

Relationship between  
the egg bacteriota  
and the chicken gut  
bacteriota in the light  
of new generation  
sequencing (NGS)  
methods

Literature review

G. Csitári\*  
L. Pál  
V. Farkas  
N. Such  
K. Dublec

Magyar Agrár- és Élettudományi  
Egyetem, Élettani  
és Takarmányozástani Intézet,  
Georgikon Campus  
H-8360 Keszthely, Deák F. u. 16.

\*e-mail: csitari.gabor@uni-mate.hu

# A tojásbakterióta és a csirke bélbakteriótájának kapcsolata az újgenerációs szekvenálási eljárások fényében Irodalmi összefoglaló

Csitári Gábor\*, Pál László, Farkas Valéria, Such Nikoletta, Dublec Károly

## ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők irodalmi adatok alapján ismertetik az elmúlt évtizedben, leginkább az újgenerációs szekvenálási eljárások elterjedése miatt bekövetkezett hatalmas fejlődést a tojásbakterióta, valamint a brojlercsirkék bélcsatornájában élő bakterióta megismerésében. A bakteriális közösségek pontosabb taxonómiai leírása mellett lehetővé vált az is, hogy nyomon követhessük változásaikat és megismerjük a változásokat meghatározó tényezőket. A brojlercsirkék esetében a tojásra vagy tojásba kerülő baktériumok terjedési útjainak kísérleti vizsgálata során, az ismert horizontális útvonalak mellett a vertikális, tojótútkból a csibére terjedést is sikerült jobban jellemezni. Az újabb tudományos ismeretek lehetővé teszik a tojásokon vagy a naposcsibéken alkalmazott probiotikumok hatékonyabb használatát is.

## SUMMARY

In the last decade, due to the new generation sequencing (NGS) techniques, there has been a huge improvement in the investigation of the external and internal bacteriota of eggs. At the same time, serious progress was made in the understanding of the composition of the bacterial community living in the intestinal tract of the chicken and its role in the life of the host animal. At higher taxonomic levels (phylum, class), the typical bacterial communities of the egg and the different parts of the intestinal tract is already well known. *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* and *Actinobacteria* are the most dominant phyla in both the egg and in the gut. At lower taxonomic levels (genus, species), the observed differences between the bacterial communities can be better explained. We have more detailed knowledge about the bacterial interactions between laying hens and chicks, as well as the spreading routes of prokaryotic microorganisms. During the experimental investigations of the spread and transmission routes of prokaryotic microorganisms, in addition to the known horizontal routes (from the environment, feed, drinking water), the vertical transmission (from laying hen to egg) was also better characterized. The bacteria of the reproductive organs of the hen gave new results about the potential vertical transmission routes of bacteriota. The more thorough scientific knowledge about the different bacterial communities and their interactions makes it possible to use probiotics in the broiler husbandry more effectively.

BAROMFI

Az újgenerációs szekvenálási eljárások (next generation sequencing, NGS) bevezetése és széles körű alkalmazása miatt napjainkban számos olyan kutatási terület indult fejlődésnek, amelynek fontossága korábban is ismert volt, de hiányoztak a megfelelő vizsgálati módszerek. Ilyen terület az állati bélcsatorna, valamint az állati eredetű termékek mikrobiótájának kutatása. A mikrobióta magában foglalja a prokarióta mikroorganizmusok, mikrogombák, algák és egysejtű állatok közösségeit.

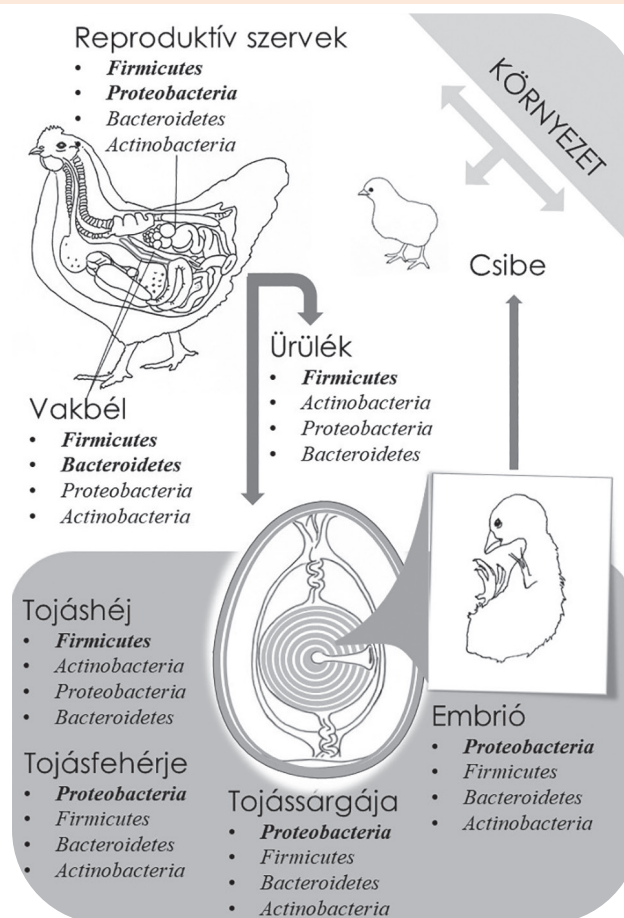
**Az újgenerációs szekvenálási eljárások lehetővé tették a mikrobióta széles körű vizsgálatát**

