

Чем заменить антибиотики в птицеводстве?

Йылдырым Е.А., доктор биологических наук, биотехнолог

Ильина Л.А., кандидат биологических наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории

Тюрина Д.Г., кандидат экономических наук, зам. директора

Дубровин А.В., биотехнолог

Филиппова В.А., биотехнолог

Новикова Н.И., кандидат биологических наук, зам. директора

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

Лаптев Г.Ю., доктор биологических наук, директор

ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург

Аннотация: Из-за постоянного и несистемного применения антибиотиков в животноводстве и птицеводстве эффективность их воздействия на макроорганизм заметно падает, так как патогенные бактерии достаточно быстро вырабатывают антибиотикорезистентность - устойчивость к данным лекарственным веществам. Свести к минимуму применение антибиотиков без ущерба для производителя птицепродукции возможно даже на крупных промышленных предприятиях с большой плотностью поголовья птицы. В первую очередь, следует отказываться от антибиотиков, предназначенных для профилактических целей и стимуляции роста. Эту роль можно и нужно доверить безопасным альтернативным вариантам. В настоящее время на рынке появляются натуральные растительные биопрепараты на основе эфирных масел, микроорганизмов и их полезных метаболитов, не уступающие по эффективности антибиотикам, но исключая негативные последствия от их применения. Так, фитобиотик Интебио стимулирует активный иммунный ответ у бройлеров, что сопровождается увеличением продуктивности. Пробиотик Профорт на основе штаммов полезных бактерий обладает высоким уровнем антимикробной активности в отношении кишечных патогенов *Salmonella enteritidis*, *Pasteurella multocida*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и др. Метапробиотик Пробиоцид-Ультра на основе пробиотических штаммов бактерий, дополнительно обогащенный полезными бактериальными метаболитами, работает подобно антибиотикам, как лечебным, подавляя патогенную микрофлору, так и кормовым, стимулируя увеличение продуктивности.

Ключевые слова: сельскохозяйственная птица, антибиотики, резистентность, фитобиотики, пробиотики, метапробиотики, кишечная микрофлора, NGS-секвенирование, продуктивность.

Все чаще российские производители мяса птицы стали задумываться о переходе на технологии выращивания птицы без использования антибиотиков.

С одной стороны, выпуск экологически чистой продукции, несомненно, весьма выгоден с коммерческой точки зрения, поскольку она пользуется повышенным спросом у потребителей. При эффективном маркетинге реализация такой продукции способна приносить дополнительную прибыль.

С другой стороны, многие развитые страны давно начали борьбу

с использованием антибиотиков при выращивании животных и птицы. В 2016 г. Генеральная Ассамблея ООН признала использование антибиотиков в животноводстве и птицеводстве одной из основных причин резистентности к противомикробным препаратам у людей. В Европейском Союзе использование антибиотиков было запрещено в 2006 г., в то же время в США в Центре ветеринарной медицины Управления по контролю за продуктами и лекарствами в 2012 г. был подготовлен документ «Руководство для промышленности», в котором рекомендуется

использовать антибиотики исключительно в лечебных целях в течение ограниченных временных периодов при вспышках инфекционных заболеваний. В последние годы в нашей стране в практике птицеводства антибиотики широко использовались для массовой профилактики заболеваний и стимуляции роста птицы, однако в 2019 г. произошли резкие изменения, инициированные государством. Правительство России своим распоряжением № 604-р от 30.03.2019 в рамках реализации государственной Стратегии предупреждения распространения





антимикробной резистентности в Российской Федерации до 2030 г. устанавливает запрет на использование противомикробных препаратов для ветеринарного применения не в лечебных целях с 2020 г. Кроме того, с 2020 г. стартует регулирование использования противомикробных препаратов при изготовлении кормов и вступают в силу соответствующие изменения в законе «О ветеринарии».

Насколько серьезна проблема?

Из-за постоянного и несистемного применения антибиотиков в животноводстве и птицеводстве эффективность их воздействия на макроорганизм заметно падает, так как патогенные бактерии достаточно быстро вырабатывают антибиотикорезистентность - устойчивость к данным лекарственным веществам. Проблема антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов уходит своими корнями в сложные экологические и эволюционные отношения между самими микроорганизмами, сложившиеся задолго до появления человека как биологического вида. Учитывая, тот факт, что большинство используемых антибиотиков в окружающей среде синтезируются микроорганизмами (плесневыми грибами, актиномицетами), широкое присутствие генов, придающих устойчивость к этим соединениям у бактерий, неудивительно.

