

ИЗМЕНЕНИЕ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА У ЦЫПЛЯТ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ И ПРИ ВВЕДЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

КЛЕТИКОВА Людмила Владимировна, Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. Д.К. Беляева

МАННОВА Мария Сергеевна, Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. Д.К. Беляева

ЯКИМЕНКО Нина Николаевна, Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. Д.К. Беляева

Представлен видовой состав микрофлоры пищеварительного тракта цыплят кросса Dekalb, показаны ее изменения в период раннего постэмбрионального развития на фоне введения БАВ. Даны оценка применения пробиотиков и их комбинаций. Цыплятам 2, 3 и 4-й опытных групп вводили биологически активные вещества: пробиотик Зоонорм – 0,2 г на 1 голову утром в смеси с кормом; взвесь энтеросорбента на основе полиметилсилоксана полигидрата – 0,3 % через 2 ч после последнего кормления; комбинацию двух препаратов. Препараты применяли в течение 20 дней. Состав кишечной микрофлоры изучали у 15- и 25-суточных цыплят и спустя 10 дней после отмены БАВ. Результаты показали, что в критический период развития в контрольной и опытных группах цыплят снижалась численность кишечных резидентов. У контрольных цыплят отмечалась пролиферация Enterobacter cloacae и повышалось количество клостридий. На фоне пробиотика увеличивалась и восстанавливалась численность лактобактерий, энтерококков и E. coli (типичной). При введении энтеросорбента повышалось содержание лактобактерий, пролиферация Enterobacter cloacae на всем протяжении опыта отсутствовала. Комбинация пробиотика и энтеросорбента не допускает развитие патогенов, стимулирует рост лактобактерий, энтерококков и стабилизирует количество типичной E. coli и бактероидов. Установлено регулирующее и стабилизирующее влияние на кишечный биом комбинации пробиотика и энтеросорбента; выяснена метаболическая и антагонистическая функция бифидобактерий у цыплят на раннем этапе постэмбрионального развития.

Введение. Желудочно-кишечный тракт птиц представляет собой одну из наиболее сложных микроэкологических сред организма. Пищеварительный канал заселяют разнообразные анаэробные и аэробные микроорганизмы, которые распределяются как вертикально (от ротовой полости до нижних (дистальных) отделов толстой кишки), так и горизонтально (от просвета до различных слоев слизистой оболочки – мукозная, или пристеночная микрофлора) [2, 7]. Заселение пищеварительного канала определенными видами и даже штаммами микроорганизмов приводит к формированию нормального биоценоза, который обеспечивает колонизационную резистентность организма к возбудителям кишечных инфекций. С современных позиций колонизационная резистентность относится к факторам неспецифической защиты [9]. Кишечная микрофлора выполняет морфокинетическую, энергетическую, детоксикационную, ферментопродуцирующую, синтетическую, метаболическую функции, поддерживает синтез иммуноглобулинов, стимулирует образование В-лимфоцитов, плазматических клеток, регулирует содержание лизоцима, пропердина, комплемента и его фракций. Кроме того,

способствует развитию и созреванию иммунной системы кишечника и повышает защитные свойства его слизистой оболочки, а также обеспечивает ключевые сигналы для созревания иммунной системы и активно контролирует связанный с кишечником иммунный гомеостаз [3, 11, 13, 16]. Поэтому микрофлора желудочно-кишечного тракта – это дополнительный орган, выполняющий незаменимые функции [15].

Первым критическим периодом для развития и выживания цыплят считаются 7–10 дней после вывода, в течение которых в организме происходит метаболический и физиологический переход от питания в яйце за счет желтка к смешанному, а затем к экзогенному питанию. При этом у цыплят кишечник очень быстро увеличивается в объеме, что способствует эффективному использованию питательных веществ корма. Замедленное формирование кишечной микрофлоры в первые дни жизни ставит существование молодняка птицы в зависимость от санитарного состояния кормов, воды и условий содержания [4]. Содержание микроорганизмов в кишечнике непосредственно коррелирует с состоянием пищеварительной системы. Доказано, что

81

АГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

10
2020



увеличение содержания полезных бацилл и лактобактерий в слепых отростках кишечника кур связано со снижением содержания *Clostridium perfringens*, пастерелл и энтеробактерий соответственно [5].

