

Применение средства на основе бактериофагов для борьбы с микробоносительством у перепелов

Я. С. ТАТАРЕНКО, соискатель (e-mail: anka92-09@bk.ru)

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К. И. Скрябина, ул. Академика Скрябина, 23, Москва, 109472, Российская Федерация

Резюме. Цель исследования – определение эффективности средства, содержащего в своем составе разные бактериофаги, против инфекции в перепеловодстве. Для проведения эксперимента по методу аналогов сформировали три группы клинически здоровых бройлерных перепелов скандинавской породы в возрасте 45 суток по 100 голов в каждой. Птицу содержали в клетках, тип кормления – сухой. Препарат Фаговет Ави выпаивали групповым методом из вакуумных поилок в дозе 3 мл на 7,4 л воды: птице I опытной группы – однократно; II опытной – трехкратно с интервалом 48 ч. В контрольной группе Фаговет Ави не использовали. Наблюдения вели в течение 7 дней. До обработки средняя масса тела перепелов I опытной группы составляла 382,4 г, II опытной – 382,3 г, контрольной – 382,7 г. По результатам определения наличия патогенных бактерий в организме птиц доминирующими видами были *Escherichia coli* (преимущественно в мышечном желудке и кишечнике), *Streptococcus gallinarum*, *Proteus mirabilis* (в кишечнике и печени), *Klebsiella pneumoniae* (в легких и мышечном желудке). До выпойки препарата санитарные показатели мяса убойной птицы во всех группах не соответствовали норме – количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) – до $5,1 \times 10^9$ колониеобразующих единиц (КОЕ)/г, бактерий группы кишечной палочки (БГКП) – до $1,2 \times 10^9$ КОЕ/г. Трехкратная выпойка препарата Фаговет Ави обеспечила нивелирование циркуляции инфекции и снижение контаминации продуктов убоя перепелов (КМАФАнМ – до $(2,0 \pm 0,02) \times 10^2$ КОЕ/г, БГКП – до $(1,1 \pm 0,02) \times 10^2$ КОЕ/г), а также уменьшение потерь, по сравнению с контролем, на 5,4 руб. на 1 голову. По окончании опыта масса тела перепелов опытных групп была значительно выше, чем в контроле: в I опытной – 398,5 г, во II опытной – 391,6 г, в контрольной – 384,5 г.

Ключевые слова: перепела, бактериальная обсемененность тушек и органов, бактериофаговое средство, методы борьбы с микробоносительством.

Для цитирования: Татаренко Я. С. Применение средства на основе бактериофагов для борьбы с микробоносительством у перепелов // Достижения науки и техники АПК. 2019. Т. 33. № 5. С. 59–61. DOI: 10.24411/0235-2451-2019-10514.

Учитывая глобальность поставок сырья, микробоносительство среди птицы и последующая контаминация продуктов патогенными микроорганизмами, полученными от птицы-носителя, приобретает все большее экономическое и социальное значение [1, 2]. Мясо птицы служит благоприятной средой для развития микроорганизмов, что снижает уровень его безопасности для потребителей [3]. По данным Госсанэпиднадзора России, в течение последних лет зарегистрировано более 110 вспышек кишечных инфекций, связанных с употреблением недоброкачественных пищевых продуктов, с числом пострадавших более 8 тыс. человек [4].

Изучению бактериальной обсемененности мяса кур и методам обеззараживания тушек уделяют большое внимание [5]. Однако на сегодняшний день влияние микробоносительства и бактериальной обсемененности продуктов перепеловодства на возникновение пищевых токсикоинфекций человека, а также микробоносительства как фактора, приводящего к обсемененности, изучено мало.

Сравнительно недавно для предотвращения размножения микроорганизмов в мясе, наряду с консервированием, сквашиванием, кипячением и заморозкой использовали

антибиотики, что снижало пищевую ценность и ухудшало качество производимых продуктов. Употребление такой продукции может вызывать у человека аллергию, кроме того, возрастает вероятность формирования у патогенной микрофлоры антибиотикорезистентности [6, 7] и образования в организме птицы дремлющих очагов инфекции [5, 7].

