

# Динамика формирования микробиоценоза кишечника у молодняка кур

Бовкун Г.Ф., кандидат ветеринарных наук

Филимонова Т.Ю., ветеринарный врач

Глазкицкий А.А., ветеринарный врач

Цыганков Е.М., ветеринарный врач, ФГБОУ ВО Брянский ГАУ

**Аннотация.** Авторы установили динамику формирования микробиоценоза кишечника молодняка кур в возрастном аспекте. По компоненту эшерихий и лактобацилл микробиоценоз кишечника формируется в 20-суточном возрасте, в 30-суточном постоянными обитателями кишечника становятся бифидобактерии, а их доминирующая концентрация устанавливается в 40 дней. Другие представители микрофлоры кишечника занимают добавочное или случайное положение.

**Ключевые слова:** молодняк кур, микробиоценоз кишечника, динамика формирования.

## The Dynamics of Intestinal Microbiocoenosis Formation in Chicken

Bovkun G.F., Cand. of Vet. Sci.

Filimonova T.Yu., Veterinarian

Glazkritsky A.A., Veterinarian

Tsygankov E.M., Veterinarian, Bryansk State Agrarian University

**Summary.** The age dynamics of formation of intestinal microbiocoenosis in chicken was studied. *Escherichia* and *Lactobacilli* populations are shown to form during first 20 days of age; *Bifidobacteria* become a constant microbiota component at 30 days of age and achieve stable dominant concentration at 40 days of age. Other components of natural intestinal microbiota are shown to be facultative and/or casual.

**Key words:** chicken pullets, intestinal microbiota, dynamics of formation.

**Введение.** Микрофлора толстого кишечника птицы считается биогенным фактором, в значительной степени определяющим состояние организма, обеспечивающим процессы переваривания и всасывания, синтез витаминов, ферментов, аминокислот, оказывающим ингибирующее действие на патогенную микрофлору, активизирующим иммунорегулирующую функцию, синтез иммуноглобулинов, морфогенез иммунной системы.

Молодняк кур подвержен экзогенным (высокая плотность посадки, отклонения параметров микроклимата, использование нетрадиционных кормов, добавок, противомикробных препаратов, эймериостатиков) и эндогенным (отсутствие миелопероксидазной системы, иммуноглобулинов в первую декаду жизни) факторами, оказывающими негативное влияние на жизнеспособность птицы. Это обуславливает необходимость анализа микробиоценоза кишеч-

ника и принятие мер к его нормализации этиотропно с помощью лекарственных препаратов и пробиотиков.

Нормативные показатели микрофлоры содержимого слепых кишок в онтогенезе молодняка представлены несколькими источниками, однако видовой и количественный её состав нельзя считать окончательно установленным.

Поэтому цель работы — видовая и количественная характеристика микрофлоры содержимого слепых

кишок в онтогенезе молодняка современных кроссов.

**Материалы и методы.** Было обследовано содержимое слепых кишок 150 цыплят кроссов «Хайсекс», «Росс-308» и «Хаббард» в возрасте 3, 10, 20, 30, 40 дней. Повторность мониторинга трёхкратная.

Цыплята за период мониторинга были клинически здоровы, содержались в клетках.

Современный автор Грозина А.А. характеризует кишечную микрофлору количеством целлюлозолитических бактерий, бактероидов, клоstrидий, лактобацилл, бифидобактерий, полезных бацилл, селеномонад, способных разлагать органические кислоты. Ильина Л.А., сообщает об обнаружении методом ПЦР 140 родов микроорганизмов в кишечном содержимом цыплят. Зарубежные исследователи отмечают доминирование микроорганизмов Firmicutes, Bacteroides, Clostridium.

Качественный и количественный состав кишечной микрофлоры у цыплят мы изучали в соответствии с Методическими рекомендациями по лабораторной диагностике дисбактериозов кишечника молодняка сельскохозяйственных животных, утвержденных РАСХН, и Учебным пособием. Определяли структуру и количество 12 групп микроорга-

низмов, в составе их были облигатные представители, обеспечивающие нормобиоз кишечника, и факультативные, активная пролиферация которых приводит к разбалансированию нормобиоза кишечника.

