

## Влияние антибиотика и фитобиотика на состояние здоровья, продуктивность кур-несушек и качество яйца

А. С. Кривоногова<sup>1</sup>, А. Г. Исаева<sup>1</sup>✉, И. М. Донник<sup>1</sup>, Е. А. Логинов<sup>1</sup>, К. В. Моисеева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

✉E-mail: isaeva.05@bk.ru

**Аннотация.** Изучение возможностей применения фитобиотиков является одним из актуальных направлений в стратегии сдерживания антимикробной резистентности. **Целью** данной работы было изучение эффектов от отдельного и сочетанного использования энрофлоксацина и фитобиотического препарата у кур-несушек 400-дневного возраста. **Методы.** Исследования проводили на четырех группах несушек Ломан-классик, в ходе эксперимента в рацион вводили энрофлоксацин и фитобиотик на основе облепихового жмыха и масел горчицы, кедрового ореха и облепихи. **Результаты.** Было установлено, что применение препаратов не оказывало существенного влияния на состав микрофлоры и уровень антибиотикорезистентности бактерий желудочно-кишечного тракта у кур, так как к 400-дневному возрасту кишечные микробиомы несушек были уже сформированы, стабильны и контаминированы агентами АМР. Сочетанное применение энрофлоксацина и фитобиотика наилучшим образом сказывалось на биохимических показателях обмена веществ, проявляло ингибирующее действие на патогенную микрофлору и вместе с тем имело мембраностабилизирующий и антиоксидантный эффекты. Также при сочетании антибиотика и фитобиотика отмечали увеличение показателей яйценоскости, средней массы яйца, ускорение выведения энрофлоксацина из организма несушек и снижение его содержания в яйце до предела обнаружения, в то время как в группе несушек, получавших только энрофлоксацин, его остаточное содержание в яйце обнаруживалось через 2 недели после прекращения его введения. Таким образом, в ходе проведенных исследований наиболее оптимальным было сочетанное применение энрофлоксацина с фитобиотическим препаратом, оказавшее наиболее заметное положительное влияние на показатели метаболизма, продуктивности и качества яйца. **Новизна** работы заключается в получении данных о влиянии фитобиотического препарата на ряд показателей здоровья, продуктивности кур-несушек и качества яйца и в подборе перспективной схемы его применения. **Ключевые слова:** фитобиотик, продуктивность, несушки, яйцо, гены резистентности, антибиотикочувствительность, энрофлоксацин, E. coli, условно-патогенная микрофлора.

**Для цитирования:** Кривоногова А. С., Исаева А. Г., Донник И. М., Логинов Е. А., Моисеева К. В. Влияние антибиотика и фитобиотика на состояние здоровья, продуктивность кур-несушек и качество яйца // Аграрный вестник Урала. 2023. № 05 (234). С. 61–71. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-234-05-61-71.

**Дата поступления статьи:** 08.11.2022, **дата рецензирования:** 08.12.2022, **дата принятия:** 13.12.2022.

### Постановка проблемы (Introduction)

В научной литературе появляются новые и новые данные о попытках использования фитобиотиков в промышленном животноводстве и птицеводстве в качестве замены стимуляторами профилактическим антибиотикам [1, с. 14; 2, с. 435; 3, с. 96–97; 4, с. 37–38]. Результаты многочисленных исследований показывают, что нормализация микробиомов пищеварительного тракта приводит к восстановлению нарушенных метаболических, иммунных функций организма животных и человека, а применение фитобиотических добавок в отличие от антибиотиков позволяет достичь этой цели без

угнетения полезной симбиотической микрофлоры [3, с. 106; 5, с. 244; 18, с. 210].

Микробиом желудочно-кишечного тракта продуктивной птицы может включать несколько сотен различных штаммов бактерий, которые участвуют в поддержании здоровья кишечника при сохранении продуктивности и роста [6, с. 112; 7, с. 72]. Общее воздействие фитобиотиков на организм сельскохозяйственной птицы связано не только с антимикробным эффектом, но и с их положительным влиянием на состав микробиома, процессы пищеварения, морфофункциональные характеристики слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта [8, с. 690; 3, с. 106; 4, с. 39]. Введение фитобио-

тиков в рацион кур мясных кроссов способствует стимуляции их роста и увеличению биологической ценности, получаемой от них продукции [9, с. 74].

Исследования, проведенные В. Г. Вертипраховым и соавторами на мясных курах, показали, что использование фитобиотика, содержащего эфирные масла чабреца, эвкалипта, лимона, чеснока в сочетании с пробиотиком на основе культур *Bacillus* оказывало положительное влияние на переваримость протеина и жира, повышение биодоступности аминокислот, улучшение качества скорлупы яйца и нормализацию метаболических и иммунологических показателей. При этом авторы отмечали, что на среднюю массу яйца использованные добавки значимого влияния не оказали [10, с. 10].

По данным Е. Р. Нуралиева и И. И. Кочиша, применение ферментативного фитобиотика на основе эфирных масел курам-несушкам помимо бактерицидного действия также способствовало росту активности макрофагов кишечника, усилению синтеза интерферона и иммуноглобулинов, а также способствовало увеличению интенсивности роста птицы, улучшало выравненность стада к продуктивному периоду [11, с. 116].

У кур яичных кроссов использование фитобиотиков приводило к более раннему выходу птицы на пик продуктивности и более продолжительному удержанию высокого уровня интенсивности яйценоскости, к увеличению массы яйца, улучшению его качества, снижению выбраковки яиц с боем и насечкой, повышением сохранности поголовья кур [12, с. 35]. По данным Tzeng и соавторов, использование биологически активных метаболитов лекарственных растений оказывает влияние на кишечный микробиом, а также на метаболизм белков и липидов у кур-несушек, что косвенно может оказывать влияние на продуктивность, качество яйца и на продуктивное долголетие птицы [17, с. 1381].

P. Abad и соавторы, D. Kothari и соавторы указывают, что фитобиотические добавки на основе растительных метаболитов *Allium* способствовали улучшению яйценоскости, снижению концентрации нежелательных липидных соединений в плазме кур-несушек, улучшению химического состава и питательной ценности яиц [13, с. 1032; 14, с. 51]. При этом достижение положительных эффектов возможно в сравнительно короткий срок – в течение 4 недель у кур яичного кросса [15, с. 11].

