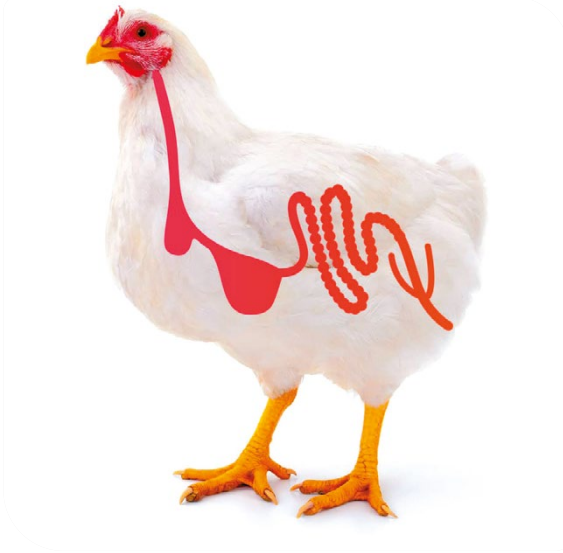
О составе микробиоты ЖКТ птицы в норме и при патологии

Околелова Т.М.,
доктор биол. наук, профессор,

Лаптев Г.Ю.,
доктор биол. наук,

Енгашев С.В.,
доктор ветеринар. наук, академик РАН,

Тюрина Д.Г.,
кандидат эконом. наук
Россия



Известно, что здоровье и продуктивность птицы во многом определяются состоянием органов пищеварения. Их масса в зависимости от вида и возраста птицы составляет 8,0-12,5% от живой массы, но они отвечают примерно за 60-70% затрат на корма в структуре себестоимости продукции и за 70% иммунитета [2, 3, 11, 12].

Пищеварительный тракт птицы в большей степени, чем другие органы и системы организма, подвержен воздействию различных раздражителей, начиная от качества комбикорма и заканчивая лекарственными препаратами. Поэтому в структуре падежа птицы отход по причине заболеваний органов пищеварения достигает 30%. Лекарственные препараты, без которых не обойтись в условиях промышленного производства яиц и мяса птицы, влияют на кишечную микрофлору, изменяя ее в количественном и качественном соотношении, могут вызывать дисбактериоз и нарушение баланса некоторых витаминов [6, 7].

Известно, что в пищеварительной системе птиц присутствует около 600-900 видов бактерий. В здоровом организме микрофлора представляет сложную и сбалансированную симбиотическую микроэкосистему с нормальными метаболическими свойствами. Основной функцией нормофлоры является выработка ферментов (целлюлаз, протеаз и др.), необходимых для пищеварения, участия в обмене веществ, защиты организма от патогенов и токсинов, синтеза летучих жирных кислот и витаминов, формирования иммунитета и продления срока продуктивного использования птицы [9].

Помимо нормофлоры, в кишечнике птиц присутствуют условно-патогенные (энтеробактерии, кориобактерии и др.) и патогенные микроорганизмы (сальмонеллы, пастереллы и др.). Пока микрофлора кишечника и иммунитет в норме, их содержание находится на низком уровне, однако в случае снижения резистентности происходят нарушения микроэкологии кишечника – дисбиозы. Увеличение количества условно патогенных форм вызывает метаболические и иммунные расстройства организма, что отражается на продуктивности, сохранности поголовья и качестве продукции [3, 9].

Впервые определены четкие пороговые значения для микроорганизмов

Для современной диагностики и точного определения причин нарушений микроэкологии кишечника в мировой науке используются методы метагеномики (прежде всего, NGS-секвенирование: Next Generation Sequencing),

Таблица 1. Роль для организма и нормы содержания микроорганизмов в слепых отростках бройлеров, определенные методом NGS-секвенирования, %