На качественный и количественный состав микрофлоры влияют различные факторы: экологические условия (санитарно-гигиенические, профессиональные, химические, радиационные и др.), климато-географические условия, качество и характер питания, различные иммунные нарушения, гиподинамия, стрессы, а также состав кишечной флоры, нарушающийся при различных заболеваниях желудочно-кишечного тракта [1].

Таким образом, при выращивании цыплят в условиях урбоэкосистемы встает вопрос о заселении кишечника полезными бактериями.

Поскольку своевременное формирование микробиоценоза служит фундаментом для здоровья и обеспечивает оптимальную адаптацию организма цыплят к новым условиям существования, то цель нашего исследования – изучение влияния пробиотика, кишечного энтеросорбента и их комплекса на формирование нормобиоценоза у цыплят на раннем этапе постэмбрионального развития.

Методика исследований. Экспериментальное исследование выполнено в 2020 г. на кафедре акушерства, хирургии и незаразных болезней животных ФГБОУ ВО Ивановская ГСХА. Цыплят размещали в виварии кафедры и содержали по 10 голов в клетках. Температурно-влажностный режим и нормы кормления соответствовали возрасту цыплят. В качестве основного рациона цыплята получали комбинированный корм «Солнышко» (АО «Капитал-ПРОК», Россия); поение осуществляли кипяченой водой температурой 20–22 °C из групповых поилок без ограничений.

Для проведения опыта сформировали 4 группы 5-суточных цыплят-аналогов кросса Dekalb по 40 голов в каждой: 1-я группа – контроль, 2, 3 и 4-я группы – опытные. Цыплятам опытных групп давали препараты в течение 20 дней (с 5- до 25-суточного возраста), после их отмены вели наблюдение в течение 10 последующих дней.

Цыплята 2-й группы получали пробиотик Зоонорм в смеси с кормом в дозе 0,2 г на 1 голову в первое (утреннее) кормление; 3-й группы – 0,3 % взвеси энтеросорбента, изготовленного на основе полиметилсилоксана полигидрата (ПМС ПГ) путем выпойки через 2 ч после последнего (вечернего) кормления; 4-й группы – комбинацию двух препаратов, в соответствующее время.

Пробы кала для микробиологических исследований отбирали непосредственно из клоаки в

стерильные контейнеры (FL-medical) в 5-, 15-, 25- и 35-суточном возрасте.

Оценку микрофлоры проводили по стандартному протоколу, предусматривающему количественное определение *Bifidobacterium*; *Lactobacillus*; *E. coli* (с нормальной ферментативной активностью, со сниженной ферментативной активностью, лактозонегативной и гемолизирующими активностью); *Enterococcus*; *Klebsiella*; *Enterobacteriaceae* (*Hafnia*, *Serratia*, *Citrobacter*); *Enterobacter*; *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Clostridium*; неферментирующих грамотрицательных бактерий; патогенных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* (*Salmonella*, *Shigella* и энтеропатогенной кишечной палочки (O157:H7)); *Proteus* и *Candida*.

Результаты исследований. Основными резидентами пищеварительного канала у цыплят являются бифидо- и лактобактерии. Первым принадлежит ведущая роль в нормализации и поддержании микробиоценоза кишечника, улучшении процессов обмена веществ и повышении неспецифической резистентности. Бифидобактерии участвуют в ферментативных процессах, выполняют витаминобразующую и антагонистическую функции, улучшают показатели белкового, липидного и минерального обменов [6, 12]. Вторые угнетают рост гнилостных и условно-патогенных микроорганизмов, выделяя молочную кислоту, лизоцим, бактериоцины и другие вещества.

