

osushchestvleniyu veterinarnykh meropriyatiy po profilaktike i likvidatsii infektsionnykh bolezney zhivotnykh".

8. Akhmetsadykov N.N. Tekhnologiya veterinarnykh biologicheskikh preparatov / N.N. Akhmetsadykov, G.S. Shabdarbaeva, D.M. Khusainov: uchebnik. – Kn. 2. – Almaty: Izd-vo Agrouniversiteta, 2010. – 708 s.

9. Shanshin N.V. Napryazhenost postvaktsinalnogo immuniteta k virusu PG-3, IRT,

VD-BS krupnogo rogatogo skota v zavisimosti ot immunogennykh svoystv vaktzin / N.V. Shanshin, T.P. Evseeva // Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2018. – No. 4. – S. 140-145.

10. Brock K.V. (1995). Diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 11 (3): 549-561.



УДК 636.084.1: 087.8 Т.Н. Орлова, А.Н. Иркитова, А.В. Гребенщикова, Д.Е. Дудник  
T.N. Orlova, A.N. Irkitova, A.V. Grebenschikova, D.Ye. Dudnik

**ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
НОВОГО РИЗОСФЕРНОГО ШТАММА *BACILLUS PUMILUS B-13250*  
ДЛЯ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЕГО  
В СОСТАВЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЖИВОТНОВОДСТВА**

**THE STUDY OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY  
OF A NEW RHIZOSPHERE STRAIN *BACILLUS PUMILUS B-13250* TO USE IT  
IN THE COMPOSITION OF PROBIOTIC PRODUCTS FOR LIVESTOCK**

**Ключевые слова:** *Bacillus pumilus*, ризосфера, антибиотикочувствительность, антибиотикорезистентность, *Bacillus subtilis*, антибиотики, пробиотики, ветеринария, животноводство.

Проблема антибиотикоустойчивости у бактерий является актуальной для ветеринарии непродовольственных и сельскохозяйственных животных. В настоящее время активно разрабатываются такие биологические средства защиты животных от болезней, как пробиотики, призванные минимизировать употребление антибиотиков. Современные пробиотические препараты все чаще состоят из транзиторных микроорганизмов, к которым относятся бактерии группы *Bacillus subtilis*, в частности, вида *B. pumilus*, который синтезирует различные антимикробные метаболиты и обладает высокой биологической активностью. В ходе создания нового пробиотического препарата стоит исследовать чувствительность выбранных штаммов к антибиотикам, так как показа-

тель антибиотикорезистентности бактерий следует учитывать при назначении курса антибиотикотерапии животным. Наши исследования были нацелены на изучение и сравнение антибиотикочувствительности нового ризосферного штамма *B. pumilus B-13250* и коллекционных штаммов группы *B. subtilis* из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ). Устойчивость бактерий к антибиотикам (цефалексину, олеандомицину, энрофлоксацину, бензилпенициллину, оксациллину и мономицину) определяли диско-диффузионным методом. Анализ полученных результатов показал, что новый штамм *B. pumilus B-13250* по уровню антибиотикорезистентности схож с референтными штаммами группы *B. Subtilis*, и для него была зафиксирована чувствительность к 5 из 6 использованных антибиотиков (абсолютная резистентность к оксациллину), поэтому в случае применения данного микроорганизма в ветеринарии он не сможет передать патогенным бактериям гены резистентности к антибиотикам. С дру-

гой стороны, данный факт делает невозможным прием пробиотика, содержащего штамм *B. pumilus* B-13250, во время антибиотикотерапии исследованных антибиотических соединений.

**Keywords:** *Bacillus pumilus*, rhizosphere, antibiotic sensitivity, antibiotic resistance, *Bacillus subtilis*, antibiotics, probiotics, veterinary medicine, animal farming.