#### **Методология и методы исследования (Methods)**

Исследования проводили на курах-несушках Ломан-классик 400 дневного возраста. Было сформировано 4 группы несушек по 120 голов в каждой, находившихся в одинаковых технологических условиях и получавших стандартный рацион промышленного производства. В эксперименте использовали два препарата: «Энрофлон» (10-процентный раствор энрофлоксацина) для перораль-

ного применения, дозировали из расчета 0,5 мл/л воды для поения в течение 7 дней; фитобиотический препарат, разработанный нами совместно с ФГБУН НИИСХ Крыма, имевший в составе жмых облепихи, клевер луговой, а также горчичное, облепиховое и кедровое масла. Фитобиотик добавляли в корм из расчета 10 г на голову в сутки в течение 14 дней. Несушки в группе I получали только «Энрофлон», в группе II – «Энрофлон» и фитобиотик, в группе III – только фитобиотик, группа IV – контрольная, получала только стандартный рацион без добавок. Перед началом опыта и после окончания введения препаратов отбирали смывы с клоаки кур для микробиологических исследований, пробы крови для биохимического, иммунологического и гематологического анализа. Повторное микробиологическое исследование выполняли на 40-е сутки. В течение всего экспериментального периода анализировали яйценоскость и среднюю массу яйца, проводили физико-химический анализ яиц, определяли толщину скорлупы и содержание в ней кальция и фосфора (ГОСТ 26570-95, п. 2.2, ГОСТ 26657-97, пп. 4.1–4.4), массовую долю витаминов А, D3 и Е в желтке методом ВЭЖХ. В группах I и II, получавших антибиотик, определяли остаточное содержание энрофлоксацина в яйце методом ВЭЖХ. Биохимические исследования плазмы крови выполняли на анализаторе ChemmWell 2910 (Combi) методами, рекомендованными IFCC; иммуногематологические исследования проводили по стандартным методикам с определением показателей красной и белой крови, лейкоформулы, фагоцитарной активности, осмотической резистентности эритроцитов, миелопероксидазы в лейкоцитах крови. Микробиологические исследования проводили в соответствии с МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам»; национальным стандартом ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010; Клиническими рекомендациями, утвержденными на Расширенном совещании Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (Москва, 15.05.2017 г.); Критериями для интерпретации категорий чувствительности по EUCAST: Clinical breakpoints – bacteria (v.10.0), по CLSI VET06.2017 1th edition. Идентификацию выросших колоний проводили методами классической микробиологии, а также методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на приборе Vitek MS (BioMerieux, Франция), масс-спектры рибосомальных белков сравнивали с базой данных с использованием программного обеспечения Myla. Чувствительность к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом и методом последовательных микроразведений (EUCAST и ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010), а также с использованием инструкций к тест-системам. Анализ генетических детерминант

резистентности выполняли методом ПЦР согласно инструкциям производителей тест-систем. Статистический анализ полученных данных проводили в программах MS Excel и Statistica 10,0 параметрическими и непараметрическими методами. При нормальном распределении использовали *t*-критерий Стьюдента, в остальных случаях при анализе независимых выборок *U*-критерий Манна – Уитни, при анализе зависимых выборок – *W*-критерий Вилкоксона.

### Результаты (Results)

Микробиологические исследования биоматериала, взятого до начала опыта с препаратами, показали, что в основном микрофлора кур-несушек была представлена *Escherichia coli*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus xylosum*, *Enterococcus faecium*, *Candida catenulata*, *Klebsiella oxytoca*. В единичных количествах выделяли *Corynebacterium amycolatum*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Aerococcus viridans*, *Psychrobacter phenylruvivicus*, *Penicillium spp.*, *Trichosporon asachii*, *Acinetobacter spp.* и *Aerococcus spp.*

Исследование смывов, взятых на 40-е сутки, показало увеличение видового разнообразия эн-

терококков (*E. faecalis*, *E. avium*, *E. casseliflavus*), стафилококков (*S. vitulinus*, *S. equorum*, *S. xylosum*, *S. aureus*) и коринебактерий (*C. freneyi*, *C. amycolatum*, *C. xerosis*, *C. coyleae*). Была выявлена тенденция к росту бактериальной обсемененности биоматериала за время проведения эксперимента: в контрольной группе IV она выросла в 3 раза (с  $9,78 \cdot 10^3$  КОЕ/обр. до  $2,96 \cdot 10^4$  КОЕ/обр.), в группе III, получавшей только фитобиотик, – в 2,3 раза с  $4,26 \cdot 10^3$  КОЕ/обр. до  $9,89 \cdot 10^3$  КОЕ/обр. При этом в группах, где птица получала энрофлоксацин, динамика данного показателя была более умеренной: обсемененность увеличилась в 1,3–1,4 раза. Суммарная микробная обсемененность образцов на 40-е сутки была максимальной в контрольной группе IV, минимальной – в группе I, получавшей только энрофлоксацин, и в группе III, получавшей только фитобиотик (разница с контролем в 3 раза). В группе II, получавшей энрофлоксацин совместно с фитобиотиком, суммарная средняя обсемененность биоматериала по всем выявленным условно-патогенным микроорганизмам была в 2,16 раза меньше, чем в контрольной группе, и в 1,4 раза выше, чем в группах I и III (таблица 1).

Таблица 1

Средняя бактериальная обсемененность смывов с клоаки кур стафилококками, энтерококками и кишечной палочкой до и после применения препаратов (КОЕ/образец)

Этап	Микроорганизм	Группа I (энрофлоксацин)	Группа II (энрофлоксацин + фитобиотик)	Группа III (фитобиотик)	Группа IV (контроль)	Среднее по всем группам
До опыта (1-е сутки)	<i>E. coli</i>	5 500	3 143	1 988	2 764	3 349
	<i>S. equorum</i>	720	2 690	950	5 500	2 465
	<i>S. xylosum</i>	570	4 407	825	1 002	1 701
	<i>S. aureus</i>	12	7	15	9	11
	<i>Candida spp.</i>	80	65	94	91	83
	<i>E. faecium</i>	123	316	387	411	309
	<i>K. oxytoca</i>	0	4	13	9	9
	Суммарная обсемененность по группе	7 005	10 632	4 272	9 786	–
После опыта (40-е сутки)	<i>E. coli</i>	6 307	3 850	3 672	12 643	6 618
	<i>S. equorum</i>	525	360	761	1 500	787
	<i>S. xylosum</i>	810	740	200	1 700	863
	<i>S. aureus</i>	12	8	19	47	22
	<i>S. vitulinus</i>	10	602	71	70	188
	<i>E. faecium</i>	166	2 216	1 074	2 962	1 605
	<i>E. avium</i>	805	0	1357	176	585
	<i>E. casseliflavus</i>	308	3 896	1 489	1 710	1 851
	<i>E. faecalis</i>	861	2 105	1 233	8 837	3 259
	<i>K. pneumoniae</i>	9	4	11	23	12
	Суммарная обсемененность по группе	9 813	13 781	9 887	29 668	–