Лактобактерии способны увеличивать синтез IgA, который предупреждает адгезию патогенных бактерий на слизистых оболочках, проникает в энteroциты кишечника и действует на репликационный цикл вирусов, находящихся внутри клеток [10]. У 5-суточных цыплят 1–4-й групп содержание бифидобактерий составило 10^9 КОЕ/мг, лактобактерий – от 10^6 до 10^7 КОЕ/мг. Типичная *E. coli* создает комфортные условия для первых двух микроорганизмов, препятствует заселению кишечной стенки чужеродными микроорганизмами. Ее содержание достигало 10^6 – 10^7 КОЕ/мг (т.е. до 300 млн/г), что очень ценно, так как снижение концентрации до менее чем 10^5 КОЕ/мг свидетельствует о выраженных процессах интоксикации в организме. Другие представители индigenной кишечной микрофлоры, энterokokki также участвуют в метаболических процессах, гидролизе сахаров, деконъюгирования желчных кислот, элиминации патогенных бактерий [8]. Количественное их содержание в кишечнике находится в строгом соответствии с уровнем содержания *E. coli* (типичной),





лактобацилл и бифидобактерий, у 5-суточных цыплят колеблется в пределах 10^4 – 10^6 КОЕ/мг. Немаловажное значение для организма хозяина имеют и бактероиды, которые выполняют метаболические превращения, связанные с деградацией белков и сложных сахарных полимеров, участвуют в регулировке дифференциации эпителиальных клеток кишечника, созревании и стимуляции иммунной системы [14]. Их уровень у 5-суточных цыплят 10^5 – 10^7 КОЕ/мг.

Концентрация лактозонегативных *E. coli* и клостридий не превышала 10^2 КОЕ/мг и 10^1 – 10^2 КОЕ/мг соответственно, что не представляло угрозы для здоровья цыплят. *Staphylococcus epidermidis* в экологии организма цыплят требует выявления критериев его присутствия. У 5-суточных цыплят его уровень не превышал 10^2 КОЕ/мг, что можно оценить как вариант нормы.

Анализируя изменения видового и количественного состава микрофлоры у цыплят контрольной группы установили, что на 15-е сутки произошло снижение концентрации лактобактерий и *E. coli* (типичной) до 10^5 и 10^4 КОЕ/мг соответственно, что, вероятно, обусловлено наступлением линьки (замена пуха на первичное перо). На 25-е сутки изменился

микробный пейзаж. Возрастало количество лактобактерий, типичных *E. coli*, бактероидов, энтерококков, *Staphylococcus epidermidis* сообразно до 10^6 , 10^6 , 10^5 , 10^7 и 10^3 КОЕ/мг, а также отмечали усиленную пролиферацию *Enterobacter cloacae*. К 35-суточному возрасту наблюдали повышение количества клостридий до 10^3 КОЕ/мг, в остальных случаях достоверных изменений не было (рис. 1).

Во 2-й группе 15-суточных цыплят, получавших пробиотик Зоонорм, содержание лактобактерий и *E. coli* (типичной) снизилось так же, как и у цыплят контрольной группы. У 25-суточных цыплят отмечали повышение лактобактерий до 10^7 КОЕ/мг, снижение энтерококков – до 10^4 КОЕ/мг, у 35-суточных – восстановление уровня энтерококков и *E. coli* (типичной) до первоначального показателя и незначительную пролиферацию *Enterobacter cloacae* (рис. 2).

В 3-й группе цыплят, получавших энтеросорбент, на 15-е и 25-е сутки отмечали снижение лактобактерий, *E. coli* (типичной) и бактероидов до 10^5 КОЕ/мг и повышение содержания энтерококков до 10^7 КОЕ/мг. К 35-суточному возрасту наблюдали увеличение содержания лактобактерий до 10^7 КОЕ/мг, наличие клостридий менее чем 10^1 КОЕ/мг, отсутствие пролиферации

