

Стерильно ли яйцо?

Наталья НОВИКОВА
Георгий ЛАПТЕВ
Елена ГОРФУНКЕЛЬ
Елена ЙЫЛДЫРЫМ
Лариса ИЛЬИНА
Илья НИКОНОВ
Валентина СОЛДАТОВА
ООО «БИОТРОФ»

Принято считать, что эмбрионы кур стерильны, а кишечник птенцов заселяется бактериями уже после их вылупления. Такое мнение сложилось в 1950 г., когда группа исследователей опубликовала в американском журнале *Journal of Nutrition* результаты первых экспериментов с использованием классических методов микробиологии.

Современные молекулярно-генетические методы позволили установить, что в биосфере всего лишь 1% бактерий являются культивируемыми, а также дают возможность изучать разнообразие микроорганизмов без сопутствующих традиционным методам микробиологии ограничений, то есть минуя стадию культивирования.

Один из наиболее перспективных на сегодняшний день — ПЦР в реальном времени — молекулярно-генетический метод, основанный на полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени.

В России на базе ООО «БИОТРОФ» ученые, применив метод ПЦР в реальном времени, впервые провели анализ микрофлоры хориоаллантаоисных оболочек (ХАО), желточных мешков и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) куриных эмбрионов 6-, 13-, 18- и 20-суточных периодов инкубации. Яйца инкубировали в инкубатории одной из птицефабрик Ленинградской области.

Отбор проб проводили в молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ» со строгим соблюдением стерильности. Подготовку образцов осуществляли в соответствии с требованиями Инструкции по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и перерабатывающих предприятиях.

При микробиологическом исследовании содержимого яйца поверхность скорлупы обрабатывали теплым (30 ± 2 °C) щелочным раствором (0,2%-я концентрация каустической соды) в течение 1,5–2 минут, промывали водопроводной водой, после стекания которой яйцо погружали в 70%-й этиловый спирт. На остром конце яйца стерильными ножницами проделывали отверстие диаметром около 30 мм, содержимое выливали в стерильную чашку Петри и отделяли необходимый материал стерильными инструментами.

Результаты исследований с использованием метода ПЦР в реальном времени подтвердили, что на протяжении всего периода инкубации в куриных эмбрионах присутствовали различные микроорганизмы. Так, общее количество бак-

Микроорганизмы, содержащиеся в ХАО, желточных мешках и ЖКТ куриных эмбрионов

Микроорганизмы, тыс. клеток/г	Период инкубации, сут.				
	6	13	18	20	
	ХАО	Желточный мешок	ЖКТ		
Общее количество бактерий	99	113	50	50	57
<i>Lactobacillus</i> spp.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
Бактерии, использующие органические кислоты	2,5	1,25	<п.д.о.	1,6	0,65
<i>Условно-патогенные</i>					
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	4	15,5	4	4	6,5
Бактероиды: <i>Prevotella</i> spp. и <i>Porphyromonas</i> spp.	32	35,2	6,3	20	16,2
<i>Eubacterium</i> spp.	10	15	4	9,9	9
<i>Lachnobacterium</i> spp. и <i>Clostridium</i> spp.	13	30	25	25	23
Актиномицеты: <i>Mobiluncus</i> spp. и <i>Corynebacterium</i> spp.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
<i>Atopobium</i> spp.	<п.д.о.	<п.д.о.	0,2	0,1	<п.д.о.
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	1,3	1,6	<п.д.о.	1	<п.д.о.
<i>Патогены</i>					
Семейство <i>Fusobacteriaceae</i>	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
<i>Streptococcus</i> spp.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
<i>Staphylococcus</i> spp.	<п.д.о.	10,9	9,9	13	1
Дрожжи <i>Candida</i> spp.	6,3	7	4	2,5	3,3
<i>Campylobacter</i> spp.	4,35	<п.д.о.	4,5	5,65	<п.д.о.

Примечание. <п.д.о. — ниже предела достоверного определения

терий в ХАО, желточных мешках и ЖКТ куриных эмбрионов 6–20-суточного срока инкубации колебалось от 50 до 113 тыс. клеток/г.

На 6, 13 и 20-е сутки инкубации в зародышах были выявлены кислотоутилизирующие бактерии родов *Megasphaera* spp., *Veillonella* spp., *Dialister* spp., трансформирующие органические кислоты и являющиеся типичными обитателями рубца жвачных. Традиционные представители кишечной микробиоты — лактобактерии — в куриных эмбрионах обнаружены не были.

На протяжении всего периода инкубации в куриных зародышах присутствовали условно-патогенные энтеробактерии, бактероиды, эубактерии, лакнобактерии, кластридии и пептострептококки (кроме 18-х суток инкубации), среди которых встречаются возбудители различных заболеваний животных, птицы и человека. Наибольшую численность этих микроорганизмов зарегистрировали на 13-е сутки инкубации эмбрионов. На 18–20-е сутки в них появлялись условно-патогенные актиномицеты рода *Atopobium* spp. в количестве 100–200 клеток/г (таблица).

Особое внимание следует обращать на наличие в куриных эмбрионах патогенных микроорганизмов. На протяжении всего периода инкубации в зародышах обнаруживали патогенные дрожжи рода *Candida* spp. (от 3,3 до 7 тыс. клеток/г) — возбудителей различных заболеваний, в том числе гастроэнтерита.

На 13–20-е сутки инкубации в куриных эмбрионах появились патогенные стафилококки (от 9,9 до 13 тыс. клеток/г), крайне опасные для животных, птицы и человека. Бактерии могут поражать практически любой орган и ткань. Среди микроорганизмов, вызывающих пищевые токсикозы, стафилококк занимает одно из первых мест.

Кроме того, на 6, 18 и 20-е сутки инкубации в куриных эмбрионах нашли кампилобактерии, среди которых нередко выявляют патогены: *Campylobacter venerealis*, *C. fetus*, *C. mucosalis* и др. Например, у кур чаще всего обнаруживают болезнетворные бактерии *C. jejuni*. Этот микроорганизм может вызывать уменьшение прироста массы бройлеров, снижение яйценоскости кур-несушек и падёж цыплят. У человека вид *C. jejuni* провоцирует гастроэнтериты, по тяжести клинического течения превосходящие сальмонеллезы и шигеллезы.

В куриных эмбрионах кампилобактерии содержались в количестве 4,35–5,65 тыс. клеток/г. Показатели полностью совпадают с результатами экспериментов, которые в 2012 г. опубликовала в Brazilian Journal of Microbiology группа бразильских ученых. Исследователи искусственно заразили кур-несушек кампилобактериями. Используя метод ПЦР в реальном времени, при анализе микрофлоры полученных от этих кур эмбрионов специалисты выявили наличие больших количеств кампилобактерий.

В то же время исследования в лаборатории ООО «БИОТРОФ» показали, что патогенные фузобактерии и стрептококки содержались в куриных эмбрионах в количестве ниже предела достоверного определения методом RT-PCR или полностью отсутствовали.

Предположительно, одна из возможных причин проникновения микроорганизмов в яйцо — поры в его оболочке. После этого бактерии попадают в организм развивающегося зародыша и выживают в течение инкубационного периода. Некоторые исследователи считают, что вероятный путь заражения — вертикальный (передача инфекции от матери потомству).

Можно сделать вывод, что заселение ЖКТ цыпленка бактериями, в том числе патогенными, происходит уже на стадии развития эмбриона.

Смоделировать природную схему защиты птенцов в промышленных условиях возможно с помощью интродукции полезных микроорганизмов в ЖКТ с первых часов жизни цыплят (в инкубатории) и закрепить этот эффект уже в птичнике, куда поступает молодняк для выращивания.

Источником конкурентоспособных микроорганизмов, осуществляющих контроль над численностью патогенной микрофлоры путем вытеснения ее из кишечного микробиоценоза, могут быть пробиотические препараты. **ЖР**

ООО «БИОТРОФ»
192288, Санкт-Петербург, а/я 183
Тел.: (812) 448-08-68
Факс: (812) 322-85-50
E-mail: biotrof@biotrof.ru

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПРОБИОТИКИ

**Целлобактерин+
Целлобактерин - Т**

Помогают усвоить:
подсолнечный шрот
пивную дробину
отруби
зерно

Укрепляют здоровье
и иммунитет животных

НАТУРАЛЬНЫЕ ЗАМЕНИТЕЛИ КОРМОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

**Микс-Ойл
Провитол**

Обладают
антимикробным
антиоксидантным
противовоспалительным
действием

БИОКОНСЕРВАНТЫ

**Биотроф
Биотроф-111
Биотроф-600**

Сохраняют
силос
сенаж
зерносенаж
плющенное зерно

микробиология для животноводства

БИОТРОФ



(812) 322 85 50
452 42 22
448 08 68

www.biotroph.ru

РЕКЛАМА