Table 1  
Average bacterial infestation of chicken cloaca wipes with staphylococci, enterococci and *E. coli* before and after drug application (CFU/sample)

Stage	Microorganism	Group I (enrofloxacin)	Group II (enrofloxacin + phytobiotic)	Group III (phytobiotic)	Group IV (control)	Average for all groups
Before experiment (1 <sup>st</sup> day)	<i>E. coli</i>	5 500	3 143	1 988	2 764	3 349
	<i>S. equorum</i>	720	2 690	950	5 500	2 465
	<i>S. xylosus</i>	570	4 407	825	1 002	1 701
	<i>S. aureus</i>	12	7	15	9	11
	<i>Candida spp.</i>	80	65	94	91	83
	<i>E. faecium</i>	123	316	387	411	309
	<i>K. oxytoca</i>	0	4	13	9	9
	<b>Total contamination of the group</b>	7 005	10 632	4 272	9 786	–
After the experiment (40 <sup>th</sup> day)	<i>E. coli</i>	6 307	3 850	3 672	12 643	6 618
	<i>S. equorum</i>	525	360	761	1 500	787
	<i>S. xylosus</i>	810	740	200	1 700	863
	<i>S. aureus</i>	12	8	19	47	22
	<i>S. vitulinus</i>	10	602	71	70	188
	<i>E. faecium</i>	166	2 216	1 074	2 962	1 605
	<i>E. avium</i>	805	0	1357	176	585
	<i>E. casseliflavus</i>	308	3 896	1 489	1 710	1 851
	<i>E. faecalis</i>	861	2 105	1 233	8 837	3 259
	<i>K. pneumoniae</i>	9	4	11	23	12
	<b>Total contamination of the group</b>	9 813	13 781	9 887	29 668	–

Наибольший вклад в суммарную обсемененность образцов вносили изоляты кишечной палочки и стафилококков. Изменение среднего количества изолятов *E. coli* к концу эксперимента было неодинаковым во всех четырех группах. Так, в группе III в смывах с клоаки несушек в среднем выделяли  $3,67 \cdot 10^3$  КОЕ *E. coli* на образец, что было в 1,85 раза выше, чем аналогичный показатель от первых суток (рис. 1). Наибольшее увеличение установили в IV группе – в 4,6 раза. А в группах I и II, получавших антибиотик, рост средней обсемененности кишечной палочкой был выражен меньше – увеличение в 1,15 раза и 1,23 раза соответственно. Полученные результаты свидетельствовали об активности энрофлоксацина в отношении *E. coli*, что согласовывалось с заявленной производителем информацией. Аналогичная тенденция была установлена для изолятов *Staphylococcus spp.*

Исследовали чувствительность обнаруженных изолятов условно-патогенных бактерий к некоторым антибиотикам. Было установлено, что в биоматериале, взятом до введения препаратов в рацион кур, *Staphylococcus spp.* были чувствительны (S) к полусинтетическим пенициллинам, цефалоспори-

нам, карбапенемам, фторхинолонам, линкозамидам, гликопептидам. Однако был выявлен достаточно высокий уровень устойчивости стафилококков к аминогликозидам – 20,2 % изолятов *Staphylococcus spp.* в группе I, 16,7 % в группе II, 17,1 % в группе III, 18,5 % в группе IV (рис. 2). Частично это могло быть связано с наличием в биоматериале существенного количества *S. vitulinus* и *S. xylosus*, имеющих резистентность к аминогликозидам и фторхинолонам. При повторном исследовании биоматериала, взятого на 40-е сутки, отметили сохранение выявленного уровня резистентности *Staphylococcus spp.* к ципрофлоксацину, тобрамицину, гентамицину и амикацину. Существенным являлся тот факт, что соотношение чувствительных, слабо чувствительных и резистентных изолятов стафилококков в группах было сравнительно одинаковым, несмотря на применение антибиотиков в одних группах и их отсутствие в других.

При анализе антибиотикочувствительности изолятов *Enterococcus spp.*, выделенных из проб биоматериала на 1-е и 40-е сутки, обнаружили тенденцию к увеличению чувствительных к ванкомицину изолятов в группах II (на 7,5 %) и III (на 11,1 %).



Рис. 1. Средняя обсемененность *E. coli* биоматериала от несушек опытных и контрольной групп до и после эксперимента

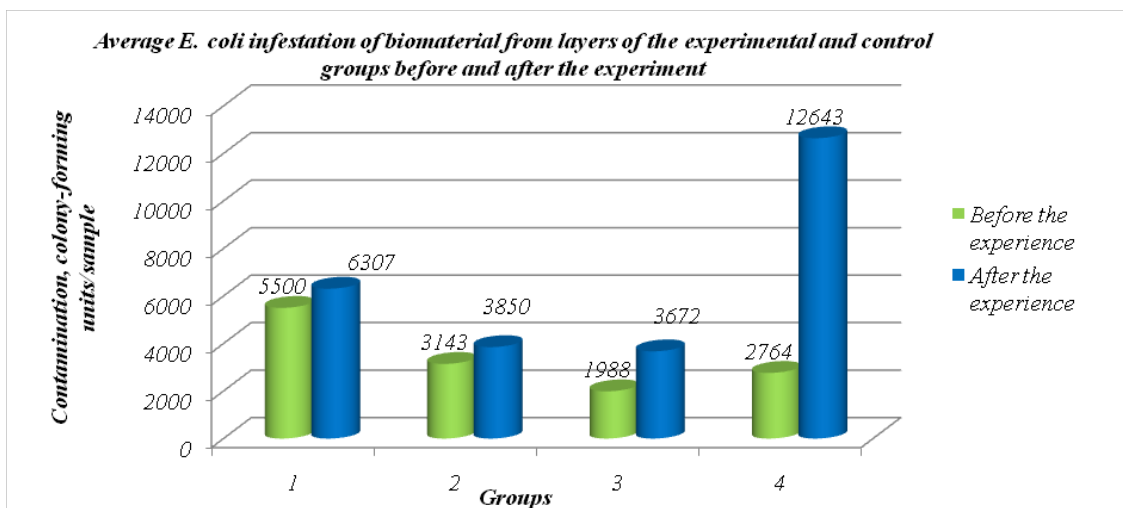


Fig. 1. Average *E. coli* infestation of biomaterial from layers of the experimental and control groups before and after the experiment