С одной стороны, известно, что приобретенный ген резистентности существует в геноме до тех пор, пока действуют условия, в которых продукт гена значим для клетки. Это означает, что появление генов устойчивости в бактериальной популяции в значительной степени зависит от прямого давления антибиотиков, поскольку подразумева-

ется, что гены, не поддерживаемые естественным отбором, должны утрачиваться.

С другой стороны, существует огромное количество данных, свидетельствующих о закреплении у бактерий генов, не оказывающих влияния на фенотип и несущих нейтральную генетическую информацию. В то же время, случайные потери генов устойчивости у бактериальных клеток происходят постоянно, но, тем не менее, полная элиминация гена из сообщества происходит редко. Это может способствовать быстрому развитию устойчивости у бактерий данной популяции в условиях вновь возникшего фактора давления отбора, благоприятствующего появлению генов резистентности (например, во время лечения антибиотиками). Практически повсеместное присутствие генов устойчивости в широком диапазоне сред подтверждает, что затраты у микроорганизмов, связанные с поддержанием и переносом генов устойчивости, практически ничтожны.

Кроме того, известно, что большинство бактерий существуют в организме не в виде свободно живущих клеток, а в виде специфически организованных биопленок. Причем сами бактерии составляют лишь 5-35% массы биопленки, остальная часть - это слизистополимерный матрикс, защищающий микроорганизмы от неблагоприятных факторов внешней среды. Повышенная устойчивость бактерий в составе биопленок к антибиотикам - серьезная проблема ветеринарии.

Минимизация антибиотиков - контроль микрофлоры

В последние десятилетия широкое применение по всему миру получили кормовые антибиотики,

используемые в качестве стимуляторов роста животных.

Уже в первых опытах по скармливанию антибиотиков цыплятам было выявлено, что стимулирующее действие антибиотиков на рост обусловлено их антибактериальным влиянием на кишечную микрофлору. Подавляющее большинство исследователей полагало, что ростовой эффект антибиотиков объясняется, помимо антибактериального действия, комплексом факторов. Например, Н.А. Красильников относил к их числу усиление всасывания питательных веществ, Н.И. Леонов выделял способность антибиотиков нивелировать негативное влияние окружающей среды и увеличивать приспособляемость макроорганизма, К.М. Солнцев выделял свойство антибиотиков катализировать белковый обмен и усиливать синтез витаминов.

Современные представления о микробиоме желудочно-кишечного тракта птиц подтверждают выводы ученых. Показана сложная связь между структурой микробиома и здоровьем и продуктивностью птицы. Известно, что структура микробиома влияет на развитие иммунной системы, деструкцию микотоксинов, усвояемость аминокислот, синтез органических кислот, витаминов и гормонов.

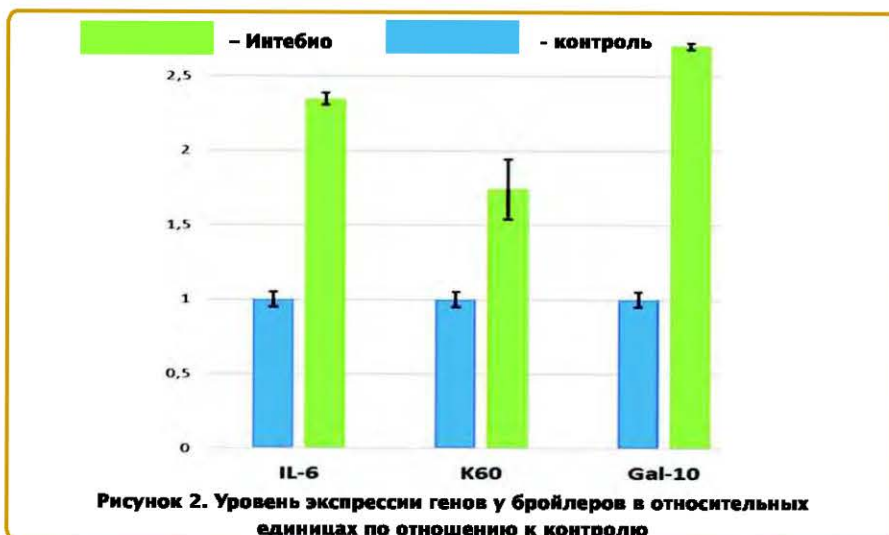
Эфирные масла

По мере уменьшения эффективности антибиотиков и накопления информации о резистентности стало ясно, что кормовые антибиотики не могут являться единственным средством модификации структуры микрофлоры. Заменой им могут стать препараты растительного и бактериального происхождения. В результате натуральные кормовые добавки, полученные из растений, такие как эфир-

ные масла, были рассмотрены в качестве альтернативы антибиотикам в животноводстве и птицеводстве. Эфирные масла представляют собой смеси разнообразных биологически активных веществ, обладающих широким спектром действия. Действие эфирных масел несколько медленнее и мягче, чем эффект от антибиотиков, но при этом стабильнее.