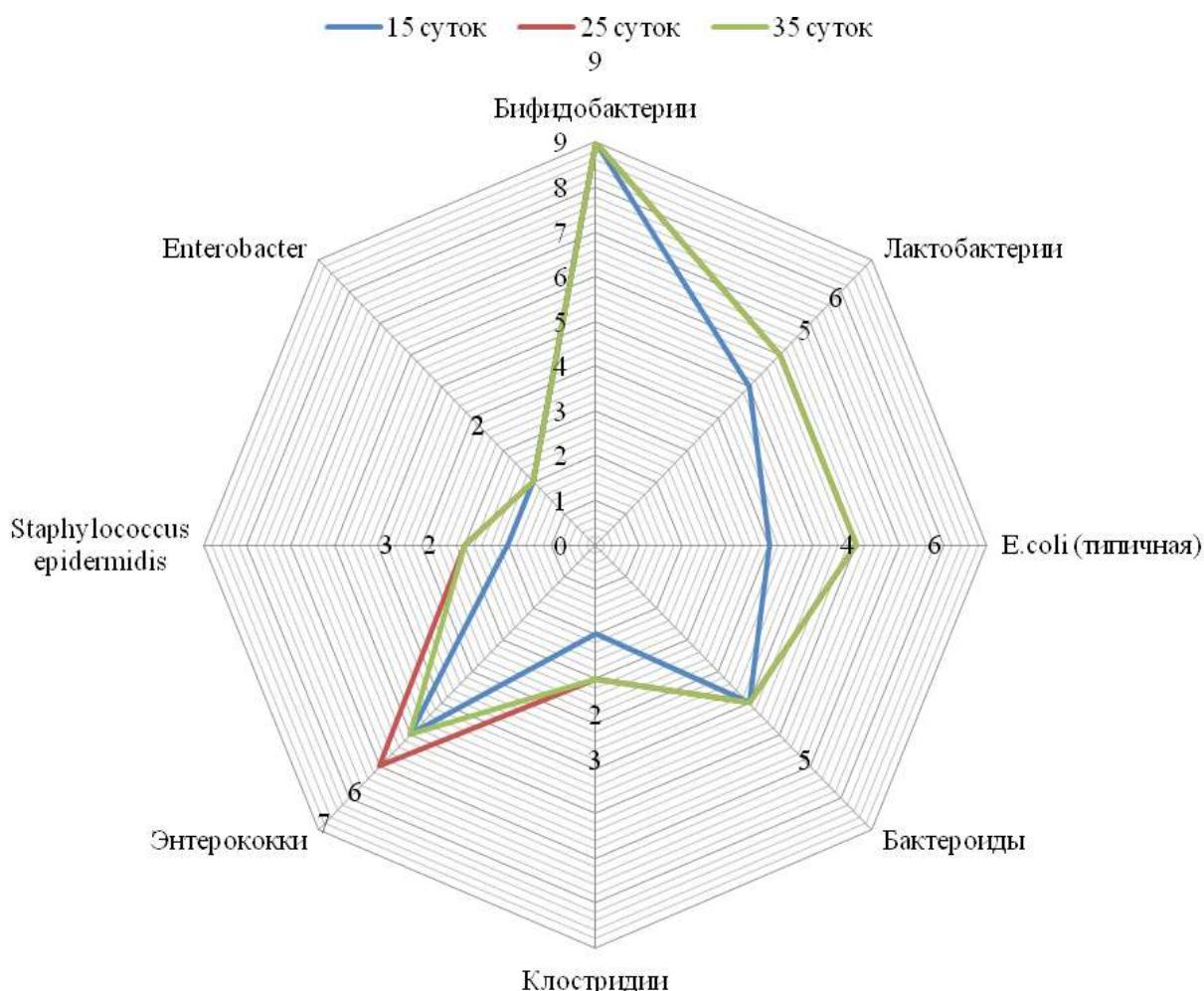


Рис. 1. Динамика видового и количественного состава микрофлоры у цыплят 1-й группы

Enterobacter cloacae на всем протяжении исследования (рис. 3).

В 4-й группе цыплят, получавших пробиотик и энтеросорбент, на 15-е сутки не выявлено изменение концентрации как бифидо-, так и лактобактерий. На 25-е сутки отмечали увеличение содержания лактобактерий до

10^8 КОЕ/мг, энтерококков – до 10^7 КОЕ/мг, стабилизацию *E. coli* (типичной) и бактероидов на уровне 10^5 – 10^6 КОЕ/мг. В этой группе, как и в 3-й группе, отмечали минимальное количество клоstrидий и отсутствие пролиферации *Enterobacter cloacae* в течение периода наблюдений (рис. 4).