Рис. 2. Чувствительность изолятов *Staphylococcus spp.* к антибиотикам в опытных и контрольной группах до и после введения препаратов

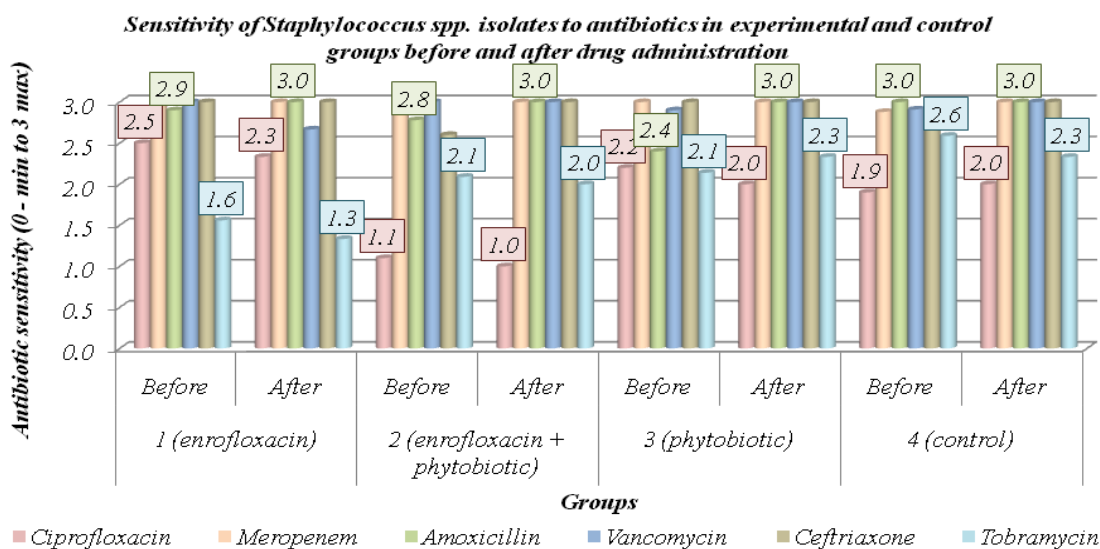


Fig. 2. Sensitivity of *Staphylococcus* spp. isolates to antibiotics in the experimental and control groups before and after drug administration

Изоляты *E. coli*, первоначально обнаруженные во всех четырех группах, характеризовались низкой чувствительностью (I) к амоксициллину: средний профиль по группам находился в диапазоне от 1,0 до 2,0 по шкале от 0 (min, R) до 3 (max, S), а также резистентностью к ампициллину, ципрофлоксацину и цефепиму. Изоляты *E. coli*, выделенные из биоматериала на 40-е сутки, также были резистентны к ампициллину – 96,7 % в группе IV и 90,3 % в группе II. Изоляты *K. pneumoniae* были чувствительны (S) к ципрофлоксацину, энрофлоксацину и меропенему, но устойчивы (R) к цефепиму (при МПК 4,0 мг/л) и ампициллину (МПК 16,0 мг/л).

Часть выявленных в биоматериале изолятов *E. coli* и *K. pneumoniae* исследовали на наличие генов, ассоциированных с продукцией бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС или ESBL). Было установлено, что выявленные во II, III и IV группах изоляты *E. coli* были контаминированы генами CTX-M+, связанными с семейством цефотаксимаз, гидролизующих β-лактамное кольцо и обуславливающих устойчивость бактерий ко всем пенициллинам и цефалоспорином I–IV поколений, азтреонаму. У изолятов *E. coli*, выделенных из I и IV групп, обнаружили гены бета-лактамаз расширенного спектра типа TEM, а у изолятов *K. pneumoniae* из группы IV – т-ипа SHV. При этом гены резистентности выявляли в культурах из биоматериала, отобранного как на 1-е, так и на 40-е сутки, что свидетельствовало об изначальной контаминации микробиома птицы генетическими детерминантами резистентности и их сохранении на протяжении опытного периода.

Исследование биохимического и иммунологического статуса несушек показало, что наиболее оптимальной схемой было совместное применение энрофлоксацина и фитобиотика (группа III). Установили, что в этом случае у несушек происходило заметное угнетение условно-пато-

генной микрофлоры пищеварительного тракта, вследствие чего уменьшалась антигенная нагрузка на организм. И хотя применение энрофлоксацина вызывало функциональные изменения иммунной системы, действие фитобиотика нивелировало их за счет нормализации процессов тканевого и клеточного дыхания. Также отмечали мембраностабилизирующий эффект фитобиотического препарата. В группе I, где птица получала только энрофлоксацин, были обнаружены иммунологические признаки снижения гуморального иммунитета. В группе III, получавшей только фитобиотик, бактериостатический эффект был выражен слабее, чем в группах, получавших энрофлоксацин. При этом отмечали биохимические маркеры дефицита холекальциферола, свидетельствующие о недостаточности его всасывания в кишечнике. Результаты исследования крови несушек контрольной IV группы свидетельствовали о росте антигенной нагрузки в течение экспериментального периода, что предположительно было следствием увеличения активности кишечной микрофлоры.

На протяжении опытного периода анализировали динамику яйценоскости несушек в группах (таблица 2). Среднее значение показателя за весь экспериментальный период – 0,94, при этом максимальным оно было в группе II, получавшей одновременно антибиотик и фитобиотик (0,99), а минимальным – в группе I, где несушки получали только препарат «Энрофлон» (0,89) (таблица 2).

