

УДК 636:612.336.3

## Динамика формирования микробиоценоза кишечника у молодняка кур

Бовкун Г.Ф., кандидат ветеринарных наук

Филимонова Т.Ю., ветеринарный врач

Глазкрицкий 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, активирующим иммунорегулирующую функцию, синтез иммуноглобулинов, морфогенез иммунной системы.

Молодняк кур подвержен экзогенным (высокая плотность посадки, отклонения параметров микроклимата, использование нетрадиционных кормов, добавок, противомикробных препаратов, эймезиостатиков) 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, клостридий, лактобацилл, бифидобактерий, полезных бацилл, селективных, 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, утверждённых 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 основного 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 посеы протея, группы условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ), гемолитических бактерий, стафилококков, энтерококков и эшерихий при  $37-38^{\circ}\text{C}$  в течение суток. Посевы лактобацилл, бифидобактерий выдерживали двое суток, посеы грибов — трое суток при температуре  $37-38^{\circ}\text{C}$ .

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 КОЕ/г, 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 микроорганизмов 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 клостридии	Среда Вильсена-Блера в пробирках	$10^{-3} - 10^{-5}$	1
Энтерококки	Сывороточно-теллуриновый 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

Таблица 2. Микрофлора содержимого слепых кишок цыплят разного возраста

Кросс	Микроорганизмы Ig КОЕ/г (М), % выделения (С), возраст, дней							
	10		20		30		40	
	М	С	М	С	М	С	М	С
<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 <sup>+</sup>	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 клостридии</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&lt;0,05; P&lt;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 КОЕ/г, а также энтерококки, концентрация которых составляла 6,17–6,32 Ig КОЕ/г. 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 КОЕ/г 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 КОЕ/г и эшерихиями (7,86–8,01 Ig КОЕ/г) при 100%-ном показателе постоянства.

Бифидобактерии с концентрацией 4,16 Ig КОЕ/г 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 клостридиями

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 lg КОЕ/г, а у цыплят кросса «Хаббард» — стафилококки плотностью 5 lg КОЕ/г, присутствие перечисленных микроорганизмов носило случайный характер.

Сопоставляя концентрацию энтерококков у трёхдневных и 10-дневных цыплят, выявляли существенное снижение до 4,9–5,32 lg КОЕ/г, 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 сообщил Субботин В.В.

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

замедленном формировании микробиоценоза по компоненту бифидофлоры 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 lg КОЕ/г ( $P \leq 0,05$ ) 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 lg КОЕ/г 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 lg КОЕ/г, 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 lg КОЕ/г, 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 соответствовало 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 lg КОЕ/г, 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 lg КОЕ/г, 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.