В лаборатории навеску 1 г содержимого слепых кишок смешивали с 9 мл стерильного физраствора, встряхивали 10 минут, из основно-

го разведения делали ряд последующих разведений в стерильном физрастворе с  $10^{-2}$  до  $10^{-9}$ , используя стерильные, отдельные для каждого разведения, пипетки.

Наименования микроорганизмов, питательные среды для посева, разведения и дозы содержимого кишечника представлены в таблице 1.

Соответствующие разведения в указанных дозах сеяли на питательные среды в чашках Петри или пробирках. Инкубировали посевы протея, группы условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ), гемолитических бактерий, стафилококков, энтерококков и эшерихий при 37–38° С в течение суток. Посевы лактобацилл, бифидобактерий выдерживали двое суток, посевы грибов — трое суток при температуре 37–38° С.

Выросшие колонии идентифицировали по морфологическим, куль-

туральным свойствам, а колонии синего цвета, выделенные на среде Симмонса, и по биохимическим тестам, чтобы определить их род (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Proteus*).

Количественное содержание микроорганизмов выражали в десятичных логарифмах Ig KOE/g, определяли статистические показатели.

Для выявления положения микроорганизмов в структуре микробиоценоза толстого кишечника использовали показатель постоянства С, который рассчитывали по формуле:  $C = (n \times 100) : N$ , где С — показатель постоянства (%), n — число обследуемых, от которых выделены микроорганизмы, N — общее число обследуемых.

При оценке результатов учитывали, что при  $C = 50\%$  и выше виды микрорганизмов считаются постоянными, добавочные соответствуют значению С от 35 до 50%, случайные — ниже 35 процентов. Статистическую значимость различий средних величин вычисляли по t-критерию достоверности Стьюдента.

**Результаты исследований.** Одна из задач мониторинга микробиоценоза кишечника цыплят — установить количественные показатели и процент выявления (показатель

Таблица 1. Разведения, дозы посева на питательных средах для выделения микрофлоры кишечника у цыплят-бройлеров

Микроорганизмы	Питательные среды	Разведение	Доза, мл
Возбудители кишечных заболеваний	Агар Эндо	$10^{-1}$	0,1
Протеи, синегнойная палочка	МПА или ПА (косяк)	$10^{-3}$	1
Грибы	Среды Сабуро или Чапека	$10^{-3}$	0,1
Группа УПЭ	Агар Симмонса	$10^{-4}$	0,1
Гемолитические бактерии	Кровяной агар	$10^{-4}$	0,1
Стафилококки	Желточно-солевой агар (ЖСА)	$10^{-4}$	1
Анаэробные клоstrидии	Среда Вильсена-Блера в пробирках	$10^{-3} - 10^{-5}$	1
Энтерококки	Сывороточно-теллуритовый агар	$10^{-4}$	0,1
Эшерихии	Агар Эндо	$10^{-6}$	0,1
Лактобациллы	Лактобакагар	$10^{-7}$	1–0,1
Бифидобактерии	Кукурузно-лактозная среда	$10^{-4}, 10^{-7}, 10^{-9}$	1

## РАЗВИТИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Таблица 2. Микрофлора содержимого слепых кишок цыплят разного возраста