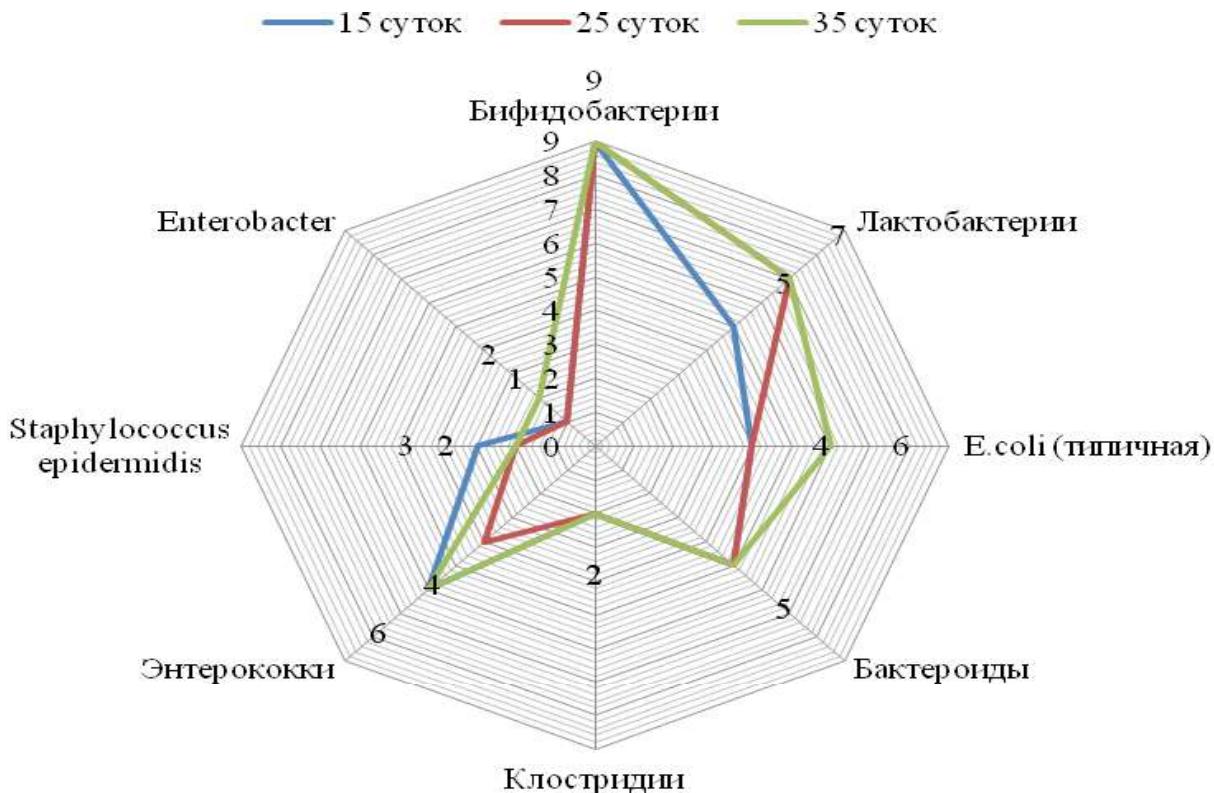


Рис. 2. Динамика видового и количественного состава микрофлоры у цыплят 2-й группы