Механизм их антимикробного действия связан с тем, что эфирные масла гидрофобны; это позволяет им разделять липиды в клеточной стенке и митохондриях патогенных бактерий, что приводит к их накоплению в липидном слое, нарушению целостности клеточных мембран и процессов переноса ионов, изменениям осмотического давления в клетках. Кроме того, эфирные масла способствуют быстрому рассеиванию градиентов ионов H^+ и K^+ (источников протонов) и истощению внутриклеточного пула АТФ за счет снижения его синтеза и усиления гидролиза. В результате трансмембранный электрический потенциал в клетке патогена снижается, и увеличивается проницаемость цитоплазматической мембраны для протонов, что приводит к подавлению роста микроорганизмов.

Специалистами компании НПК



«БИОТРОФ» разработан натуральный заменитель антибиотиков на основе смеси эфирных масел Интебио - это кормовая добавка для повышения сохранности молодняка и увеличения продуктивности сельскохозяйственных животных и птицы. Возможность терапевтического использования Интебио обусловлена его иммуномодулирующей и антимикробной активностью (рис. 1) в отношении патогенов, способностями усиливать выработку пищеварительного секрета, стимулировать кровообращение, оказывать антиоксидантное действие, снижать уровень ферментации нежелательных метаболитов кишечника (аммиака и биогенных аминов), повышать усвоение питательных веществ корма.

В здоровом организме животных задачу противостояния патогенам должен выполнять иммунитет. Между тем, антибиотики не только не повышают, но и снижают иммунитет, делая организм более беспомощным и не способным к самозащите.

Недавние эксперименты, проведенные на молекулярном уровне, доказали способность фитобиотика Интебио усиливать резистентность организма птицы путем регуляции экспрессии генов, связанных с врожденным иммунитетом.

Анализ экспрессии генов при помощи наблюдения за РНК позволяет обнаружить, какие гены активируются в ответ на то или иное воздействие на организм, что приводит к запуску синтеза соответствующего белка. Введение в рацион птиц Интебио способствовало значительной активации у бройлеров генов синтеза белков интерлейкина-6, К60 и галлинацина-10, ответственных за врожденный иммунный ответ организма (рис. 2). Интерлейкин-6 (IL6) - противовоспалительный цитокин, относится к сигнальным молекулам; основная его функция - привлечение дополнительных лейкоцитов из кровотока к месту инфекции. К60 - хемокин группы

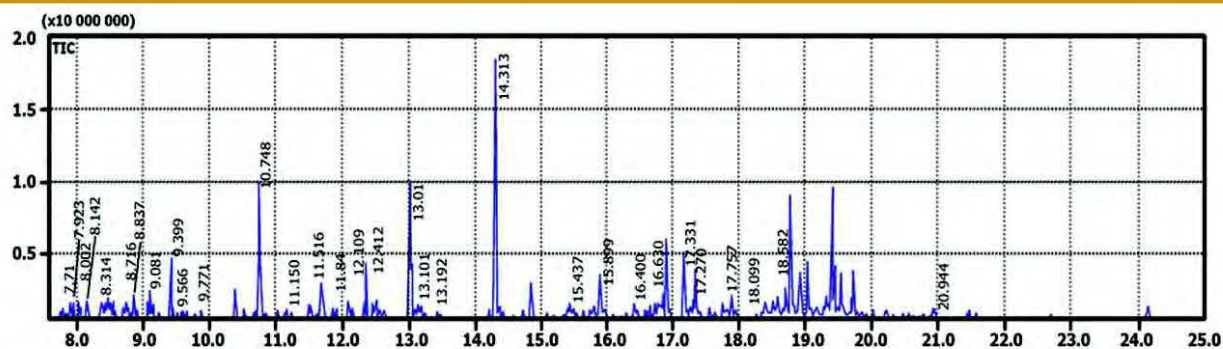


Рисунок 3. Обзорная хроматограмма метаболитов в культуральной жидкости *Bacillus spp.* в составе пробиотика Профорт

СХС, участвующий в передаче сигналов между иммунными клетками. Галлинацин-10 (Gal-10) - это бета-дефензин, участвует во врожденном иммунном ответе на бактериальные инфекции. Иммунные клетки используют дефензины для уничтожения бактерий, поглощенных при фагоцитозе.