Динамика яйценоскости на несушку в течение опытного периода в группах была разнонаправленной. Так, в первой группе, получавшей только энрофлоксацин, и третьей группе, получавшей только фитобиотик, отмечали снижение среднего значения на 3,6 % и 2,2 % соответственно. В группе II, получавшей антибиотик и фитобиотик, и в контрольной группе IV, напротив, отмечали рост среднего значения яйценоскости на 12,3 % и 11,6 % соответственно.

Таблица 2  
Яйценоскость на несушку в опытных и контрольной группах по неделям и за весь экспериментальный период

Период	Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV
	Энрофлоксацин	Энрофлоксацин + фитобиотик	Фитобиотик	Контроль
1-я неделя	0,83	0,91	0,91	0,86
2-я неделя	1,03	1,09	1,03	0,96
3-я неделя	0,89	0,74	0,86	0,79
4-я неделя	0,89	1,09	0,89	1,04
5-я неделя	0,80	1,11	0,89	0,96
Среднее (за весь период)	0,89	0,99	0,91	0,96

Table 2  
Egg laying rate per laying hen in the experimental and control groups by week and for the whole experimental period

Period	Group I	Group II	Group III	Group IV
	Enrofloxacin	Enrofloxacin + phytobiotic	Phytobiotic	Control
1 <sup>st</sup> week	0.83	0.91	0.91	0.86
2 <sup>nd</sup> week	1.03	1.09	1.03	0.96
3 <sup>rd</sup> week	0.89	0.74	0.86	0.79
4 <sup>th</sup> week	0.89	1.09	0.89	1.04
5 <sup>th</sup> week	0.80	1.11	0.89	0.96
Average value (the whole period)	0.89	0.99	0.91	0.96

Таблица 3  
Динамика средней массы яйца в опытных (I, II, III) и контрольной (IV) группах по неделям

Период	Средняя масса яйца (г)			
	Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV
1-я неделя*	65,8	65,5	64,7	66,0
2-я неделя	64,9	64,4	65,2	65,4
3-я неделя	65,9	67,5	63,4	63,4
4-я неделя	66,0	65,5	61,8	64,8
5-я неделя	65,8	65,9	64,7	63,4
Среднее значение	65,6	65,7	64,0	64,6

\*Начальное среднее значение показателя групп до опыта – 65,5 г.

Table 3  
Dynamics of average egg weight in the experimental (I, II, III) and control (IV) groups by week

Period	Average egg's mass (g)			
	Group I	Group II	Group III	Group IV
1 <sup>st</sup> week*	65.8	65.5	64.7	66.0
2 <sup>nd</sup> week	64.9	64.4	65.2	65.4
3 <sup>rd</sup> week	65.9	67.5	63.4	63.4
4 <sup>th</sup> week	66.0	65.5	61.8	64.8
5 <sup>th</sup> week	65.8	65.9	64.7	63.4
Average value	65.6	65.7	64.0	64.6

\*The average value before the experiment – 65.5 g.

Анализ средней массы яиц в группах в течение опытного периода показал большую однородность значений в группах I и II, получавших антибиотик, по сравнению с группами III и IV, при этом значения в I и II группах были выше, чем средний показатель по всему поголовью (таблица 3). Распределение средней массы яйца в порядке убывания было следующим: группа II (65,7 г), группа I (65,6 г), группа IV контрольная (64,6 г), группа III (64,0 г). Среднее значение до начала опыта составляло 65,5 г.

Динамика на протяжении опытного периода была наиболее заметной в контрольной группе – средняя масса яйца уменьшилась к концу опыта на 3,94 % по сравнению с показателем в начале. В других группах изменения были слабо выражены: так, выявили тенденцию к незначительному приросту средней массы яйца в группе II на 0,31 % и группе III на 1,1 %, несушки обеих этих групп получали в рациионе фитобиотическую добавку.

Таблица 4  
Среднее значение массовой доли ретинола ацетата, токоферола и холекальциферола в желтке яиц до опыта и после

Этап	Массовая доля ретинола ацетата (витамин А), мг/кг	Массовая доля токоферола (витамин Е), мг/кг	Массовая доля холекальциферола (витамин D3), мг/кг
Начало опыта	5,67 ± 1,71	71,56 ± 21,47	< 0,15
Конец опыта	5,92 ± 1,78	70,03 ± 15,6	< 0,15

Table 4  
Average mass fraction of retinol acetate, tocopherol and cholecalciferol in egg yolk before and after the experiment

Stage	Mass fraction retinol acetate (vitamin A), mg/kg	Mass fraction of tocopherol (vitamin E), mg/kg	Mass fraction of cholecalciferol (vitamin D3), mg/kg
Start of experiment	5.67 ± 1.71	71.56 ± 21.47	< 0.15
End of experiment	5.92 ± 1.78	70.03 ± 15.6	< 0.15

Исследовали толщину скорлупы яиц и содержание в ней кальция и фосфора. Было выявлено, что средние значения толщины скорлупы на 4 и 5 неделях увеличились в 1,4–1,5 раза в группах III и II. Несушки обеих групп получали фитобиотик. При этом массовая доля кальция в скорлупе несколько снизилась в группах I и II, получавших энрофлоксацин, а массовая доля фосфора практически не изменилась.

При химическом анализе содержания жирорастворимых витаминов в желтке яиц установили, что применение энрофлоксацина и фитобиотика как совместно, так и по отдельности не оказало влияния на данные показатели. Изменения средних значений массовой доли витаминов А, Е и D3 достоверно не отличались между группами, начальными и конечными точками опыта (таблица 4).

Проводили анализ остаточного содержания энрофлоксацина в яйце от несушек из групп I и II через две недели после прекращения введения антибиотика, так как регламентированный период, в течение которого не допускается использование куриного яйца в пищу после применения энрофлоксацина составляет 14 дней. Было установлено, что объединенная проба яйца из группы I содержала энрофлоксацин в количестве 4 мг/кг, в то время как в объединенной пробе яйца из группы II антибиотик обнаружен не был. Предположительно, это связано с ускорением выведения энрофлоксацина из организма несушек при совместном приеме с фитобиотиком и снижением к 14-м суткам концентрации антибиотика в тканях до такого уровня, что он уже не поступал в яйцо.

#### Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Проведенные микробиологические исследования показали, что использование антибиотика энрофлоксацина отдельно или в сочетании с фитобиотическим препаратом не оказало существенного влияния на темп развития и уровень антибиотикорезистентности условно-патогенной микрофлоры у кур-несушек 400-дневного возраста. Микробиомы желудочно-кишечного тракта кур-несушек к этому времени были уже сформированы, стабильны и

контаминированы агентами АМР. По данным Khan и соавторов, у кур стабильная кишечная микрофлора наблюдается, как правило, с четвертой недели жизни и остается такой, если не происходит нарушения, связанного с резкой сменой рациона, инфекцией или каким-либо другим экзогенным фактором [16, с. 5–10]. Попадание агентов резистентности в пищеварительный тракт несушек могло произойти в любом возрастном периоде, а более высокая адаптивность резистентных штаммов способствовала их закреплению в составе кишечного микробиома.

Применение фитобиотика в сочетании с энрофлоксацином оказало положительное влияние на метаболические процессы и иммунный статус несушек за счет синергии в угнетении патогенной микрофлоры кишечника, нивелирования нежелательных эффектов антибиотика, а также мембраностабилизирующего действия фитобиотика и улучшения процессов тканевого и клеточного дыхания.

Показатели яйценоскости и средней массы яйца были наиболее высокими в группе II, где несушки получали энрофлоксацин вместе с фитобиотиком, а наименьшими – в группах, где применялся только энрофлоксацин или только фитобиотик.

В яйце от несушек из группы I через 14 суток после прекращения введения антибиотика было обнаружено остаточное содержание энрофлоксацина в количестве 4 мг/кг. В то время как в группе II энрофлоксацин обнаружен не был. Предположительно, это связано с ускорением выведения энрофлоксацина из организма несушек при совместном приеме с фитобиотиком и снижением к 14-м суткам концентрации антибиотика в тканях до такого уровня, что он уже не поступал в яйцо. Данный факт особенно важен, так как, согласно действующим регламентам, наличие энрофлоксацина в пищевом яйце не допускается.

Таким образом, в ходе проведенных исследований наиболее оптимальным было сочетанное применение энрофлоксацина с фитобиотическим препаратом, оказавшее наиболее заметное положительное влияние на показатели метаболизма, продуктивности и качества яйца.



**Благодарности (Acknowledgements)**

Работа выполнена в рамках проекта РНФ проект № 18-16-00040 П «Разработка системы для блокирования ферментативной активности патогенных и

условно-патогенных микроорганизмов в условиях хронического иммунодефицита и трансмиссивной антибиотикорезистентности у животных и птиц».

**Библиографический список**

1. Васильева О. А., Нуфер А. И., Шацких Е. В. Альтернативные пути замены кормовых антибиотиков // Эффективное животноводство. 2019. № 4 (152). С. 13–15.
2. Стрельникова И. И., Кислицына Н. А. Эффективность применения фитобиотиков в птицеводстве // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». 2020. № 4 (24). С. 433–444. DOI: 10.30914/2411-9687-2020-6-4-433-444.
3. Султанаева Л. З., Балджи Ю. А. Эффективность использования фитобиотических добавок в рационе крупного и мелкого рогатого скота (обзор) // Животноводство и кормопроизводство. 2021. № 2. С. 96–110. DOI: 10.33284/2658-3135-104-2-96.
4. Селиванова Ю. А. Широкий спектр фитонцидов – максимальная функциональность фитобиотика // Птицеводство. 2018. № 1. С. 37–40.
5. Yamashiro Y. Gut Microbiota in Health and Disease // Annals of Nutrition and Metabolism. 2017. Vol. 71. No. 3-4. Pp. 242–246. DOI: 10.1159/000481627.
6. Kraimi N., Dawkins M., Gebhardt-Henrich S.G. Influence of the Microbiota-Gut-Brain Axis on Behavior and Welfare in Farm Animals: A Review // Physiology and Behavior. 2019. Vol. 210. Article number 112. DOI: 10.1016/j.physbeh.2019.112658.
7. Guitton E., Faurie A., Lavillatte S. Production of Germ-Free Fast-Growing Broilers from a Commercial Line for Microbiota Studies // Journal of Visualized Experiments. 2020. Vol. 18. Pp. 61–148. DOI: 10.3791/61148.
8. Багно О. А., Прохоров О. Н., Шевченко С. А. [и др.] Фитобиотики в кормлении сельскохозяйственных животных // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53. -№ 4. С. 687–697. DOI: 10.15389/agrobiology.2018.4.687rus.
9. Зиннатов Ф. Ф., Шамсова А. Р., Зиннатова Ф. Ф., Ахметов Т. М., Сафиуллина А. Р. Взаимосвязь полиморфизма генов липидного обмена (Ler, tg5) с молочной продуктивностью крупного рогатого скота // Ученые записки КГАВМ им. Н. Э. Баумана. 2017. № 3. Pp. 72–75.
10. Вертипрахов В. Г., Егоров И. А., Ленкова Т. Н. [и др.] Использование фитобиотика и пробиотика в комбикормах для мясных кур селекции СГЦ «Смена» // Ветеринария и кормление. 2020. № 6. С. 7–12. DOI: 10.30917/АТТ-ВК-1814-9588-2020-6-2.
11. Нуралиев Е. Р., Кочиш И. И. Применение фитобиотика «Провитол» для улучшения конверсии корма в промышленном птицеводстве // Вестник АГАУ. 2017. № 8 (154). С. 112–117.
12. Шацких Е. В., Латыпова Е. Н., Несват Е. Г., Поляков П. С. Продуктивность кур-несушек при включении в рацион фитобиотиков // Птицеводство. 2021. № 6. С. 35–39. DOI: 10.33845/0033-3239-2021-70-6-35-39.
13. Kothari D., Lee W.-D., Niu K.-M., Kim S.-K. The genus *Allium* as poultry feed additive: A review // Animals. 2019. Vol. 9. Article number 1032. DOI: 10.3390/ani9121032.
14. Abad P., Arroyo-Manzanares N., Ariza J. J., Baños A., García-Campaña A. M. Effect of *Allium* extract supplementation on egg quality, productivity, and intestinal microbiota of laying hens // Animals. 2020. Vol. 41. Pp. 48–54. DOI: 10.3390/ani11010041
15. Rabelo-Ruiz M., Ariza-Romero J. J., Zurita-González M. J., Martín-Platero A. M., Baños A., Maqueda M., Valdivia E., Martínez-Bueno M., Peralta-Sánchez J. M. *Allium*-Based Phytobiotic Enhances Egg Production in Laying Hens through Microbial Composition Changes in Ileum and Cecum // Animals (Basel). 2021. No. 11 (2). Article number 448. DOI: 10.3390/ani11020448.
16. Khan S., Moore R. J., Stanley D., Chousalkar K. K. The Gut Microbiota of Laying Hens and Its Manipulation with Prebiotics and Probiotics to Enhance Gut Health and Food Safety // Applied and Environmental Microbiology. 2020. Vol. 86 (13). Pp. 5–10. DOI: 10.1128/AEM.00600-20.
17. Tzeng T. J., Liu T. Y., Lin C. W. et al. Effects of Dietary Inclusion of *Dry Hydrastis Canadensis* on Laying Performance, Egg Quality, Serum Biochemical Parameters and Cecal Microbiota in Laying Hens // Animals (Basel). 2021. No. 11 (5). Article number 1381. DOI: 10.3390/ani11051381.
18. Abd El-Hack M. E., Alagawany M., Abdel-Moneim A. E. et al. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) Oil as a Potential Alternative to Antibiotics in Poultry // Antibiotics (Basel). 2020. No. 9 (5). Article number 210. DOI: 10.3390/antibiotics9050210.

