



Szintetikus purin és pirimidin bázissal történő takarmánykiegészítés hatásának vizsgálata választott malacok bélflórájának alakulására

Zomborszkyne Kovács M., Molnár M., ¹Benda T., Tóth Á.

Pannon Agrártudományi Egyetem, Állattenyésztési Kar, Élettani és Állathigiéniai Tanszék, Kaposvár, 7400 Guba S. u. 40.

¹Állategészségügyi Intézet, Kaposvár, 7400 Cseri út. 18.

ÖSSZEFOGLALÁS

Szintetikus purin és pirimidin bázis kiegészítés hatását vizsgáltuk választott malacokban. Az állatok ileumának terminális szakaszába T-kanült építettünk be, melyen keresztül béltartalom mintát vettünk a kísérlet 1., 7., 14. és 21-ik napján. Megvizsgáltuk a chymus pH-értékét, a lactobacillusok, streptococcusok, coliformok és az E. coli számát. A pH-érték 5.9 és 7.0 között változott, sem a kezelés, sem az idő függvényében nem mutatott szignifikáns eltérést. A log10-ben kifejezett csíraszámok a következő értékeket mutatták: 5.7-6.9 a lactobacillusok, 5.5-6.5 a streptococcusok, 6.0-6.9 a coliformok és 5.6-6.5 az E. coli esetében. A tejsavtermelő baktériumok száma a kísérlet előrehaladtával mindkét csoportban emelkedett. A coliformok és az E. coli száma a kezelt csoportban enyhe csökkenő tendenciát mutatott, míg a kontroll állatokban gyakorlatilag nem változott.

ABSTRACT

Effect of dietary purine and pyrimidine bases on the intestinal microflora in weaned pigs

M.Zomborszky-Kovács, M. Molnár, ¹T. Benda, Á.Tóth

Pannon University of Agriculture, Faculty of Animal Science, Department of Animal Physiology, Kaposvár, H-7400 Guba S. u. 40.

¹Institute of Animal Health and Hygiene, Kaposvár, H-7400 Cseri út 18.

Twelve weaned pigs were cannulated in the terminal ileum. The pigs were assigned to two groups: the basal diet of the treated animals was supplemented with uracil and guanine bases, while the animals of the control group were given no supplementation. Ileal digesta samples were collected on d 1, 7, 14, and 21 and assayed for pH, lactobacilli, streptococci, coliforms and total E. coli. The pH values were between 5.9 and 7.0, no significant difference being demonstrated between the individual samplings or between the groups. The germ counts expressed in log10 values/g digesta were the following: 5.7-6.9 lactobacilli, 5.5-6.5 streptococci, 6.0-6.9 coliforms and 5.6-6.5 E. coli. The number of lactobacilli and streptococci rose in both groups as the experimental period progressed. The number of coliforms and E. coli showed a slight decrease in the treated group, while it did not change in the control animals.

(Keywords: nucleotide bases, intestinal microflora, weaned piglets)

BEVEZETÉS

Az antibiotikumok, mint hozamfokozószerek alkalmazásával szembeni megszorító rendelkezések a figyelmet az un. természetes alapanyagú készítmények, probiotikumok, élesztőgombák, szerves savak stb. felé fordították. Ezek, az állat egészségi állapotára, az emésztőenzimek aktivitására gyakorolt kedvező hatásoknak köszönhetően, javítják a termelőképességet, valamint kihatnak az állati eredetű élelmiszerek minőségére.

Az utóbbi években számos publikáció jelent meg a táplálék, takarmány nukleotidokkal történő kiegészítésének pozitív hatásairól (Symposium on Nucleotides and Nutrition, New Orleans, 1993). A szervezet nukleotidokkal szembeni igénye főleg növekvő, fiatal szervezetben magas, kifejlett állatokban pedig az intenzív proliferatív képességgel rendelkező szövetek (immunrendszer, bélhámsejtek, májsejtek) működésére van kedvező hatással (Gil és Sanchez-Medina, 1981).