Кросс	Микроорганизмы Ig KOE/g (M), % выделения (C), возраст, дней							
	10		20		30		40	
	M	C	M	C	M	C	M	C
<b>Бифидобактерии</b>								
Хайсекс	4,16	3,3	5,17	13,3	8,1	53,3	9,61*	83,3
Росс-308	0	—	5,28	13,3	8,03	56,6	9,73*	73,3
Хаббард	0	—	5,71	3,3	8,12	63,3	9,54**	73,3
<b>Лактобациллы</b>								
Хайсекс	8,62	93,3	8,6	100	8,8	100	8,08	100
Росс-308	7,92	90	8,04	100	8,34	100	7,87	100
Хаббард	8,62	100	8,58	100	8,58	100	8,01	100
<b>Эшерихии</b>								
Хайсекс	7,86	100	8,02	100	7,88	100	7,88	100
Росс-308	7,9	100	8,02	100	7,92	100	7,92	100
Хаббард	8,01	100	8,01	100	8,01	100	7,83	100
<b>Гемолитические эшерихии</b>								
Хайсекс	0	—	0	—	0	—	0	—
Росс-308	6,24	13,3	5,53**	10	5,1*	10	0	—
Хаббард	6,51	16,6	5,64*	10	5,2*	10	0	—
<b>Группа условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ)</b>								
Хайсекс	0	—	0	—	0	—	0	—
Росс-308	5,54	3,3	5,54	3,3	0	—	0	—
Хаббард	0	—	0	—	0	—	0	—
<b>Грибы из рода Candida</b>								
Хайсекс	4,08	26,6	4,02	13,3	4,3	13,3	4,66*	16,6
Росс-308	4,45	13,3	4,12	13,3	4,1	13,3	4,59*	20
Хаббард	4,42	16,6	4,15	16,6	0	—	4,46	13,3
<b>Стафилококки с лецитовителазной активностью</b>								
Хайсекс	0	0	0	—	0	—	0	—
Росс-308	0	—	5,54	3,3	0	—	0	—
Хаббард	5	3,3	0	—	0	—	0	—
<b>Энтерококки</b>								
Хайсекс	5,16*	33,3	5,22	43,3	5,4	43,3	5,65	53,3
Росс-308	5,32*	26,6	5,12	16,6	5,64	56,6	5,89	63,3
Хаббард	4,9*	13,3	5,41	20	5,63	53,3	5,83	66,6
<b>Анаэробные клоstrидии</b>								
Хайсекс	3,55	13,3	3,32	3,3	0	—	0	—
Росс-308	3,3	10	0	—	0	—	0	—
Хаббард	3,2	10	3,2	13,3	0	—	0	—

Примечание: \* P≤0,05; \*\* P≤0,001.

постоянства) представителей облигатной и факультативной микрофлоры.

Возбудителей кишечных инфекционных заболеваний (*E.coli*, сальмонеллу), а также лактозонегативные эшерихии, протеи, синегнойную палочку, гемолитические гнилостные бациллы у обследуемых цыплят разных возрастов не выделяли.

Микробный пейзаж помёта цыплят в возрасте трёх дней был представлен тремя видами микроорганизмов. К постоянной микрофлоре принадлежали эшерихии с нормальной ферментативной актив-

ностью и плотностью выделенных популяций 7,3–7,86 Ig KOE/g, а

также энтерококки, концентрация которых составляла 6,17–6,32 Ig KOE/g. Показатель постоянства перечисленных видов от 53 до 86,6 процента. Полученные результаты подтверждают данные Субботина В.В. об активном заселении кишечника эшерихиями и энтерококками, которые высевались из 100 и 90% проб.

Положение лактобацилл при плотности 7,12–8,37 Ig KOE/g в структуре микробиоценоза цыплят (С = 30–36,6%) не подтверждало их постоянства, по сведениям других

авторов, лактобациллы выделяют 40–20% цыплят.

Состав микробиоценоза кишечника 10-дневных цыплят был представлен лактобациллами в концентрации 7,92–8,62 Ig KOE/g и эшерихиями (7,86–8,01 Ig KOE/g) при 100%-ном показателе постоянства.

Бифидобактерии с концентрацией 4,16 Ig KOE/g выделяли у 3,3% цыплят яичного кросса, что не подтверждало их постоянства.

Факультативная микрофлора характеризовалась вегетированием гемолитических эшерихий у кроссов «Росс-308», «Хаббард», грибами и анаэробными клоstrидиями

у всех обследуемых кроссов, но показатель постоянства выделения был ниже 50% и составлял 10,0–26,6%, что свидетельствовало об их добавочном и случайном положении в составе микробиоценоза.

У 3,3% цыплят кросса «Росс-308» выделяли условно-патогенные бактерии из рода *Citrobacter* плотностью 5,54 Ig KOE/g, а у цыплят кросса «Хаббард» — стафилококки плотностью 5 Ig KOE/g, присутствие перечисленных микрорганизмов носило случайный характер.

Сопоставляя концентрацию энтерококков у трёхдневных и 10-дневных цыплят, выявляли существенное снижение до 4,9–5,32 Ig KOE/g, что подтверждалось статистически ( $P \leq 0,05$ ;  $P \leq 0,001$ ), а невысокий показатель частоты их выделения (13,3–33,6) исключал постоянство обитания.

Полученные результаты свидетельствовали о формировании у 10-дневных цыплят нормобиоза кишечника по компоненту лактобацилл и эшерихий, ингибирующих пролиферацию энтерококков.