**Об авторах:**

Анна Сергеевна Кривоногова<sup>1</sup>, доктор биологических наук, доцент, ORCID 0000-0003-1918-3030, AuthorID 683239; +7 (343) 371-33-63, tel-89826512934@yandex.ru

Альбина Геннадьевна Исаева<sup>1</sup>, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры инфекционной и незаразной патологии, ORCID 0000-0001-8395-1247, AuthorID 665717; +7 (343) 371-33-63, isaeva.05@bk.ru

Ирина Михайловна Донник<sup>1</sup>, академик РАН, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционной и незаразной патологии, ORCID 0000-0001-8349-3004, AuthorID 313786; +7 (343) 371-33-63, ktqrp7@yandex.ru

Егор Александрович Логинов<sup>1</sup>, аспирант факультета ветеринарной медицины, ORCID 0009-0007-0810-8365, AuthorID 1164024; +7 (343) 371-33-63, loginov.ea19@gmail.com

Ксения Викторовна Моисеева<sup>1</sup>, преподаватель кафедры инфекционной и незаразной патологии, ORCID 0000-0002-9858-1880, AuthorID 779572; +7 (343) 371-33-63, moiseeva456@yandex.ru

<sup>1</sup> Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

## Antibiotic and phytobiotic's effect on health status, productivity of laying hens and egg quality

A. S. Krivonogova<sup>1</sup>, A. G. Isaeva<sup>✉</sup>, I. M. Donnik<sup>1</sup>, E. A. Loginov<sup>1</sup>, K. V. Moiseeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia

✉ E-mail: isaeva.05@bk.ru

**Abstract.** The study of phytobiotics application is one of the topical directions in the strategy of antimicrobial resistance containment. **The aim** of this work was to study the effects of separate and combined use of enrofloxacin and phytobiotic drugs in 400-day-old laying hens. **Methods.** The studies were conducted on four groups of Loman-classic layers; in the course of the experiment, enrofloxacin and a phytobiotic based on sea buckthorn cake and mustard, cedar and sea buckthorn oils were introduced into the diet. **Results.** It was found that the use of drugs had no significant effect on the composition of microflora and the level of antibiotic resistance of gastrointestinal bacteria in chickens because by the age of 400 days the intestinal microbiomes of laying hens were already formed, stable and contaminated with AMR agents. Also when combining antibiotic and phytobiotic there was an increase in egg laying rate, average egg weight, accelerated excretion of enrofloxacin from the body of layers and reduction of its content in the egg to the detection limit. While in the group of laying hens receiving only enrofloxacin, its residual content in the egg was detected 2 weeks after cessation of its introduction. Thus, in the course of this research, the most optimal was the combined use of enrofloxacin with a phytobiotic drug, which had the most noticeable positive effect on metabolic parameters, productivity and egg quality. **The novelty** of the work is to obtain data on the effect of phytobiotic drug on a number of health indicators, productivity of laying hens and egg quality, and the selection of promising scheme of its use.

**Keywords:** phytobiotic, productivity, laying hens, eggs, resistance genes, antibiotic susceptibility, enrofloxacin, E. coli, opportunistic pathogenic microflora.

**For citation:** Krivonogova A. S., Isaeva A. G., Donnik I. M., Loginov E. A., Moiseeva K. V. Vliyanie antibiotika i fitobiotika na sostoyaniye zdorov'ya, produktivnost' kur-nesushek i kachestvo yaytsa [Antibiotic and phytobiotic's effect on health status, productivity of laying hens and egg quality] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2023. No. 05 (234). Pp. 61–71. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-234-05-61-71. (In Russian.)

**Date of paper submission:** 08.11.2022, **date of review:** 08.12.2022, **date of acceptance:** 13.12.2022.

### References

1. Vasil'eva O. A., Nufer A. I., Shatskikh E. V. Al'ternativnye puti zameny kormovykh antibiotikov [Alternative ways to replace feed antibiotics] // Effective livestock breeding. 2019. No. 4 (152). Pp. 13–15. (In Russian.)
2. Strel'nikova I. I., Kislitsyna N. A. Effektivnost' primeneniya fitobiotikov v ptitsevodstve [Effectiveness of phytobiotics in poultry farming] // Vestnik of the Mari State University. Chapter "Agriculture. Economics". 2020. Vol. 6. No. 4. Pp. 433–444. DOI: 10.30914/2411-9687-2020-6-4-433-444. (In Russian.)
3. Sultanaeva L. Z., Baldzhi Yu. A. Effektivnost' ispol'zovaniya fitobioticheskikh dobavok v ratsione krupnogo i melkogo rogatogo skota (obzor) [The efficiency of the use of phytobiotic additives in the diet of large and small cattle (review)] // Livestock and fodder production. 2021. No. 2. Pp. 96–110. DOI: 10.33284/2658-3135-104-2-96. (In Russian.)
4. Selivanova Yu. A. Shirokiy spektr fitontsidov – maksimal'naya funktsional'nost' fitobiotika [A Wide Range of Phytoncides Improve Functionality of Phytobiotics] // Ptitsevodstvo. 2018. No. 1. Pp. 37–40. (In Russian.)

