

Надежда Алексеевна Лещева^{1✉}, Валентина Ивановна Плешакова²,
Игорь Викторович Антонецкий³, Елизавета Вячеславовна Фрик⁴

^{1,2,3,4}Омский государственный аграрный университет, Омск, Россия

¹na.lescheva@omgau.org

²vi.pleshakova@omgau.org

³iv.antonevskiy1721@omgau.org

⁴ev.frik1921@omgau.org

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ПОПУЛЯЦИОННО-ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИКРОБИОТЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ПРИСТЕНОЧНОЙ И ПРОСВЕТНОЙ МИКРОФЛОРЫ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПЕРЕПЕЛОВ

Цель исследования – изучение в сравнительном аспекте микробиоты, выделенной из пристеночной и просветной микрофлоры перепелов. Бактериологическими и протеомными методами исследования определена структура кишечной микробиоты перепелов 30-дневного возраста. В просветной и пристеночной микрофлоре выявлены основные таксоны бактерий, такие как *Escherichia coli*, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., а также условно-патогенные микроорганизмы *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* и *Enterococcus faecalis*. Среди выделенных культур микроорганизмов к биопленкообразованию были способны *Escherichia coli* (30,0 %). В просветной микрофлоре кишечника наибольшая популяционная плотность и коэффициент постоянства наблюдали у *Escherichia coli*, *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp., превышающие 70 %, наименьший показатель популяционной плотности – у *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis* и *Citrobacter diversus*. В микробиоценозе пристеночной микрофлоры различных биотопов кишечника перепелов наибольшую популяционную плотность отмечали у культур *Lactobacillus* spp., а наименьшую – у *Escherichia coli*, при этом 100 % коэффициент постоянства наблюдался у *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* и *Lactobacillus* spp. При анализе сопряженных связей была установлена одна ассоциация бактерий с высоким коэффициентом Жаккара – *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. (36,7 %) в просветной микрофлоре и пять таких ассоциаций в пристеночном биотопе, в частности *Escherichia coli* и *Bifidobacterium* spp. (35,3 %), *Escherichia coli* и *Lactobacillus* spp. (42,4 %), *Bifidobacterium* spp. и *Enterococcus faecalis* (31,7 %), *Lactobacillus* spp. и *Enterococcus faecalis* (33,6 %), а также *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. (33,1 %), что свидетельствует о сложных взаимодействиях внутри микробиоты. Полученные данные расширяют сведения о составе кишечной микробиоты перепелов и могут служить основой для оценки ее состояния при физиологических нарушениях и инфекционных заболеваниях, а также использоваться при диагностике и выборе профилактических и лечебных мер.

Ключевые слова: перепела, пристеночная микрофлора перепелов, просветная микрофлора перепелов, биопленкообразование, коэффициент Жаккара

Для цитирования: Лещева Н.А., Плешакова В.И., Антонецкий И.В., и др. Сравнительный популяционно-таксономический анализ микробиоты, выделенной из пристеночной и просветной микрофлоры желудочно-кишечного тракта перепелов // Вестник КрасГАУ. 2025. № 12. С. 199–210. DOI: 10.36718/1819-4036-2025-12-199-210.

Финансирование: работа выполнена в рамках гранта Российского научного фонда (соглашение № 25-26-20048 от 17.04.2025).

Nadezhda Alekseevna Leshcheva^{1✉}, Valentina Ivanovna Pleshakova²,
Igor Viktorovich Antonevsky³, Elizaveta Vyacheslavovna Frick⁴

^{1,2,3,4}Omsk State Agrarian University, Omsk, Russia

¹na.lescheva@omgau.org

²vi.pleshakova@omgau.org

³iv.antonevskiy1721@omgau.org

⁴ev.frik1921@omgau.org

COMPARATIVE POPULATION-TAXONOMIC ANALYSIS OF MICROBIOTA ISOLATED FROM PARIETAL AND LUMINAL MICROFLORA OF THE QUAILS' GASTROINTESTINAL TRACT

The aim of the study is to comparatively investigate the microbiota isolated from the parietal and luminal microflora of quail. Bacteriological and proteomic methods were used to determine the structure of the intestinal microbiota of 30-day-old quail. The main bacterial taxa, such as *Escherichia coli*, *Lactobacillus* spp., and *Bifidobacterium* spp., as well as the opportunistic pathogens *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, and *Enterococcus faecalis*, were identified in the luminal and parietal microflora. Among the isolated microbial cultures, *Escherichia coli* (30.0 %) was capable of biofilm formation. In the luminal intestinal microflora, the highest population density and constancy coefficient were observed in *Escherichia coli* and *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp., exceeding 70 %, the lowest population density was found in *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis* and *Citrobacter diversus*. In the microbiocenosis of the parietal microflora of various biotopes of the quail intestine, the highest population density was observed in *Lactobacillus* spp. cultures, and the lowest in *Escherichia coli*, while 100 % constancy coefficient was observed in *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* and *Lactobacillus* spp. When analyzing the associated relationships, one association of bacteria with a high Jaccard coefficient was established - *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. (36.7 %) in the luminal microflora and five such associations in the parietal biotope, in particular *Escherichia coli* and *Bifidobacterium* spp. (35.3 %), *Escherichia coli* and *Lactobacillus* spp. (42.4 %), *Bifidobacterium* spp. and *Enterococcus faecalis* (31.7 %), *Lactobacillus* spp. and *Enterococcus faecalis* (33.6 %), and *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. (33.1 %), indicating complex interactions within the microbiota. The data obtained expand our understanding of the composition of the intestinal microbiota of quail and can serve as a basis for assessing its condition during physiological disorders and infectious diseases, as well as for diagnosing and selecting preventive and therapeutic measures.