У 20-дневных цыплят отмечали 100%-ное формирование микробиоценоза как по компоненту эшерихий, так и лактобацилл, плотность популяций которых не отличалась от показателей, установленных в 10-дневном возрасте. О стабилизации микробиоценоза цыплят к 20-му дню жизни сообщал Субботин В.В.

От 3,3 до 13,3% цыплят этого возраста выделяли бифидобактерии в концентрации 5,17–5,71 Ig KOE/g, что не подтверждало постоянства их обитания и свидетельствовало о

замедленном формировании микробиоценоза по компоненту бифидобактерии у подавляющего большинства обследуемых цыплят.

Абсолютное формирование микробиоценоза кишечника у обследуемых 20-дневных цыплят по компоненту эшерихий и лактобацилл способствовало статистически достоверному снижению плотности гемолитических эшерихий у цыплят мясных кроссов 5,53–5,64 Ig KOE/g ( $P \leq 0,05$ ) при сохранении случайного нахождения в микробиоценозе кишечника ( $C = 10\%$ ). Сохранялся уровень вегетирования грибов рода *Candida*, энтерококков, показатели постоянства их обитания в кишечнике составляли от 13,3 до 43,3%, а бактерий из рода *Citrobacter* — 3,3 процента.

От цыплят кросса «Росс-308» анаэробные клостридии не выделяли. Концентрация 3,32–3,23 Ig KOE/g сохранялась при случайном их нахождении в составе микробиоценоза у 3,3–13,3% цыплят.

В микрофлоре содержимого слепых кишок 30-дневных цыплят обнаружены бифидобактерии, концентрация которых составила 8,03–8,12 Ig KOE/g, показатель постоянства обитания 53,3–63,3%, что свидетельствовало о принадлежности их к постоянной микрофлоре толстого кишечника. У обследуемых цыплят было также подтверждено формирование микробиоценоза кишечника по компоненту лактобацилл и эшерихий, удельный вес которых составлял 100 процентов. Становление полноценного микробиоценоза ингибировало пролиферацию гемолитических эшерихий, понижая плотность по-

пуляции до 5,1–5,2 Ig KOE/g, что подтверждалось статистически ( $P \leq 0,05$ ;  $P \leq 0,001$ ), а также снижало удельный вес грибов из рода *Candida* до 13,3 процента.

У 30-дневных цыплят не содержались стафилококки с лецитовителазной активностью, условно-патогенные энтеробактерии, анаэробные клостридии, однако было установлено повышение удельного веса энтерококков от 43 до 56,6%, у цыплят мясных кроссов их положение в микробиоценозе соответственно в постоянной микрофлоре.

Сопоставлением количественных показателей микрофлоры кишечника у 30-и 40-дневных цыплят отмечено статистически достоверное ( $P \leq 0,05$  –  $P \leq 0,001$ ) увеличение плотности бифидобактерий до 9,54–9,73 Ig KOE/g, установление их доминирующей концентрации при сохранении показателей постоянства обитания от 73,3 до 83,3 процента. Концентрации лактобацилл и эшерихий при 100%-ном постоянстве обитания оставались в 40-дневном возрасте неизменными. Формирование бактериоценоза кишечника к 34–42-суточному возрасту установил автор Олива Т.В.

Структуру факультативной микрофлоры составляли грибы и энтерококки. Плотность популяций грибов увеличивалась от 4,53 до 4,76 Ig KOE/g, что подтверждалось статистически ( $P \leq 0,05$ ). Удельный вес обитания грибов в составе кишечной микрофлоры не возрастал, а у 40-дневных цыплят кросса «Хаббард» вегетирование грибов возобновилось, однако их положение в микробиоценозе кишечника оставалось случайным.

## РАЗВИТИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Концентрация энтерококков у разных групп составляла 5,65–5,89 Ig KOE/g и не имела статистически достоверных отличий от показателей 30-дневного возраста цыплят при постоянном обитании в кишечнике, данные постоянства от 53,3 до 66,6 процента.

Других представителей факультативной микрофлоры не выделяли. Возрастную динамику энтеробактерий желудочно-кишечного тракта цыплят изучали Бахарева О.П. и Саражакова И.М., по их данным, превалировали бифидобактерии, на втором месте были лактобациллы, затем бактероиды, эубактерии, энтеробактерии, энтерококки.