Сейчас антибиотики в пищевой промышленности используют все реже, на смену им приходят новые биологические методы, например, биопроецирование – бактериофаговая обработка мяса и фаготерапия животных. В некоторых случаях препараты на основе бактериофагов превосходят антибиотики по активности в отношении антибиотикорезистентных возбудителей. Бактериофаги не препятствуют лечебному действию других препаратов (антибиотики, пробиотики, синбиотики) и не чувствительны к ним. Они действуют лишь на определенные бактерии, не влияют на симбиотную микрофлору, не вызывают побочных эффектов. Реализацию тушек птицы можно осуществлять сразу после дачи бактериофагового средства, что положительно влияет на экономическую эффективность производства [7, 8, 9]. Возможна обработка готовой к употреблению продукции из мяса и домашней птицы [10, 11, 12].

Бактериофаговые препараты используют для лечения инфекционных болезней птиц [6, 13, 14], например, в куроводстве с целью снижения носительства и связанной с ним бактериальной обсемененности тушек [5]. Данных об их применении в перепеловодстве нет. Изучение этого вопроса, а также совершенствование профилактики вспышек и распространения бактериозов на сегодняшний день – одна из актуальных проблем ветеринарии.

Цель исследования – определение эффективности средства на основе набора различных бактериофагов для борьбы с инфекцией в перепеловодстве.

Условия, материалы и методы. Работу выполняли в 2017 г. на базе ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина, отдельные микробиологические исследования – в ФГБНУ ВНИИ экспериментальной ветеринарии имени Я. Р. Коваленко.

Использованное в работе средство Фаговет Ави (ООО НПЦ «МикроМир», Россия) содержит фаги, гомологичные к следующим патогенным микроорганизмам: *S. gallinarum*, *S. aureus*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *C. perfringens*, *E. coli* O2, O15.

Для проведения эксперимента выбрали неблагополучное по микробоносительству хозяйство, в котором ранее в ходе мониторинга из органов и мышц перепелов были выделены патогенные микроорганизмы при отсутствии клинических признаков [8]. Методом аналогов сформировали три группы клинически здоровых бройлерных перепелов скандинавской породы в возрасте 45 суток: контрольную и две опытные по 100 голов в каждой. Птицу содержали в клетках, тип кормления – сухой.

Фаговое средство выпаивали птице I опытной группы однократно в дозе 3 мл на 7,4 л воды; II опытной – трехкратно с интервалом 48 ч в дозе 3 мл на 7,4 л воды. Птица контрольной группы Фаговет Ави не получала. Выпаивание проводили групповым методом в течение дня, для удобства использовали вакуумные поилки.

Дозу и кратность применения средства подбирали экспериментальным путем, за основу брали результаты

его испытаний на курах, проведенных ООО НПЦ Микро-Мир [15]. Для контроля эффективности бактериофагового средства проводили клиническое, патологоанатомическое и бактериологическое исследование. Наблюдение за птицей вели в течение 7 дней. При клиническом обследовании осуществляли внешний осмотр, наружную пальпацию и термометрию согласно ГОСТ 18292-2012.

Для проведения бактериологических исследований до и после дачи препарата из каждой группы забивали по 10 % птиц. Отбор проб для микробиологических исследований проводили с соблюдением асептических условий для предотвращения их микробной контаминации с объектов внешней среды (ГОСТ 7269–79, ГОСТ 21237–75, ГОСТ 10444.15–94, ГОСТ 26669–85). От каждой птицы исследовали мясо (в толще грудных и бедренных мышц), печень, сердце (кровь), мышечный желудок и кишечник (глубокие слои слизистой), легкие.