Keywords: quail, parietal microflora of quail, luminal microflora of quail, biofilm formation, Jaccard coefficient

For citation: Lescheva NA, Pleshakova VI, Antonevskiy IV, et al. Comparative population-taxonomic analysis of microbiota isolated from parietal and luminal microflora of the quails' gastrointestinal tract. *Bulletin of KSAU*. 2025;(12):199-210. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2025-12-199-210.

Funding: this work has been carried out within the framework of a grant from the Russian Science Foundation (Agreement № 25-26-20048 dated April 17, 2025).

Введение. На современном этапе развития птицеводческой отрасли, характеризующейся глубокой интенсификацией, универсализацией всех технологических процессов, возникает ряд серьезных проблем, связанных с возникновением и распространением различных нозологических форм инфекционной патологии, обусловленной патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Плотная конфигурация птичников способствует непосредственным контактам между особями и повышает вероятность горизонтального переноса возбудителей бактериальных болезней, что осложняет контроль

инфекций и требует непрерывного мониторинга микробных популяций. Указанные трудности связаны, прежде всего, со спецификой высокопродуктивного птицеводства, что зачастую приводит к нарушению ветеринарно-санитарных правил, необоснованным применением антибиотических препаратов, средств специфической профилактики, что негативно сказывается в первую очередь на микробиоценозе различных биотопов пищеварительного тракта птиц.

В то же время многочисленными исследователями установлено, что микробиота, населяющая пищеварительный тракт, выполняет ряд

важных функций, и в частности, поддержание и регуляцию иммунитета организма. При участии симбиотических бактерий в кишечнике происходит множество биохимических процессов, таких как расщепление клетчатки, синтез летучих жирных кислот, аминокислот, витаминов, защита от патогенов различной этиологии, нейтрализация токсинов, а также устойчивость к стрессам. Нарушение состава и функционального состояния кишечной микробиоты коррелирует с повышенной восприимчивостью к инфекционным агентам, аутоиммунными нарушениями и метаболическими патологиями.

Анализ публикаций отечественных и зарубежных авторов позволяет констатировать, что имеется достаточно обширный объем научной литературы, посвященный изучению количественных и качественных характеристик микроорганизмов птиц, персистирующих в просвете желудочно-кишечного тракта. Комплексное исследование микробиоты птиц рассматривается в контексте ее роли в регуляции пищеварительных, обменных, иммунных и барьерных функций, а также ее значимости в обеспечении здоровья и продуктивности поголовья. Внимание уделяется составу облигатной и факультативной микрофлоры, ее взаимодействию с эпителиальными структурами кишечника и иммунокомпетентными клетками слизистой оболочки [1–6].

В то же время микрoэкологические особенности сочленов пристеночного энтеромикробиоценоза у птицы являются малоизученными, а данные по некоторым видам птицы вообще отсутствуют [6, 7]. Необходимо указать, что для выяснения роли отдельных видов микроорганизмов, обитающих в желудочно-кишечном тракте, необходимо учитывать не только просветную, но и пристеночную микрофлору различных отделов кишечника [8–15].

По данным ряда авторов, важную роль в поддержании микрoэкологического равновесия микрофлоры кишечника играют микроорганизмы, колонизирующие слизистую оболочку кишечника [16–18]. Показано, что процесс колонизации слизистой оболочки кишечника микроорганизмами во всех случаях является специфичным (избирательным), так как зависит не только от биологических свойств бактерий, но и от физико-химического, биохимического состояния пристеночной зоны желудочно-кишечного тракта. Колонизация слизистой оболочки происхо-

дит в условиях сложного взаимодействия микроорганизмов с клетками эпителия и иммунными компонентами хозяина, что обеспечивает формирование устойчивых и специализированных микробных сообществ. Такой процесс способствует не только закреплению нормофлоры, но и препятствует колонизации патогенов, играя ключевую роль в поддержании гомеостаза кишечного тракта [9, 14]. Некоторые исследователи утверждают, что просветная и мукозная микробиота – это экосистемы с различным микробным многообразием и составом, а также метаболическими и иммунологическими функциями. Мукозная микробиота, непосредственно контактирующая с эпителиальными клетками кишечника, принимает активное участие в модуляции местного иммунного ответа, влияя на экспрессию молекул адгезии и цитокинов, а также регулирует барьерные функции слизистой оболочки [17, 18]. Ряд авторов указывают на важную роль мукозной (пристеночной) микрофлоры пищеварительного тракта в этиопатогенезе ряда бактериальных инфекций, а также на диагностическое значение нормофлоры пристеночного слоя энтеромикробиоты у животных [10, 13]. Нарушения в составе или функциональной активности мукозной микрофлоры могут способствовать развитию дисбиоза, что нередко сопровождается повышенной восприимчивостью к инфекциям и воспалительным процессам в кишечнике. В связи с этим пристеночная микрофлора рассматривается как важный биомаркер здоровья пищеварительного тракта [9]. Кроме того, важным феноменом основных сочленов энтеромикробиоты является образование биологических пленок. Так, по данным научной литературы, понимание сложных механизмов взаимодействия между биопленкообразованием и усилением антибиотикорезистентности микроорганизмов, персистирующих в кишечном тракте птиц, может способствовать разработке эффективных подходов к борьбе с антибиотикоустойчивостью патогенных и условно-патогенных микроорганизмов [19]. Изучение этого процесса позволяет выявить ключевые факторы, обеспечивающие выживание бактерий в условиях стресса, включая изменения в экспрессии генов устойчивости и особенности структуры внеклеточного матрикса. Это знание открывает новые перспективы для разработки инновационных методов терапии, направленных на разрушение биопленок и снижение резистент-

ности бактерий, что особенно актуально в условиях растущей угрозы антибиотикорезистентности в птицеводстве.