Nagyon kevés azoknak a vizsgálatoknak a száma amelyek a nukleotidoknak a bélflóra összetételére gyakorolt hatását célozzák. Csecsemőkkel végzett kísérletek eredményei szerint, kiegészítés hatására nőtt a bifidobaktériumok és a lactobacillusok, csökkent viszont a gram negatív enterobaktériumok száma (Braun, 1981, Gil et al., 1986). Ismert a bélflórának az enteropatogén kórokozókval szembeni védekezésben betöltött fontos és sokrétű szerepe. Minden olyan körülmény, mely a normál, eubiotikus bélflóra felborulását okozza, egyben hajlamosít a bélben lakó kórokozó baktériumok elszaporodására, enterális megbetegedések kialakulására.

Kísérletünk célja annak megállapítása volt, hogy szintetikus purin, pirimidin bázissal történő takarmánykiegészítés befolyásolja-e a választott malacok bélflórájának alakulását.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Kísérleti állatok

A kísérletet tizenkét, kb. 10 kg tömegű, egészséges, magyar nagyfehér fajtájú, választott ártány malacon végeztük. Az állatokba sebészi úton, az ileocaecalis billentyű előtt kb. 5 cm-rel, egyszerű T-kanült építettünk be. A műtéthez alkalmazott kanülok a kar takarmányozástani tanszékén, a korábban alkalmazott merev fisztulák helyettesítésére kidolgozott technika szerint szilikon alapú műanyagból készültek.

A kísérleti állatok takarmányozása

Az állatok korának megfelelő összetételű alaptápot (187 g/kg nyersfehérje, 12,8 MJ/kg ME, 13,1 g/kg LYS), 25 g/100 kg tak. szintetikus guanin 98 %-os (Sigma-Aldrich, kat.sz.: G1195-0) és 12,5 g/100 kg tak. uracil 98 %-os (Sigma-Aldrich, kat.sz.: 13078-8) bázissal egészítettük ki.

Mintavétel

Négy alkalommal végeztünk reprezentatív chymus gyűjtést: 1. napon, a kísérleti táp etetésének megkezdése előtt, majd a 7., 14. és 21. napon. A mintavételt minden esetben a reggeli etetés után egy órával végeztük. A béltartalmat gumigyűrű segítségével a kanültre helyezett kisméretű műanyag tasakokba gyűjtöttük.

Vizsgált paraméterek

A kísérlet során hetente kétszer megmértük az állatok tömegét, *tömeggyarapodását*, mértük a napi *takarmányfelvételt*. A takarmány *kémiai vizsgálata* és a *chymus*

szárazanyagtartalmának meghatározása a "Takarmányok tápláléértékének megállapítása" c. MSZ 6830-77 jelű szabvány szerint történt. A mintavétel után azonnal, a mintavételi tasakok lezárása előtt OP-110-es pH-mérő készülékkel (Radelkis, Budapest) megmértük a friss béltartalom *pH-értékét*.

A mikrobiológiai vizsgálatra a mintavétel befejeztével azonnal sor került. A *lactobacillusok*-at Deák-féle laktóz agaron tenyésztettük, anaerob termosztátban, 37 °C-on, 48 órán át. A *streptococcusok* meghatározására Edwards-féle véres agart használtunk, a mintákat aerob termosztátban, 37 °C-on, 48 órán át inkubáltuk. A *coliformok* tenyésztéséhez Drigalsky-féle agart használtunk, az inkubálás 24 órán át 35-37 °C-on aerob termosztátban folyt. A coliformokon belül az *E. coli* elkülönítéséhez a kitenyésztett szintenyészetek biokémiai próbáit (ureáz pozitivitás, indol termelés, laktóz bontás) alkalmaztuk. A hemolitikus *E.coli*-t véres agaron történő tenyésztéssel különítettük el. A csírászámot a jobb összehasonlíthatóság érdekében log (10-es alapú logaritmus)/g béltartalomban fejeztük ki.

Statisztikai analízis

Az eredmények statisztikai analíziséhez a SAS program csomagot használtuk (SAS, 1985). T-próbával vizsgáltuk a csoportok, variancia analízissel a mintavételek átlagértékei közötti szignifikáns különbséget ($P > 0,05$ szinten).

EREDMÉNY ÉS ÉRTÉKELÉS

A kísérleti és a kontroll állatok tömeg-gyarapodásában és takarmány-fogyasztásában nem volt szignifikáns különbség (1. táblázat).

Az egyes chymus minták pH-értéke 5,9 és 7,0 között változott, sem az egyes csoportok, sem pedig a mintavételek között nem mutatott szignifikáns változást.