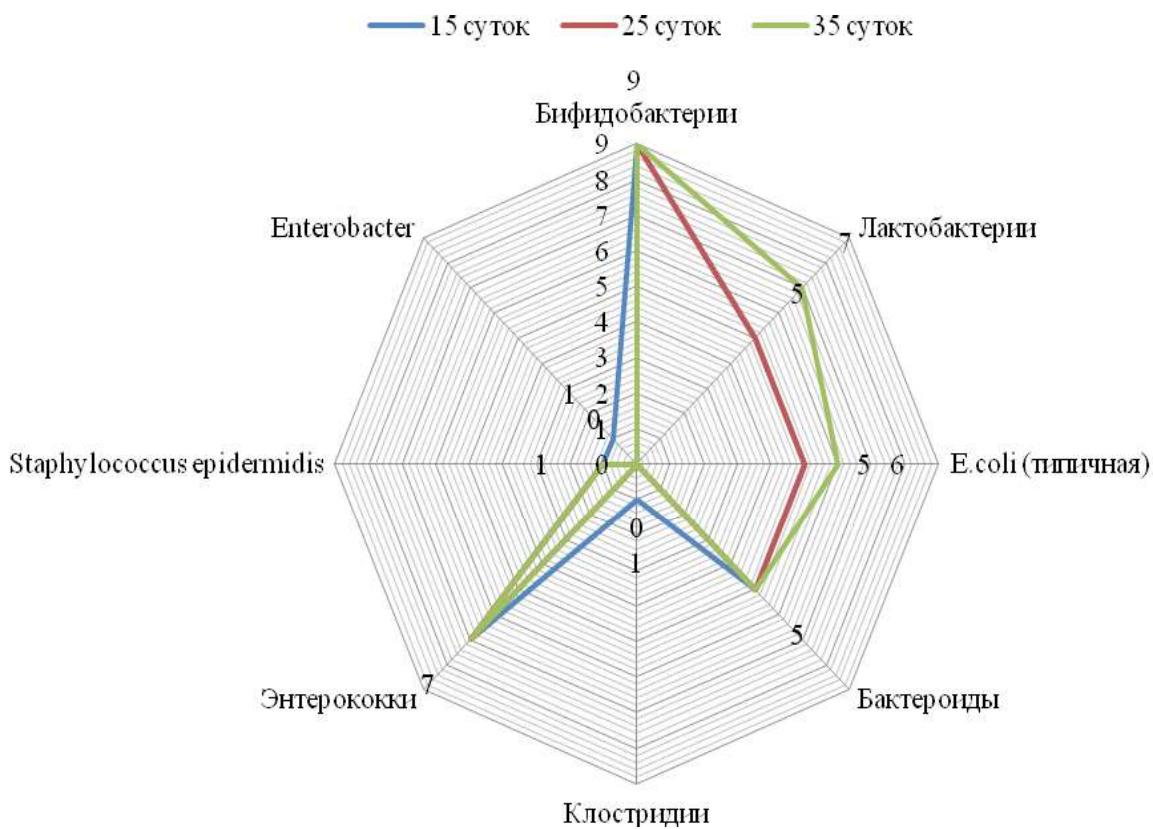


Рис. 3. Динамика видового и количественного состава микрофлоры у цыплят 3-й группы