Группы микроорганизмов	Наименование	Роль для организма птицы	Нормы содержания, %
НОРМОФЛОРА			
Бактерии-целлюлозолитики	Семейства *Eubacteriaceae, Flavobacteriaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Thermoanaerobacteraceae* и др.	Синтез целлюлаз, расщепление клетчатки кормов	Не менее 65
ЛЖК-синтезирующие бактерии	Сем. *Veillonellaceae*	Синтезируют летучие жирные кислоты	5-15
Лактобактерии	Роды *Lactobacillus, Pediococcus, Leuconostoc, Lactococcus, Weissella* и др.	Антимикробная активность	0,5-10
Бациллы	Сем. *Bacillaceae*	Антимикробная и иммуномодулирующая активность, ферментативная активность в отношении углеводов кормов, синтез витаминов, незаменимых аминокислот	Не менее 0,5
Бифидобактерии	Сем. *Bifidobacteriaceae*	Антимикробная активность, синтез витаминов	0,5-2,0
УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ			
Семейство *Coriobacteriaceae*	Роды *Corynebacterium, Atopobium, Olsenella, Slackia, Eggerthella* и др.	Возбудители вторичных инфекций, воспалительных и гнойных заболеваний различных органов и систем	Не более 4-5
Многие представители сем. *Enterobacteriaceae*	Роды *Enterobacter, Escherichia/Shigella, Proteus, Yersinia, Citrobacter* и др.	Возбудители энтеритов, часто мультирезистентны к антибиотикам	
Сумма условно-патогенных бактерий			
ПАТОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ			
Сумма патогенных бактерий	*Salmonella* sp., *Staphylococcus, Cl. difficile, Cl. perfringens, E. cecorum, E. faecalis, Klebsiella* sp., *Acinetobacter* sp., *Sutterella* sp., *Campylobacter* sp., *Mycoplasma* sp., *Bacteroides fragilis* и т.д.	Гнойно-воспалительные заболевания, септицемии, гастроэнтериты, заболевания суставов, органов дыхания и др.	Не более 1-1,5
ПРОЧИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ			
Транзитная микрофлора, неидентифицируемые и некультивируемые бактерии	Представители эпифитной микрофлоры растений, некультивируемые формы	Роль незначительна или неизвестна	Не более 10

позволяющие описать все 100% бактерий микробной экосистемы. В России NGS-секвенирование для анализа кишечного микробиома сельскохозяйственных птиц используется только в молекулярно-генетическом центре НПК «БИОТРОФ». В результате такого анализа все присутствующие микроорганизмы разбиваются по родам и видам и устанавливаются их функции. Метод NGS-секвенирования позволяет охарактеризовать состав и баланс микрофлоры кишечника, определять «микробный статус» птиц, сделать выводы о вкладе микробиома в общее состояние здоровья, уровень продуктивности, а также об эффекте, который на него оказывает тот или иной компонент рациона, кормовая добавка или лекарственное вещество, как в краткосрочной, так и долгосрочной перспективе [3].

Как оказалось, для каждого патологического состояния организма (будь то заболевания или падение продуктивности) свойственно особенное количественное и качественное содержание микроорганизмов в кишечнике. Однако до недавнего времени вопрос норм содержания бактерий в ЖКТ сельскохозяйственных животных оставался в тени. В НПК «БИОТРОФ» на основании анализа нескольких тысяч образцов химуса и слепых отростков кишечника сельскохозяйственной птицы впервые определены четкие пороговые значения для тех или иных групп микроорганизмов (табл. 1).

Пользуясь этими данными, например, по значению доли представителей нормофлоры целлюлозолитиков, можно оценить способность микробиоты расщеплять некрахмалистые полисахариды кормов, а значит, понять эффективность работы пищеварительной системы. В здоровом кишечнике суммарно эти бактерии должны доминировать (не менее 65%). Падение их содержания приведет к снижению переваримости кормов. Нормативный уровень бацилл, лакто- и бифидобактерий указывает на способность синтезировать антимикробные вещества, а следовательно, и на защищенность организма от заболеваний. Нормативный уровень

Таблица 2. Некоторые патогенные микроорганизмы, обнаруживаемые в кишечнике птиц методом NGS-секвенирования при заболеваниях

