



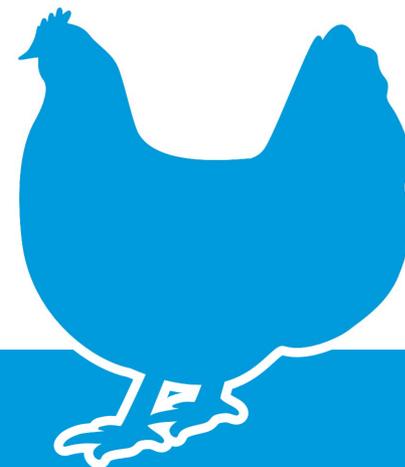
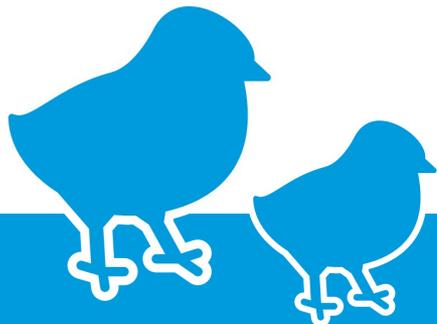
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

**ФГБУ «Всероссийский
государственный Центр качества
и стандартизации лекарственных
средств для животных и кормов»
(ФГБУ «ВГНКИ»).**

Консорциум штаммов пробиотических микроорганизмов для профилактики зооантропонозных инфекций: разработка и перспективы использования в птицеводстве

**Никонов Илья Николаевич,
ассистент кафедры кормления и
разведения животных, к.б.н.**

Лауреат Премии Правительства Российской
Федерации
в области науки и техники





Исследования выполнены в рамках Мегагранта

Правительства Российской Федерации

Тема проекта: «Создание средств профилактики социально-значимых инфекций продуктивных животных на основе современных методов нутригеномики»,

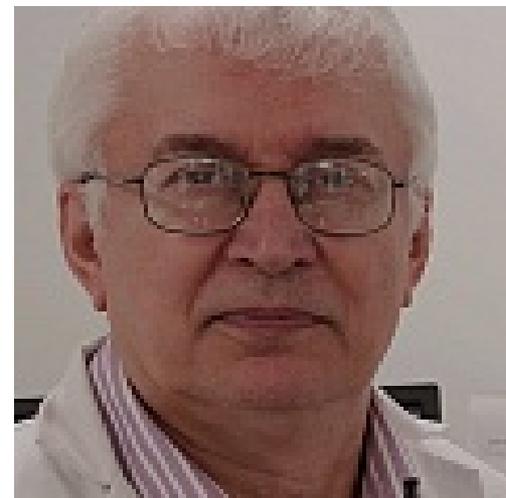
Соглашение № 075-15-2022-1124 от 01.07.2022

Цель проекта:

- **Цель научного исследования:** разработать средства профилактики социально-значимых инфекций продуктивных животных, включающие пробиотические микроорганизмы, с целевой антагонистической активностью к возбудителям пищевых зооантропонозных инфекций *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica* var. Enteritidis, *Escherichia coli*.

Ведущий ученый

- **Карлышев Андрей Владимирович**



- **Kingston University, профессор**

Редактор • Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, Elsevier • Advances in Life Sciences; Scientific & Academic Publishing, USA • ISRN Genomics, Hindawi Publishing Corporation, USA • Molecular Genetics, Microbiology and Virology, Springer • Bacteriology, Russia • Antibiotics, MDPI, Switzerland **Рецензент научных статей** • BioTechniques • Trends in Biochemical Sciences • Microbiology • Journal of Infection • FEMS Microbiology Letters • Molecular Microbiology • Proceeding of the National Academy of Sciences, USA • Microbial Genomics **Рецензент заявок на гранты** • The Wellcome Trust (UK) • BBSRC (UK) • MRC (UK) • Research Council of The Republic of South Africa • Research Council of The Republic of Ireland • Research Council of Norway • Research Council of The Netherlands

Международная лаборатория создания средств профилактики социально-значимых инфекций продуктивных животных на базе ФГБУ «ВГНКИ»

Соисполнители:

- 1. ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И. Скрябина.**
- 2. ОАО «Институт инженерной иммунологии».**
- 3. Alltech Ltd.**

Наше преимущество

- **«ВГНКИ» имеет лицензию на работу с патогенными микроорганизмами третьей группы.**
- Созданной лаборатории выделены помещения вивария научно-производственной базы «Манихино» ФГБУ «ВГНКИ» для индивидуального и группового содержания подопытных и контрольных животных и птиц. Общая площадь лаборатории с виварием составит 325 кв.м.







АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ – ГЛОБАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА XXI ВЕКА

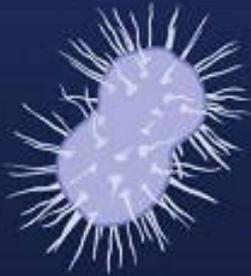
- Проблема антибиотикорезистентности (АБР) - одна из самых актуальных в глобальном масштабе.
- Каждый десятый человек в мире умирает от бактериальных болезней, занимающих три пункта в списке 10 ведущих причин смертности в мире.
- Глобальную ежегодную смертность от самых распространенных лекарственно-устойчивых штаммов инфекций оценивают не менее чем в 700 000 человек.
- Мировая ежегодная смертность из-за антибиотикорезистентности достигнет к 2050 году 10 миллионов человек.

(по материалам доклада Щепеткиной С.В., Белгород, 10.04.2018 г.)

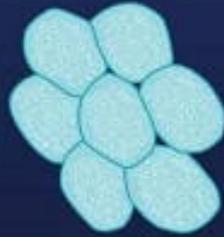
ЧЕМ ОПАСНА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ДЛЯ ЛЮДЕЙ?

- Даже микродозы антибиотиков, поступающие в организм человека, приводят к развитию антибиотикорезистентности микроорганизмов, обитающих в организме.
- Возникает перекрестная резистентность микроорганизмов, организм защищает свою микрофлору, делая ее устойчивой к попадающим извне антибиотикам, в том числе остаточными количествами в продуктах питания.
- Наличие в организме устойчивой микрофлоры приводит к неэффективности лечения любых инфекций, а следовательно, огромным затратам как в масштабе семьи, так и в масштабе государства.
- Болезни, вызванные антибиотикорезистентными микроорганизмами, характеризует более тяжелое и длительное течение, затраты на лечение — огромны.
- **Группы риска — дети и пожилые люди.**
- В настоящее время постоянно обнаруживаются резистентные бактерии к новейшим препаратам.

10 наиболее опасных бактерий резистентных к антибиотикам



NEISSERIA



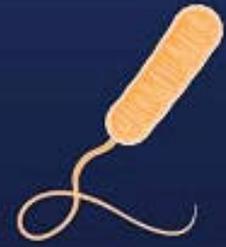
ACINETOBACTER



STAPHYLOCOCCUS



BURKHOLDERIA



PSEUDOMONAS



CLOSTRIDIUM



ESCHERICHIA
COLI (E.COLI)



MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS



KLEBSIELLA



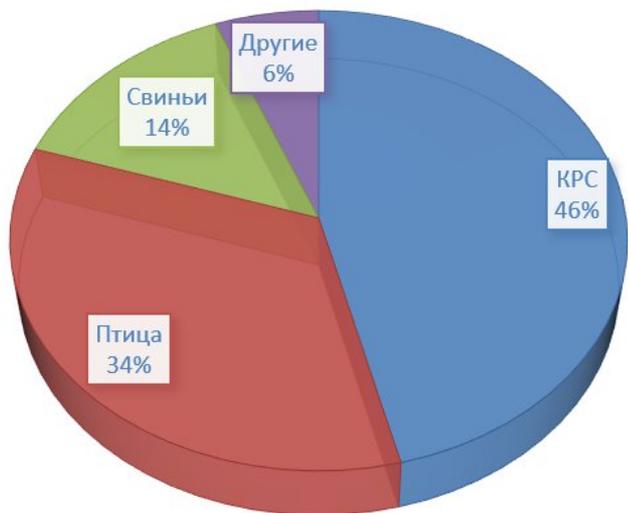
STREPTOCOCCUS

Антибиотикорезистентность в России 2019

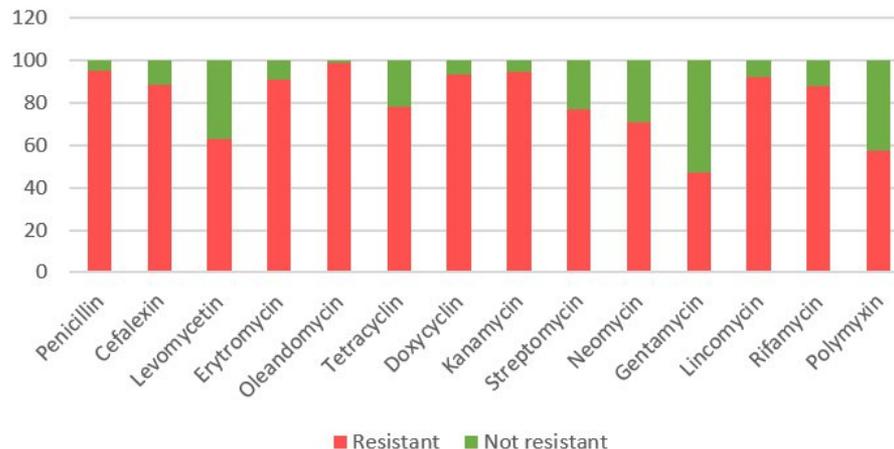
УДК 619:616.981.48:615.779.9

РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕРРИТОРИАЛЬНОГО МОНИТОРИНГА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ Н.Ю.ПАРАМОНОВА, С.В. ФИРИЧЕНКОВА

% Обнаружения *E. coli* в 275 изолятах



Восприимчивость 275 изолятов *E. coli*

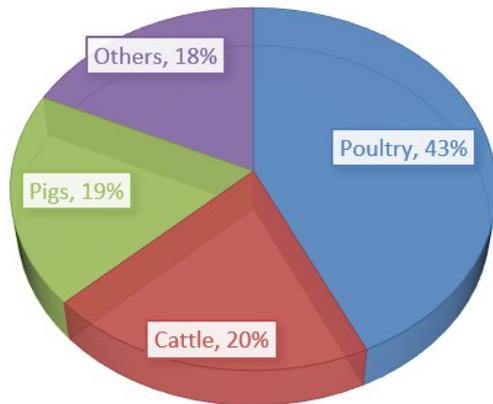


Антибиотикорезистентность в России 2019

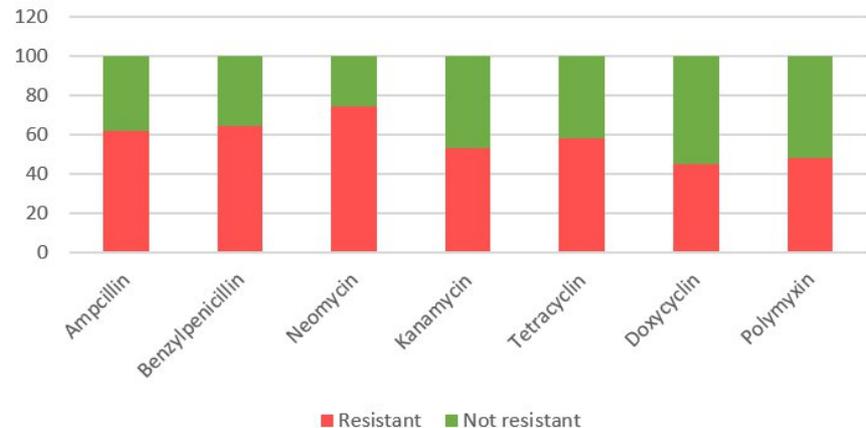
Изучение антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных от животных и из пищевых продуктов животного происхождения на территории Российской Федерации