Цель исследования – изучение в сравнительном аспекте микробиоты, выделенной из пристеночной и просветной микрофлоры перепелов.

Объекты и методы. Объектом исследования служили перепела породы Радонежская, разводимые в одном из птицеводческих хозяйств Омской области. Микроорганизмы для дальнейшего исследования выделяли из проб фекалий и содержимого различных участков кишечника и биотопов слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта перепелов породы Радонежская. Для исследования пристеночной микрофлоры отбирали биоптаты различных биотопов желудочно-кишечного тракта птиц, свободные от химуса. Материал помещали в стерильный фосфатный буфер (pH = 6,0) в соотношении 1 мг ткани в 100 мкл раствора на 2 ч для разжижения муцина. Микробиологические исследования пристеночного муцина проводили согласно методики, предложенной Б.А. Ефимовым, Л.И. Кафарской, В.М. Коршуновым [20].

Идентификацию выделенных культур микроорганизмов осуществляли путем посева на дифференциально-диагностические и селективные среды согласно методическим рекомендациям [18].

Для выделения энтеробактерий использовали среду Эндо, гемолитические формы бактерий выделены с использованием 5 % кровяного агара, также использовали среды Блаурокка для обнаружения бифидобактерий, среду МРС-2 для выявления лактобактерий.

Морфологию клеток оценивали путем микроскопирования дифференциально окрашенных препаратов по Граму и окраске эндоспор. Тесты на каталазную, оксидазную активность проводили согласно общепринятым методам [21]. Для установления родовой и видовой принадлежности бактерий использовали минимальный дифференцирующий биохимический ряд.

Идентификацию выделенных морфотипов колоний осуществляли с использованием масс-спектрометра MALDI-TOF MS (Bruker, ФРГ). Вначале осуществляли бактериологический посев проб фекалий и содержимого биоптатов желудочно-кишечного тракта перепелов. На втором этапе проводили пробоподготовку образцов

для проведения масс-спектрального анализа. С помощью бактериологической петли брали бактериальную массу из изолированных колоний и переносили на специальный чип. Для экстракции белковых молекул в пробу вносили 1 мкл раствора 70 %-й муравьиной кислоты. После чего на высохший слой образца наносили каплю перенасыщенного раствора матрицы, растворенной в 70 %-м ацетонитриле и 2,5 %-й трифторуксусной кислоте. В своих исследованиях в качестве матрицы использовали α -циано-4-гидроксинориную кислоту. Затем проводили масс-спектрометрический анализ на оборудовании Microflex (Bruker Daltonics, ФРГ). Анализ проводили путем регистрации усредненного масс-спектра положительных ионов после лазерных импульсов. Одновременно проводили обработку данных и их анализ с помощью программного пакета MALDI Biotyper v3 (ФРГ). При этом учитывали, что при SCORE > 2 вероятность проведенной идентификации являлась высокой, при SCORE в диапазоне от 1,7 до 2 считали, что культура идентифицирована только до рода, при SCORE < 1,7 считали, что культура микроорганизмов не идентифицирована.

Для определения биопленкообразующей способности микроорганизмов, выделенных из различных биотопов кишечного тракта перепелов, использовали метод посева бактериальных культур на питательный агар с Конго красным (Congo Red Agar, CRA-тест). Указанный метод основан на способности бактерий, синтезирующих внеклеточные полисахариды (экзополимеры), вступать во взаимодействие с красителем, что позволяет проводить визуальную дифференциацию биопленкообразующих колоний по их морфологическим признакам. Микроорганизмы, продуцирующие биопленку, на питательном агаре формируют колонии черного цвета с шероховатой поверхностью, обусловленной накоплением амилоида и целлюлозоподобных субстанций. В то же время культуры бактерий, не обладающие способностью к синтезу биопленочного матрикса, вырастают в виде гладких, глянцевых колоний ярко-красного или бордового цвета.

Подсчет популяционной плотности микрофлоры проводили с использованием мембранных фильтров. Вначале определенный объем исследуемой суспензии микроорганизмов фильтровали через мембранный фильтр с нанесенной сеткой. Затем микроорганизмы, осевшие на

фильтре, окрашивали и подсчитывали в 20 полях зрения с помощью микроскопа и окулярметра. Расчет общего количества микроорганизмов (x) в 1 мл суспензии производили по формуле

$$x = \frac{S \cdot N \cdot 10^6}{s \cdot V},$$

где S – фильтрующая площадь, мм²; 10^6 – переводной коэффициент мм² в мкм²; N – среднее количество бактерий в одном квадрате; s – площадь квадрата окулярного микрометра, мкм²; V – объем профильтрованной жидкости, мл.