Antibiotic resistance of bacteria is a topical issue for veterinary medicine of non-production and farm animals. Biological preparations to protect animals from diseases, like probiotics, designed to minimize the use of antibiotics are actively developed. More often, modern probiotic products are composed of transient microorganisms which include bacteria of the *Bacillus subtilis* group, in particular, *B. pumilus* species. This bacillus synthesizes various antimicrobial metabolites and has a high biological activity. The sensitivity of the selected strains to antibiotics should be investigated when creating a new probiotic preparation because the indicator of antibiotic re-

sistance of bacteria should be considered when prescribing a course of antibiotic therapy to animals. Our research was aimed at studying and comparison of the antibiotic sensitivity of the new rhizosphere *B. pumilus* B-13250 strain and collection strains of *B. subtilis* group from the Russian National Collection of Industrial Microorganisms (VKPM). Bacterial resistance to antibiotics (Cephalexin, Oleandomycin, Enrofloxacin, Benzylpenicillin, Oxacillin and Monomycinum) was determined by the disk diffusion test. The analysis of the obtained results shows that the new *B. pumilus* B-13250 strain is similar in antibiotic resistance to reference strains of the *B. subtilis* group. The sensitivity to 5 of the 6 used antibiotics and absolute resistance to Oxacillin were recorded for the rhizosphere strain. Therefore, if this microorganism is used in veterinary medicine, it will not be able to transmit antibiotic resistance genes to pathogenic bacteria. On the other hand, this fact makes it impossible to take a probiotic containing *B. pumilus* B-13250 strain during antibiotic therapy of the studied antibiotics.

**Орлова Татьяна Николаевна**, н.с., Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий; аспирант, каф. частной зоотехнии, Алтайский государственный аграрный университет. E-mail: orlova\_tn\_92@mail.ru.

**Ирkitова Алёна Николаевна**, к.б.н., доцент, каф. экологии, биохимии и биотехнологии, Алтайский государственный университет. E-mail: Elen171987@mail.ru.

**Гребенщикова Ангелина Владимировна**, магистрант, Алтайский государственный университет. E-mail: gelishka96@mail.ru.

**Дудник Дина Евгеньевна**, магистрант, Алтайский государственный университет. E-mail: dudnik-dina@mail.ru.

**Orlova Tatyana Nikolayevna**, Staff Scientist, Federal Altai Scientific Center of Agro-Biotechnologies; post-graduate student, Altai State Agricultural University. E-mail: orlova\_tn\_92@mail.ru.

**Irkitova Alena Nikolayevna**, Cand. Bio. Sci., Assoc. Prof., Chair of Ecology, Biochemistry and Biotechnology, Altai State University. E-mail: Elen171987@mail.ru.

**Grebenshchikova Angelina Vladimirovna**, master's degree student, Altai State University. E-mail: gelishka96@mail.ru.

**Dudnik Dina Yevgenyevna**, master's degree student, Altai State University. E-mail: dudnik-dina@mail.ru.

## Введение

В настоящее время проблема антибиотикоустойчивости у бактерий является актуальной для ветеринарии непродуцированных и сельскохозяйственных животных, которые не только контактируют с людьми, но и могут передать им бактерии и гены резистентности через пищевую цепь [1]. В последние годы активно разрабатываются пробиотики, призванные минимизировать употребление антибиотиков. Они предназначены для профилактики и лечения заболеваний животных [2].

Раньше активно использовались пробиотические препараты, на основе молочнокислых микроорганизмов, таких как бифидобактерии и лактобактерии, а сейчас большую популярность набирают пробиотики с транзитными бактериями как представители группы *B. subtilis* и, в частности, *B. pumilus* [3]. Данная бацилла синтезирует различные антимикробные соединения и обладает высокой биологической активностью [4].

В процессе создания нового пробиотического препарата стоит исследовать чувствительность к антибиотикам у выбранных

штаммов, так как этот показатель следует учитывать при назначении курса антибиотикотерапии животным. Для бацилл, по литературным данным, характерна устойчивость к пенициллинам [5] и чувствительность к фторхинолам [6].

**Цель** работы – сравнить чувствительность к антибиотикам нового ризосферного штамма *B. pumilus* B-13250 и коллекционных штаммов группы *B. subtilis* для возможности в дальнейшем использовать данную культуру при разработке пробиотического препарата для сельскохозяйственных животных.

**Объекты и методы исследования**

В данной работе использовались: штамм *Bacillus pumilus* B-13250, выделенный нами из ризосферы р. *Cichorium* [7], а также коллекционные штаммы из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) – *B. pumilus* B-7886, *B. pumilus* B-7917, *B. pumilus* B-7919 и *B. subtilis* B-1323.

В качестве питательной среды использовались L-жидкая и L-твердая среды. Антибиотикочувствительность исследуемых штаммов определяли диско-диффузионным

методом по отношению к цефалексину, олеандомицину, энрофлоксацину, бензилпенициллину, оксациллину и мономицину. Учет проводили по зонам отсутствия или подавления роста бактерий вокруг дисков с антибиотиками. При диаметре зоны ингибирования роста бактерий <10 мм штамм признается устойчивым к данному антибиотику, 10-15 мм – малочувствительным, 15-25 мм – чувствительным. Зоны подавления роста >25 мм свидетельствуют о высокой чувствительности микроорганизма к исследуемому антибиотику [8].

