

Можно ли обойтись без пробиотиков?

Иылдырым Е.А., кандидат биологических наук, биотехнолог

Ильина Л.А., начальник молекулярно-генетической лаборатории

Дубровин А.В., биотехнолог

Филиппова В.А., биотехнолог

Новикова Н.И., кандидат биологических наук, первый заместитель директора

Тюрина Д.Г., кандидат экономических наук, главный бухгалтер

Лаптев Г.Ю., доктор биологических наук, директор

Меликиди В.Х., аспирант, биотехнолог

ООО «БИОТРОФ» (Санкт-Петербург)

Аннотация: В условиях интенсификации производства организм птиц поставлен в очень жесткие условия: состав рациона нацелен на сверхпродуктивность, корма поражены патогенами и их токсинами, большое поголовье концентрируется на ограниченных площадях. Это ведет к нарушению хрупкого баланса между кишечными микроорганизмами, заболеваемости, снижению продуктивности, массовому падежу, снижению уровня безопасности продукции. Корма могут являться фактором передачи возбудителей инфекционных заболеваний. При изучении микрофлоры комбикормов методом NGS-секвенирования в лаборатории ООО «БИОТРОФ» удалось установить, что гастроэнтериты у кур на одной из птицефабрик были связаны с присутствием в корме возбудителей опасных заболеваний: пастерелл (4,64%), фузобактерий, стафилококков. Было показано, что патогены обладают способностью к размножению, накоплению и циркуляции на птицефабрике по цепочке «корма, вода - кишечник - подстилка». Еще одной проблемой, влекущей за собой нарушения микробиома кур и возникновение других патологий, является присутствие в кормах микотоксинов. Известно, что присутствующие в желудочно-кишечном тракте эмбриона микроорганизмы являются основой, которая определяет формирование стартового кишечного биоценоза вылупившихся цыплят. На примере препарата Проформ (производства ООО «БИОТРОФ») показано, что введение в рацион птиц пробиотиков экономически оправдано, поскольку эта мера является существенным резервом значительного увеличения производства мяса и роста рентабельности производства.

Ключевые слова: NGS-секвенирование, молекулярно-биологические методы, микрофлора кишечника кур, пробиотик Проформ.

Введение. Кишечник животных и птиц - это сложная экосистема, которая колонизирована как полезными симбиотическими, так и патогенными микроорганизмами. Бытует мнение, что состав микрофлоры оказывает влияние на

общее состояние кишечника. Это мнение правильное, но крайне ограниченное. На самом деле нет ни одного биохимического процесса, ни одной функции живых организмов, которые осуществлялись бы без прямого или опосре-

дованного участия в них симбиотических микроорганизмов [3]. Микрофлора обладает важными функциями: расщепление клетчатки кормов до усваиваемых организмом форм, синтез летучих жирных кислот и витаминов, под-