Közleményünkben a prokarióta mikroorganizmusok közösségére a helyes bakterióta kifejezést használjuk. A brojlerek bélcsatornája (elsősorban vékonybél és vakbél) és a tojás külső és belső bakteriótájával kapcsolatban számos új eredményt tettek közzé az elmúlt években, amelyről úgy gondoljuk érdemes beszámolni ebben a folyóiratban. Bemutatjuk a tojáshéj és a tojás belsejének bakteriális közösségeit, valamint ezeknek a közösségeknek a kapcsolatát a tojásban fejlődő embrió és kikelt csibe bélcsatorna bakteriális közösségeivel. A csirke és tojás bakteriális közösségeit és a baktériumok terjedési útjait az **Ábra** foglalja össze. Az NGS alkalmazása önmagában is sok információt nyújt a prokarióta mikrobaközösségek

**ÁBRA.** A csirke és tojás bakteriális közösségeinek összetétele törzs szinten és a baktériumok terjedési útjai (nyilakkal jelölve) A törzsek csökkenő relatív gyakoriság szerint vannak egymás alá rendezve, a vastagított betűvel szedettek dominánsak

**FIGURE.** The composition of the prokaryotic microbial communities of chicken and egg at phylum level and the spreading routes of bacteria (indicated by arrows)

The phyla are arranged according to decreasing relative abundance, the ones in bold are dominant



taxonómiai összetételéről és azok változásáról, de mindig célszerű más vizsgálatokat is végezni, hogy értelmezzük az eredményeket, megismerjük a változást okozó tényezőket és a bakteriális közösségek gazdaállatra gyakorolt hatásait.

## A TOJÁSHÉJ BAKTERIÓTÁJA

**A tojáshéj baktériumai  
külső és belső forrásból  
is származhatnak**

A tojások és a tojáshéj mikrobiális vizsgálatának elsőként humánegészségügyi okai voltak. Több kórokozó, elsősorban a *Salmonella* fajok, a tojásból készült ételek elfogyasztása után súlyos ételfertőzéseket okozhat, ezért alapvető fontosságú az egészségügyi szempontból biztonságos tojások termelése. A tojáshéj baktériumai belső és külső forrásból egyaránt származhatnak. Belső forrásnak tekinthető maga a tojóttyúk (reproduktív szervek, utóbél, kloáka), míg a környezet (takarmány, alom, víz, levegő) külső forrása a szennyező baktériumoknak.

A tojáshéj-bakterióta vizsgálatáról számos eredményt tettek közzé a 2000-es évekig, elsősorban tenyésztéses vizsgálatok alapján. Ezek szerint a tojáshéj jellemző bakteriális közösségét főleg Gram-pozitív baktériumok alkotják. A leggyakrabban leírt nemzetségek az *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Cytophaga*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* és *Staphylococcus* voltak [1]. A baktériumok mennyiségét aerob tenyésztéssel  $10^3 - 10^6$  /cm<sup>2</sup> közötti értékekre mérték a tojáshéjon [2, 3].

**A tojáshéj jellemző  
bakteriális közösségét  
főleg Gram-pozitív  
baktériumok alkotják**

A 2000-es évektől a DNS-szekvenálási módszerek fejlődésével lehetőség nyílt a tojáshéj-bakterióta alaposabb megismerésére. Többféle eljárás kifejlesztése és alkalmazása utána nagy áttörést a 16S rRNS-t kódoló 16S rDNS szekvenálásán alapuló NGS-eljárások jelentették. A 16S rDNS szekvenciák, pontosabban azok 200–400 nukleotid hosszúságú részének bioinformatikai feldolgozása után a prokarióta mikroorganizmusok különböző rendszertani szinteken azonosíthatók és a közöttük levő kapcsolatok statisztikai módszerekkel vizsgálhatók. A DNS-alapú módszerek segítségével a nem tenyészthető baktériumok is azonosíthatók lettek, és egy adott baktérium jelenlétének kimutatási határa is csökkent [4]. Az NGS a többi módszerhez képest a szolgáltatott információmennyiség és ár arányhoz viszonyítva jelentősen nem drágább, és alkalmas nagyszámú minta feldolgozására is. Számos előnye mellett az NGS hátrányokkal is rendelkezik. Ideális esetben adott mintából az összes DNS-t izolálni lehet, és az izolált DNS teljes egésze felhasználható az eljárás során. A gyakorlatban azonban ez nincs így. A minta kezelése, homogenizálása, a DNS kivonása és tisztítása, a szekvenációs adatok feldolgozási módja mind erősen befolyásolja, hogy a folyamat végén mennyire hűen kapjuk meg a vizsgált bakterióta eredeti összetételét [5, 6]. A kis csíraszámú minták vizsgálata szintén számos módszertani problémát vet fel [7]. Ennek nagy jelentősége lehet pl. a tojás belsejének bakteriális vizsgálatakor.

A tojáshéj-bakteriótáról többen is közöltek részletes, NGS alkalmazásával kapott adatokat [8–10]. Eredményeik alapján a *Firmicutes* a domináns törzs, az *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* és *Proteobacteria* törzsek tagjai változó arányban találhatóak a tojáshéjon. Az 1%-nál nagyobb relatív gyakoriságú családokat vizsgálva a *Ruminococcaceae* (16,6%), *Dermabacteraceae* (7,8%), *Lachnospiraceae* (7,7%), *Staphylococcaceae* (7,4%), *Corynebacteriaceae* (7,2%), *Lactobacillaceae* (6,2%), *Bacteroidaceae* (2,6%), *Moraxellaceae* (2,1%), *Micrococcaceae* (2,0%), *Erysipelotrichaceae* (1,9%), *Coriobacteriaceae* (1,8%), *Clostridiaceae* (1,4%), *Flavobacteriaceae* (1,2%), *Bacillaceae* (1,1%) és *Peptostreptococcaceae* (1,1%) taxonok a leggyakoribbak [9]. Magasabb taxonómiai szinteken (törzs és család) viszonylag kevés az eltérés a különböző szerzők adatai között, nemzetség szinten már jóval több [8, 9]. Ez a megállapítás nemcsak a tojáshéj bakteriális közösségére érvényes, de a csirke bélcsatorna és tojás belső részeinek bakteriális közösségeire is.

A taxonómiai összetétel mellett fontos kérdés, hogy milyen forrásból származnak a tojáshéj baktériumai. VolF és mtsai meghatározták a tojáshéjon előforduló leg-

gyakoribb nemzetségeket, és megadták ezek származásának forrását is [10]. Legnagyobb arányban a *Faecalibacterium prausnitzii* és az *Oscillibacter ruminantium* (7,20 és 5,98%) fordult elő mintáikban, mindkét faj a *Firmicutes* törzsbe tartozik. Ezek és a *Bacteroides* nemzetség különböző fajai (12,0%), valamint a *Megamonas hypermegale* és *M. funiformis* (1,20 és 1,94%) a tojó vakbél-bakteriójának jellegzetes alkotói. A *Clostridium sporogenes* (4,79%), az *Actinomycetales* rendbe tartozó *Corynebacterium*, *Brachybacterium* és *Yaniella* nemzetségek fajai (összesen 1,40%), a *Bacillus coagulans* (2,13%), valamint a *Staphylococcaceae* család *Jeotgalicoccus*, *Salinicoccus* és *Staphylococcus* nemzetségeinek fajai (összesen 1,09%) alapvetően a környezetből származnak [10]. A különböző szerzők eltérő adatai mellett egy adott kísérlet különböző kezelése között is jelentős eltérés lehet [8].

## AZ ÜRÜLÉK- ÉS A TOJÁSHÉJ-BAKTERIÓTA KAPCSOLATA

**A tojásrakás során a tojáshéj kapcsolatba kerül a vakbélből és a remesevégbélből származó prokarióta mikroorganizmusokkal**

A tojásrakás során a kloákán való áthaladáskor a tojáshéj kapcsolatba kerül a vakbélből és a remesevégbélből származó prokarióta mikroorganizmusokkal. A tojáshéjbakterióta forrásait vizsgáló kísérletekben a bélcsatorna különböző szakaszaiból vett minták helyett gyakran használnak ürülmintákat. Az ürülék összetétele jól tükrözi a kloákán áthaladó bakterióta összetételét, másrészt a mintavétel nem igényli a madár levágását, egyszerű és időben sokszor ismételtető [11]. Az ürülminták értékelésekor azonban több tényezőt is figyelembe kell venni. Az ürítést követően, ha nem azonnal történik a mintagyűjtés, akkor az aerob körülmények befolyásolják a minta összetételét, mivel az obligát anaerob baktériumok elpusztulnak. A csirkeutóbél rövid, a vékonybélből érkező béltartalom nem tárolódik hosszú ideig, és a vizelettel keveredve a kloákán keresztül gyorsan ürül. Az ürülék az utóbéltartalom és a vizelet változó arányú keveréke. A vakbéltartalom naponta több alkalommal a vastagbélbe ürül. Emiatt az ürülék bakterióta összetétele annak függvényében változik, hogy abban mennyi a vakbéltartalom [11]. A sokféleség mellett azonban állandó jellemzői is vannak az ürülék bakteriótának. Négy közép-európai országban (Csehország, Horvátország, Magyarország és Szlovénia) végzett vizsgálatai alapján VIDENSKA és mtsai szerint a brojlerek és tojótyúkók fekális bakteriójának állandó alkotói a *Firmicutes* (76,2%), *Proteobacteria* (14,0%), *Bacteroidetes* (6,5%) és *Actinobacteria* (3,2%) törzsekbe, ill. azokon belül a *Lactobacillaceae*, *Peptostreptococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Clostridiaceae*, *Streptococcaceae*, *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Veillonellaceae*, *Bacteroidaceae*, *Rickenellaceae* és *Prevotellaceae* családokba tartoznak [12].

Nyilvánvaló volta ellenére a tenyészállatok ürülék- és a tojáshéj-bakterióta kapcsolatát kevesen vizsgálták NGS-módszerekkel. Tudomásunk szerint csak TRUDEAU és mtsai (2020) végeztek ilyen vizsgálatokat, akik nagyszámú mintát (940 ürülék, 16 400 tojáshéj) felhasználva megállapították, hogy bár mind az ürülék-, mind a tojáshéj-bakterióta több mint 90%-ban a *Firmicutes* (76,6% és 54,3%), *Actinobacteria* (12,9% és 23,2%), *Proteobacteria* (4,3% és 8,0%) és *Bacteroidetes* (4,3% és 7,9%) törzsek tagjaiból áll, de a két bakteriális közösség faji összetétele és struktúrája jelentősen eltér [9]. A 4 domináns törzsen kívül 19 egyéb törzset mutattak ki az ürülékben és 37-t a tojáshéjon. 257 nemzetség tagjait mutatták ki a tojáshéjon, amelyek közül több nemzetség felülreprezentált volt az ürülékhez képest. Voltak olyan nemzetségek is, amelyek bár előfordultak az ürülékben, a tojáshéjon nem voltak kimutathatók. Ezt úgy értelmezték, hogy ugyan a bélcsatorna baktériumai fontos forrásai a tojáshéj-bakteriótának, de a baktériumok átvitelekor történik egyfajta szelekció [9]. A változás fő oka valószínűleg az aerob környezet, amit a túléléshez legalább tolerálni kell a bélcsatornában élő és onnan kijutó anaerob baktériumoknak [13].

## A TOJÁSHÉJON TALÁLHATÓ ÉS A KIKELŐ CSIBE BÉL- TRAKTUSÁBAN KOLONIZÁLÓDÓ BAKTERIÓTA KAPCSOLATA

**A tojánhéj-  
bakteriótának  
fontos szerepe  
lehet a kikelt csibe  
bélbakteriótájának  
kialakításában**

A tojánhéj-bakteriótának fontos szerepe lehet a kikelt csibe bélbakteriótájának kialakításában. Mivel a csibe üzemi körülmények között a keltetőben jön világra, eltérően pl. az emlősöktől, nincs vagy kismértékű a közvetlen anyai bakterióta átadás. Több szerző szerint elsősorban a környezeti források határozzák meg a kifejlődő csibe bélfloáját, kevésbé a tojánhéj vagy a tyúk baktériumai [10, 14]. Mások szerint jelentős a tojóból származó baktériumok aránya is [15, 16]. VolF és mtsai szerint a tojánhéj és a takarmány baktériumai nem befolyásolják a csirke vakbélbakteriótájának összetételét [10]. Kísérletükben a Cseh Köztársaság három különböző helyről származó tojásokat keltettek azonos körülmények között. A kikelt egyhetes csibék vakbelének bakteriális közösségei között nem találtak különbséget a származási hely szerint, ezért arra következtettek, hogy a tojánhéj-bakterióta nincs hatással a vakbélben megtelepedő bakteriális közösségre. Kísérletükben azonban nem vizsgálták, hogy a három különböző helyről származó tojásoknak valóban különbözött-e származási hely szerint a bakteriális közösségük. VolF és mtsainak vizsgálatai szerint az egyhetes csibe vakbél-bakteriótája ugyan nem mutat hasonlóságot a tojánhéj- és a takarmánybakteriótával [10], de ez alapján nem indokolt kétségbe vonni ennek a két forrásnak a jelentőségét.

Más kutatók szerint a csirke vakbél-bakteriótájának kialakulásában jelentős szerepe van a tojásrakás során a tojánhéjra került anyai eredetű baktériumoknak is, mivel a kelés során a csibe részben elfogyasztja a tojánhéjat és az azon levő baktériumok szelektíven feldúsulnak, elszaporodnak a csibe bélcsatornájában [8]. Az is lehetséges, hogy a baktériumok a tojánhéjról a tojás belsejébe penetrálnak [17]. MAKI és mtsai kísérletükben egymástól elkülönítve vizsgálták a tojánhéj és a környezet hatásait [8]. Megállapították, hogy a vakbél és vékonybél bakteriális közösségeinek faji összetétele függött az alkalmazott baktérium forrástól (tojánhéj vagy környezet). A csirkebél-bakterióták végső közösségi összetétele valószínűleg a két baktériumforrás közötti komplex kölcsönhatások eredményeképp alakul ki. Az egyik vagy másik forrás hiánya szignifikáns ( $p < 0,05$ , a továbbiakban is, ha másként nincs jelölve) mértékű változásokat okoz a bakteriális közösség fejlődésében [8].

A tojótyúk szerepét kutatva KUBASOVA és mtsai megállapították, hogy mely baktériumcsoportok jutnak át jellemzően a kifejlett madárról a csibére, és szaporodnak el annak vakbelében [18]. Azt találták, hogy a Gram-negatívak általában könnyen átjutnak a tojánhéjra és elszaporodnak. Ezek jellemzően a *Bacteroidetes* törzs tagjai, de a *Deferribacteres* és *Proteobacteria* törzshöz tartozó baktériumok is. Az anyai eredetű Gram-pozitívak tojánhéjra kerülése bonyolultabb. Az *Actinobacteria* törzs tagjai könnyen átjutnak a csirkébe, de arányuk soha nem lesz túl nagy a vakbélben. Megfigyeléseik szerint a *Faecalibacterium*, *Megamonas* és *Phascolarctobacterium* nemzetségek kivételével a Gram-pozitív *Firmicutes* törzshez tartozó baktériumok rosszul jutnak át a tojóból a csibébe vagy nem szaporodnak el. Ez igaz a *Lactobacillus*okra is, ami érdekes kérdéseket vet fel probiotikumként történő felhasználásukkal kapcsolatban [18].

## A TOJÁSHÉJRA JUTTATOTT BAKTÉRIUMOK HATÁSAI

Feltételezhető, hogy minél korábban történik a probiotikumok, prebiotikumok vagy szinbiotikumok adása, az annál eredményesebben tudja befolyásolni az alakuló bélfloát [19]. A tojánhéjra juttatott baktériumok alkalmazása ígéretes lehetőség a csirkebél-bakterióta korai befolyásolására, de eredményességéről megoszlanak a szakirodalomban olvasható vélemények. VolF és mtsai a keltetés 1. és 20. napján a tojánhéjra juttatott hét különböző spóráképző anaerob baktérium elszaporodását vizsgálták a kikelt, egyhetes csibék vakbelében [10]. Kísérletükben az NGS

mellett PCR-t is alkalmaztak a tojáshéjra juttatott baktériumok vakbélből történő specifikus kimutatására, de az egy esetben sem sikerült. Egy másik kísérletükben *Megamonas hypermegale* és *Bacteroides caecicola* fajokat permeteztek a tojásokra, amikor a kelési arány 10% körüli volt, és később, amikor ez az arány 90% volt, a kikelt csibékre is kijuttatták. Az egyhetes csibék vakbelében csak akkor sikerült a probiotikumként alkalmazott baktériumokat kimutatni, amikor azokat a kikelt csibékre permetezték [10]. Ezek alapján arra a következtetésre jutottak, hogy nem érdemes a kelés előtt a tojáshéjra élőflórás készítményt juttatni. Ez a vélemény látszólag ellentmond a probiotikumokat a korai időpontokban alkalmazó sikeres kísérleteknek [20, 21], de ezek esetében nem történt meg a bejuttatott baktériumfajok elszaporodásának kimutatása. Azokban a kísérletekben, annak ellenére, hogy nem tudták kimutatni az alkalmazott probiotikus fajokat, a bélbakterióta vagy a csirke növekedési paramétereinek megváltozása alapján minősítették hatásosnak a probiotikum alkalmazását.

DONALDSON és mtsai egynapos tojásokra juttattak hígított vakbél tartalmat, hogy vizsgálják annak a kikelő csibékre gyakorolt hatását [20]. A kezelések okoztak kimutatható változást a kikelő csibevakbél bakteriális közösségének összetételében, de a csirke növekedési paramétereit (takarmányhasznosítás, takarmányfelvétel, energiahasznosítás), amelyek a termelésben fontosak, nem változtatták meg. RICHARD-RIOS és mtsai tojótyúk hígított vakbél tartalmát permetezték tojásokra a keltetés 2., 7, 14. és 18. napján [21]. Vizsgálataik szerint ez a kezelés elegendő volt a spóráképző *Lachnospiraceae* és *Ruminococcaceae* családokba tartozó baktériumok átviteléhez. Azonban más, a vakbélbakteriótában fontos családok pl. *Bacteroidaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Burkholderiaceae* és *Lactobacillaceae* tagjainak átvitele nem volt kimutatható. A kezelés megváltoztatta a csirke bél bakteriális közösség összetételét. Ez a változás a kelés utáni 3. napon volt a legjelentősebb. A csirkék későbbi növekedési paramétereit nem vizsgálták, és provokációs fertőzési tesztek sem végeztek ennél a kísérleteknél.

## A TOJÁS BELSŐ BAKTERIÓTÁJA

A tojáshéjra megtelepedő baktériumközösség összetétele régóta ismert, a tojás belsejét azonban sokáig csíramentesnek gondolták. Egy 1983-ban megjelent szemle cikk szerint a tojások több mint 90%-a nem tartalmaz baktériumokat [1]. Több jelenlegi tanulmányban is megjelenik az a vélemény, hogy a tojásrakáskor a tojás belseje, később az embrió és a tojásból kikelő madár is steril [10, 21]. Ezt a véleményt már korábban számos gyakorlati tapasztalat és megfigyelés kérdőjelezte meg [22]. A leírt eseteket azonban kivételként kezelték és általában úgy gondolták, hogy tojás védekező mechanizmusai hatékonyan képesek megelőzni a baktériumok bejutását és elszaporodását a tojás belsejében. A tojótyúk szaporítószerveit sterilnek tartották, tehát onnan sem feltételezték a baktériumok tojásba jutását. A tojás védekező mechanizmusai eltérő mértékben akadályozzák a különböző prokarióta mikroorganizmusok bejutását és elszaporodását. A jól penetrálódó fajok közé tartoznak a *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* és az *Alcaligenes*, *Proteus*, *Pseudomonas* és *Salmonella* nemzetségek tagjai, amelyek a tojás romlásának gyakori okozói, ill. a különböző humán fertőzések kórokozói [1, 23]. A Gram-negatív baktériumok általában jobban alkalmazkodtak a tojás antimikrobiális hatású összetevőjéhez, mint a Gram-pozitívak. Ezt támasztják alá JIN és mtsainak eredményei is, amelyek szerint a tojásfehérje domináns törzse a tojásrakás időpontjában a *Proteobacteria* (60,3%), amit a *Firmicutes* (21,9%), *Bacteroidetes* (7,2%) és *Actinobacteria* (6,5%) követ. A keltetés alatt a tojásfehérje bakteriális közösségének diverzitása csökken, a *Proteobacterium* törzs aránya nő (a 12. napra 75,8%), a *Firmicutes* és *Bacteroidetes* aránya csökken (9,3% és 3,1%) [24].

**A tojáshéjra jól penetrálódó fajok közé tartozik a *Campylobacter jejuni*, az *Escherichia coli*, a *Serratia marcescens*, ill. az *Alcaligenes*, *Proteus*, *Pseudomonas* és *Salmonella* nemzetségek tagjai**

A tojássárgájában jellemzően a *Proteobacteria* törzs tagjai dominálnak (60–80%), a *Firmicutes* (15–30%), *Bacteroidetes* és *Actinobacteria* törzs tagjai jóval kisebb relatív gyakorisággal fordulnak elő [15]. Ez egyezik a korábbi, Gram-negatív baktériumok dominanciáját mutató tenyésztésen alapuló vizsgálatok eredményeivel. DING és mtsai eredményei azt mutatják, hogy a tojássárgája baktérióta alig változik a keltetés alatt [15]. Vizsgálataik szerint az embrionális fejlődés 19. napján törzsszinten nagy a hasonlóság a tojássárgája és az embrió-bélcsatorna baktériótája között, nemzetségszinten viszont számos különbség mutatható ki. Ez azt jelentheti, hogy a tojássárgája baktériumainak többsége bejuthatott az embrió tápcsatornájába, és az új élőhely eltérő fizikai, kémiai, biológiai tulajdonságai miatt különbözően képes adaptálódni a megváltozott körülményekhez. Az elvégzett forráskövetés vizsgálat szerint az embrió bélcsatorna baktérióta 89%-a a tojássárgájából származott [15]. A probiotikumok és szimbiotikumok *in ovo* alkalmazásának eredményessége is részben a tojássárgája baktériumainak embrióba jutásán alapul. Közvetetten ezt igazolják LEO és mtsai eredményei, akik 25 közleményt feldolgozó metaanalízisükben megállapították, hogy az *in ovo* probiotikumkezeléseknél a tojássárgája bizonyult a legjobb inokulálási helynek, valószínűleg azért, mert az *in ovo* inokulálások a keltetés 18. napja után történtek, amikor sárgája már be tud jutni az embrió bélcsatornájába [25].

## A TYÚK REPRODUKTÍV SZERVEIBEN TALÁLHATÓ ÉS A TOJÁSBAKTERIÓTA KAPCSOLATA

**A korábbiakkal ellentétben ma már nem tartják sterilnek a tyúk reproduktív szerveit**

A *Salmonella* fajok terjedésével és más patogénnel (pl. *Campylobacter*) kapcsolatos megfigyelések [26–28] alapján ma már a tyúk reproduktív szerveit nem tartják sterilnek, ott nem csak kórokozók, hanem más baktériumok is megtelepedhetnek és elszaporodhatnak [29, 30]. HARRY (1963) tenyésztésen alapuló kísérleti eredményei során a vizsgált madarak petefészkeinek 43%-ból tudott *Lactococcus* és *Micrococcus* fajokat izolálni [1, 22]. A tyúk szaporítószervek baktériótáját ismereteink szerint csak LEE és mtsai és Su és mtsai tanulmányozták NGS alkalmazásával [28, 29]. Eredményeik alapján a reproduktív szervek baktériótáját elsősorban a *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* és *Actinobacteria* törzsekbe tartozó baktériumok alkotják. Nemzetségszinten a *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, és *Bacteroides* a leggyakoribbak, és ezek alkotják a közös, a reproduktív szervek minden szakaszán előforduló nemzetségeket is. LEE és mtsai megállapították, hogy a baktériumnemzetségek relatív gyakorisága állandó a petevezeték különböző szakaszaiban, és hogy a baktériumfajok száma jelentősen megnő az ivarérettség elérése után. Vizsgálataik alapján úgy tűnik, hogy az anyai petevezetékben élő baktérióta egy része a tojásfehérjén keresztül átkerül az embrióba és ott a bélcsatorna baktériumainak jelentős részét adja [30].

## A CSIRKEEMBRIÓ BÉL-BAKTERIÓTÁJA

A csirkeembrió bélbaktériótájának összetételéről három kutatócsoport is közölt NGS alkalmazásával kapott részletes adatokat [15, 31, 32].

DING és mtsai 4 és 19 napos csirke embriók baktériótáját és annak kapcsolatát vizsgálták a tojós és a kikelt (4, 21 és 42 napos) csibék ürülék baktériótájával [31]. A 4 napos embriónál az egész embrió, a 19 naposnál csak a bélcsatornát használták vizsgálataikhoz. Megállapították, hogy az embrió nem steril, a kimutatott 28 törzs közül a *Proteobacteria* törzs a leggyakoribb (86%), amit a *Firmicutes* (5%), *Bacteroidetes* (4%) és *Actinobacteria* (3%) törzsek követnek. Az embrió baktériótája időben változik, a keltetés 4. és 19. napján meghatározott bakteriális közösségek egymással szoros ( $r = 0,80$ ) korrelációt mutatnak, és jellemző a *Proteobacteria* csökkenése és a *Firmicutes* törzs arányának növekedése. A tojóürülék és az emb-

**A csirkeembrió már a keltetés 3. napján sem steril és bélflórája változik az embrionális fejlődés során**

rióbakterióta között nemzetségszinten gyenge ( $r = 0,33$ ) korrelációt állapítottak meg [31]. DING és mtsai kísérleteikben a baktériumátadási útvonalakat közvetlenül nem vizsgálták, de feltételezték, hogy tojásképződés során a petevezetékben az embrióba történő anyai bakteriótaátadás is jelentős tényező [31].

AKINYEMI és mtsai közleményükben leírták a csibeembrió-bakterióta időbeli változását az embriogenezis alatt, de a baktériumok forrásaival kapcsolatban nem végeztek kutatásokat. Vizsgálataik alapján az embrió már a keltetés 3. napján sem steril és bélflórája változik az embrionális fejlődés során [32]. Az embriókban a *Proteobacteria* törzs volt a legnagyobb relatív gyakoriságú (65,6%), de a másik két közleménytől eltérően [15, 31] az *Actinobacteria* volt a második leggyakoribb (16,6%), amit a *Firmicutes* (6,1%) és *Bacteroidetes* (5,4%) követett [32].

DING és mtsai 19 és 21 napos embriók bélbakteriótáját és annak a tojássárgája-bakteriótájával való kapcsolatát vizsgálták [15]. A 21. nap a kelés napja volt, így a kelés előtti embrionális állapotot és a kelés után a külső környezet és takarmány hatását is össze tudták hasonlítani. A keltetés 19. napján az embrió bélcsatornájában a domináns baktériumok relatív gyakorisága nagyon hasonló volt a tojássárgájában levőkéhez. Mindkét helyen jellemző volt a *Proteobacteria* törzs dominanciája, amit a *Firmicutes* követett. A kelés után a bél bakteriális közösségének összetétele nagyobb fluktuációt mutatott az embrionálisnál, de a diverzitást jelző indexek értékei nem változtak szignifikánsan. A változatlan diverzitás mellett azonban a *Proteobacteria* törzs aránya 72,8%-ról 59,7%-ra csökkent, míg a *Firmicutes* törzs aránya 11,6%-ról 25,4%-ra nőtt. A nemzetségek közül a *Blautia*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Roseburia* és *Faecalibacterium* (mind *Firmicutes*) aránya nőtt meg a naposcsibékben. Ezeket a nemzetségeket általában az állat egészségével pozitívan korreláló baktériumoknak tartják.

## MEGVITATÁS

Az elmúlt években az újgenerációs szekvenálási módszerek (NGS) fejlődése miatt számos új kutatási eredmény jelent meg az intenzíven tartott brojlerek és tojók bélcsatornájában és a tojás külső és belső részein élő bakteriótával kapcsolatban. Magasabb rendszertani szinten (törzs) már jól ismert a jellemző összetétele ezeknek a bakteriális közösségeknek. Alacsonyabb rendszertani szinteken (nemzetség, család) számos különbség van a különböző kutatók eredményei között. A taxonómiai eltérések magyarázata, a közösségi anyagcsere-folyamatok megértése, a gazda-baktérium kölcsönhatások megismerése a további kutatások feladata. Ezekben a kutatásokban, más módszerek alkalmazása mellett az NGS hasznos eszköz a kutatók kezében. A tojótyúk és a csibe közötti bakteriális kapcsolatokról, valamint a baktériumok terjedéséről, átviteléről is egyre több ismerettel rendelkezünk. Igazolták, hogy a tojó reproduktív szervei nem sterilek, leírták jellemző baktériumközösségeit. Az új eredmények felhívták a figyelmet a tojóról a csibebe történő baktériumátvitel lehetséges útjaira, és részben jellemezték azokat a baktériumcsoportokat, amelyek nagyobb gyakorisággal kerülnek át. A bélflóra kedvező irányú módosítása jelenleg az egyik fontos eszköz az állattenyésztésben a termelési paraméterek javítására. Az NGS alkalmazásával kapott eredmények a gyakorlati tapasztalatokat kiegészítve az állattenyésztésben újonnan alkalmazott eljárások (pre- és probiotikumok használata) elvi megalapozottságának jobb megértéséhez, hatékonyabb alkalmazásához vezettek.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A publikáció elkészítését a Széchenyi 2020 Program keretein belül az Európai Regionális Alap és Magyarország Kormánya támogatásával a GINOP-2.3.2.-15-2016-00054 számú „Festetics Imre Bioinnovációs Kiválósági Központ és Stratégiai K+F+I Pro-



jektműhely” című projekt támogatta és a Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-22-4-1 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült. Az ábra elkészítéséért Hernádi Hildának mondunk köszönetet.

## IRODALOM

1. Mayes FJ, Takeballi MA (1983) Microbial contamination of the hen's egg: A review. *J Food Prot* 46:1092–1098. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-46.12.1092>
2. De Reu K, Messens W, Heyndrickx M, Rodenburg TB, Uyttendaele M, Herman L (2008) Bacterial contamination of table eggs and the influence of housing systems. *Worlds Poult Sci J* 64:5–19. <https://doi.org/10.1017/S0043933907001687>
3. Pesavento G, Calonico C, Runfola M, Lo Nostro A (2017) Free-range and organic farming; Eggshell contamination by mesophilic bacteria and unusual pathogens. *J Appl Poult Res* 26:509–517. <https://doi.org/10.3382/japr/pfx023>
4. Gupta S, Mortensen MS, Schjørring S, Trivedi U, Vestergaard G, Stokholm J, Bisgaard H, Krogfelt KA, Sørensen SJ (2019) Amplicon sequencing provides more accurate microbiome information in healthy children compared to culturing. *Commun Biol* 2:1–7. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0540-1>
5. Wintzingerode F V., Göbel UB, Stackebrandt E (1997) Determination of microbial diversity in environmental samples: Pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiol Rev* 21:213–229. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(97\)00057-0](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(97)00057-0)
6. Fidler G, Tolnai E, Stigel A, Remenyik J, Stundl L, Gal F, Biro S, Pahlócsék M (2020) Tendentious effects of automated and manual metagenomic DNA purification protocols on broiler gut microbiome taxonomic profiling. *Sci Rep* 10:3419. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60304-y>
7. Karstens L, Asquith M, Davin S, Fair D, Gregory WT, Wolfe AJ, Braun J, McWeeney S (2019) Controlling for contaminants in low-biomass 16S rRNA gene sequencing experiments. *mSystems* 4:e00290-19. <https://doi.org/10.1128/msystems.00290-19>
8. Maki JJ, Bobeck EA, Sylte MJ, Looft T (2020) Eggshell and environmental bacteria contribute to the intestinal microbiota of growing chickens. *J Anim Sci Biotechnol* 11:60. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00459-w>
9. Trudeau S, Thibodeau A, Côté JC, Gaucher M Lou, Fravalo P (2020) Contribution of the broiler breeders' fecal microbiota to the establishment of the eggshell microbiota. *Front Microbiol* 11:666. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00666>
10. Volf J, Crhanova M, Karasova D, Faldynova M, Kubasova T, Seidlerova Z, Sebkova A, Zeman M, Juricova H, Matiasovicova J, Foltyn M, Tvrdon Z, Rychlik I (2021) Eggshell and feed microbiota do not represent major sources of gut anaerobes for chickens in commercial production. *Microorganisms* 9:1480. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071480>
11. Sekelja M, Rud I, Knutsen SH, Denstadli V, Westereng B, Næs T, Rudi K (2012) Abrupt temporal fluctuations in the chicken fecal microbiota are explained by its gastrointestinal origin. *Appl Environ Microbiol* 78:2941–2948. <https://doi.org/10.1128/AEM.05391-11>
12. Videnska P, Rahman MM, Faldynova M, Babak V, Matulova ME, Prukner-Radovic E, Krizek I, Smole-Mozina S, Kovac J, Szmolka A, Nagy B, Sedlar K, Cejkova D, Rychlik I (2014) Characterization of egg laying hen and broiler fecal microbiota in poultry farms in Croatia, Czech Republic, Hungary and Slovenia. *PLoS One* 9:e110076. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110076>
13. Karasova D, Faldynova M, Matiasovicova J, Sebkova A, Crhanova M, Kubasova T, Seidlerova Z, Prikrylova H, Volf J, Zeman M, Babak V, Juricova H, Rajova J, Vlasatikova L, Rysavka P, Rychlik I (2022) Host species adaptation of obligate gut anaerobes is dependent on their environmental survival. *Microorganisms* 10:1085. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061085>
14. Rychlik I (2020) Composition and function of chicken gut microbiota. *Animals* 10:103. <https://doi.org/10.3390/ani10010103>
15. Ding P, Liu H, Tong Y, He X, Yin X, Yin Y, Zhang H, Song Z (2022) Developmental change of yolk microbiota and its role on early colonization of intestinal microbiota in chicken embryo. *Animals* 12:16. <https://doi.org/10.3390/ani12010016>
16. Shehata AM, Paswan VK, Attia YA, Abdel-Moneim AME, Abougabal MS, Sharaf M, Elmazoudy R, Alghafari WT, Osman MA, Farag MR, Alagawany M (2021) Managing gut microbiota through *in ovo* nutrition influences early-life programming in broiler chickens. *Animals* 11:1–24. <https://doi.org/10.3390/ani11123491>
17. De Reu K, Grijspeerdt K, Messens W, Heyndrickx M, Uyttendaele M, Debevere J, Herman L (2006) Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *Int J Food Microbiol* 112:253–260. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.011>
18. Kubasova T, Kollarcikova M, Crhanova M, Karasova D, Cejkova D, Sebkova A, Matiasovicova J, Faldynova M, Pokorna A, Cizek A, Rychlik I (2019) Contact with adult hen affects development of caecal microbiota in newly hatched chicks. *PLoS One* 14:1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212446>
19. Rubio LA (2019) Possibilities of early life programming in broiler chickens via intestinal microbiota modulation. *Poult Sci* 98:695–706. <https://doi.org/10.3382/ps/pey416>
20. Donaldson EE, Stanley D, Hughes RJ, Moore RJ (2017) The time-course of broiler intestinal microbiota development after administration of cecal contents to incubating eggs. *PeerJ* 2017:1–19. <https://doi.org/10.7717/peerj.3587>
21. Richards-Rios P, Leeming G, Fothergill J, Bernardeau M, Wigley P (2020) Topical application of adult cecal contents to eggs transplants spore-forming microbiota but not other members of the microbiota to chicks. *Appl Environ Microbiol* 86:e02387-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.02387-19>
22. Harry EG (1963) Some observations on the bacterial content of the ovary and oviduct of the fowl. *Br Poult Sci* 4:63–70. <https://doi.org/10.1080/00071666308415482>
23. Berrang ME, Cox NA, Frank JF, Buhr RJ (1999) Bacterial penetration of the eggshell and shell membranes of the chicken hatching egg: A review. *J Appl Poult Res* 8:499–504. <https://doi.org/10.1093/japr/8.4.499>
24. Jin J, Zhou Q, Lan F, Li J, Yang N, Sun C (2022) Microbial composition of egg component and its association with hatchability of laying hens. *Front Microbiol* 13:943097. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.943097>
25. Leão APA, Alvarenga RR, Zangeronimo MG (2021) *In ovo* inoculation of probiotics for broiler chickens: Systematic review and meta-analysis. *Anim Feed Sci Technol* 280:115080. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2021.115080>

26. Wales AD, Davies RH (2011) A critical review of Salmonella Typhimurium infection in laying hens. Avian Pathology 40:429–436. <https://doi.org/10.1080/03079457.2011.606799>

27. Cox NA, Richardson LJ, Maurer JJ, Berrang ME, Fedorka-Cray PJ, Buhr RJ, Byrd JA, Lee MD, Hofacre CL, O’Kane PM, Lammerding AM, Clark AG, Thayer SG, Doyle MP (2012) Evidence for horizontal and vertical transmission in Campylobacter passage from hen to her progeny. J Food Prot 75:1896–1902. <https://doi.org/10.4315/0362-028.jfp-11-322>

28. Gast RK, Guraya R, Jones DR, Anderson KE (2013) Colonization of internal organs by Salmonella Enteritidis in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. Poult Sci 92:468–473. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02811>

29. Su Y, Tian S, Li D, Zhu W, Wang T, Mishra SK, Wei R, Xu Z, He M, Zhao X, Yin H, Fan X, Zeng B, Yang M, Yang D, Ni Q, Li Y, Zhang M, Zhu Q, Li M (2021) Association of female reproductive tract

microbiota with egg production in layer chickens. Gigascience 10:giab067. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab067>

30. Lee SW, La TM, Lee HJ, Choi IS, Song CS, Park SY, Lee JB (2019) Characterization of microbial communities in the chicken oviduct and the origin of chicken embryo gut microbiota. Sci Rep 9:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43280-w>

31. Ding J, Dai R, Yang L, He C, Xu K, Liu S, Zhao W, Xiao L, Luo L, Zhang Y, Meng H (2017) Inheritance and establishment of gut microbiota in chickens. Front Microbiol 8:1967. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01967>

32. Akinyemi FT, Ding J, Zhou H, Xu K, He C, Han C, Zheng Y, Luo H, Yang K, Gu C, Huang Q, Meng H (2020) Dynamic distribution of gut microbiota during embryonic development in chicken. Poult Sci 99:5079–5090. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.016>

Közlésre érck.: 2022. nov. 14.



**Rendszeres kedvezmények**



**Mintaszállítás a nagyobb városokból**



**Gyors eredményközlés**



**Mintavételi eszközök biztosítása**

**Társ- és haszonállatok  
labordiagnosztikai  
vizsgálata**



**Terápiás szaktanácsadás,  
konzultáció**

**+36 30 287 2991**  
**vet@corden.hu**  
**www.cordenvet.hu**  
**www.labor.cordenvet.hu**