Для анализа доли микроорганизмов в составе энтеромикробиоты использовали коэффициент постоянства вида – C . Указанный коэффициент вычисляли, используя формулу

$$C = p \cdot x \cdot 100/P,$$

где p – количество наблюдений с данным видом микроорганизма; P – общее количество всех наблюдений. Учитывали, если коэффициент составлял 50 % и более, микроорганизм относили к постоянной микробиоте. Если значение C было в пределах от 25 до 50 %, бактерии относили к добавочной микробиоте, а при C менее 25 % – к случайной. Взаимодействие между сочленами энтеромикробиоценозов (межмикробные связи) устанавливали при помощи коэффициента (индекса) сходства Жаккара по формуле

$$g = \left(\frac{c}{a+b-c} \right) \cdot 100 \%,$$

где g – коэффициент Жаккара; a – число наблюдений с видом «а»; b – число наблюдений с видом «b»; c – число наблюдений, содержащих оба вида [22].

При этом полученные результаты интерпретировали следующим образом: $g \leq 30$ % – антагонистические условия в энтеромикробиоценозе, от 30 до 70 % – выделенные микроорганизмы имеют высокую экологическую общность (синергизм), ≥ 70 % – возможно только совместное сосуществование бактерий.

Полученные цифровые данные предварительно вводили и обрабатывали в электронных таблицах MS Excel для последующего статистического анализа. Биостатистический анализ производили на программном обеспечении SPSS Statistics v 27.0 (IBM, США) и Stat Tech v.3.1.7.

Сравнение количественных переменных при нормальном распределении проводили с использованием t -критерия Стьюдента. Статистическую значимость различий оценивали по уровню $p < 0,05$, что расценивалось как достоверное отличие между сравниваемыми группами.

Результаты и их обсуждение. Проведенные бактериологические и протеомные исследования показали, что в просветной и пристеночной кишечной микробиоте перепелов 30-суточного возраста идентифицированы следующие таксономические единицы бактерий: *Escherichia coli*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*.

Установлено, что ряд изолированных бактериальных штаммов обладал способностью к формированию биологических пленок. Наибольший процент культур *Escherichia coli* (30,0 %), способных к образованию биопленки, был выделен из микробиоты слепых отростков (табл. 1). В то же время минимальное количество культур, обладающих биопленкообразующими свойствами, приходилось на бактерии *Enterococcus faecalis*, изолированных из микрофлоры тонкого и толстого кишечника перепелов. Необходимо указать, что ни одна из культур бактерий *Enterobacter cloacae* не обладала способностью к образованию биологических пленок.

Анализ полученных результатов показал, что наибольшую популяционную плотность наблюдали у микроорганизмов *Lactobacillus spp.*, изолированных из просветной микрофлоры толстого кишечника перепелов, которая составляла $(8,3 \pm 0,4)$ lg КОЕ/г. Высокая концентрация *Lactobacillus spp.* может свидетельствовать о значительном участии этих микроорганизмов в обеспечении физиологического равновесия и метаболической активности кишечного биотопа. В то же время наименьший показатель популяционной плотности среди выделенных сочленов энтеромикробиоценоза регистрировали у бактерии вида *Proteus vulgaris* – $(2,1 \pm 0,08)$ lg КОЕ/г (табл. 2). Низкая численность *Proteus vulgaris* предполагает их ограниченное распространение и эпизодическую колонизацию данного участка кишечника.

Таблица 1

**Доля биопленкообразующих микроорганизмов среди выделенных культур
из различных биотопов кишечного тракта перепелов**
**Proportion of biofilm-forming microorganisms among isolated cultures
from various intestinal tract biotopes of quails**

Выделенные культуры	Тонкий кишечник		Толстый кишечник		Слепые отростки		Клоака	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Escherichia coli</i>	2	20,0	1	10,0	3	30,0	–	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	9,0	–	–	–	–	1	9,0
<i>Enterobacter cloacae</i>	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Proteus vulgaris</i>	2	25,0	–	–	–	–	1	12,5
<i>Lactobacillus spp.</i>	2	20,0	1	10	2	20,0	–	–
<i>Bifidobacterium spp.</i>	1	16,6	1	16,6	–	–	–	–

Здесь и далее: «–» – не обнаружен.

Таблица 2

Популяционная плотность просветной микрофлоры кишечного тракта перепелов, lg КОЕ/г
Population density of luminal microflora of the intestinal tract of quails, lg CFU/g

Выделенные культуры	Биотоп кишечника			
	Тонкий кишечник	Толстый кишечник	Слепые отростки	Клоака
<i>Enterococcus faecalis</i>	2,3 ± 0,3	1,8 ± 0,2	1,1 ± 0,4	2,1 ± 0,1
<i>Escherichia coli</i>	3,1 ± 0,1	7,4 ± 0,4	6,7 ± 0,6	3,3 ± 0,2
<i>Enterobacter cloacae</i>	2,1 ± 0,06	4,2 ± 0,2	5,4 ± 0,4	3,9 ± 0,1
<i>Proteus vulgaris</i>	–	2,1 ± 0,08	–	–
<i>Lactobacillus spp.</i>	5,4 ± 0,2	8,3 ± 0,4	7,4 ± 0,3	5,3 ± 0,4
<i>Bifidobacterium spp.</i>	6,8 ± 0,3	8,0 ± 0,7	5,3 ± 0,4	2,2 ± 0,08

Установлено, что доминирующими таксонами, формирующими ядро энтеробиоценоза в составе просветной микрофлоры различных биотопов кишечного тракта перепелов, были следующие микроорганизмы: *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и *Escherichia coli* при коэффициентах постоянства в тонком кишечнике 100 %, 92,4 и 96,1 % соответственно (табл. 3). Группа транзиторных сочленов энтеромикробиоценоза тонкого кишечника перепелов пред-

ставлена 3 видами бактерий: *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Citrobacter diversus*. Данные микроорганизмы характеризуются более низкой степенью постоянства, что указывает на их непостоянное присутствие в исследуемом биотопе. Несмотря на такую вариабельность, данные виды способны взаимодействовать с ядром микробиоты, способствуя поддержанию микробного гомеостаза.