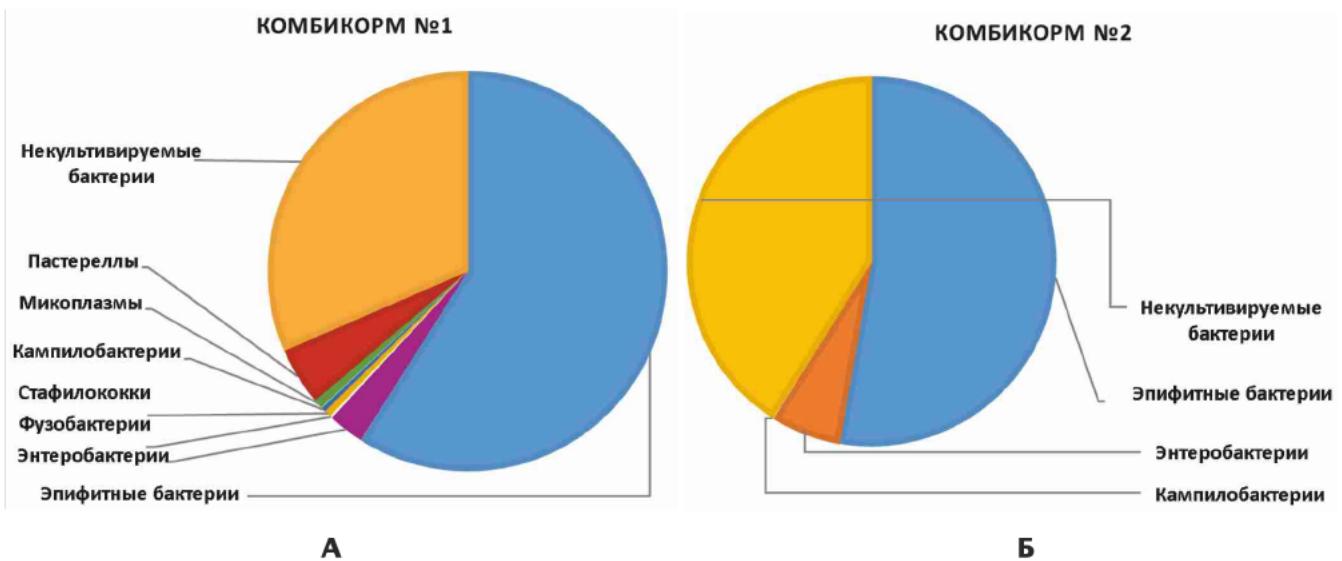


Рисунок 1. Содержание микрофлоры в комбикормах. №1 и №2 - условные номера птицефабрик.

держание иммунитета, защита от патогенов, нейтрализация токсинов и пр. Все это имеет прямую связь с состоянием здоровья, продуктивностью, сроком хозяйственного использования животных и птиц [4].

Поэтому, подобно оркестру, где для управления большим музыкальным коллективом нужен дирижер, выстраивающий безупречную мелодию из хаоса звуков, организму животных и птиц необходим пробиотик. Именно он будет указывать, когда нужно «вступить» тому или иному «инструменту», определяет силу и ритм «звука». Пробиотики - это препараты, содержащие в своем составе бактерии, способные регулировать микробиом.

Нужно ли давать пробиотики постоянно? Между различными группами микроорга-

низмов должен присутствовать строгий экологический баланс. Человеку для предотвращения развития дисбактериоза в большинстве случаев достаточно соблюдать «здоровую», сбалансированную диету и обогатить рацион клетчаткой, продуктами, содержащими полезные бактерии - кефиром, сметаной, сырами, квашеной капустой, минимизировать употребление сахара и крахмалистых продуктов.

Однако в условиях интенсификации производства продукции птицеводства организм птиц поставлен в очень жесткие условия: состав рациона нацелен на сверхпродуктивность, корма поражены патогенами и их токсинами, большое поголовье концентрируется на ограниченных площадях. Это ведет к нарушению хрупкого баланса между кишечными мик-

роорганизмами, заболеваемости, снижению продуктивности, массовому падежу, снижению уровня безопасности продукции.

Присутствие патогенов в кормах - одна из наиболее распространенных причин дисбаланса микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) птиц. Так, при изучении микрофлоры комбикормов методом NGS- секвенирования в лаборатории ООО «БИОТРОФ» удалось установить, что гастроэнтериты у кур на одной из птицефабрик были связаны с присутствием в корме возможных опасных заболеваний: пастерелл (4,64%), фузобактерий, стафилококков (рис. 1А). На другой птицефабрике в корме были выявлены патогенные энтеробактерии (6,08%) и кампилобактерии (рис. 1Б). Возможно, внутриклеточная локализация бактерий в

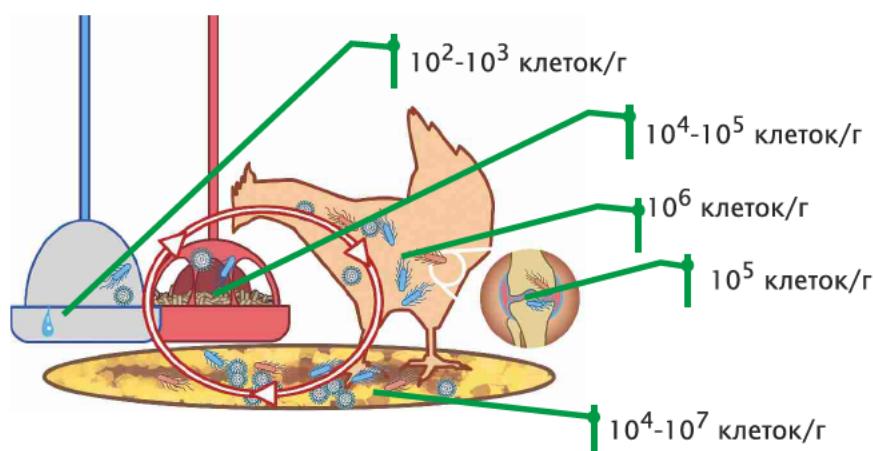


Рисунок 2. Циркуляция стафилококков на птицефабрике

растительных кормах, а также возможность формирования биопленок защищает их от воздействия высоких температур при экспандировании и экструдировании кормов.

Таким образом, корма могут являться фактором передачи возбудителей инфекционных заболеваний.