Для идентификации бактериальных культур использовали коммерческие питательные среды – МПА, МПБ; для дифференциации патогенных энтеробактерий – XLD-агар, стафилококков и стрептококков – Колумбия-агар (основа для кровяного агара), анаэробных бактерий – среду Кит-Тароцци, чистых культур энтеробактерий – основу бульона с бромкрезоловым пурпурным M284 himedia; для роста коIFORMных бактерий – агар МакКонки, анаэробных бактерий – агар Шедлера, сальмонелл – висмут-сульфитный агар, энтерококков – хромогенный агар см 1007; для подтверждения утилизации цитрата энтеробактериями – цитратный агар; для выделения и дифференцировки сальмонелл и шиггелл – SS-агар; для определения лактобактерий и дифференцировки их по ферментации – MRS-агар;

для окислительно-ферментативного (ОФ) теста с целью дифференциации грамотрицательных микроорганизмов по наличию у них ферментативного или окислительного метаболизма углеводов – среды Кларка, Клиглера, Эндо, Плоскирева, Левина, Хью-Лейфсона; для выделения стафилококков – среду элективную солевую – бульон; для выявления листерий – Oxford агар; для установления подвижности бактерий – полужидкий питательный агар.

Мазки окрашивали по Граму и Гинсу (для капсульных бактерий) и микроскопировали при увеличении × 100, изучение культуральных и биохимических свойств выделенных микроорганизмов проводили в соответствии с Методическими указаниями по санитарно-бактериологическому контролю на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами (МУ 2657-82), ГОСТ ISO 7218-2015.

Идентификацию выделенных культур с использованием наборов Microbact 12e, Api 20e, Enterotest 24N, RemelRapiDone осуществляли по изменению цвета в лунках плашек с помощью идентификационных таблиц.

Полученные данные обрабатывали в программе MS Excel. Вычисляли среднеарифметические величины (M), их стандартные ошибки (m) и стандартные отклонения. Уровень значимости различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Различия массы тела перепелов при групповом взвешивании считали достоверными при p ≤ 0,05.

Результаты и обсуждение. В ходе бактериологического мониторинга среди обследованных перепелов выявили микробоносительство патогенных бактерий (см. табл.), доминирующими среди которых были *E. coli*

Таблица. Живая масса и санитарные показатели мяса перепелов до и после введения бактериофагового средства¹

Показатель	Группа			Норма
	I опытная	II опытная	контроль	
До введения бактериофагового средства				
Средняя живая масса, г	382,4	382,3	382,7	самцы – 280...360, самки – 350...470 [16]
Выделенные патогенные культуры (количество проб – источников, материал)	<i>S. gallinarum</i> из мяса (n=9), сердца (n=1), мышечного желудка (n=7), кишечника (n=8), <i>P. mirabilis</i> из мяса (n=2), мышечного желудка (n=4), кишечника (n=8), сердца (n=1), <i>K. pneumonia</i> из кишечника (n=5), <i>E. coli</i> из мышечного желудка (n=9), кишечника (n=7)	<i>S. gallinarum</i> из мяса (n=9), сердца (n=1), мышечного желудка (n=7), кишечника (n=8), <i>P. mirabilis</i> из мяса (n=2), мышечного желудка (n=4), кишечника (n=8), сердца (n=1), <i>K. pneumonia</i> из кишечника (n=5), <i>E. coli</i> из кишечника (n=7)	<i>S. gallinarum</i> из мяса (n=9), сердца (n=1), мышечного желудка (n=7), кишечника (n=8), <i>P. mirabilis</i> из мяса (n=2), мышечного желудка (n=4), кишечника (n=8), сердца (n=1), <i>K. pneumonia</i> из кишечника (n=5), <i>E. coli</i> из мышечного желудка (n=9), кишечника (n=7)	не допускается ²
МАФАнМ, КОЕ/г (см ³)	(5,7±0,03)×10 ⁶	(4,9±0,02)×10 ⁸	(5,1±0,02)×10 ⁹	не более 10 ²
БГКП в 0,01 г	(1,2±0,03)×10 ⁸	(1,2±0,02)×10 ⁷	(1,5±0,02)×10 ⁷	не допускается ²
После введения бактериофагового средства				
Средняя живая масса птицы, г	398,5*	391,6*	384,5	самцы – 280...360, самки – 350...470 [16]
МАФАнМ, КОЕ/г (см ³)	(2,4±0,03)×10 ²	(2,0±0,02)×10 ²	(7,2±0,03)×10 ⁹	не более 10 ²
БГКП в 0,01 г	(0,4±0,03)×10 ³	(1,1±0,02)×10 ²	(2,5±0,03)×10 ⁸	не допускается ²
Выделенные патогенные культуры (количество проб – источников, материал)	<i>E. coli</i> из мышечного желудка (n=8), кишечника (n=7)	<i>E. coli</i> из мяса (n=2)	<i>S. gallinarum</i> из мяса (n=8), мышечного желудка (n=7) кишечника (n=8), <i>P. mirabilis</i> из мяса (n=2), мышечного желудка (n=4), кишечника (n=5), сердца (n=1), <i>K. pneumonia</i> из кишечника (n=5), <i>E. coli</i> из мышечного желудка (n=4), кишечника (n=5)	не допускается ²