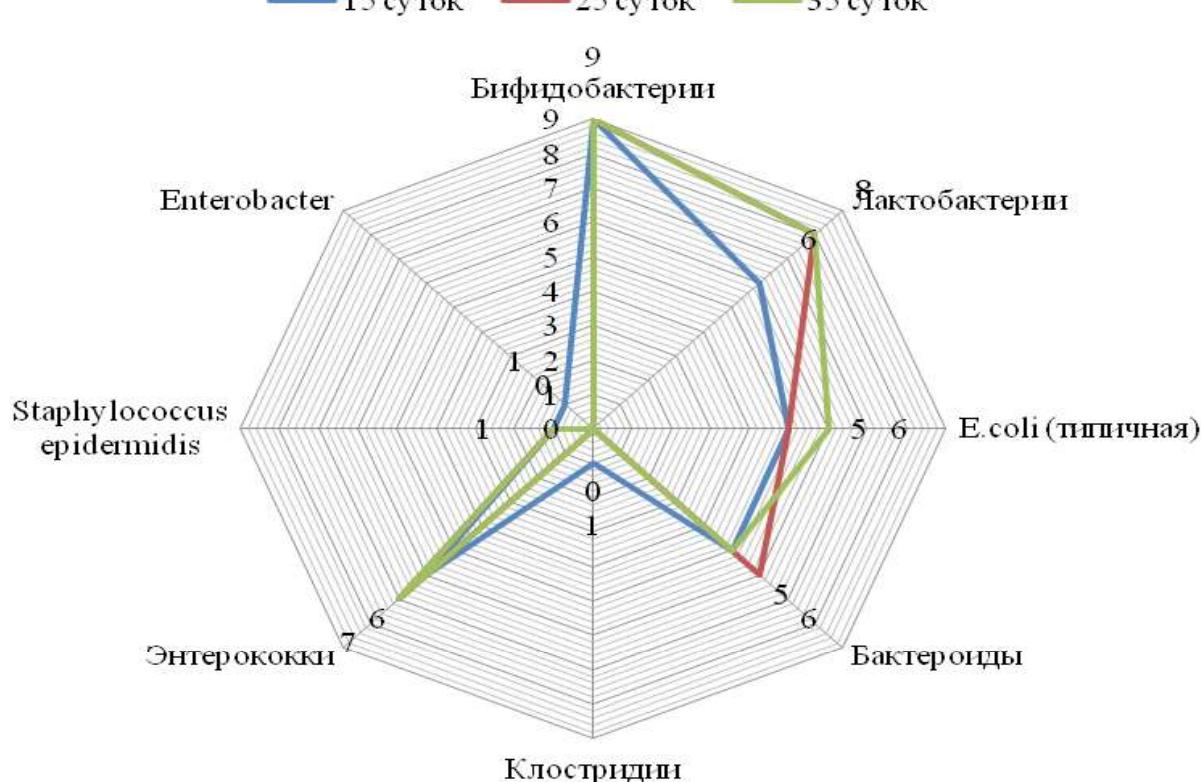


Рис. 4. Динамика видового и количественного состава микрофлоры у цыплят 4-й группы

Заключение. Исследование показало, что на 15-е сутки во всех группах (контрольной и опытных) снижалось содержание резидентной микрофлоры. Количество лактобактерий и типичной *E. coli* снижалось, что связано с процессом адаптации к смешанному и экзогенному типам питания, формированием микробиоты и началом линьки. Несмотря на увеличение уровня лактобактерий, типичных *E. coli*, бактероидов, энтерококков, *Staphylococcus epidermidis* у цыплят контрольной группы отмечались усиленная пролиферация *Enterobacter cloacae* и рост клостридий.

Введение пробиотика Зоонорм стимулировало развитие облигатной микрофлоры, а применение энтеросорбента на основе полиметилсилоксана полигидрата препятствовало пролиферации *Enterobacter cloacae*. Комплексное применение пробиотика и энтеросорбента способствовало формированию биопленки в кишечнике, стимулировало количественное увеличение лактобактерий, энтерококков, типичной *E. coli* и бактероидов, а также снижало количество клостридий и не допускало пролиферации *Enterobacter cloacae* в течение всего опыта.

Следует отметить, что на протяжении эксперимента в контрольной и опытной группах содержание бифидобактерий практически не подвергалось изменениям. Бифидобактерии, интродуцируемые в организм цыплят путем введения их в рацион как монопрепарата (пробиотика), так и в комплексе с кишечным

сорбентом, стимулировали продукцию биологически активных веществ, необходимых для роста и развития симбионтной микрофлоры, улучшали процессы переваривания и всасывания питательных веществ, препятствовали развитию патогенов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бельмер С.В., Малкоч А.В. Кишечная микрофлора и значение пребиотиков для ее функционирования // Лечащий врач. – 2006. – № 4. – С. 60–66.
2. Бондаренко В.М., Воробьев А.А. Дисбактериозы и препараты с пробиотической функцией // Микробиология. – 2004. – № 1. – С. 84–92.
3. Бондаренко В.М., Мацлевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. Руководство для врачей. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 307 с.
4. Грозина А.А. Состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта у цыплят-бройлеров при воздействии пробиотика и антибиотика (по данным T-RFLP-RT-PCR) // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 6. – С. 46–58.
5. Здоровый микробиом кур / Г. Лаптев [и др.] // Ценовик. – 2018. – № 10. – С. 76–80.
6. Иванова Е.В. Роль бифидофлоры в ассоциативном симбиозе кишечной микрофлоры человека: дис ... д-ра мед. наук. – Оренбург, 2018 – 295 с.
7. Исследование пристеночной микрофлоры кишечника крыс / А.А. Воробьев [и др.] // Микробиология. – 2005. – № 3. – С. 61–65.
8. Кольчев Н.М., Госманов Р.Г. Ветеринарная микробиология и микология. – СПб.: Лань, 2019. – 624 с.
9. Лазарева Т.С., Жвания Ф.Ф. Питание и иммунитет // Педиатрическая фармакология. – 2009. – Т. 6. – № 1. – С. 46–50.

