

**СЕКЦИЯ 4. ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ  
В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЗДОРОВЬЯ И БЛАГОПОЛУЧИЯ  
ЖИВОТНЫХ**

УДК 57:579:579.6:579.62

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КУЛЬТУРЫ *VACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS*  
В ВЕТЕРИНАРИИ**

*Ермаков Владимир Викторович, к.б.н., доцент, ФГБОУ ВО Самарский ГАУ  
Молянова Галина Васильевна, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Самарский  
ГАУ*

*Аннотация.* Добавление к основному рациону пробиотика *Bacillus Amyloliquefaciens* позволило улучшить процесс пищеварения у козлят посредством активизации метаболических реакций в организме за счет жизнедеятельности полезной микрофлоры. Использование пробиотика у животных привело к более быстрому восстановлению жизненно необходимой микрофлоры, что обеспечило нивелирование действия и вытеснение патогенных штаммов *Escherichia coli* из организма животных. Назначение пробиотика приводит к повышению адаптационных и продуктивных показателей мелко-го рогатого скота.

*Ключевые слова:* козлята, микроассоциация, пробиотик, *Bacillus amyloliquefaciens*

**Введение.** В существующих реалиях сегодняшнего дня повышается значимость условно-патогенных энтеробактерий в развитии инфекционной патологии животных. Учитывая сложившуюся ситуацию изыскание новых средств, повышение эффективности и расширение спектра действия существующих препаратов для профилактики и лечения животных приобретает решающее значение [1, 2, 3]. В связи с этим задачи по сохранению и умножению поголовья сельскохозяйственных и промысловых животных, повышению их продуктивности, качества продукции обуславливают острую необходимость внедрения в жизнь новых препаратов различного происхождения [4, 5].

**Материал и методы исследования.** Пробиотик на основе *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-11475 (*B. amyloliquefaciens*) представляет собой жидкость светло-коричневого цвета, средняя концентрация составляет  $4 \times 10^9$  КОЕ (КОЕ – колониеобразующая единица). Препарат имеет положительное экспертное заключение по токсиколого-гигиенической оценке штамма *B. amyloliquefaciens* от 19.06.2023 г от Самарской испытательной лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ». При проведении исследований *in vitro* препарат показал стойкие антагонистические способности в отношении бактериальных и грибных фитопатогенов в концентрации  $4 \times 10^7$  КОЕ [6].

Научно-производственный опыт проводили на ферме по производству и переработке козьего молока КФХ «Семкина О.В.» Приволжского района Самарской области. Козлята были подобраны по принципу пар аналогов по 10 голов в группе 2- месячного возраста. Для проведения эксперимента создали три группы животных, включающих по 10 голов в каждой. В контрольную группу входили козлята, имеющие основной рацион кормления. Козлята I опытной группы принимали пробиотик в дозе  $4 \times 10^9$ , II опытной –  $4 \times 10^7$  за 30 мин до кормления по 1 капсуле на голову 1 раз в сутки в течение месяца при помощи болусодавателя.

Суспензию биоматериала для получения роста культур бактерий высевали на дифференциально-диагностические и селективно-элективные питательные среды.

Определение факторов патогенности, биохимическое и серологическое исследование культур энтеробактерий проводили по общепринятым методам. Математическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью специальных компьютерных программ.

**Результаты исследования.** Исследование выявило тенденцию к повышению основных биохимических показателей сыворотки крови у животных принимающих пробиотик на основе *Bacillus amyloliquefaciens* в дозе  $4 \times 10^9$  и  $4 \times 10^7$ , относительно контрольных данных. Все показатели находились в пределах физиологической нормы (табл. 1).

В ходе лабораторного микробиологического исследования зафиксировано наличие в желудочно-кишечном тракте козлят облигатных и временных представителей микробного мира. В образцах, отобранных от опытных козлят, идентифицировано повышение количества микробных ассоциаций состоящих из энтерококков, бифидобактерий и лактобацилл.

Таблица 1

### Показатели крови козлят

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа	Первая опытная	Вторая опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	12,16±0,18	17,55±0,34	13,06±0,24
Гемоглобин, г/л	91,12±0,44	99,24±1,18	92,64±0,94
Лейкоциты, $10^9/л$	10,08±0,42	12,64±0,28	10,68±0,74
Сегментоядерные нейтрофилы, $10^9/л$	4,08±0,03	6,40±0,04	4,34±0,08
Лимфоциты, $10^9/л$	5,72±0,06	6,22±0,03	5,34±0,10
Фагоцитарная активность нейтрофилов, %	36,22±1,08	50,46±0,26	38,86±1,56
Фагоцитарное число	1,14±0,04	2,62±0,04	1,38±0,08
Лизоцимная активность, %	34,12±0,30	43,16±0,48	35,68±0,42
Бактерицидная активность, %	44,18±0,38	52,64±1,06	45,18±0,34
Общий белок, г/л	62,28±0,70	67,06±0,86	63,08±1,46
Гамма-глобулины, г/л	7,14±0,10	8,34±0,16	7,84±0,32

У козлят с дисфункцией желудочно-кишечного тракта в начале исследования превалировали патогенные штаммы *Escherichia coli*, что сопровождалось существенным снижением концентрации облигатных микроассоциа-

ций. Затем по достижению трехмесячного возраста произошла коррекция микробиоты желудочно-кишечного тракта (табл. 2).