5. Yamashiro Y. Gut Microbiota in Health and Disease // *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2017. Vol. 71. No. 3-4. Pp. 242–246. DOI: 10.1159/000481627.
6. Kraimi N., Dawkins M., Gebhardt-Henrich S.G. Influence of the Microbiota-Gut-Brain Axis on Behavior and Welfare in Farm Animals: A Review // *Physiology and Behavior*. 2019. Vol. 210. Article number 112. DOI: 10.1016/j.physbeh.2019.112658.
7. Guitton E., Faurie A., Lavillatte S. Production of Germ-Free Fast-Growing Broilers from a Commercial Line for Microbiota Studies // *Journal of Visualized Experiments*. 2020. Vol. 18. Pp. 61–148. DOI: 10.3791/61148.
8. Bagno O. A., Prokhorov O. N., Shevchenko S. A. et al. Fitobiotiki v kormlenii sel'skokhozyaystvennykh zhi-votnykh [Use of phytobiotics in farm animal feeding (review)] // *Agricultural Biology*. 2018. Vol. 53. No. 4. Pp. 687–697. DOI: 10.15389/agrobiol.2018.4.687rus. (In Russian.)
9. Zinnatov F. F., Shamsova A. R., Zinnatova F. F., Akhmetov T. M., Safullina A. R. Vzaimosvyaz' polimorfizma genov lipidnogo obmena (Lep, tg5) s molochnoy produktivnost'yu krupnogo rogatogo skota [Interrelation of polymorphism of lipid metabolism genes (LEP, TG5) with milk production of cattle] // *Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2017. Vol. 231. No. 3. Pp. 72–75. (In Russian.)
10. Vertiprakhov V. G., Egorov I. A., Lenkova T. N. et al. Ispol'zovanie fitobiotika i probiotika v kombikormakh dlya myasnykh kur selektsii SGTs "Smena" [The effectiveness of a phytobiotic and a probiotic in diets for broiler preparational lines selected by the center for genetics & selection "Smena"] // *Veterinaria i kormlenie*. 2020. No. 6. Pp. 7–12. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-6-2. (In Russian.)
11. Nuraliev E. R., Kochish I. I. Primenenie fitobiotika "Provitol" dlya uluchsheniya konversii korma v promyshlennom ptitsevodstve [Application of "Provitol" phytobiotic to improve feed conversion in commercial poultry farming] // *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2017. No. 8 (154). Pp. 112–117. (In Russian.)
12. Shatskikh E. V., Latypova E. N., Nesvat E. G., Polyakov P. S. Produktivnost' kur-nesushek pri vkl'yuchenii v ratsion fitobiotikov [The Effects of Phytobiotics in Feed and Water on the Productive Performance in Laying Hens] // *Ptitsevodstvo*. 2021. No. 6. Pp. 35–39. DOI: 10.33845/0033-3239-2021-70-6-35-39. (In Russian.)
13. Kothari D., Lee W.-D., Niu K.-M., Kim S.-K. The genus *Allium* as poultry feed additive: A review // *Animals*. 2019. Vol. 9. Article number 1032. DOI: 10.3390/ani9121032.
14. Abad P., Arroyo-Manzanares N., Ariza J. J., Baños A., García-Campaña A. M. Effect of *Allium* extract supplementation on egg quality, productivity, and intestinal microbiota of laying hens // *Animals*. 2020. Vol. 41. Pp. 48–54. DOI: 10.3390/ani11010041
15. Rabelo-Ruiz M., Ariza-Romero J. J., Zurita-González M. J., Martín-Platero A. M., Baños A., Maqueda M., Valdivia E., Martínez-Bueno M., Peralta-Sánchez J. M. *Allium*-Based Phytobiotic Enhances Egg Production in Laying Hens through Microbial Composition Changes in Ileum and Cecum // *Animals (Basel)*. 2021. No. 11 (2). Article number 448. DOI: 10.3390/ani11020448.
16. Khan S., Moore R. J., Stanley D., Chousalkar K. K. The Gut Microbiota of Laying Hens and Its Manipulation with Prebiotics and Probiotics to Enhance Gut Health and Food Safety // *Applied and Environmental Microbiology*. 2020. Vol. 86 (13). Pp. 5–10. DOI: 10.1128/AEM.00600-20.
17. Tzeng T. J., Liu T. Y., Lin C. W. et al. Effects of Dietary Inclusion of *Dry Hydrastis Canadensis* on Laying Performance, Egg Quality, Serum Biochemical Parameters and Cecal Microbiota in Laying Hens // *Animals (Basel)*. 2021. No. 11 (5). Article number 1381. DOI: 10.3390/ani11051381.
18. Abd El-Hack M. E., Alagawany M., Abdel-Moneim A. E. et al. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) Oil as a Potential Alternative to Antibiotics in Poultry // *Antibiotics (Basel)*. 2020. No. 9 (5). Article number 210. DOI: 10.3390/antibiotics9050210.

#### Authors' information:

Anna S. Krivonogova<sup>1</sup>, doctor of biological sciences, associate professor, ORCID 0000-0003-1918-3030, AuthorID 683239; +7 (343) 371-33-63, tel-89826512934@yandex.ru

Albina G. Isaeva<sup>1</sup>, doctor of biological sciences, associate professor, professor of the department of infectious and non-infectious pathology, ORCID 0000-0001-8395-1247, AuthorID 665717; +7 (343) 371-33-63, isaeva.05@bk.ru

Irina M. Donnik<sup>1</sup>, academician of the Russian Academy of Sciences, doctor of biological sciences, professor, head of the department of infectious and non-infectious pathology, ORCID 0000-0001-8349-3004, AuthorID 313786; +7 (343) 371-33-63, ktqrjp7@yandex.ru

Egor A. Loginov<sup>1</sup>, postgraduate student in the faculty of veterinary medicine, ORCID 0009-0007-0810-8365, AuthorID 1164024; +7 (343) 371-33-63, loginov.ea19@gmail.com

Kseniya V. Moiseeva<sup>1</sup>, lecturer of department of infectious and non-infectious pathology, ORCID 0000-0002-9858-1880, AuthorID 779572; +7 (343) 371-33-63, moiseeva456@yandex.ru

<sup>1</sup> Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia