $\chi^2=11,01, p=0,0015$ | |
| Кратность снижения | 6,7* | | 1,4* | | 2,1 | | 2,0* | |

ческой и лейкотоксической активностью [14,15]. В 2010 г. была изучена последовательность генома бактерии *Gallibacterium anatis* и идентифицирован ген цитотоксичности, получивший название GtxA токсин *Gallibacterium* [16].

Частота встречаемости бактерий *Av. paragallinarum* в опытной группе снизилось в 4,8 раз по сравнению с контрольной. Бактерии *Av. gallinarum* совместно с *Av. paragallinarum* (ранее называвшимися *Haemophilus paragallinarum*) образуют отдельную монофилетическую группу внутри семейства *Pasteurellaceae*. Ключевыми характеристиками, разделяющими эти виды и позволяющими их дифференцировать, являются специфические биохимические свойства: активность каталазы, синтез кислоты из галактозы, мальтозы и маннита [17].

В литературе *Av. paragallinarum* описывается как возбудитель, вызывающий развитие инфекционного насморка и конъюнктивита у птицы, характеризующийся отеками головы, одышкой,

снижением яйценоскости. Этот вид поражает, главным образом, кур-несушек и приводит к значительным экономическим потерям при производстве яиц. Бактерии обладают способностью «прилипать» и размножаться на поверхности слизистой оболочки дыхательных путей птицы. Различные факторы стресса могут влиять на возникновение и усугубление тяжести заболевания. В экспериментальных условиях продемонстрировано, что индейки и цесарки не участвуют в передаче *Av. paragallinarum* [18].

Суммарная частота встречаемости патогенных микроорганизмов в различных внутренних органах несушек представлена в табл. 2. Наибольшее число патогенов было выделено в контрольной группе из пазух головы и паренхиматозных органов. В опытной группе отмечено снижение числа патогенов, выявленных в паренхиматозных органах и пазухах головы, в 6,7 и 1,4 раза соответственно. В среднем по всем органам, включая также яйцевод и суставы, число выяв-



ленных патогенов в опытной группе достоверно снизилось в 2 раза по сравнению с контрольной.

Анализ данных учета продуктивности несушек показал, что в контрольной группе яйценоскость на среднюю несушку составила 84,50%, а в опытной группе, получавшей добавку в течение 1 месяца - 84,55%. После отмены добавки продуктивность птицы опытной группы оставалась на уровне 84,58%. Сохранность птицы в обеих группах оставалась на уровне 99,98%.

Заключение. Таким образом, нами был проведен мониторинг условно-патогенной и патогенной микрофлоры внутренних органов на промышленном стаде кур-несушек в птицеводческом хозяйстве республики Мордовия. Установлено, что выделение патогенов из паренхиматозных органов, голов и пазух головы птицы достоверно снизилось в группе, получавшей кормовую добавку Целлобактерин®-Т в течение 1 месяца, несмотря на исключение ее из рациона за 1 месяц до отбора проб, а также отмечено снижение выделения патогенов из яйца и суставов в 2,1 раза.

Наиболее часто выявлялись условные патогены трех семейств: *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcaceae*, *Pasteurellaceae*. Применение добавки в течение 30 дней позволило зна-

чительно снизить число выявляемых бактерий - *Escherichia coli*, *Staphylococcus gallinarum*, *Avibacterium gallinarum*, *Avibacterium paragallinarum* и *Gallibacterium anatis* - через 30 дней после отмены добавки.

Сохранность и яйценоскость птицы опытной группы оставались высокими и не отличались от показателей контрольной группы. Несомненно, постоянное применение добавки в течение длительного времени окажет больший положительный эффект на здоровье и продуктивность несушек.

Литература

- Осипова И.Г., Михайлова Н.А., Сорокулова И.Б., Васильева Е.А., Гаидеров А.А. Споровые пробиотики // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. - 2003. - № 3. - С. 113-119.
- Hong H.A., Ducle L.H., Cutting S.M. The use of bacterial spore formers as probiotics // FEMS Microbiol. Rev. - 2005. - V. 29, No 4. - P. 813-835.
- Бочкарева Е.В., Агеев Б.В., Новикова Н.И., Большаков В.Н., Бражник Е.А. Условно-патогенная микрофлора под прицелом Целлобактерина-Т // Птицеводство. - 2019. - №6. - С. 37-42.
- RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. Version 1.1.453. RStudio, Inc.: Boston, USA, 2018. 101 pp.
- Bradley D.R., Cutcomb S. Monte Carlo simulations and the chi-square test of independence // Behav. Res. Meth. Instrum. - 1977. - V. 9, No 2. - P. 193-201.

6. Hope A.C.A. A simplified Monte Carlo significance test procedure. // J. Royal Stat. Soc. B (Methodol.). - 1968. - V. 30, No 3. - P. 582-598.

7. chisq.test. Pearson's Chi-Squared Test For Count Data. <https://www.rdocumentation.org/packages/stats/versions/3.6.2/topics/chisq.test>

8. Dho-Moulin M., Fairbrother J.M. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) // Vet. Res. - 1999. - V. 30, No 2-3. - P. 299-316.