¹сульфитредуцирующие клостридии, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, сальмонеллы, наличие которых не допускается действующими нормативными документами, во всех образцах в оба срока отбора проб не обнаружены

²ТР ТС 021/2011;

*p ≤ 0,05, по сравнению с контролем.

(преимущественно в мышечном желудке и кишечнике), *S. gallinarum*, *P. mirabilis* (в кишечнике и печени), *K. pneumoniae* (в легких и мышечном желудке).

Применение комплексного бактериофагового препарата Фаговет Ави нивелировало отрицательное влияние микробных патогенов. За период наблюдения во всех группах отхода птицы не отмечено, в контрольной группе выявлено 8 голов с клиническими признаками заболеваний, в опытных группах таковые отсутствовали. Средняя живая масса птицы опытных групп при групповом взвешивании после выпойки препарата была значимо выше, чем в контроле ($p \leq 0,05$). Расход воды в течение периода наблюдения в I опытной группе составил $8,0 \pm 0,01$ л/сут. на 100 голов, II опытной – $7,5 \pm 0,01$ л/сут., что соответствует норме ($5,0 \dots 8,0$ л/сут. [13]), при увеличении ее потребления в контрольной группе до $8,8 \pm 0,04$ л/сут.

Значительно улучшились санитарные показатели тушек, а также снизился процент носительства следующих микроорганизмов: *S. gallinarum*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*. Эти данные согласуются с положительным опытом применения бактериофагов для борьбы с сальмонеллезной инфекцией в птицеводстве [5, 8, 9].

Литература.

1. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных / Д. И. Скородумов, В. В. Субботин, М. А. Сидоров и др. М.: ИзографЪ, 2005. 656 с.
2. Бактериофаги рода *Bacillus* и перспективы их применения / Н. А. Феоктистова, Д. А. Васильев, С. Н. Золотухин и др. // Инфекция и иммунитет. 2014. С. 116.
3. Amélie R. Bacterial Contaminants of Poultry Meat: Sources, Species, and Dynamics // *Microorganisms*. 2017. № 5. Pp. 2.
4. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2010 году: Государственный доклад. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. 431 с.
5. Бактериофаг *Escherichia coli* 9G – возможный представитель нового Рода Сифовирусов, обладающий необычными биологическими свойствами / Е. Е. Куликов, А. К. Голомидова, М. А. Летарова и др. // Инфекция и иммунитет. 2014. С. 92.
6. Sabah A. A., Limoges R. G. Bacteriophage Biocontrol in Poultry // *Bacteriophages: Practical Applications for Nature's Biocontrol*. 2017. Pp. 59.
7. Пименов Н. В. Перспективы применения бактериофагов в ветеринарии // *Ветеринария и кормление*. 2009. № 5. С. 34–35.
8. Татаренко Я. С., Пименов Н. В., Лаишевцев А. И. Определение оптимального средства для оздоровления поголовья перепелов при ассоциированной протейной и стрептококковой инфекции // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2017. № 2. С. 38.
9. Sulakvelidze A., Alavidze Z., Morris J. G. Bacteriophage therapy // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001. Vol. 45. № 3. Pp. 649.
10. Фисинин В. И., Трухачев В. И., Салеева И. П. Микробиологические риски в промышленном птицеводстве и животноводстве // *Сельскохозяйственная биология*. 2018. № 6. С. 1120.
11. Results of practical application of phage preparation in poultry farming / M. M. Natidze, D. G. Goderdzishvili, T. M. Natidze, etc. // *Annals of agricultural science*. 2016. № 6. Pp. 7.
12. Makarova M. A., Matveeva Z. N., Kaftireva L. A. Modern laboratory diagnostics of escherichiosis // *Инфекция и иммунитет*. 2018. С. 529.
13. Кочиш И. И., Сидоренко Л. И., Щербатов В. И. Биология сельскохозяйственной птицы. М.: «КолосС», 2005. 203 с.
14. Jung L.S., Ding T., Ahn J. Evaluation of lytic bacteriophages for control of multidrug-resistant salmonella typhimurium // *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2016. № 1. Pp. 66.
15. НПЦ «МИКРОМИР» Перспективы использования бактериофагов в птицеводстве [Электронный ресурс] // Препарат «Фаговет». URL: file:///C:/Users/User/Downloads/Киселев%20А.%20Л.%20Перспективы%20использования%20бактериофагов%20в%20птицеводстве%20(3).pdf (дата обращения: 10.04.2019).
16. Егоров И., Белякова Л. Кормление и содержание перепелов // *Птицеводство*. № 4. 2009. С. 31–33.