Виткова О.Н., Белоусов В.И.
ФГБУ "Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория", г. Москва
Иванова О.Е. Федеральная служба
по ветеринарному и фитосанитарному надзору Российской Федерации, г. Москва
Базарбаев С.Б. ФГБОУ ВПО "Московская государственная
академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина", г. Москва

% Обнаружения Salmonella в 1895 изолятах, %



Восприимчивость 1895 изолятов Salmonella



Задача: снизить и защищать постоянную резистентность бактерий к антибиотикам в будущем

***Состояние микробиома птицы –
ключ к получению
высококачественной продукции
птицеводства.***

Факторы, влияющие на изменение микробиоценозов

- - чрезмерное применение дезинфицирующих средств;
- - бактериальная обсемененность кормов;
- - смена рационов;
- - применение кормовых антибиотиков;
- - вакцинации;
- - стрессы.

Сравнительная характеристика кормовых добавок, альтернативных антибиотикам.

Кормовые добавки	Механизм действия
Кормовые ферменты	Повышение переваримости компонентов корма перераспределение питательных веществ в пользу организма-хозяина, снижение риска заболеваний.
Пробиотики	Адсорбция на кишечном эпителии, синтез органических кислот – вытеснение патогенной микрофлоры.
Пребиотики	Создание благоприятных условий для действия пробиотиков. Связывание патогенов и выведение их из пищеварительного тракта.
Подкислители	Влияние на рН корма, влияние на рН в кишечнике, подавление патогенов.
Фитобиотики	Уничтожение части кишечных микроорганизмов – перераспределение питательных веществ в пользу организма-хозяина, снижение риска заболеваний.

Критерии выбора пробиотиков

- Соответствие природе животных (молочнокислые бактерии, бифидо бактерии, сенная палочка (*Bacillus subtilis*), *Bacillus licheniformis*, энтерококки).
- Высокий уровень концентрации полезной микрофлоры – не менее 10^8 КОЕ/г.
- Прохождение через кислотный барьер желудка (защита от инактивации кислотами желудка)
- Формирование устойчивого ценоза на поверхности кишечника.
- Доминантность по отношению к патогенной флоре.
- Пролонгированный период действия.

Актуальность проекта

- Стремительный рост инфекционной заболеваемости и смертности предполагает выход на новый уровень профилактических мер, направленных на снижение распространения социально значимых антибиотикорезистентных зооантропонозных инфекций (*C. jejuni*, *S. enterica* var. *Enteritidis*, *E. coli*), передающихся человеку через продукты животноводства.
- Кишечные инфекционные заболевания (зооантропонозы) - основная причина гибели молодняка в птицеводческих и свиноводческих хозяйствах.

Актуальность проекта

- Обсеменённость животных на производственных фабриках и продукции животноводства, реализуемой в торговых сетях, антибиотикорезистентными штаммами *C. jejuni*, *S. enterica* var. *Enteritidis*, *E. coli* остаётся очень высокой.
- Отсутствие эффективности у многочисленных пробиотических препаратов и пробиотических кормовых добавок в отношении *C. jejuni*, *S. enterica* var. *Enteritidis*, *E. coli* обусловлено тем, что эти препараты и кормовые добавки создаются без учёта особенностей патогенеза пищевых зооантропонозных инфекций и без учёта штаммоспецифических способностей пробиотика проявлять *in vivo* синергизм вместе с кишечной микробиотой в формировании колонизационной резистентности кишечника животного в отношении *C. jejuni*, *S. enterica* var. *Enteritidis*, *E. coli*.

Актуальность проекта

- Выделенные у бройлеров патогенные полирезистентные штаммы *E. coli*, принадлежащие к клону ST 131, имеют генетическое сходство и общность генов вирулентности с изолятами *E. coli*, циркулирующими в кишечнике у человека и вызывающими внекишечные инфекционные заболевания (цистит, пиелонефрит, менингит, сепсис).

Антагонистическая активность штамма *L.rhamnosus* ПЕ-2166 по отношению к антибиотикорезистентным штаммам *E. coli*, продуцирующим бета-лактамазы расширенного спектра и вызывающим кишечные и внекишечные инфекционные заболевания.