Полученные данные свидетельствуют о выраженных иммуномодулирующих свойствах фитобиотика Интебио, поскольку он стимулирует активный иммунный ответ у бройлеров, что сопровождается увеличением продуктивности.

Пробиотики

Безопасные антибиотики естественного происхождения - бактериоцины, а также органические кислоты и другие вещества с антимикробными свойствами могут поступать в организм животных и птиц при помощи введения в рацион специально отобраных штаммов-продуцентов. Яркий пример - многокомпонентный пробиотик Профорт на основе двух штаммов микроорганизмов родов *Bacillus* и *Enterococcus*. Для детального изучения всех свойств штаммов бактерий в составе Профорта был применен инновационный метод полногеномного секвенирования, который позволил оценить функцию каждого гена в составе генома и описать все механизмы действия и биологический потен-

циал на молекулярном уровне.

Проведенный филогенетический анализ штаммов бактерий в составе пробиотика Профорт выявил уникальность метаболических возможностей данных микроорганизмов по сравнению с аналогичными видами бактерий. В составе генома *Bacillus spp.* локализованы гены (*FabD, FabF, FabG, FabZ, FabI* и др.), связанные с продукцией белков, участвующих в синтезе карбоновых кислот с антимикробными свойствами, в частности, масляной (бутирата), капроновой, каприловой и др. Был обнаружен целый кластер генов (*Asm22-24, Asm43-45, Asm47*), связанных с биосинтезом бактериоцинов.

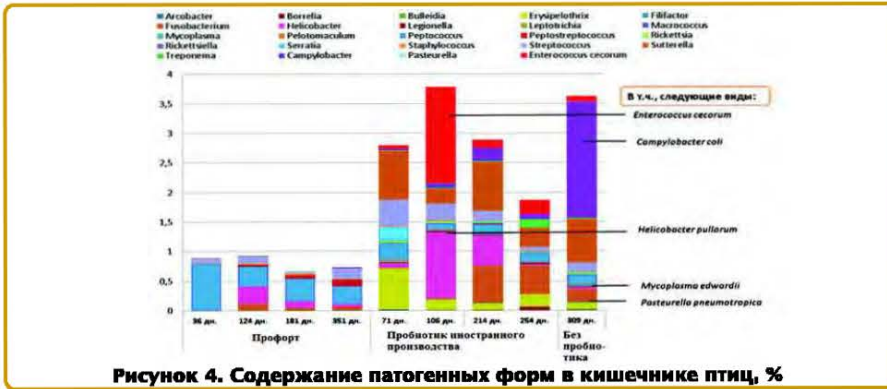
Интересно, что полученные результаты были подтверждены методом газожидкостной хромато-масс-спектрометрии. В культуральной жидкости штаммов бактерий (рис. 3) была обнаружена масляная кислота (бутират) и ее производные, пропионовая, ацетоуксусная кислоты, активные пептиды и другие биологически активные вещества. Количество продуцируемых метаболитов было значительным. Так, например, *Bacillus spp.* способны продуцировать 26 мг/мл масляной кислоты.

Благодаря таким широким метаболическим возможностям Профорт обладает высоким уровнем антимикробной активности в отношении кишечных патогенов

Salmonella enteritidis, Pasteurella multocida, Clostridium perfringens, Staphylococcus aureus, Escherichia coli и др. В связи с синергическим эффектом двух бактерий снижение содержания патогенов в кишечнике доходит до 100%.

Эффективность пробиотика Профорт была многократно подтверждена в условиях производства. На рис. 4 представлены результаты изучения микробиома слепых отростков кишечника птицы родительского стада бройлеров методом NGS-секвенирования. Было сформировано 3 группы: 1-я группа получала пробиотик Профорт, 2-я - пробиотик иностранного производства, в рацион контрольной группы пробиотика не вводили.

В группе с пробиотиком иностранного производства и в контроле без добавок наблюдалось присутствие значительного количества патогенных форм, содержание которых превышало нормы для здоровых птиц. В отличие от группы с Профортом, в кишечнике птицы этих двух групп были детектированы следующие опасные виды, способные вызывать серьезные заболевания эпизоотического характера: *Enterococcus cecorum* - возбудитель энтерита, в ассоциации с бактериями семейства *Burkholderiaceae* вызывает воспалительные заболевания суставов; *Campylobacter coli* и *Pasteurella*



pneumotropica - возбудители энтерита; *Helicobacter pullorum* - возбудитель воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, и др. Применение пробиотика Профорт способствовало нормализации состава микробиома: вытеснению условно-патогенных и патогенных форм из кишечника птицы.