Таблица 2

Микрофлора желудочно-кишечного тракта козлят

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа	Первая опытная	Вторая опытная
<i>Enterococcus faecium</i>	$3,52 \times 10^8 \pm 0,22$	$6,52 \times 10^8 \pm 0,12$	$4,33 \times 10^8 \pm 0,54$
<i>Enterococcus faecalis</i>	$4,08 \times 10^8 \pm 0,08$	$6,58 \times 10^8 \pm 0,20$	$4,76 \times 10^8 \pm 0,14$
<i>Enterococcus flavescens</i>	$1,06 \times 10^8 \pm 0,04$	$2,46 \times 10^8 \pm 0,08$	$1,30 \times 10^8 \pm 0,06$
<i>Bacteroides fragilis</i>	$4,26 \times 10^6 \pm 0,16$	$3,14 \times 10^6 \pm 0,08$	$4,08 \times 10^6 \pm 0,46$
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	$3,92 \times 10^{10} \pm 0,70$	$8,40 \times 10^{10} \pm 0,78$	$4,84 \times 10^{10} \pm 0,84$
<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	$4,06 \times 10^{10} \pm 0,38$	$8,18 \times 10^{10} \pm 0,96$	$4,62 \times 10^{10} \pm 0,74$
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	$4,12 \times 10^{10} \pm 0,54$	$7,54 \times 10^{10} \pm 0,48$	$4,38 \times 10^{10} \pm 0,46$
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$4,20 \times 10^{10} \pm 0,33$	$7,38 \times 10^{10} \pm 0,74$	$4,62 \times 10^{10} \pm 0,28$
<i>Micrococcus luteus</i>	$4,63 \times 10^4 \pm 0,06$	$4,26 \times 10^4 \pm 0,08$	$4,08 \times 10^4 \pm 0,14$
<i>Escherichia coli</i>	$7,32 \times 10^6 \pm 0,42$	$5,16 \times 10^6 \pm 0,14$	$6,88 \times 10^6 \pm 0,72$
<i>Serratia marcescens</i>	$4,92 \times 10^4 \pm 0,54$	$4,42 \times 10^4 \pm 0,34$	$4,56 \times 10^4 \pm 0,66$

В ходе исследования биохимических и серологических свойств у культур энтерококков желатиназная и гемолитическая активность не выявлена. Это свидетельствует об отсутствии данных факторов патогенности (вирулентности) у выделенных энтерококков. Высокая активность протеолитических ферментов у представителей рода *Enterococcus* является важнейшим инструментом антагонистической способности по отношению к патогенным микроорганизмам. Все выделенные и идентифицированные культуры энтерококков обладали протеолитической активностью. У козлят контрольной группы протеолитическая активность энтерококков была более выражена, чем у энтерококков козлят опытной группы.

Основными показателями, определяющими персистентные свойства микроорганизмов, являются антилизосимная активность, антикарнозиновая активность и способность к образованию биоплёнок. Среди факторов персистенции антилизосимная и антикарнозиновая активность выявлены нами в контрольной группе животных у *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* и у культур энтерококков.

Бактерии *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* проявили наиболее высокие показатели антилизосимной активности. В результате исследования антилизосимной активности у представителей рода *Enterococcus* было выявлено, что данный признак встречался у 100% изолятов выделенных нами от козлят. Среди энтерококков уровень проявления антилизосимной активности был более высоким у изолятов *Enterococcus hirae*, а наименьшим у изолятов *Enterococcus casseliflavus*. При этом у козлят контрольной группы антилизосимная активность энтерококков и *Escherichia coli* была меньше по сравнению с аналогичными микроорганизмами у козлят опытных групп.

Выживание условно-патогенных бактерий реализуется через их способность к адаптации и инактивации защитных свойств макроорганизма.

Дипептид природного происхождения карнозин ( $\beta$ -аланил L-гистидин) является одним из основных факторов неспецифической реактивности организма человека и животных. Все изоляты *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, энтерококков, выделенные нами от козлят, обладали антикарнозиновой активностью. Бактерии *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis* показали относительно невысокие значения антикарнозиновой активности по сравнению с *Escherichia coli* и энтерококками. Изоляты *Escherichia coli* проявили достаточно высокую антикарнозиновую активность у животных контрольной и опытных групп. Среди энтерококков уровень проявления антикарнозиновой активности был более высоким у изолятов *Enterococcus hirae*, а наименьшим у изолятов *Enterococcus casseliflavus*. При этом антикарнозиновая активность энтерококков у козлят контрольной группы была менее выраженной по сравнению с энтерококками козлят опытных групп.