**Результаты и их обсуждение**

Штамм *B. pumilus* B-13250, как и все коллекционные штаммы, оказался устойчивым к оксациллину, который относится к пенициллинам (табл.).

Штамм *B. subtilis* B-1323 единственный проявил резистентность к бензилпенициллину. К остальным антибиотикам была зафиксирована различная чувствительность. Наименьшая устойчивость была отмечена к цефалексину и энрофлоксацину, который относится к фторхинолам.

Таблица

**Антибиотикорезистентность штаммов бацилл, мм**

Антибиотики	Штаммы				
	<i>B. pumilus</i> B-13250	<i>B. pumilus</i> B-7886	<i>B. pumilus</i> B-7917	<i>B. pumilus</i> B-7919	<i>B. subtilis</i> B-1323
Цефалексин	37,9±0,7(+++)*	32,7±2,5(+++)	36,7±3,8(+++)	35,0±1,7(+++)	32,7±2,8(+++)
Олеандомицин	17,1±1,9(++)	16,7±0,6(++)	14,7±0,6(+)	16,3±1,2(++)	15,7±0,6(++)
Энрофлоксацин	25,7±8,9(+++)	27,3±0,6(+++)	28,0±1,0(+++)	27,0±1,0(+++)	27,0±1,0(+++)
Бензилпенициллин	18,5±1,2(++)	13,3±0,6(+)	16,3±2,1(++)	13,7±1,2(+)	0(-)
Оксациллин	0(-)	0(-)	0(-)	0(-)	0(-)
Мономицин	16,0±0,6(++)	14,3±0,6(+)	13,3±0,6(+)	13,7±0,6(+)	15,3±1,2(++)

Примечание. \* «-» – устойчивый, «+» – малочувствительный, «+++» – чувствительный, «++++» – высокочувствительный.

Чувствительность всех штаммов вида *B. pumilus* к бензилпенициллину можно объяснить отсутствием у них пенициллиназы [9], разрушающей данный антибиотик. Высокую чувствительность всех бацилл к цефалексину можно обосновать тем, что он устойчив к  $\beta$ -лактамазам – бактериальным ферментам, направленным на борьбу с бета-лактамами антибиотиками пенициллинового ряда [10].

Для *B. pumilus* В-13250 была зафиксирована чувствительность к 5 из 6 использованных антибиотиков, поэтому в случае применения данного микроорганизма в ветеринарии он не сможет передать патогенным бактериям гены антибиотикорезистентности. С другой стороны, данный факт делает невозможным прием пробиотика, содержащего штамм *B. pumilus* В-13250, во время антибиотикотерапии исследованных антибиотических соединений.

### Выводы

Штамм *B. pumilus* В-13250 по уровню антибиотикорезистентности схож с референтными штаммами группы *B. subtilis*: обладает высокой чувствительностью к цефалексину и энрофлоксацину, устойчивостью к оксациллину. Максимальный диаметр зоны ингибирования роста был отмечен с цефалексином и составил  $37,9 \pm 0,7$  мм.

### Библиографический список

1. Шульга, Н. Н. К проблеме антибиотиков в продуктах животноводства / Н. Н. Шульга, И. С. Шульга, Л. П. Плавшак. – Текст: непосредственный // Дальневосточный аграрный вестник. – 2017. – № 4 (44). – С. 150-156.
2. Сверчкова, Н. В. Пробиотические препараты для ветеринарии и кормопроизводства / Н. В. Сверчкова, Э. И. Коломиец. –

2016. – № 5 (159). – С. 38-39. – Текст: непосредственный.

3. Сверчкова, Н. В. В поисках альтернативы ветеринарным и кормовым антибиотикам / Н.В. Сверчкова, Э.И. Коломиец. – Текст: непосредственный // Наука и инновации. – 2014. – № 8 (138). – С. 21-24.

4. Chu, J., Wang, Y., Zhao, B., et al. (2019). Isolation and identification of new antibacterial compounds from *Bacillus pumilus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 103 (20): 8375-8381. doi: 10.1007/s00253-019-10083-y.

5. Andrews, J., Wise, R. (2002). Susceptibility testing of *Bacillus* species. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 49. 1040-2. 10.1093/jac/dkf063.