10. Новокишенов А.А., Соколова Н.В. Физиологические функции лактобактерий в организме и эффективность их применения в составе пробиотиков в педиатрической практике // Эффективная фармакотерапия. – 2012. – № 53. – С. 52–57.
11. Фисинин В.И., Сурай П. Кишечный иммунитет у птиц: факты и размышления (обзор) // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 4. – С. 3–25.
12. Функ И.А., Иркитова А.Н. Биотехнологический потенциал бифидобактерий // Acta biologica Sibirica. – 2016. – № 2(4). – С. 67–79.
13. Хавкин А.И. Микробиоценоз кишечника и иммунитет // РМЖ. – 2003, Т. 11. – № 3. – С. 3–7.
14. Cryan J.F., Dinan T.G. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. Nat Rev Neurosci, 2012, 13: 701–712.
15. Pan D., Yu Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet // Gut Microbes, 2014, Vol. 5, No. 1, P. 108–119.
16. Perdigon G., Fuller R., Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system//Curr. Intest. Microbiol., 2001, 2(1): 27–42.

Клетикова Людмила Владимировна, д-р биол. наук, проф. кафедры «Акушерство, хирургия и незаразные болезни животных», Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. Д.К. Беляева. Россия.

Маннова Мария Сергеевна, канд. биол. наук, доцент кафедры «Акушерство, хирургия и незаразные болезни животных», Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. Д.К. Беляева. Россия.

Якименко Нина Николаевна, канд. вет. наук, доцент кафедры «Акушерство, хирургия и незаразные болезни животных», Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. Д.К. Беляева. Россия.

153012, г. Иваново, ул. Советская, 45.
Тел.: (962) 160-16-98;
e-mail: mannova09@yandex.ru.

Ключевые слова: цыплята; резидентная микрофлора; пробиотик; энтеросорбент; комбинация БАВ; динамика.

THE CHANGE OF THE INTESTINAL MICROBIOCENOSIS OF CHICKENS IN THE AGE ASPECT AND THE INTRODUCTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Kletikova Lyudmila Vladimirovna, Doctor of Biological Sciences, Professor of the chair “Obstetrics, Surgery and Non-communicable Animal Diseases”, Ivanovo State Agricultural Academy named after D.K. Belyaev. Russia.

Mannova Maria Sergeevna, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the chair “Obstetrics, Surgery and Non-communicable Animal Diseases”, Ivanovo State Agricultural Academy named after D.K. Belyaev. Russia.

Yakimenko Nina Nikolaevna, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the chair “Obstetrics, Surgery and Non-communicable Animal Diseases”, Ivanovo State Agricultural Academy named after D.K. Belyaev. Russia.

Keywords: chickens; resident microflora; probiotic; enterosorbent; BAS combination; dynamics.

The article provides information on the species composition of the microflora of the digestive tract in chickens of the Dekalb cross, its changes during the period of early postembryonic development against the background of the introduction of biologically active substances. The assessment of the degree of influence of the use of monopreparations and their combinations is given. The study was carried out in 2020 at the Department of Obstetrics, Surgery and Non-communicable Animal Diseases of the Ivanovo State Agricultural Academy. The initial analysis of the microflora of the digestive tract was carried out in 5-day-old chickens. Chickens of experimental groups 2, 3 and 4 were injected

with biologically active substances, respectively, probiotic Zoonorm at a dose of 0.2 g per head in the morning mixed with feed; a 0.3% suspension of an enterosorbent based on polymethylsiloxane polyhydrate was drunk 2 hours after the last feeding and a combination of two drugs at the appropriate time. The drugs were used for 20 days, the study of the composition of the intestinal microflora was carried out in 15- and 25-day-old chickens and 10 days after drug withdrawal. The results showed that during the critical period of development in the control and experimental groups of chickens there is a decrease in the number of intestinal residents. In control chickens, proliferation of Enterobacter cloacae is noted and the number of clostridia increases. Against the background of the probiotic, the number of lactobacilli, enterococci and E. coli (typical) increases and is restored. With the introduction of enterosorbent, the content of lactobacilli increases, proliferation of Enterobacter cloacae is absent throughout the experiment. The combination of probiotic and enterosorbent prevents the development of pathogens, stimulates the growth of lactobacilli, enterococci and stabilizes the amount of typical E. coli and bacteroids. Scientific novelty lies in the establishment of a regulating and stabilizing effect on the intestinal biome of a combination of probiotic and enterosorbent; elucidation of the metabolic and antagonistic function of bifidobacteria in chickens at an early stage of postembryonic development.