**Заключение.** Не установлено различий в динамике формирования микробиоценоза кишечника в онтогенезе молодняка яичных и мясных кроссов.

Заселение кишечника микрофлорой начинается с колонизации эшерихиями, энтерококками, с 10-дневного возраста — лактобациллами в присутствии случайных видов: гемолитических эшерихий, цитробактеров, стафилококков с лецито-вителазной активностью, анаэробных клоstrидий и добавочных видов: грибов из рода *Candida*, энтерококков.

Микробиоценоз кишечника цыплят по компоненту эшерихий и лактобацилл формируется в 20-дневном возрасте при 100%-ном постоянстве обитания, что подавляет пролиферацию случайной и добавочной микрофлоры.

Постоянное положение бифидофлоры в составе микробиоценоза кишечника цыплят формируется в

30-дневном возрасте, а её доминирующая концентрация — 40-дневных цыплят на фоне колонизации лактобациллами, эшерихиями, энтерококками и случайном обитании грибов.

Замедленная колонизация, дефицит бифидофлоры свидетельствуют о необходимости применения бифидосодержащих препаратов при выращивании молодняка кур.

### Литература:

1. Бахарева О.П., Саражакова О.П. Возрастная динамика энтеробактерий желудочно-кишечного тракта цыплят // Вестник КрасГАУ. 2008. № 2 С. 195-198.
2. Бовкун Г.Ф. и др. Микробиоценоз кишечника в норме и патологии у молодняка птиц, крупного рогатого скота и целесообразность пробиотической и пре-биотической коррекции: Уч. пос. Брянск: Изд-во Брянской ГСХА, 2005. 80 с.
3. Бовкун Г.Ф. и др. Нормобиоз и дисбактериоз молодняка // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2008. № 3. С. 12-17.
4. Грозина А.А. Состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта у цыплят-бройлеров при воздействии пробиотика и антибиотика // Сельскохозяйственная биология. 2014. № 6. С. 46-58.
5. Ильина Л.А. Таксономическое разнообразие микробиоты слепых отростков у цыплят-бройлеров и его изменение под влиянием комбикормов с подсолнечным шротом и сниженной обменной энергией // Сельскохозяйственная биология. 2015. (т. 50). № 6. С. 817-824.
6. Малик Н.И. и др. Методические рекомендации по лабораторной диагностике дисбактериоза кишечника молодняка сельскохозяйственных животных / М. РАСХН. 2008. 73 с.
7. Олива Т.В. К вопросу микробной экологии кишечника бройлеров / Доклады Моск. общ-ва. испыт. природы: Материалы IV Междунар. науч. конф. М.: Графикон. 2006. С. 132-135.
8. Рекомендации по использованию новых методов оценки неспецифической резистентности организма разных видов птицы с целью прогнозирования заболеваний, контроля эффективности профилактических мероприятий. ВНИИП, ВИ-ЭМ. Ленинград. 1987. 23 с.
9. Субботин В.В. Кишечная микрофлора бройлерных цыплят в норме и при клинически выраженной диарее. / Новые фармакологические средства в ветеринарии: Материалы X Междунар. межвуз. науч.-практ. конф. СПб: ГАВМ. 1998. С 212.
10. Тимашко М.А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных. Кишинев: Штиинца. 1990. 188 с.
11. Singh K. High through put 16 S rRNA gene-based pyrosequencing analysis of the fecal microbiota of high FCR and low FCR broiler growers/ K.Singh, t. Shah, S deshpande, S. Jakhesara, P. Koringa, D. Rank//Mol.Biol.Rep., 2012, 39: 10595-10602 (doi: 10.1007/s 11033012-1947-7).
12. Stanley D. Intestinal microbiota associated with differential feed conversion efficiency in chickens/ D. Stanley, S. Denman, R.J. Huhes, M.S. Geier, T.M. Crowley, H. Chen// Appl. Microbiol.Biotechnol., 2012. 96: 1361-1369 (doi 10.1007/s00253-011-3847-5).

### Для контакта с авторами:

**Бовкун Галина Фёдоровна**  
**Филимонова Татьяна Юрьевна**  
**Глазкицкий Александр Александрович**  
**Цыганков Евгений Михайлович**  
**тел.: 8 (910) 232-66-42**