Тест-культура, штамм	Зона подавления роста тест-культуры, мм	Примечания
Escherichia coli ATCC BAA 198	24 ± 2	Молекулярный класс БЛРС* TEM-26
Escherichia coli ATCC BAA 204	23 ± 1	Молекулярный класс SHV-2
Escherichia coli ATCC BAA 2326	24 ± 2	Молекулярный класс CTX-M-15
Escherichia coli ПЕ Hu 4326	23 ± 2	КИ**- выделен из мочи больной циститом. Молекулярный класс SHV
Escherichia coli ПЕ Hu 4435	24 ± 1	КИ- выделен из мочи больной пиелонефритом. Молекулярный класс TEM
Escherichia coli ПЕ Hu 4518	24 ± 3	КИ- выделен из крови больного сепсисом. Молекулярный класс CTX-M
Escherichia coli ПЕ Br 5137	23 ± 2	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс MEM.
Escherichia coli ПЕ Br 5164	24 ± 3	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс SHV.
Escherichia coli ПЕ Br 5210	25 ± 3	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс CTX-M.
Escherichia coli ПЕ Br 5372	24 ± 3	Штамм выделен из тушки бройлера, супермаркет. Молекулярный класс CTX-M.
Escherichia coli ПЕ Pi 5548	23 ± 2	Штамм выделен из кишечника поросенка. Молекулярный класс CTX-M.
Escherichia coli ПЕ Co 5622	24 ± 3	Штамм выделен из вымени коровы, больной маститом. Молекулярный класс CTX-M

Антагонистическая активность штамма *L. plantarum* ПЕ-2165 по отношению к антибиотикорезистентным штаммам *E. coli*, продуцирующим БЛРС и вызывающим внекишечные инфекционные заболевания.

Тест-культура, штамм	Зона подавления роста тест-культуры, мм	Примечания
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 198	23 ± 2	Молекулярный класс БЛРС* ТЕМ-26
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 204	23 ± 1	Молекулярный класс SHV-2
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 2326	24 ± 2	Молекулярный класс СТХ-М-15
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Hu 4326	23 ± 2	КИ** - выделен из мочи больной циститом. Молекулярный класс SHV
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Hu 4435	24 ± 1	КИ- выделен из мочи больной пиелонефритом. Молекулярный класс ТЕМ
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Hu 4518	24 ± 3	КИ- выделен из крови больного сепсисом. Молекулярный класс СТХ-М
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Br 5137	25 ± 2	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс МЕМ.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Br 5164	23 ± 2	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс SHV.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Br 5210	26 ± 2	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс СТХ-М.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Br 5372	25 ± 3	Штамм выделен из тушки бройлера, супермаркет. Молекулярный класс СТХ-М.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Pi 5548	24 ± 2	Штамм выделен из кишечника поросенка. Молекулярный класс СТХ-М.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Co 5622	25 ± 3	Штамм выделен из вымени коровы, больной маститом. Молекулярный класс СТХ-М

Антагонистическая активность штамма *B. subtilis* ПЕ- 6035 по отношению к антибиотикорезистентным штаммам *E. coli*, продуцирующим БЛРС и вызывающим внекишечные инфекционные заболевания.

Тест-культура, штамм	Зона подавления роста тест-культуры, мм	Примечания
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 198	14 ± 3	Молекулярный класс БЛРС* TEM-26
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 204	12 ± 1	Молекулярный класс SHV-2
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 2326	13 ± 2	Молекулярный класс CTX-M-15
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Hu 4326	13 ± 1	КИ**- выделен из мочи больной циститом. Молекулярный класс SHV
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Hu 4435	15 ± 3	КИ- выделен из мочи больной пиелонефритом. Молекулярный класс TEM
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Hu 4518	16 ± 4	КИ- выделен из крови больного сепсисом. Молекулярный класс CTX-M
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Br 5137	13 ± 1	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс MEM.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Br 5164	14 ± 2	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс SHV.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Br 5210	15 ± 4	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс CTX-M.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Br 5372	13 ± 2	Штамм выделен из тушки бройлера, супермаркет. Молекулярный класс CTX-M.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Pi 5548	15 ± 3	Штамм выделен из кишечника поросенка. Молекулярный класс CTX-M.
<i>Escherichia coli</i> ПЕ Co 5622	14 ± 2	Штамм выделен из вымени коровы, больной маститом. Молекулярный класс CTX-M

Антагонистическая активность штамма *Saccharomyces cerevisiae* ПЕ-7142 по отношению к антибиотикорезистентным штаммам *E. coli*, продуцирующим БЛРС и вызывающим внекишечные инфекционные заболевания.