1. táblázat

Az állatok tömeggyarapodása és takarmányfogyasztása

Megnevezés (1)	Kísérleti (2) (n=6)	Kontroll (3) (n=6)
Tömeggyarapodás (kg) (4)	9,2±4,0	8,2±3,5
Takarmány felvétel (g) (5)	788±176	724±172

Table 1: Weight gain and feed consumption of the animals

Factor (1), Treated (2), Control animals (3), Weight gain (4), Feed consumption (5)

A tejsavtermelő baktériumok, így a *lactobacillusok* és *streptococcusok* a sertés vékonybélflórájának fő alkotói (Gedek, 1987). A kísérlet kezdetén számuk az irodalmi adatokhoz viszonyítva alacsonyabb volt (1. ábra), majd az idő előrehaladtával számuk mindkét csoportban emelkedett.

A coliformok számának alakulásában (2. ábra) a kezelt csoport esetében fordított tendencia volt megfigyelhető, számuk a negyedik mintavételre csökkent. A kontroll csoportnál a kísérlet előrehaladtával gyakorlatilag nem találtunk változást. A 2. mintavételnél tapasztalható magas érték néhány kiugróan magas értékű egyedi minta átlagemelő hatásának volt eredménye.

1. ábra

Lactobacillusok és streptococcusok számának változása sertés vékonybélflórában

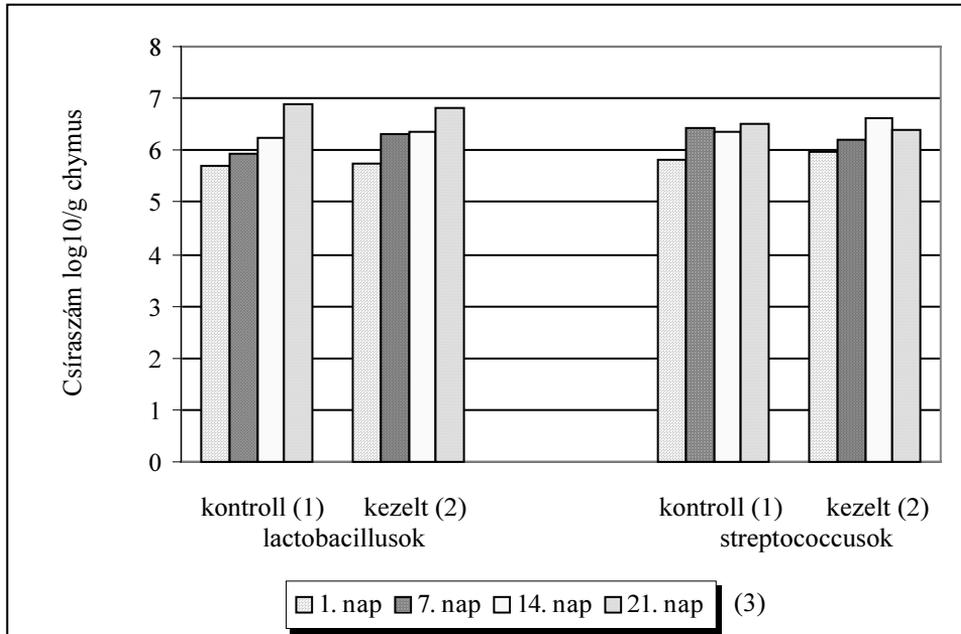


Figure 1: Changes in the number of lactobacilli and streptococci

Control (1), Treated (2), Day (3)

A coliformokon belül az *E. coli* ugyancsak a gazdaszervezettel szimbiosisban él, a közöttük előforduló patogén törzsek miatt azonban az *E. coli* számának emelkedésével a patogének nagyobb arányú jelenlétével is számolnunk kell, ez állategészségügyi szempontból fokozott veszélyt jelent. Mint az várható volt, az *E. coli*-szám a coliformok tendenciájához hasonlóan alakult.

A vizsgálat négyhetes időszaka alatt hemolizáló *E. coli* mindössze egy alkalommal (3. mintavétel) a kontroll csoport két állatából volt kimutatható, 26.000 illetve 100.000/g chymus értékben.

KÖVETKEZTETÉSEK

A malacok elválasztása együtt jár a tejsavtermelő baktériumok számának csökkenésével és a coliformok arányának egyidejű emelkedésével (Mathew, 1991,1994). Többek között ez a választáskor fellépő *E. coli* eredetű megbetegedés egyik hajlamosító tényezője (Hampson et al., 1985). Hasonló változást eredményezhetnek különböző stresszorok is, mint pl. a műtéti beavatkozás. Kísérletünkben az említett tényezők együttes hatásaként volt megfigyelhető az irodalmi adatokhoz képest (2. táblázat) alacsony kezdeti lactobacillus és streptococcus szám, mely a kísérlet 21. napjára elérte a korra jellemző értékeket.

2. ábra

Coliformok és E. coli számának változása sertés vékonybélflórában

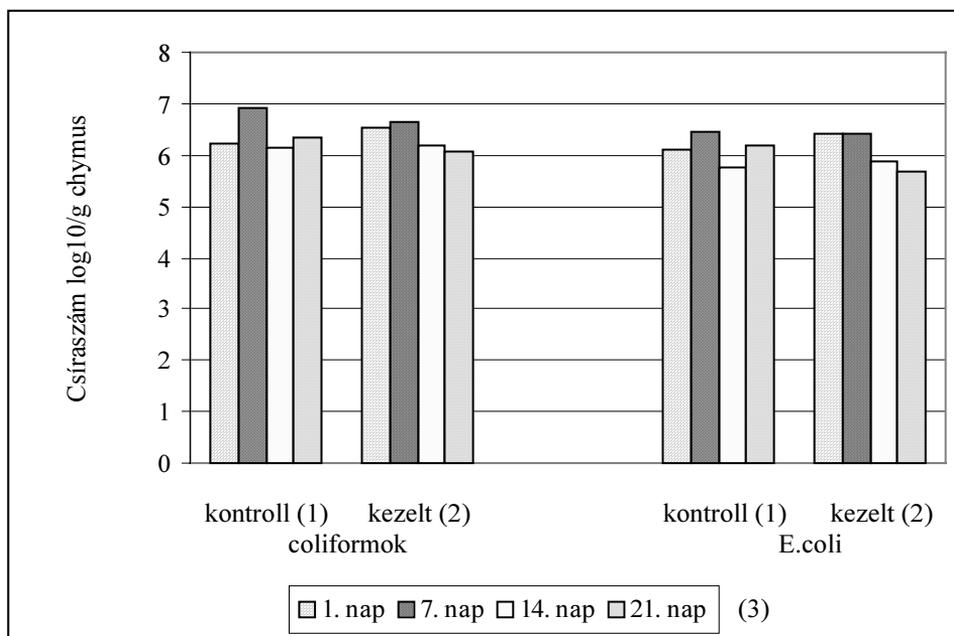


Figure 2: Changes in the number of coliforms and E. coli

Control (1), Treated (2), Day (3)

2. táblázat

Néhány irodalmi adat a malacok vékonybélflórájának összetételére

Szerzők (1)	Lactobacillusok (2)	Streptococcusok (3)	coliformok (4)
Kovács et al. (1972)	8,2	7,4	6,3
Jonsson (1985)	7-9	6	4-8
Wittenbrink et al. (1984)	8,1	8	6,9

Table 2: References on the composition of intestinal microflora in piglets

Authors (1), Lactobacilli (2), Streptococci (3), Coliforms (4)

Gyermekgyógyászok évtizedekkel ezelőtt felismerték, hogy az anyatejen nevelkedő csecsemők bélflórája eltér a tehéntejjel táplált társaikétól. Míg az előzőeknél a bifidobaktériumok, addig az utóbbiaknál a gram negatívok vannak túlsúlyban. Ennek hátterében több egyéb tényező mellett az anyatej és a tehéntej eltérő nukleotid tartalmát feltételezték. Gil és Uauy (1989) szintetikus nukleotid kiegészítés (AMP, CMP, GMP,

UMP, IMP) hatását vizsgálva a bifidobaktériumok és a lactobacillusok számának emelkedését tapasztalta. Ezzel együtt járt a gram negatív enterobaktériumok számának csökkenése, melyet a tejsavtermelés fokozódása miatt csökkenő pH értékkel magyaráztak. A nukleotidoknak a bélflóra alakulására kifejtett hatása közvetett is lehet. *Faelli és Espósito* (1970) szerint fokozzák az enterobaktériumok elszaporodásához szükséges növekedési faktorok, pl. a vas felszívódását a tápcsatornából, így csökken azok mikrobiális hasznosíthatósága.

Saját vizsgálatunkban a takarmánynak szintetikus purin és pirimidin bázisokkal történő kiegészítése nem okozott változást a malacok vékonybél flórájának lactobacillus és streptococcus számában, míg a kísérőflóra tagjaként ismert coliformok és *E. coli* számában a kezelt állatokban csökkenő tendencia volt tapasztalható.

A kérdéskör további tanulmányozásának gyakorlati jelentősége a magas nukleotid tartalmú takarmányok (állati eredetű lisztek), takarmánykiegészítők (termolizált sörélesztő) kedvező hatásmechanizmusának megismerésében van.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatást az OTKA támogatásával végeztük (ny.sz.: T 16605). Köszönetet nyilvánítunk Dr. Tossenberger Jánosnak, a kísérlet technikai hátterének biztosításáért, Dr. Cséplő Attilának és Dr. Nemes Csabának a mikrobiológiai analízisekben végzett munkájukért.

IRODALOM

- Braun, C.H. (1981). Effects of consumption of human milk and other formulas on intestinal bacterial flora in infants. In Textbook of Gastroenterology and Nutrition in infancy (Lebenthal, E., ed.), 1, 247. Raven Press, New York, NY.
- Faelli, A., Espósito, G. (1970). Effect of inosine and its metabolites on intestinal iron absorption in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 19. 2551-2554.
- Gedek, B. (1987). Probiotics in animal feeding: Effects on performance and animal health. *Feed Mgmt* 21 Nov.
- Gil, A., Coval, E., Martinez, A., Molina, J.A. (1986). Effects of dietary nucleotides on the microbial pattern of faeces of at term newborn infants. *J. Clin. Nutr. Gastroenterol.*, 1. 34.
- Gil, A., Sanchez-Medina, F. (1981). Acid-soluble nucleotides of cow's, goat's and sheep's milks, at different stages of lactation. *J. Dairy Res.*, 48. 35-44.
- Gil, A., Uauy, R. (1989). Dietary nucleotides and infant nutrition. *J. Clin. Nutr. Gastroenterol.*, 4. 145-153.
- Hampson, D.J., Hinton, M., Kidder, D.E. (1985). Coliform numbers in the stomach and small intestine of healthy pigs following weaning at three weeks of age. *J. Comp. Pathol.*, 95. 353.
- Jonsson, E. (1985). Lactobacilli as probiotics to pigs and calves. Thesis. Uppsala.
- Kovács, F., Nagy, B., Sinkovics, Gy. (1972). The gut bacterial flora of healthy early weaned piglets with special regard to factors influencing its composition. *Acta Vet. Sci. Hung.*, 22. 327.
- Mathew, A.G. (1991). The effect of nutritional factors in the colonization of *Escherichia coli* in the ileum of the weanling pig. Ph.D. dissertation. Purdue University, West Lafayette, IN.

- Mathew, A.G., Jones, T., Franklin, M.A. (1994). Effect of creep feeding on selected microflora and short-chain fatty acids in the ileum of weanling pigs. *J. Anim. Sci.*, 72. 3163-3168.
- SAS (1985). *SAS User's Guide: Statistics (Version 5 Ed.)*. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Symposium on Nucleotides and Nutrition, 1994. *J. Nutr.*, 1S, 121S-164S.
- Wittenbrink, M.M., Amtsberg, G., Kamphues, J. (1984). Darm- und Fäkalflora von Absatzferkeln mit ernährungsbedingter Diarrhöe infolge forsiertes Futteraufnahme. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 91. 387-391.

Levelezési cím (*corresponding author*):

Zomborszkyne Kovacs Melinda

Pannon Agrártudományi Egyetem, Állattenyésztési Kar
7401 Kaposvár, Pf.: 16.

*Pannon University of Agriculture, Faculty of Animal Science
H-7401 Kaposvár P.O.Box. 16.*

Tel.: (82) 314-155, Fax: (82) 320-175

e-mail: melinda@elettan.kaposvar.pate.hu