Таблица 3

**Коэффициент постоянства микроорганизмов,
выделенных из просветного биотопа кишечника перепелов**
**Coefficient of constancy of microorganisms
isolated from the luminal biotope of the intestine of quails**

Микроорганизм	Коэффициент постоянства микрофлоры (С), %			
	Тонкий кишечник	Толстый кишечник	Слепые отростки	Клоака
<i>Enterococcus faecalis</i>	12,3	11,7	15,3	18,1
<i>Escherichia coli</i>	96,1	80,3	92,3	97,3
<i>Enterobacter cloacae</i>	18,3	11,9	16,0	11,4
<i>Proteus vulgaris</i>	–	1,9	–	–
<i>Lactobacillus spp.</i>	100	100	93,6	89,2
<i>Bifidobacterium spp.</i>	92,4	98,3	90,1	93,4

В толстом кишечнике, как и в тонком, доминирующими микроорганизмами выступали представители трех таксономических групп: *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и *Escherichia coli* с коэффициентами постоянства 100 %, 98,3 и 80,3 % соответственно. Необходимо отметить, что в толстом кишечнике среди популяции транзитной микрофлоры отмечено резкое снижение коэффициента постоянства бактерии вида *Citrobacter diversus* с 6,2 до 2,4 % (на 61,3 %). Кроме того, в просветной микрофлоре толстого кишечника обнаруживали персистенцию условно-патогенного микроорганизма *Proteus vulgaris* с коэффициентом постоянства 1,9 % и популяционной плотностью порядка $(2,1 \pm 0,08)$ lg КОЕ/г. В слепых отростках кишечного тракта перепелов в просветной микрофлоре наибольший коэффициент постоянства отмечали у бактерий рода *Lactobacillus spp.* – 93,6 % при высокой популяционной плотности $(7,4 \pm 0,3)$ lg КОЕ/г. Минимальный показатель коэффициента в данном биотопе регистрировали у бактерий *Enterococcus faecalis* – 15,3 %. В составе просветной микрофлоры клоаки перепелов максимальную популяционную плотность регистрировали у культур *Lactobacillus spp.* $(5,3 \pm 0,4)$ lg КОЕ/г, а минимальную – у *Enterococcus faecalis* $(2,1 \pm 0,1)$ lg КОЕ/г. Наивысшие коэффициенты постоянства микроорганизмов в клоакальном микробиоценозе отмечены у трех бактериальных таксонов, а именно у *Escherichia coli* (97,3 %), *Lactobacillus spp.* (89,2 %) и *Bifidobacterium spp.* (93,4 %).

В микробиоценозе пристеночной микрофлоры тонкого кишечника перепелов наибольшую популяционную плотность отмечали у культур *Lactobacillus spp.* $(7,4 \pm 1,6)$ lg КОЕ/г, а наи-

меньшую – у *Escherichia coli* $(2,1 \pm 0,8)$ lg КОЕ/г, при этом 100 % коэффициент постоянства наблюдали у *Bifidobacterium spp.*, *Escherichia coli* и *Lactobacillus spp.* (табл. 4, 5). Схожую тенденцию регистрировали и в микробиоценозе толстого кишечника. В данном отделе кишечного тракта перепелов так же, как и в тонком, наибольшую популяционную плотность микробиоты отмечали у бактерий рода *Lactobacillus*. В пристеночной микрофлоре слепых отростков кишечника перепелов максимальную популяционную плотность регистрировали также у бактерий рода *Lactobacillus* $(5,2 \pm 0,9)$ lg КОЕ/г, а минимальную – у *Escherichia coli* $(3,3 \pm 0,3)$ lg КОЕ/г. В то же время 100 % коэффициент постоянства микрофлоры в слепых отростках кишечника перепелов наблюдали только у культур бактерий рода *Lactobacillus*. Несколько меньше этот показатель был зарегистрирован у *Escherichia coli* (98,3 %) и *Bifidobacterium spp.* (98,1 %). В пробах клоакального содержимого пристеночного биотопа наблюдали 100 %-й эффект постоянства микрофлоры у бактерий рода *Lactobacillus* и несколько меньшую у микроорганизмов *Escherichia coli* (98,3 %) и *Bifidobacterium spp.* (87,3 %). При этом, аналогично предыдущим биотопам кишечного тракта, наивысшую популяционную плотность отмечали у бактерий рода *Lactobacillus* $(4,6 \pm 0,8)$ lg КОЕ/г. Данные показатели указывают на стабильное присутствие и доминирование *Lactobacillus spp.* в различных биотопах кишечника перепелов. Снижение коэффициента постоянства у *Bifidobacterium spp.* и *Escherichia coli* свидетельствует о большей вариабельности их распределения и возможной чувствительности к локальным условиям среды.