Тест-культура, штамм	Зона подавления роста тест-культуры, мм	Примечания
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 198	8 ± 1	Молекулярный класс БЛРС* ТЕМ-26
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 204	9 ± 1	Молекулярный класс SHV-2
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 2326	8 ± 2	Молекулярный класс СТХ-М-15
<i>Escherichia coli</i> IIE Hu 4326	7 ± 2	КИ** - выделен из мочи больной циститом. Молекулярный класс SHV
<i>Escherichia coli</i> IIE Hu 4435	8 ± 1	КИ- выделен из мочи больной пиелонефритом. Молекулярный класс ТЕМ
<i>Escherichia coli</i> IIE Hu 4518	8 ± 2	КИ- выделен из крови больного сепсисом. Молекулярный класс СТХ-М
<i>Escherichia coli</i> IIE Br 5137	7 ± 2	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс МЕМ.
<i>Escherichia coli</i> IIE Br 5164	9 ± 1	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс SHV.
<i>Escherichia coli</i> IIE Br 5210	7 ± 2	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс СТХ-М.
<i>Escherichia coli</i> IIE Br 5372	6 ± 3	Штамм выделен из тушки бройлера, супермаркет. Молекулярный класс СТХ-М.
<i>Escherichia coli</i> IIE Pi 5548	8 ± 1	Штамм выделен из кишечника поросенка. Молекулярный класс СТХ-М.
<i>Escherichia coli</i> IIE Co 5622	6 ± 2	Штамм выделен из вымени коровы, больной маститом. Молекулярный класс СТХ-М

Антагонистическая активность испытуемого штамма *L. rhamnosus* ПЕ 2166 в отношении индикаторного штамма *L. plantarum* ПЕ 2165.

Испытуемый штамм	Зоны задержки роста индикаторного штамма, мм
	<i>L. plantarum</i> ПЕ 2165
<i>L. rhamnosus</i> ПЕ 2166	1.2 ± 0.3

Антагонистическая активность испытуемого штамма *L. plantarum* ПЕ 2165 в отношении индикаторного штамма *L. rhamnosus* ПЕ 2166.

Испытуемый штамм	Зоны задержки роста индикаторного штамма, мм
	<i>L. rhamnosus</i> ПЕ 2166
<i>L. plantarum</i> ПЕ 2165	1.4 ± 0.3

Антагонистическая активность симбиотического консорциума штаммов *L. rhamnosus* IIE-2166 и *L. plantarum* IIE-2165 по отношению к антибиотикорезистентным штаммам *E. coli*, продуцирующим БЛРС и вызывающим кишечные и внекишечные инфекционные заболевания.

Тест-культура, штамм	Зона подавления роста тест-культуры, мм	Примечания
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 198	35 ± 4	Молекулярный класс БЛРС* TEM-26
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 204	36 ± 5	Молекулярный класс SHV-2
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA 2326	34 ± 3	Молекулярный класс CTX-M-15
<i>Escherichia coli</i> IIE Hu 4326	36 ± 4	КИ** - выделен из мочи больной циститом. Молекулярный класс SHV
<i>Escherichia coli</i> IIE Hu 4435	35 ± 3	КИ- выделен из мочи больной пиелонефритом. Молекулярный класс TEM
<i>Escherichia coli</i> IIE Hu 4518	37 ± 5	КИ- выделен из крови больного сепсисом. Молекулярный класс CTX-M
<i>Escherichia coli</i> IIE Br 5137	36 ± 3	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс MEM.
<i>Escherichia coli</i> IIE Br 5164	34 ± 3	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс SHV.
<i>Escherichia coli</i> IIE Br 5210	36 ± 5	Штамм выделен из кишечника бройлера. Молекулярный класс CTX-M.
<i>Escherichia coli</i> IIE Br 5372	37 ± 4	Штамм выделен из тушки бройлера, супермаркет. Молекулярный класс CTX-M.
<i>Escherichia coli</i> IIE Pi 5548	35 ± 3	Штамм выделен из кишечника поросенка. Молекулярный класс CTX-M.
<i>Escherichia coli</i> IIE Co 5622	36 ± 4	Штамм выделен из вымени коровы, больной