Патоген	Заболевание
Enterococcus cecorum	Заболевания опорно-двигательного аппарата, энтериты
Klebsiella sp. (в т.ч. K. pneumoniae, K. variicola)	Клебсиеллез с разнообразной симптоматикой, трансовариальное заражение эмбрионов с последующим замиранием развития; *K. pneumoniae* – один из наиболее опасных по устойчивости к антибиотикам патогенов
Pasteurellaceae	Пастереллёз (геморрагическая септицемия)
Yersinia sp.	Кишечный иерсиниоз
Legionella sp.	Болезни органов дыхания
Bordetella sp.	Сепсисы, болезни органов дыхания
Ornithobacterium rhinotracheale	Болезни органов дыхания
Escherichia sp.	Гастроэнтериты
Staphylococcus sp.	Омфалит, инфекции трубчатых костей, сухожильно-связочного аппарата и суставов
Streptococcus sp.	Септицемии
Campylobacter sp.	Кампилобактериоз – острая кишечная инфекция, опасная в большей степени для человека
Salmonella enterica	Сальмонеллез (чаще в виде септицемии и диареи)
Mycoplasma sp.	Микоплазмоз – поражение органов дыхания
Acinetobacter sp. (в т.ч., A. johnsonii, A. lwoffii, A. radioresistens)	Септицемии, поражения печени, сердца, яйцеводов, аэросаккулиты, мультирезистентны к антибиотикам
Bacteroides fragilis	Синдром RSS и сальпингит птицы, диареи, продуцирует токсин, стимулирующий секрецию провоспалительного цитокина интерлейкина
Pseudomonas aeruginosa	Воспалительные заболевания, септицемии, омфалит
Clostridium perfringens	Некротический энтерит

условно-патогенных бактерий не должен превышать 4-5%-ный барьер. Для патогенных бактерий этот предел определяется их содержанием в слепых отростках в количестве не более 1,0-1,5%. Нормативный уровень бактерий, синтезирующих летучие жирные кислоты, которые обладают противовоспалительными свойствами и являются источником энергии для слизистой оболочки кишечника, составляет 5-15%.

Профиль патогенных форм микроорганизмов необходим на практике

В то же время для кишечного микробиома характерна выраженная гетерогенность свойств внутри рода в связи с высокой изменчивостью геномов бактерий. Разные виды бактерий внутри общей таксономической группы обладают совершенно разными свойствами. Поэтому, описывая состав микробиома пищеварительной системы, бактерии необходимо разделять не только по физиологическим группам, семействам, родам, но и по видам. Например, внутри рода *Clostridium* встречаются как патогенные формы, так и виды, связанные со здоровьем кишечника и, как следствие, с высокой продуктивностью и жизнеспособностью птицы. В частности, это *C. butyricum* – известный продуцент масляной кислоты, которая не только является основным энергетическим материалом для слизистой оболочки кишечника, но и проявляет противовоспалительные свойства.

Тем не менее, как и любая сложная система, микробиом пищеварительного тракта птицы подвержен влиянию множества факторов, как внешних, так и внутренних, включающих состав рациона, систему содержания птицы, схемы лечения и вакцинаций, различающиеся в зависимости от птицеводческих хозяйств. По этой причине содержание бактерий низких таксономических рангов (родов, видов) не может нормироваться строго. Интерпретация результатов количественных значений отдельных родов и видов бактерий у особей с заболеваниями или снижением продуктивности должна осуществляться с учетом особенностей организации процессов производства на каждой конкретной птицефабрике.

Важно, что на основании многолетних исследований микробиоты кишечника были выделены характерные для различных заболеваний профили видового состава патогенных бактерий (табл. 2), на которые нужно ориентироваться в практической деятельности с целью минимизации потерь поголовья птицы и продуктивности.

Получая такой профиль патогенных форм микроорганизмов, в каждом конкретном хозяйстве можно спрогнозировать риск развития заболеваний и проблемы с сохранностью и продуктивностью птицы, а также разработать рекомендации по их профилактике.

Некачественные корма как источник дисбаланса ЖКТ

Известно, что основным источником возбудителей инфекций являются корма, присутствие патогенов в которых – это одна из наиболее распространенных причин дисбаланса микрофлоры желудочно-кишечного тракта птиц. Обобщая результаты анализов, проведенных на нескольких ведущих птицефабриках России, мы выяснили, что среди патогенных и потенциально патогенных бактерий, взаимодействующих с кормами, встречались сальмонеллы (31% встречаемости в пробах), иерсинии (85%), *Enterococcus cecorum* (23%) и ряд других опасных возбудителей заболеваний. Большинство кормов было контаминировано одновременно несколькими патогенами. Например, *Escherichia* sp. и *Staphylococcus* sp. встречались во всех исследованных пробах [2, 3].

Одной из проблем, влекущих нарушения микробиома птиц и другие патологии, кроме патогенных микроорганизмов, является присутствие в кормах ксенобиотиков: микотоксинов и остаточных количеств пестицидов [8]. Микотоксины, поступающие с кормами, подавляют полезных представителей кишечного биоценоза: целлюлозолитиков, расщепляющих клетчатку кормов, и бактерий, синтезирующих летучие жирные кислоты. Это приводит к доминированию в кишечнике патогенных форм микроорганизмов.

Установлено, что микотоксины нередко превышают ПДК в большинстве кормовых ингредиентов для птиц. Чаще всего это Т-2 токсин, ДОН и др. Известно, что трихотеценовые микотоксины ингибируют синтез белка, РНК, ДНК, обладают дерматотоксическими свойствами, вызывая некрозы кожи, геморрагии в кишечнике и мышцах, дегенерацию печени и почек, индуцируют перекисное окисление липидов и разрушение клеток тимуса, селезенки, яичника, семенников. Ухудшается состояние оперения, возможны нервные расстройства. Прежде всего, поражается ротовая полость и зоб, птица теряет аппетит, снижаются темпы роста цыплят, продуктивность несушек и инкубационные качества яиц. При одновременном содержании этих микотоксинов в комбикормах синергический эффект негативного влияния на птицу усиливается. Дисбактериоз и диарея при остром токсикозе неизбежны.

Как правило, в комбикормах выявляются несколько микотоксинов, что также создает эффект синергизма и увеличивает риски негативного влияния их на птицу. Например, в наших исследованиях в комбикорме кукурузно-пшеничного типа для бройлеров слабой токсичности и пониженной на 10 ккал/100 г калорийности было обнаружено 4 микотоксина в концентрациях, ниже предельно допустимых норм (мг/кг): ДОН – 0,3, фумонизин – 0,72, Т2 токсин – 0,061, охратоксин – 0,006. Но за счет синергического эффекта они негативно влияли на результаты выращивания бройлеров. Добавка в такой комбикорм ферментного препарата в комплексе с пробиотиком способствовала повышению живой массы бройлеров на 3,6% при снижении затрат кормов на прирост на 2,4%. Кормовой антибиотик Флавомицин в сочетании с ферментным препаратом в таком комбикорме также обеспечил повышение живой массы бройлеров на 4,42% при снижении затрат кормов на прирост на 3,5% [6]. При этом Флавомицин в мясе обнаружен не был.

Широкое применение в мире популярного гербицида глифосата, а также ввоз кормового сырья из генетически модифицированной сои, устойчивой к глифосату, приводит к повышенному содержанию пестицида в комбикормах. Наш мониторинг комбикормов для разных возрастных групп птицы из различных регионов Европейской части России показал, что присутствие глифосата зафиксировано в 96% исследованных комбикормов, в 25% образцов обнаружено превышение нормы [1, 4, 5, 10].

Механизм действия глифосата основан на ингибировании фермента 5-енолпирувил шикиматфосфатсинтазы – ключевого участка шикиматного пути синтеза трех важнейших аминокислот [9]. У большинства микроорганизмов шикиматный путь является единственным способом синтеза незаменимых аминокислот, поэтому глифосат негативно воздействует на микроорганизмы. В исследовании влияния глифосата на микрофлору птицы показано, что представители нормофлоры не выживают даже при относительно низких концентрациях пестицида, в то время как многие патогены, такие как *Clostridium perfringens, Salmonella enteriditis, Salmonella gallinarum*, способны расти и размножаться в концентрациях глифосата до 5 мг/мл. Установлено, что глифосат стимулирует гиперпродукцию провосполительных генов в кишечнике, что у птицы вызывает пирексию, анорексию, потерю живой массы и апатию [1, 10].

РЕДАКТИРУЕМ МИКРОБИОМ

БИОТРОФ

БИОТРОФ

здоровый микробиом
- основа продуктивности

Тел. +7 (812) 322-85-50
E-mail: biotrof@biotrof.ru
www.biotrof.ru

196608, г. Санкт-Петербург, Пушкин, ул. Малиновская, д. 8, лит. А, пом. 7-Н

Пробиотики в помощь микрофлоре

Многочисленные исследования авторов показали, что использование в комбикормах для птицы натуральных кормовых добавок производства НПК «БИОТРОФ» способствует снижению количества возбудителей гастроэнтеритов, заболеваний респираторной системы, опорно-двигательного аппарата, септицемий вплоть до полного исчезновения.