Наши исследования, проведенные на одной из ведущих птицефабрик, продемонстрировали также роль воды и подстилки как важных резервуаров и факторов риска передачи патогенов птице. Как видно из рис. 2, патогенные стафилококки обладают способностью к размножению, накоплению и циркуляции на птицефабрике по цепочке «корма, вода - кишечник - подстилка». Аналогичную картину мы наблюдали также и для других возбудителей заболеваний птиц. Дело в том, что экологические особен-

ности многих патогенов заключаются в способности к существованию вне связи с организмом животных и птиц, что позволяет микроорганизмам длительно сохраняться и размножаться во внешней среде, хорошо адаптируясь к ряду абиотических факторов (широкому диапазону температур, pH, влажности и др.), а также противостоять фагоцитозу простейшими (амебами, инфузориями) и утилизации другими беспозвоночными. При попадании в bla-

гоприятные для роста и размножения условия кишечника по звеньям технологической цепи патогенные бактерии увеличивают там свою численность (рис. 2).

Одной из проблем, влекущих за собой нарушения микробиома кур и возникновение других патологий, является присутствие в кормах микотоксинов. С появлением молекулярно-биологических методов исследования микрофлоры доказано, что 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. Установлено, что микотоксины превышают норму в большинстве ингредиентов кормов для птицы. Как правило, в комбикормах одновременно выявляются несколько

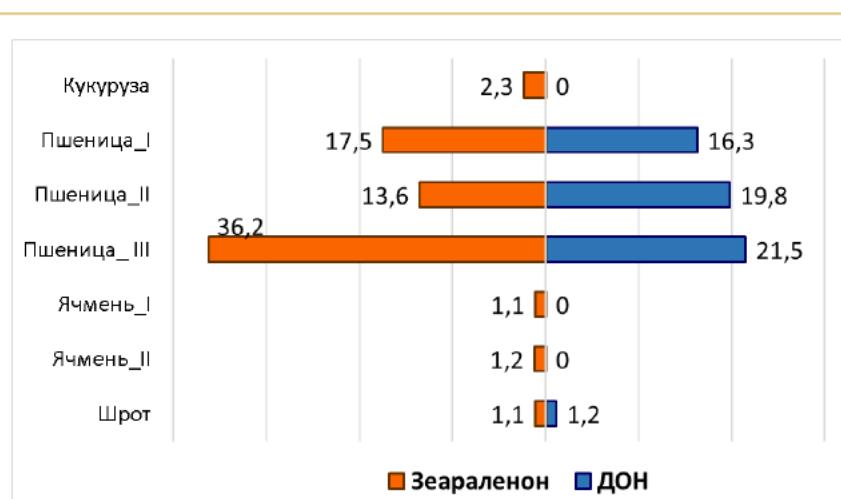


Рисунок 3. Уровень превышения ПДК зеараленона и ДОН в кормах для птиц (I, II, III - различные партии кормов).



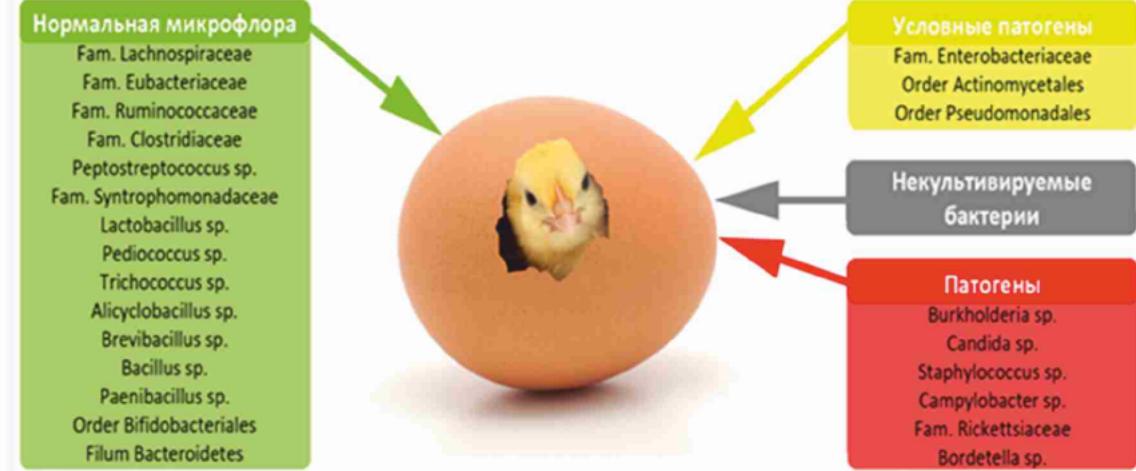


Рисунок 4. Состав микрофлоры куриных эмбрионов, определенный с использованием молекулярно-биологических методов



микотоксинов, что создает эффект синергизма.

Не так давно к нам обратились ветеринарные специалисты одной из лидирующих птицефабрик, диагностировавшие у птицы микотоксикоз, которому сопутствовали дисбиотические расстройства микрофлоры кишечника. Мы провели исследование содержания микотоксинов в различных видах и партиях кормов. Во всех исследованных видах кормов - кукурузе, шроте, различных партиях пшеницы и ячменя - было выявлено превышение уровней ПДК по одному или нескольким микотоксинам (рис. 3). Особенно опасной оказалась пшеница: превышение ПДК по зеараленону и дезоксиваленолу (ДОН) в ней достигало 36,2 и 21,5 раз соответственно. Зеараленон и ДОН - это микотоксины, производимые грибком *Fusarium* еще в процессе вегетации в поле.

Когда вводить пробиотики?

Традиционно считается, что ЖКТ эмбрионов птиц стерилен [5], а формирование микробиоценоза пищеварительной системы птенцов происходит после вылупления в результате контакта с окружающей средой [1,2].

В компании «БИОТРОФ» были проведены уникальные молекулярно-биологические исследования, которые продемонстрировали, что микроорганизмы, отвечающие за адаптацию организма птицы к внешней среде, а также патогенные формы способны колонизировать ЖКТ птиц на стадии эмбрионального развития внутри яйца (рис. 4). Скорее всего, микробиом ЖКТ эмбриона формируется под влиянием микрофлоры несушки путем вертикальной передачи. Другим дополнительным источником микрофлоры могут являться поры в оболочке

яйца.

Так, например, в микробном сообществе кишечника эмбрионов были обнаружены такие бактерии как *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp. и *E. coli*, способные вызывать омфалит (пупочно-желточную инфекцию) - опасное заболевание, которое является основной причиной смертности цыплят от вывода и до 14 дней жизни. Выявленные в кишечнике эмбрионов бактерии рода *Bordetella* - это возбудители заболеваний респираторного тракта птиц, в основном, цыплят раннего возраста.

Эти данные имеют большое практическое значение, поскольку для цыплят несколько дней перед выводом и первые дни после вывода являются критическими для развития и выживания. В этот период в их организме происходит метаболический и физиоло-



гический переход от питания в яйце (за счет желтка) к сухому корму. В то же время, иммунная система цыпленка еще не полностью развита и подвержена негативным воздействиям патогенной микрофлоры. Поэтому предпосылкой к возникновению заболеваний у вылупившихся цыплят может являться неблагоприятный состав микрофлоры ЖКТ, сопровождающийся увеличением численности вышеназванных патогенов, на стадии эмбрионального развития.

Очевидно, что присутствующие в ЖКТ эмбриона микроорганизмы являются основой, которая определяет формирование стартового кишечного биоценоза вылупившихся цыплят. Смоделировать природную схему защиты птенцов в промышленных условиях возможно, если заселить их ЖКТ полезными пробиотическими микроорганизмами с первых часов жизни.

Отказ от пробиотика -

потеря прибыли. Одной из основных задач всей производственной цепочки в птицеводстве является получение прибыли.

На одной из птицефабрик был проведен 2-стадийный эксперимент, на первом этапе которого в рацион бройлеров был включен пробиотик Профорта на основе двух штаммов полезных бактерий; на втором этапе пробиотик был исключен из рациона. В табл. 1 представлены производственно-экономические показатели выращивания бройлеров, рассчитанные для обоих этапов эксперимента (с Профортом и после отмены Профорта).

Установлено, что после отмены пробиотика получение мясопродукции снизилось на 22 005 кг по сравнению с периодом введения в рацион Профорта, что свидетельствует о более эффективном использовании генетического потенциала бройлеров при применении пробиотика. Конверсия

корма, которая является важнейшим фактором рентабельности всего производства, после отмены пробиотика увеличилась на 0,07; индекс продуктивности, являющийся обобщающим производственным показателем эффективности бройлерного птицеводства, упал на 23,71 пункта. Итоговый размер недополученной вследствие отмены пробиотика прибыли составил 866 720 руб.

Очевидно, что введение в рацион птиц пробиотиков экономически оправдано, поскольку эта мера является существенным резервом значительного увеличения производства мяса и роста рентабельности производства.

Подводя итог, нужно отметить, что на современном этапе развития птицеводства несомненным приоритетом является диктатура интенсивной технологии выращивания птицы, что приводит к нарушениям микробиома кишечника уже с первого дня жизни. Бактериальная обсемененность и токсичность кормов, создание резервуаров патогенных форм на различных этапах технологической цепи производства является серьезной проблемой для промышленного птицеводства, поскольку это вызывает распространение заболеваний сельскохозяйственной птицы, снижение уровня продуктивности, и, как следствие, прибыли. В

Таблица 1. Производственно-экономические показатели выращивания бройлеров

Показатель	С Профортом	Без Профорта	Разница
Посажено голов	164 392	174 805	
Возраст основного забоя, сут.	44,22	42,33	
Всего сдано на убой, кг	405 399	385 085	-20 314
Получено мясопродукции, кг	356 413	334 408	-22 005
в т.ч. мяса, кг	309 599	291 548	-18 051
Конверсия корма	1,44	1,51	0,07
Индекс продуктивности	364,21	340,5	-23,71
Площадь зала, м ²	6912	6912	
Сбор мяса в убойном весе с 1 м ²	58,65	55,71	-2,94
Сбор мяса в мясном весе с 1 м ²	44,79	42,18	-2,61
Мясо по отношению к убойному весу	0,764	0,757	
Затрачено кормов всего, кг	656 880	615 640	-41 240



этих условиях большое значение имеют профилактические мероприятия, направленные на восстановление баланса естественной микрофлоры кишечника с помощью введения пробиотиков уже с первого дня жизни птицы.

Литература

1. Amit-Romach E., Sklan D., Uni Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers // Poult. Sci. - 2004. - V. 83. - P. 1093-1098.
2. Dibner J.J., Richards J.D., Knight C.D. Microbial imprinting in gut development and health // J. Appl. Poult. Res. - 2008. - V. 17. - P. 174-188.

3. Borda-Molina D., Seifert J., Camarinha-Silva A. Current perspectives of the chicken gastrointestinal tract and its microbiome // Comput. Struct. Biotechnol.J. - 2018. - V. 16. - P. 131-139.

4. Kohl K.D. Diversity and function of the avian gut microbiota // J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol. - 2012. - V. 182, No 5. - P. 591-602.

5. Maiorka A., Dahlke F., de Azevedo Morgulis M.S.F. Broiler adaptation to post-hatching period // Ciéncia Rural. - 2006. - V. 36. - P. 701-708.

Для контакта с авторами:

Йылдырым Елена Александровна
E-mail: deniz@biotrof.ru

Ильина Лариса Александровна

E-mail: ilina@biotrof.ru

Дубровин Андрей Валерьевич

E-mail: dubrovin@biotrof.ru

Филиппова Валентина

Анатольевна

E-mail: filippova@biotrof.ru

Новикова Наталья Ивановна

E-mail: novikova@biotrof.ru

Тюрина Дарья Георгиевна

E-mail: tiurina@biotrof.ru

Лаптев Георгий Юрьевич

E-mail: laptev@biotrof.ru

Меликиди Вероника Христофоровна

E-mail: veronika@biotrof.ru

Can We Dispense with the Probiotics?

Yildyrym E.A., Ilyina L.A., Dubrovin A.V., Filippova V.A., Novikova N.I., Tiurina D.G., Laptev G.Yu., Melikidi V.Kh.

BIOTROF, Ltd. (Saint-Petersburg)

Summary: The intense poultry production puts the birds into the extremely hard conditions: composition of the diets is aimed at the highest productivity level; the feed are contaminated with pathogens and their toxins; large flocks are concentrated in relatively small productive areas. All these factors can disturb the delicate balance of the intestinal microbiota, induce the diseases in poultry, deteriorate the productive performance, induce massive mortality, deteriorate the safety of the products. Certain diseases can be passed to poultry via infected feeds. The investigation of in-feed microbiota performed by BIOTROF, Ltd., using the new generation sequencing (NGS) technique revealed that the outbreak of gastroenteritis in a poultry farm was related to the contamination of feeds with certain hazardous pathogens: Pasteurellas (4.64%), Fusobacteria, and Staphylococci. It was found that these pathogens can accumulate and circulate at the farm via the chain "water and feeds - birds' intestines - litter material". Another problem disturbing the microbiota in chicken and inducing different pathologies is the contamination of feeds with mycotoxins. It is known that the gastrointestinal microbiota in poultry embryos is a basis for subsequent formation of "starting" intestinal microbial population at the hatch of chicks. On the example of probiotic Profort (BIOTROF, Ltd., Russia) authors showed that the use of probiotics in diets for poultry is cost-effective since these additives can substantially increase the production of poultry meat and the profitability of meat production.

Key words: new generation sequencing (NGS), molecular biologic methods of analysis, intestinal microbiota in chicken, probiotic Profort.