- В результате проведенных исследований установлено, что симбиотический консорциум штаммов *L. rhamnosus* ПЕ-2166 и *L. plantarum* ПЕ-2165 обладает более выраженной антагонистической активностью против патогенных антибиотикорезистентных штаммов *E. coli* , включая глобально распространённые штаммы клона ST131, содержащие Бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), вызывающие кишечные и внекишечные заболевания у животных и человека, по сравнению с отдельными штаммами лактобацилл, входящими в состав этого консорциума.

Схема опыта на цыплятах-бройлерах.

№ группы	Особенности кормления птицы
1 - контроль	Кормление: основной рацион
2 - опыт	Кормление: основной рацион + Симбиотический консорциум для профилактики патогенных <i>E.coli</i> в дозе 10^4 КОЕ в 1 г корма
3- опыт	Кормление: основной рацион + Симбиотический консорциум для профилактики патогенных <i>E.coli</i> в дозе 10^5 КОЕ в 1 г корма
4 - опыт	Кормление: основной рацион + Симбиотический консорциум для профилактики патогенных <i>E.coli</i> в дозе 10^6 КОЕ в 1 г корма

Результаты контрольных взвешиваний подопытных цыплят-бройлеров

Период выращивания	1-я (контроль) группа, г/гол	2-я опытная группа, г/гол	3-я опытная группа, г/гол	4-я опытная группа, г/гол
1 (1-7 дн.)	198,6 ±3,53	197,8 ±3,57	194,2 ±2,69	197,4 ±2,91
2 (15-21 дн.)	933,4 ±16,56	930,2 ±13,06	935,7 ±14,15	943,3 ±17,91
3 (29-35 дн.)	2057,5 ±13,96	2083,5 ±11,46	2078,7 ±11,54	2103,2 ±11,31

Расход корма на 1 кг прироста живой массы цыплят-бройлеров

<i>Показатели</i>	<i>Группы</i>			
	1	2	3	4
Расход корма на 1 кг прироста за весь период выращивания, кг в % к контролю	3,29	3,29	3,23	3,25
	100	100,0	98,2	98,8
Конверсия корма, в % к контролю	-	99,4	97,5	96,3

Заключение

В ходе проведенных работ были получены следующие результаты:

1. Подобраны перспективные штаммы молочнокислых бактерий (*L. ramosus*, *L. plantarum*) для создания пробиотического консорциума.
2. Штаммы бактерий были протестированы на антагонистическую активность к антибиотикорезистентным штаммам *E.coli*, в т.ч., выделенным из организма сельскохозяйственной птицы.
3. Разработанный пробиотический консорциум был протестирован на цыплятах-бройлерах. Была установлена оптимальная норма ввода пробиотического консорциума.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПРОВОДИМЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА БАЗЕ ЛАБОРАТОРИИ

- Результаты научных исследований могут быть применены в селекционно-генетических центрах и в птицеводствах страны.
- Результаты могут применяться в разработке уникальных биопрепаратов (пробиотиков), способствующих снижению доли антибиотиков в рационах питания.
- Результаты научных исследований будут способствовать повышению продуктивности птицы и улучшению конверсии корма.
- Результаты позволят создать заделы для профилактики ряда заболеваний бактериальной природы, в том числе социально-значимых (прежде всего, сальмонеллёза, микоплазмоза).

Спасибо за внимание!



ilnikonov@yandex.ru



+7-905-213-69-60