Микроассоциации, состоящие из облигатных энтерококков, бифидобактерий и лактобацилл формировали так называемые функциональные биопленки на слизистой желудочно-кишечного тракта животных с самого рождения. Этот процесс завершается у козлят к месячному возрасту. У животных опытных групп, судя по специфическим показателям, биопленкообразования складывались быстрее, чем у животных контрольной группы. Назначение пробиотика на основе *B. amyloliquefaciens* в дозе  $4 \times 10^9$  и  $4 \times 10^7$  КОЕ козлятам ежедневно положительно повлияло на микробиоту животных.

Наряду с этим, величины показателей биопленкообразования у бифидобактерий и лактобацилл были наиболее высокими. Менее выражена была способность образовывать биопленки у бактероидов, серраций, эшерихий и других энтеробактерий.

**Заключение.** У козлят, находящихся в одинаковых условиях содержания в хозяйстве и получающих основной рацион кормления, организм развивался стабильно и изученные параметры жизнедеятельности находились в пределах физиологически обусловленных рамок. Добавление же к основному рациону пробиотика на основе *B. amyloliquefaciens* позволило улучшить процесс пищеварения посредством активизации метаболических реакций в организме за счет жизнедеятельности полезной микрофлоры. Использование пробиотика способствовало более быстрому восстановлению жизненно необходимой микрофлоры, что обеспечило нивелирование действия и вытеснение патогенных штаммов *Escherichia coli* из организма животных.

### Библиографический список

1. Ермаков, В. В., Молянова, Г. В. Применение телятам синбиотика «МИКРОБАЦИЛАБ» / В. В. Ермаков, Г. В. Молянова // Актуальные проблемы лечения, и профилактики болезней молодняка : мат. конф. – Витебск, 2021. – С. 229-234.
2. Ермаков, В. В. Биологические свойства представителей микробиоценоза домашних кошек и собак в г. Самара / В. В. Ермаков // Актуальные про-

блемы аграрной науки и пути их решения : сб. науч. тр. Кинель, 2016. – С. 194-198.

3. Ermakov V, Titov N. An innovative modification of the nutrient medium formulation for the isolation and differentiation of enterobacteriae. В сборнике: BIO Web conferences. Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources. Kazan, 2021. С. 00063.

4. Конищева, А. С. Микробиом кишечника телят при дисбактериозе / А. С. Конищева, В. И. Плешакова, Н. А. Лещева // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2021. – № 3 (43). – С. 70-77.

2. Самойленко, В. С. Влияние опытного образца синбиотического средства на микробиоценоз желудочно-кишечного тракта телят в раннем постнатальном онтогенезе / В. С. Самойленко, Н. А. Ожередова, Е. В. Светлакова // Ветеринарная патология. – 2021. – № 2 (76). – С. 53-58.

3. Молянова, Г.В. Биохимические параметры крови козлят зааненской породы при применении препарата на основе *Bacillus amyloliquefaciens* / Г.В. Молянова, В.В. Ермаков, О.В. Семкина, А.П. Винокурова // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2023. №4. С. 79–86. doi: 10.55170/19973225\_2023\_8\_4\_79

УДК 619:616.98:578.842.1:616-076

## **МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ ГРИППА ТИПА А ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ**

*Глазунова Анастасия Александровна, зам. руководителя группы лаборатории, ФГБНУ ФИЦВиМ*

*Севских Тимофей Александрович, руководитель НОЦ, ФГБНУ ФИЦВиМ*

*Лунина Дарья Александровна, зам. руководителя группы, СамНИВИ – филиала ФГБНУ ФИЦВиМ*

*Кудряшов Дмитрий Андреевич, микробиолог, ФГБНУ ФИЦВиМ*

*Титов Илья Андреевич, зав. лабораторией, ФГБНУ ФИЦВиМ*

*Аннотация.* В исследовании была оптимизирована колориметрическая ЛАМР с использованием отечественных реагентов. Протокол ЛАМР с колориметрической детекцией результатов амплификации продемонстрировал высокую воспроизводимость и простоту интерпретации, что свидетельствует о его перспективности для экспресс-диагностики болезней животных и полевых скрининговых исследований.

*Ключевые слова:* вирус гриппа типа А, петлевая изотермическая амплификация, колориметрическая детекция, диагностика болезней животных, полевые скрининговые исследования.

Массовое и неконтролируемое распространение вируса гриппа птиц (ВГП) представляет серьезную угрозу для здоровья животных и человека, а