6. Troughon, T., Lefebvre, S. (2016). A Review of Enrofloxacin for Veterinary Use. *Open Journal of Veterinary Medicine*. 06. 40-58. 10.4236/ojvm.2016.62006.

7. Патент России № 2694522. Штамм бактерий *Bacillus pumilus* ВКПМ В-13250, обладающий выраженным антагонизмом по отношению к микроорганизмам *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *St. epidermidis* / Иркитова А. Н., Гребенщикова А. В. – 2019. – Бюл. 20.

8. Irkitova, A.N., Grebenshchikova, A.V., Dudnik, D.E. Antibiotic susceptibility of bacteria from the *Bacillus subtilis* group. *Ukrainian Journal of Ecology*. – 2019. – V. 9(3). – P. 363-366.

9. Ismail, F., Adeloju, S. (2010). Galvanostatic Entrapment of Penicillinase into Polytyramine Films and its Utilization for the Potentiometric Determination of Penicillin. *Sensors*. 10. 2851-2868. 10.3390/s100402851.

10. Bush, K., Bradford, P.A. (2016).  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Springs Harbor Perspectives in Medicine*. 6 (8): 225-247. doi: 10.1101/cshperspect.a025247.

**References**

1. Shulga, N.N. K probleme antibiotikov v produktakh zhivotnovodstva / N.N. Shulga, I.S. Shulga, L.P. Plavshak // Dalnevostochnyy agrarnyy vestnik. – 2017. – No. 4 (44). – S. 150-156.
2. Sverchkova, N.V. Probioticheskie preparaty dlya veterinarii i kormoproizvodstva / N.V. Sverchkova, E.I. Kolomiets. – 2016. – No. 5 (159). – S. 38-39.
3. Sverchkova, N.V. V poiskakh alternativy veterinarnym i kormovym antibiotikam / N.V. Sverchkova, E.I. Kolomiets // Nauka i innovatsii. – 2014. – No. 8 (138). – S. 21-24.
4. Chu, J., Wang, Y., Zhao, B., et al. (2019). Isolation and identification of new antibacterial compounds from *Bacillus pumilus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 103 (20): 8375-8381. doi: 10.1007/s00253-019-10083-y.
5. Andrews, J., Wise, R. (2002). Susceptibility testing of *Bacillus* species. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 49. 1040-2. 10.1093/jac/dkf063.
6. Trouchon, T., Lefebvre, S. (2016). A Review of Enrofloxacin for Veterinary Use. *Open Journal of Veterinary Medicine*. 06. 40-58. 10.4236/ojvm.2016.62006.
7. Irkitova A.N., Grebenshchikova A.V. Shtamm bakteriy *Bacillus pumilus* VKPM V-13250, obladayushchiy vyrazhennym antagonizmom po otnosheniyu k mikroorganizmam *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *St. epidermidis* // Patent Rossii No. 2694522 – 2019. – Byul. 20.
8. Irkitova, A.N., Grebenshchikova, A.V., Dudnik, D.E. Antibiotic susceptibility of bacteria from the *Bacillus subtilis* group. *Ukrainian Journal of Ecology*. – 2019. – V. 9 (3). – P. 363-366.
9. Ismail, F., Adeloju, S. (2010). Galvanostatic Entrapment of Penicillinase into Polytyramine Films and its Utilization for the Potentiometric Determination of Penicillin. *Sensors*. 10. 2851-2868. 10.3390/s100402851.
10. Bush, K., Bradford, P.A. (2016).  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Springs Harbor Perspectives in Medicine*. 6 (8): 225-247. doi: 10.1101/cshperspect.a025247.



УДК 636.32/38.083.37

Т.Н. Хамируев, Б.З. Базарон, И.В. Волков  
T.N. Khamiruyev, B.Z. Bazaron, I.V. Volkov

**СЕЛЕКЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ  
НОВОГО ТИПА АГИНСКОЙ ПОРОДЫ ОВЕЦ**

**THE SELECTIVE BREEDING ASPECTS OF DEVELOPING A NEW TYPE  
OF THE AGINSKAYA SHEEP BREED**

**Ключевые слова:** агинская порода, зугалайский тип, родоначальник, линия, межлинейный кросс, живая масса, настриг мытой шерсти.

**Keywords:** Aginskaya sheep breed, Zugalay type, ancestor, line, interlinear cross, live weight, washed wool clip.