

**SZENT ISTVÁN EGYETEM
ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI KAR BUDAPEST
ÁLLATTENYÉSZTÉSI, TAKARMÁNYOZÁSTANI ÉS
LABORÁLLAT-TUDOMÁNYI INTÉZET**

**PROBIOTIKUM TARTALMÚ
TAKARMÁNYKIEGÉSZÍTŐK HATÁSÁNAK
VIZSGÁLATA LOVAKON**

Készítette:

Vladár Dorottya

Témavezető: Andrásófszky Emese

Budapest

2011

Tartalomjegyzék

1.	ÖSSZEFOGLALÓ	3
2.	SUMMARY	5
3.	BEVEZETÉS	6
4.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	8
4.1.	A ló emésztési és táplálkozási sajátosságai	8
4.2.	A normál bélflóra és egyensúlybomlása	9
4.2.1.	Eubiosis	10
4.2.2.	Dysbiosis	10
4.3.	A takarmányozás hatása a ló bélflórájára	10
4.4.	Probiotikumok	12
4.5.	Probiotikumok használata a ló tartásban	14
4.5.1.	Probiotikumként alkalmazható fajok és a hatékony dózis	14
4.5.2.	Probiotikumok szerepe a betegségek megelőzésében és kezelésében	15
4.5.2.1.	<i>Hasmenés/Kólika</i>	15
4.5.2.2.	<i>Salmonellózis</i>	16
4.5.2.3.	<i>Homokürítés</i>	16
5.	SAJÁT VIZSGÁLATOK	18
5.1.	Anyag és módszer	18
5.1.1.	Anyagok	18
5.1.1.1.	Takarmányok.....	18
5.1.1.2.	Az etetett takarmány-kiegészítők	18
5.1.2.	Kísérleti állatok	20
5.1.3.	Módszerek	23
5.1.3.1.	Kezelési rend	23
5.1.3.2.	Mintagyűjtés.....	23
5.1.3.3.	Laboratóriumi mérések.....	24
5.2.	Eredmények	27
6.	KÖVETKEZTETÉSEK	31
7.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	34
8.	IRODALOMJEGYZÉK	35

1. ÖSSZEFOGLALÓ

Munkám során két, a gyakorlatban is használt probiotikum (a dolgozatban PB és PBS jelöléssel) készítmény hatékonyságát értékeltük egy adott lóállományban. A PB termék csak baktériumtörzseket és „bio-mos” nevű prebiotikumot, míg a PBS ezeken kívül vitaminokat, ásványi anyagokat és élesztőt is tartalmazott.

Vizsgálataink célja egyrészt olyan módszer adaptálása volt, mellyel egészséges lovakban kimutatható a probiotikumok hatása a ló bélflórájára; másrészt vizsgálni kívántuk, hogy a két termék, a különbségeikből adódóan, vajon különböző mértékben segíti-e a lovakat egészségük megőrzésében.

A vizsgálatban 24, különböző fajtájú (magyar félvér, hucul, furioso, welsh póni, haflingi, magyar ügető) klinikailag egészséges ló szerepelt, közülük 12 kanca, 12 pedig herélt. A lovak napközben szabadon, a legelőn tartózkodtak, ahol széna folyamatosan a rendelkezésre állt, éjszakára egyedi boksokban voltak elhelyezve. Naponta kétszer kaptak roppantott zab, korpa és „müzli” keverékből álló abraktakarmányt a boksban, estére szénát is. Víz és nyalósó folyamatosan ad libitum elérhető volt.

A három vizsgálati csoportot úgy alakítottuk ki, hogy a különböző tulajdonságú lovak lehetőleg azonos arányban szerepeljenek a kontroll- és a két vizsgálati csoportban. Mindkét takarmány-kiegészítőt 21 napig etettük nyolc-nyolc állattal, a megszokott takarmányba keverve a használati utasítás szerint.

A kísérleti etetés megkezdésekor és az azt követő 10. és 21. napon egyedi bélsármintát vettünk mind a három csoportból. A mintákat a mintavételt követő 3 órán belül feldolgoztuk. Szabványos módszerekkel vizsgáltuk a bélsár aerob mezofil (összcsíra-), lactobacillus és coliform baktérium számának változását. Minden alkalommal pH mérést és szulfitredukálási próbát végeztünk.

A vizsgálat során az állományban klinikai tünetekben, vagy az általános állapot változásában megnyilvánuló betegséget nem észleltünk.

A bélsarak mikrobiológiai vizsgálatának eredményeiből a következő megállapításokat tehetjük:

A coliform baktériumszám mindhárom csoportban a kísérlet teljes ideje alatt 10^6 alatt ($1,8 \times 10^4 - 5,9 \times 10^4$) volt, ami az állatok bélflórájának eubiózisára utal. Ezt támasztják alá a friss bélsár pH-vizsgálatának eredményei is.