The Use of Bacteriophage-Based Products for the Control of Microorganism Carriage in Quails

Ya. S. Tatarenko

K. I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, ul. Akademika Skryabina, 23, Moskva, 109472, Russian Federation

Abstract. The aim of this study was to determine the efficacy of a preparation containing various bacteriophages for controlling the dissemination of infections in the process of quail breeding. In experiments using the analog approach, three groups of clinically healthy broiler quails of the Scandinavian breed aged 45 days, 100 heads each, were formed. The animals were kept in cages on a dry complete feed. The *Fagovet Avi* drug was administered by the group method from vacuum drinkers at a dose of 3 ml per 7.4 l of water. The preparation was given to the birds in experimental group 1 one single time, while those in experimental group 2 received *Fagovet Avi* three times with an interval of 48 hours. Birds in the control group did not receive *Fagovet Avi*. The observations were being conducted for 7 days. Before processing, the average body weight of the quails was measured to be 382.4 g, 382.3 g and 382.7 g in the groups 1, 2 and control, respectively. The analysis with respect to pathogenic bacteria has revealed dominant species to be *Escherichia coli* (mostly in the muscular stomach and intestines), *Proteus mirabilis* (in the gut and liver), *Klebsiella pneumoniae* (in the lungs and muscular stomach), *Streptococcus gallinarum*. Prior to the administration of the preparation, the sanitary indicators of the poultry meat did not correspond to the norm in all the studied groups. Thus, the quantity of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms was up to 5.1×10^9 CFU/g, while that of the bacillus group reached 1.2×10^8 CFU/g. The triple administration of *Fagovet Avi* ensured both a reduced circulation of the infectious organisms and a reduced contamination of the quail meat: the quantity of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms was up to $(2.0 \pm 0.02) \times 10^2$ CFU/g, while that of the bacillus group was $(1.1 \pm 0.02) \times 10^2$ CFU/g. In addition, a decrease of 5.4 roubles per 1 head in terms of economic expenses was achieved in the experimental groups compared to the control group. At the end of the experiment, the body weight of the quails in the experimental groups was significantly higher than that in the control group: experimental 1 – 398.5 g, experimental 2 – 391.6 g, the control group – 384.5 g.

Keywords: quails, bacterial contamination, bacteriophage-based products, microorganism carriage control.

Author Details: Ya. S. Tatarenko applicant (e-mail: anka92-09@bk.ru).

For citation: Tatarenko Ya. S. The Use of Bacteriophage-Based Products for the Control of Microorganism Carriage in Quails. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2019. Vol. 33. No. 5. Pp. 59–61 (in Russ.). DOI: 10.24411/0235-2451-2019-10514.