Таблица 4

Популяционная плотность пристеночной микробиоты кишечного тракта перепелов (30 сут), lg КОЕ/г

Population density of parietal microbiota of the intestinal tract of quails (30 days), lg CFU/g

Выделенные культуры	Биотоп кишечника			
	Тонкий кишечник	Толстый кишечник	Слепые отростки	Клоака
<i>Escherichia coli</i>	2,1±0,8	3,6±0,3	3,3±0,3	4,1±0,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	2,3±0,4	4,4±0,8	4,0±0,1	2,5±0,1
<i>Enterococcus faecium</i>	3,3±0,6	4,8±0,9	4,4±0,7	2,5±0,3
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4,1±0,2	5,6±1,0	3,6±0,2	3,0±0,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,8±0,2	6,7±1,0	4,0±0,4	3,5±0,1
<i>Bifidobacterium spp.</i>	6,6±0,8	6,8±0,8	4,6±0,5	4,0±0,6
<i>Lactobacillus spp.</i>	7,4±1,6	7,8±1,1	5,2±0,9	4,6±0,8

Полученные данные отражают неоднородное распределение численности бактерий по разным отделам кишечника перепелов. Особенно заметно выделяется высокая концентрация *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* в тонком и толстом кишечнике, что подтверждает их клю-

чевое значение для микробиологической экосистемы этих участков. Высокие показатели постоянства и популяционной плотности этих бактерий свидетельствуют об их адаптивной устойчивости и важности в обеспечении нормального функционирования кишечного микробиома.

Таблица 5

**Коэффициент постоянства бактерий,
выделенных из пристеночного биотопа кишечника перепелов**
The coefficient of constancy of bacteria isolated from the parietal biotope of the intestine of quails

Выделенные культуры	Коэффициент постоянства микрофлоры (С), %			
	Тонкий кишечник	Толстый кишечник	Слепые отростки	Клоака
<i>Escherichia coli</i>	100	100	98,3	92,2
<i>Enterococcus faecalis</i>	35,6	40,2	33,7	19,6
<i>Enterococcus faecium</i>	12,7	18,3	10,1	5,6
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	16,7	18,6	14,3	12,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	18,3	16,1	10,3	9,1
<i>Bifidobacterium spp.</i>	100	100	98,1	87,3
<i>Lactobacillus spp.</i>	100	100	100	100

Для оценки сопряженных связей между микроорганизмами в изучаемых биотопах нами был вычислен коэффициент Жаккара, который является наиболее информативным показателем микробиологической общности бактерий. Установлено, что в составе просветной микрофлоры

кишечного биотопа зарегистрирована одна ассоциация бактерий с высоким коэффициентом Жаккара (табл. 6). Для остальных видов микроорганизмов формирование устойчивых ассоциаций не было установлено (коэффициент Жаккара – менее 30 %).

Таблица 6

**Коэффициенты Жаккара микроорганизмов,
выделенных из просветной микрофлоры кишечного биотопа перепелов, %**
**Jaccard coefficients of microorganisms
isolated from the luminal microflora of the intestinal biotope of quails, %**

Микроорганизм	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>
<i>Escherichia coli</i>	16,6	–	8,6	12,3	7,3
<i>Enterococcus faecalis</i>	–	10,3	6,4	5,2	8,2
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	12,6	8,6	–	4,4	11,4
<i>Bifidobacterium spp.</i>	16,3	11,4	12,6	–	36,7
<i>Lactobacillus spp.</i>	12,4	6,8	11,7	36,7	–

Несколько другие закономерности наблюдали в микробной популяции пристеночной микрофлоры. Выявлено формирование нескольких устойчивых ассоциаций бактерий с высоким коэффициентом Жаккара (табл. 7), в частности *Escherichia coli* и *Bifidobacterium spp.* (35,3 %),

Escherichia coli и *Lactobacillus spp.* (42,4 %), *Bifidobacterium spp.* и *Enterococcus faecalis* (31,7 %), *Lactobacillus spp.* и *Enterococcus faecalis* (33,6 %), а также *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* (33,1 %).

**Коэффициенты Жаккара микроорганизмов,
выделенных из пристеночной микрофлоры кишечного биотопа перепелов, %
Jaccard coefficient of microorganisms
isolated from the parietal microflora of the intestinal biotope of quails, %**

Микроорганизм	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>
<i>Escherichia coli</i>	–	12,4	18,6	20,3	12,6
<i>Enterococcus faecalis</i>	8,3	–	12,9	11,4	11,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,1	18,6	–	8,6	16,2
<i>Bifidobacterium spp.</i>	35,3	31,7	22,3	–	28,6
<i>Lactobacillus spp.</i>	42,4	33,6	19,7	33,1	–

Закключение. Таким образом, проведенные микробиологические исследования показали, что в различных биотопах кишечного тракта перепелов обнаружены микроорганизмы, принадлежащие к 3 таксономическим группам. Наибольшая популяционная плотность бактерий отмечалась у микроорганизмов вида *Escherichia coli*, родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*. При этом как в полостной, так и в пристеночной микрофлоре наиболее высокий коэффициент постоянства также принадлежал бактериям *Escherichia coli*, *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*, который у всех перечисленных микроорганизмов был больше 70 %.

Кроме того, ряд выделенных микроорганизмов показал высокий процент культур, способных к биопленкообразованию. Так, наибольшая доля биопленкообразующих культур приходилась на бактерии вида *Escherichia coli* (30,0 %). Ряд микроорганизмов характеризовались средней способностью об-

разовывать биопленки, в частности *Proteus vulgaris* – 25,0 % и *Lactobacillus spp.* – 20,0 %.