В опыте на курах-несушках (рис. 5) за 20 недель применения Профорта падеж молодняка снизился с 4,7 до 1,2% (в 3,9 раза). Это было, в частности, связано со снижением присутствия в кишечнике птицы патогенных форм, с которыми не смогли справиться даже кормовые антибиотики.

Метапробиотики

Метапробиотики - это препараты нового поколения на основе пробиотических штаммов бактерий, дополнительно обогащенные полезными бактериальными метаболитами (органическими кислотами, бактериоцинами).

Наиболее удачный пример препаратов подобного рода - это метапробиотик Пробиоцид-Ультра

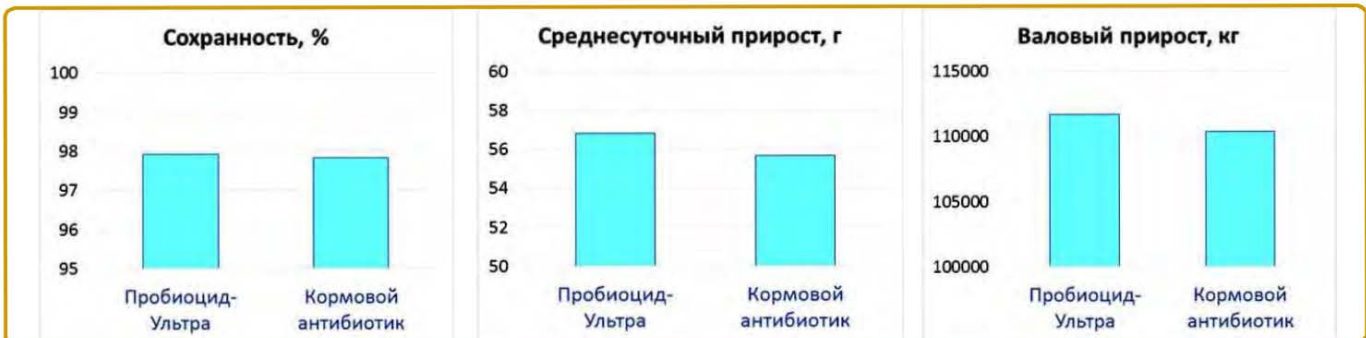
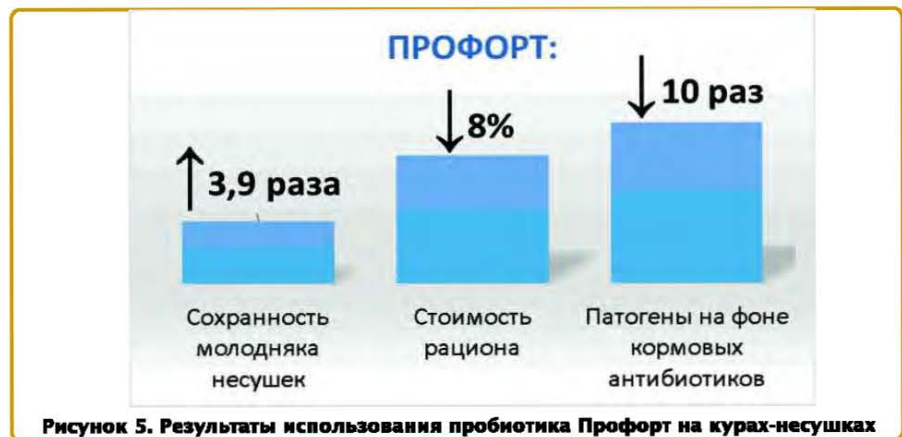
(ООО «БИОТРОФ») на основе полезных бактериальных метаболитов и двух штаммов *Vacillus spp.*, действующих в синергизме.

Пробиоцид-Ультра не только эффективно стимулирует рост нормофлоры кишечника, выполняя функции классического пробиотика, но и в разы повышает способность подавлять рост патогенных бактерий. Кроме того, смесь бактериальных метаболитов позитивно действует непосредственно на организм хозяина, повышая уровень резистентности, активируя работу ферментов, стимулируя обновление клеток эпителия. Поэтому, с

одной стороны, Пробиоцид-Ультра работает подобно антибиотикам, как лечебным, подавляя патогенную микрофлору, так и кормовым, стимулируя увеличение продуктивности. С другой стороны, в отличие от антибиотиков, этот препарат не создает дополнительную нагрузку на ослабленный иммунитет.

На предприятии ОАО «Птицефабрика Зеленецкая» был проведен эксперимент в промышленном масштабе на бройлерах кросса Кобб-500: одна группа получала кормовой антибиотик (нозигептид), из рациона другой группы полностью исключили кормовой антибиотик, заменив его на метапробиотик Пробиоцид-Ультра. Высокий уровень сохранности, как в опытной, так и в контрольной группе, обеспечивал прореживание поголовья.

Введение в рацион препарата Пробиоцид-Ультра оказало более выраженное стимулирующее влияние на рост и развитие бройлеров по сравнению с применением кор-





мового антибиотика, что выразилось в увеличении живой массы и сохранности поголовья (рис. 6). Для сравнения результатов использовали индекс продуктивности, который отражает такие важные показатели, как живая масса, сохранность и затраты кормов, и позволяет комплексно оценить влияние различных факторов на выращивание цыплят-бройлеров. В группе с применением метапробиотика индекс продуктивности возрос на 1,41 единицу по сравнению с кормовым антибиотиком.

Таким образом, Пробиоцид-

Ультра способен полностью заменить в рационе бройлеров кормовые антибиотики.

Выводы

Свести к минимуму применение антибиотиков без ущерба для производителя мяса птицы возможно даже на крупных промышленных предприятиях с большой плотностью поголовья птицы. В первую очередь, следует отказываться от антибиотиков, предназначенных для профилактических целей и стимуляции роста. Эту роль можно и нужно доверить безопасным альтернативным вариантам. В настоя-

щее время на рынке появляются натуральные растительные биопрепараты на основе эфирных масел, микроорганизмов и их полезных метаболитов, не уступающие по эффективности антибиотикам, но исключаяющие негативные последствия от их применения: аккумуляцию в продукции, негативное воздействие на иммунитет и микробиоту кишечника.

Для контакта с авторами:

Йылдырым Елена Александровна

E-mail: deniz@biotrof.ru

Ильина Лариса Александровна

E-mail: ilina@biotrof.ru

Тюрина Дарья Георгиевна

E-mail: tiurina@biotrof.ru

Дубровин Андрей Валерьевич

E-mail: dubrowin.a.v@yandex.ru

Филиппова Валентина Анатольевна

E-mail: doumova@mail.ru

Новикова Наталья Ивановна

E-mail: natalia-iv-nov@rambler.ru

Большаков Владислав Николаевич

E-mail: bvn@biotrof.ru

Лаптев Георгий Юрьевич

E-mail: laptev@biotrof.ru

How Can We Eliminate Antibiotics in Poultry Production?

Yildyrym E.A., Ilyina L.A., Tiurina D.G., Dubrovin A.V., Filippova V.A., Novikova N.I., Bolshakov V.N., Laptev G.Yu.

BIOTROF, Ltd. (Saint-Petersburg)

Summary: The continuous and non-controlled application of antibiotics in animal and poultry production has finally resulted in the abrupt decrease in their effectiveness due to the fast development of resistibility to these drugs in pathogenic microbial species. However, the use of antibiotics can be minimized without detrimental effects on the production efficiency even on large-scale commercial farms with high flock volume and density. As a first step the in-feed antibiotics which are used for the prophylaxis of diseases and as growth stimulators should be banned; these functions can and must be effectively reassigned to more safe alternatives. At present natural preparations based on the plant-derived essential oils, beneficial microbial species and their metabolites could be found on the market with effectiveness comparable to antibiotics and devoid of the negative side effects of the latter. E.g. phytobiotic Entebio® was found to stimulate active immune response in broilers and enhance the productive performance. Probiotic Profort® containing beneficial bacterial strains was reported to actively suppress the intestinal communities of different pathogenic and opportunistic species (*Salmonella enteritidis*, *Pasteurella multocida*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, etc.). The effects of metaprobiotic Probiocid-Ultra® (combination of probiotic bacterial strains and beneficial bacterial metabolites) are similar to those of both therapeutic (suppression of pathogenic microflora) and in-feed antibiotics (stimulation of growth and productivity).

Key words: poultry, antibiotics, resistibility, phytobiotics, probiotics, metaprobiotics, intestinal microbiota, new-generation sequencing (NGS), productive performance.