Роль пробиотических добавок Профорт, Пробиоцид-Ультра, Целлобактерин-Т, разработанных на основе методов полногеномного секвенирования, заключается в механизмах восстановления естественной резистентности нормобиоты [3]. На «первом рубеже» пробиотики конкурируют с патогенами за рецепторы слизистой оболочки кишечника. Другим этапом их работы является синтез антимикробных веществ: карбоновых кислот и бактериоцинов. Применение данных пробиотиков, обладающих ферментами биотрансформации токсинов, позволяет на 69% снизить отрицательное воздействие ксенобиотиков на организм. В частности, при использовании в комбикормах для бройлеров глифосата из расчета 20 мг/кг корма живая масса цыплят к концу выращивания (35 дней) снижалась на 3,6% по сравнению с контролем. Наиболее существенной разница в живой массе была в 14-дневном возрасте бройлеров и составляла 4,7%, что согласуется с мнением о том, что наиболее чувствительны к десиканту именно цыплята раннего возраста. Добавка к этому комбикорму цыплятам опытной группы пробиотика Пробиоцид-Ультра сокращала разницу в живой массе бройлеров по сравнению с контролем до 2,7%. По сравнению с отрицательным контролем живая масса бройлеров при использовании пробиотика Пробиоцид-Ультра, на фоне комбикормов, содержащих глифосат, повышалась на 1,0%.

Заключение

Здоровье и продуктивность птицы во многом зависят от состояния органов пищеварения и состава симбиотического микробиома. На основании анализа нескольких тысяч образцов химуса слепых отростков кишечника сельскохозяйственной птицы определены четкие пороговые значения для тех или иных групп микроорганизмов и выделены характерные для различных заболеваний профили видового состава патогенных бактерий. На примере глифосата показано, что остаточные количества пестицидов в кормах нарушают баланс и снижают защитные функции микробного сообщества кишечника против патогенов. Негативное влияние пестицидов на здоровье и продуктивность птицы можно минимизировать обдуманным применением пробиотиков.

Литература

1. Глифосат в комбикормах для птицы / Лаптев Г.Ю., Тюрина Д.Ю., В.Х. Меликиди В. Х., Околелова Т.М. // Птицеводство. – 2021. – №3. – С. 27-30.

2. Енгашев С.В., Околелова Т.М. и др. Управление производственными рисками в промышленном птицеводстве. – М.: РИОР, 2021.

3. Иммунный статус промышленной птицы на предприятиях: обзор / Дубровин А.В., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А. и др. // Птицеводство. – 2022. – №5. – С. 49-53.

4. Медведев О. Глифосат и его потенциальное влияние на здоровье человека // Комбикорма. – 2017. – №4. – С. 61-63.

5. Медведев О. Глифосат в сое снова под подозрением // Комбикорма. – 2019. – №4. – С. 92-93.

6. Околелова Т.М., Енгашев С.В. Роль кормления в профилактике незаразных болезней птицы. Монография. – М.: РИОР, 2019.

7. Околелова Т.М., Енгашев С.В. Научные основы кормления и содержания сельскохозяйственной птицы. Монография. – М.: РИОР, 2021.

8. Околелова Т.М., Енгашев С.В., Лаптев Г.Ю. Риски для птицеводства, связанные с глифосатом // Наше сельское хозяйство. – 2021. – №6 (254). – С. 4-9.

9. Околелова Т.М., Енгашев С.В., Енгашева Е.С. и др. Критерии оценки физиологического состояния птицы и качества продукции. Монография. – Алматы: Нур-Принт, 2022.

10. Так ли безобиден глифосат /Г. Лаптев, Е. Йылдырым, Д. Тюрина, Л. Ильина и др. // Комбикорма. – 2022. – №7-8. – С. 67-70.

11. Dohms J.E., Metz A. Stress-mechanisms of immunosuppression // Vet.Immunopathol. – 1999. – V. 30. – №1. – P. 89-109.

12. Klasing K.C. Nutrition and the immune system // Br. Poult. Sci. – 2007. – V.48. – №5. – P. 525-537.