Анализ сопряженных связей в составе микробиоценоза кишечного тракта перепелов выявил в просветной микрофлоре 1 ассоциацию бактерий, тогда как в пристеночном биотопе – 5 ассоциаций, способных к синергическому существованию, что может указывать на ведущую роль пристеночной микробиоты в процессе формирования и развития кишечного пищеварения, а также значительно усиливать гистобактериальный комплекс желудочно-кишечного тракта перепелов.

Считаем, что совокупность полученных данных в определенной мере расширяет и дополняет имеющиеся представления для оценки и интерпретации микрoэкологического статуса различных биотопов кишечного тракта перепелов, как при физиологических нарушениях, так и при инфекционной патологии, что может служить диагностическим и прогностическим критерием для выбора мер профилактики и лечения.

Список источников

1. Шмидт Г.О. Видовой состав и возрастная динамика микроорганизмов пищеварительного тракта перепелов. В сб.: Научные труды ОмГАУ «Достижения сравнительной, возрастной и видовой морфологии - практике ветеринарной медицины». Омск, 2011. С. 234–237.
2. Шмидт Г.О. Коррекция микрофлоры пищеварительного тракта перепелов с помощью ЭМ-препарата. В сб.: V Международная студенческая научно-практическая конференция «Интеллектуальный потенциал XXI века: ступени познания». Новосибирск, 2011. С. 42–45.
3. Филатов В.И., Нефедова Е.В., Мерзлякова О.Г. Видовой состав микроорганизмов желудочно-кишечного тракта перепелов при скормливании кормовой добавки Кормомикс-МОС // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. 2019. № 3. С. 21–24.

4. Фисинин В.И., Лаптев Г.Ю., Никонов И.Н., и др. Изменение бактериального сообщества в желудочно-кишечном тракте кур в онтогенезе // *Сельскохозяйственная биология*. 2016. Т. 51, № 6. С. 883–890. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.6.883rus.
5. Фисинин В.И., Ильина Л.А., Йылдырым Е.А., и др. Бактериальное сообщество слепых отростков кишечника цыплят-бройлеров на фоне питательных рационов различной структуры // *Микробиология*. 2016. Т. 85, № 4. С. 472–480. DOI: 10.7868/S0026365616040054.
6. Xizhong D., Yun X., Fangfang L., et al. Microbial Community and Short-Chain Fatty Acid Mapping in the Intestinal Tract of Quail // *Animals (Basel)*. 2020. Vol. 10, N 6. P. 1006.
7. Ouwerkerk J., de Vos W., Belzer C. Glycobiome: bacteria and mucus at the epithelial interface // *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2013. N 27. P. 25–38.
8. Чернин В.В., Бондаренко В.М., Парфенов А.И. Участие просветной и мукозной микробиоты кишечника человека в симбиотном пищеварении // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2013. № 4. С. 1–14.
9. Корнеев М.Н., Миронов А.Ю., Селезнев А.С., и др. Микробиота пристеночного муцина и ее модификация пробиотиками // *Человек и его здоровье*. 2008. № 2. С. 6–10.
10. Медведева О.А., Калуцкий П.В., Беседин А.В., и др. Исследование пристеночной микрофлоры кишечника мышей в условиях аномального магнитного поля в норме и при экстремальном дисбиозе // *Человек и его здоровье*. 2010. № 2. С. 15–21.
11. Воробьев А.А., Несвижский Ю.В., Богданова Е.А., и др. Особенности микробиоценоза пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта крыс // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2005. № 6. С. 3–7.
12. Несвижский Ю.В., Богданова Е.А., Зверев В.В., и др. Микробиоценоз пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта крыс с индуцированным дисбиозом // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2007. № 3. С. 57–60.
13. Воробьев А.А., Несвижский Ю.В., Липницкий Е.М., и др. Исследование пристеночной микрофлоры желудочно-кишечного тракта у человека в норме и при патологии // *Вестник РАМН*. 2004. № 2. С. 43–47.
14. Jurankova J., Lata J., Pribramska V., et al. Intestinal microflora part I – general overview // *Folia Gastrauteroe Hepatoc*. 2008. Vol. 6, N 4 P. 150–54.
15. Swidisinski A., Loening-Baucke V., Theissig F., et al. Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon // *Gut*. 2007. N 56. P. 343–350.
16. Johansson M.V., Hansson G.C. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins // *Nat Rev Immunol*. 2016. N 16. P. 633–649.
17. Li H., Limenitakis J., Fuhrer T., et al. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins // *Nat Commun*. 2015. N 6. P. 82–92.
18. Ringel Y., Maharshak N., Ringel-Kulka, et al. High throughput sequencing reveals distinct microbial populations within the mucosal and luminal niches in healthy individuals // *Gut Microbes*. 2015. N 6. P. 173–181.
19. Ленченко Е.М., Блюменкранц Д.А. Исследование биопленок микроорганизмов при дисбактериозах кишечника у животных // *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2020. № 1 (33). С. 55–66. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202001009.
20. Ефимов Б.А., Кафарская Л.И., Коршунов В.М. Современные методы оценки качественных и количественных показателей микрофлоры кишечника и влагалища // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2002. № 4. С. 72–78.
21. Выделение и идентификация бактерий желудочно-кишечного тракта животных: методические рекомендации. М.: 2004. 80 с.
22. Городничев Р.М., Пестрякова Л.А., Ушницкая Л.А., и др. Методы экологических исследований. Основы статистической обработки данных: учебно-методическое пособие. Якутск: СВФУ, 2019. 94 с.

References

- Schmidt GO. Vidovoj sostav i vozrastnaya dinamika mikroorganizmov pischevaritel'nogo trakta perepelov. In: Nauchnye trudy OmGAU "Dostizheniya sravnitel'noj, vozrastnoj i vidovoj morfologii – praktike veterinarnoj mediciny", Omsk State Agrarian University. Omsk; 2011. P. 234–237. (In Russ).
- Schmidt GO. Korrekciya mikroflory pischevaritel'nogo trakta perepelov s pomosch'yu EM-preparata. In: V Mezhdunarodnaya studencheskaya nauchno-prakticheskaya konferenciya "Intellektual'nyj potencial XXI veka: stupeni poznaniya", Novosibirsk; 2011. P. 42–45. (In Russ).
- Filatov VI, Nefedova EV, Merzlyakova OG. Species composition of microorganisms of the gastrointestinal tract of quails when feeding the feed additive Kormomix-MOS. *Feeding of farm animals and forage production*. 2019;3:21-24. (In Russ.).
- Fisinin VI, Laptev GYu, Nikonov IN, et al. Changes in the bacterial community in the gastrointestinal tract of chickens during ontogenesis. *Agricultural Biology*. 2016;51(6):883-890. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.6.883rus. (In Russ.).
- Fisinin VI, Ilyina LA, Yildirim EA, et al. Bacterial community of the caecum of broiler chickens on the background of nutrient diets of different structures. *Microbiology*. 2016;5(4):472-480. DOI: 10.7868/S0026365616040054. (In Russ).
- Xizhong D, Yun X, Fangfang L, et al. Microbial Community and short-chain fatty acid mapping in the intestinal tract of quail. *Animals (Basel)*. 2020;10(6):1006.
- Ouwerkerk J, de Vos W, Belzer C. Glycobiome: bacteria and mucus at the epithelial interface. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2013;(27):25-38.
- Chernin VV, Bondarenko VM, Parfenov AI, Participation of the luminal and mucosal microbiota of the human intestine in symbiotic digestion. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2013;(4):1-14. (In Russ.).
- Korneev MN, Mironov AYu, Seleznev AS, et al. Microbiota of parietal mucin and its modification by probiotics. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2008;(2):6-10. (In Russ.).
- Medvedeva OA, Kalutskiy PV, Besedin AV, et al. Study of parietal intestinal microflora of mice under conditions of abnormal magnetic field in norm and in extreme dysbiosis. *Kursk scientific and practical bulletin "Man and his health"*. 2010.(2):15-21. (In Russ.).
- Vorobiev AA, Nesvizhsky YuV, Bogdanova EA, et al. Features of the microbiocenosis of parietal mucin of the gastrointestinal tract of rats. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2005.(6):3-7. (In Russ.).
- Nesvizhskiy YuV, Bogdanova EA, Zverev VV, et al. Microbiocenosis of parietal mucin of the gastrointestinal tract of rats with induced dysbiosis. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2007.(3):57-60. (In Russ.).
- Vorobyov AA, Nesvizhsky YuV, Lipnitsky EM, et al. Study of the parietal microflora of the gastrointestinal tract in humans in norm and pathology. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2004.(2):43-47. (In Russ.).
- Jurankova J, Lata J, Pribramska V, et al. Intestinal microflora part I – general overview. *Folia Gastrauteroe Hepatoe*. 2008;6(4):150-54.
- Swidinski A, Loening-Baucke V, Theissig F, et al. Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. *Gut*. 2007;56:343-50.
- Johansson MV, Hansson GC. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:633-49.
- Li H, Limenitakis J, Fuhrer T, et al. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. *Nat Commun*. 2015;6:82-92.
- Ringel Y, Maharshak N, Ringel-Kulka, et al. High throughput sequencing reveals distinct microbial populations within the mucosal and luminal niches in healthy individuals. *Gut Microbes*. 2015;6:173-181.
- Lenchenko EM, Blumenkrantz DA. Study of microbial biofilms in intestinal dysbacteriosis in animals // *Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2020;1(33):55-66. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202001009. (In Russ.).

20. Efimov BA, Kafarskaia LI, Korshunov VM. Modern methods for the evaluation of qualitative and quantitative changes in the characteristics of intestinal and vaginal microflora. *Journal of Microbiology Epidemiology Immunobiology*. 2002;(4):72-78.
21. Methodological recommendations "Isolation and identification of bacteria of the gastrointestinal tract of animals", Approved by the Department of Veterinary Science of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation, 2004. 80 p. (In Russ).
22. Gorodnichev RM, Pestryakova LA, Ushnickaya LA, et al. *Methods of environmental research. Fundamentals of statistical data processing: a teaching aid*. Yakutsk: Publishing house of NEFU; 2019. 94 p. (In Russ.).

Статья принята к публикации 30.10.2025 / The article accepted for publication 30.10.2025.

Информация об авторах:

Надежда Алексеевна Лещева, заведующая кафедрой ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней, кандидат ветеринарных наук, доцент

Валентина Ивановна Плешакова, профессор кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней, доктор ветеринарных наук, профессор

Игорь Викторович Антонеvский, аспирант кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней

Елизавета Вячеславовна Фрик, аспирант кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней

Information about the authors:

Nadezhda Alekseevna Leshcheva, Head of the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Invasive Diseases, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor

Valentina Ivanovna Pleshakova, Professor at the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Invasive Diseases, Doctor of Veterinary Sciences, Professor

Igor Viktorovich Antonevsky, Postgraduate student at the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Invasive Diseases

Elizaveta Vyacheslavovna Frick, Postgraduate student at the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Invasive Diseases