9. Devriese L.A., Schleifer K.H., Adegoke G.O. Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals // J. Appl. Bacteriol. - 1985. - V. 58, No 1. - P. 45-55.

10. Devriese L.A., Poutrel B., Kilpper-Balz R., Schleifer K.H. *Staphylococcus gallinarum* and *Staphylococcus caprae*, new species from animals // Int. J. Syst. Bacteriol. - 1983. - V. 33, No 3. - P. 480-486.

11. Rosenstein R., G'tz F. What distinguishes highly pathogenic staphylococci from medium- and non-pathogenic? // Curr. Top. Microbiol. Immunol. - 2013. - V. 358. - P. 33-89.

12. Christensen H., Bisgaard M., Bojesen A.M., Mitters R., Olsen J.E. Genetic relationships among avian isolates classified as *Pasteurella haemolytica*, '*Actinobacillus salpingitidis*' or *Pasteurella anatis* with proposal of *Gallibacterium anatis* gen. nov., comb. nov. and description of additional genomospecies within *Gallibacterium* gen. nov. // Int. J. Syst.



- Evol. Microbiol. - 2003. - V. 53, No 1. - P. 275-287.
13. Bojesen A.M., Christensen H., Nielsen O.L., Olsen J.E., Bisgaard M. Detection of Gallibacterium spp. in chickens by fluorescent 16S rRNA in situ hybridization // J. Clin. Microbiol. - 2003. - V. 41, No 11. - P. 5167-5172.
14. Bojesen A.M., Nielsen S.S., Bisgaard M. Prevalence and transmission of haemolytic Gallibacterium species in chicken production systems with different biosecurity levels // Avian Pathol. - 2003. - V. 32, No 5. - P. 503-510.
15. Persson G., Bojesen A.M. Bacterial determinants of importance in the virulence of Gallibacterium anatis in poultry // Vet. Res. - 2015. - V. 46. - P. 57.
16. Kristensen B. M., Frees D., Bojesen A.M. GtxA from Gallibacterium anatis, a cytolytic RTX-toxin with a novel domain organization // Vet. Res. - 2010. - V. 41, No 3. - P. 25.
17. Blackall, P.J., Christensen H., Beckenham T., Blackall L.L., Bisgaard M. Reclassification of Pasteurella gallinarum, [Haemophilus] paragallinarum, Pasteurella avium and Pasteurella volantium as Avibacterium gallinarum gen. nov., comb. nov., Avibacterium paragallinarum comb. nov., Avibacterium avium comb. nov. and Avibacterium volantium comb. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2005. - V. 55. - P. 353-362.
18. Byarugaba D.K., Minga U.M., Gwakisa P.S., Katunguka-Rwakishaya E., Bisgaard M., Olsen J.E. Virulence characterization of Avibacterium paragallinarum isolates from Uganda // Avian Pathol. - 2007. - V. 36, No 1. - P. 35-42.

Для контакта с авторами:

Бочкарева Екатерина Владимировна

E-mail: anastaso_1987@mail.ru

Агеев Борис Владимирович

E-mail: avangard-zootech@list.ru

Кистина Анна Александровна

E-mail: yu_k_7506@mail.ru

Бражник Евгений Александрович

E-mail: bea@biotrof.ru

Большаков Владислав Николаевич

E-mail: bvn@biotrof.ru

Новикова Наталья Ивановна

E-mail: novikova@biotrof.ru

Feed Additive Cellobacterin®-T with Prolonged Effect

Bochkareva E.V.¹, Ageev B.V.¹, Kistina A.A.¹, Brazhnik E.A.², Bolshakov V.N.², Novikova N.I.²

¹Mordovian State University of N.P. Ogarev; ²BIOTROF, Ltd (Saint-Petersburg)

Summary: The prolonged effect of probiotic feed additive Cellobacterin®-T on laying hens was studied in a large-scale trial in conditions of "Avangard" poultry farm (Mordovia Republic) on two treatments of cage-housed layers (cross Brown Nick, 130,000 layers per treatment) kept in separate poultry houses. Control treatment was fed non-supplemented diet throughout the entire experiment (60 days); experimental treatment was fed the same diet supplemented with Cellobacterin®-T (1000 ppm) for 30 days and then non-supplemented diet for another 30 days. In the end of the experiment 60 birds from each treatment were euthanized with the sampling of internal organs for microbiological analysis. It was found that the percentages of opportunistic microbial species isolated from the parenchymal organs and cranial sinuses were lower in the experimental treatment in compare to control: the significant ($P < 0.05$) decreases were found for *Escherichia coli*, *Staphylococcus gallinarum*, *Avibacterium gallinarum* and *paragallinarum*, *Gallibacterium anatis*. No pathogenic species were found in both treatments; mortality and egg production were similar. These results can be used in the development of the preventive programs for commercial poultry farms aimed at the decrease of the circulation of pathogenic and opportunistic microflora.

Key words: feed additive, laying hens, opportunistic microflora, productive performance.