A probiotikus kezelés hatására a friss bélsárban mért lactobacillus és összcsíraszám

egy nagyságrenddel emelkedett, tehát a probiotikumok az elvárásoknak megfelelően elérték a vastagbelet.

Az anaerob rothasztó baktériumszám minden csoportban kisebb volt 10-nél, ez alátámasztja, hogy a lovak bélflórája eubiotikus állapotban volt a kísérlet egész ideje alatt.

A kísérleti időszakot megelőzően valamennyi állat bélsarából Salmonella-tenyésztést végeztünk, az állományban Salmonella-ürítés nem fordult elő.

Az eredmények alapján arra következtethetünk, hogy ezen probiotikus hatású takarmány-kiegészítők etetése egészséges lovak bélcsatornájának ökoszisztémáját ugyan nem befolyásolta statisztikailag szignifikáns mértékben, de a bélflórára gyakorolt hatás jellemzésére alkalmazott lactobacillus/coliform index értékek a 21. napon (80 vs 227 és 235) arra utalnak, hogy mindkét készítmény jótékony hatású a lovak egészséges bélflórájának megőrzésében.

2. SUMMARY

Dorottya VLADÁR: Study of the effects of probiotics in horses

During my study we evaluated the efficacy of two probiotics, being also used in practice, (marked as PB and PBS in the study) in a given horse population. Product PB contained only bacterial strains and a probiotics called “bio-mos”, while product PBS contained vitamins, minerals and yeast as well.

The aim of our study was to demonstrate the beneficial effects of the probiotics on the equine intestinal microflora, and also to examine the way how the two different products help the horses to stay healthy.

The study included 24 horses of six different breeds; all of them appeared clinically healthy. 12 of them were mares, and 12 were geldings.

During the day the horses were freely on pasture, where hay was continuously available, for the night they were placed in individual boxes. Twice a day the horses were fed a mixture of swaged oats, bran and „musli”, for the evenings hay was given as well. Water and lick salt was available ad libitum continuously.

The three study groups were designed so that horses with different properties would be preferably in the same proportion also in the control and the two test groups. Eight animals of each group were given both probiotics for 21 days, mixed in the normal feed according to the instructions.

The faeces samples were collected at the beginning of the feeding, and on the days 10 and 21 of the study in the morning period, individually, from all the three groups. The samples were processed within 3 hours from collection. The changes of Lactobacilli and coliform bacteria count and of the plate count were tested with culture method.

Every time there was pH measurement and sulphite reduction test (anaerobic digester bacteria) performed. Prior to the trial period Salmonella culture was also performed from the faeces of all animals. During the study there were no clinical symptoms or changes in the general health status observed in the stock.

Based on the fecal microbiological study results the following conclusions can be made:

The stock of the horses proved to be Salmonella-free; the anaerobic digester bacterial count at the start of the experimental feeding, and in the following two sampling dates in all the three groups was below 10^6 ($1,8 \times 10^4$ to $5,9 \times 10^4$) which refers to the eubiosis of the animals' intestinal flora. This is also confirmed by the findings of the pH test of the fresh faeces. As expected, as a result of the probiotics treatment, the plate number and Lactobacilli count of the fresh faeces has increased by an order of magnitude. It can be concluded from the Lactobacilli/coliform index values (80 vs. 227 and 235 on day 21) which are used to characterize the effects of the treatments on the intestinal flora, that both probiotics favourably influenced the intestinal flora composition.

3. BEVEZETÉS

A ló betanítása nyereg alá és kocsiba az emberiség történelmének elsöprő jelentőségű eseménye volt. Az azóta eltelt több mint hatezer év során kialakult kapcsolat sokat változott, a kezdetekkor a harcmезőn és a mezőgazdaságban teljesítő lovak mára szinte teljesen eltűntek.

Napjainkban a lovakat főként sportolás céljára tartják. A hivatásos sportolók mellett megjelent egy olyan réteg is, akik a ló segítségével kívánnak visszatérni a természethez. Érdekes paradoxon az, hogy a háziasítással járó változások során a ló egyre jobban eltávolodott saját természetes életmódjától.

A 60 millió éves evolúció alatt a ló arra szelektálódott, hogy szinte egész nap mozogjon, és folyamatosan táplálkozzon. Így nagy távolságokat bejárva alacsony energiájú táplálékon is megél, akár olyan gyenge legelőkön is, ahol más nagytestű állat nem képes erre. Manapság nem állnak rendelkezésre nagy kiterjedésű puszták, és nem is lenne gazdaságos így tartani a lovakat, hiszen nem megoldható sem a tréning, sem a terhelésnek megfelelő takarmányozás.

A XXI. századi lótartásra az jellemző, hogy az állatokat egész nap bokszokban tartják, és naponta egyszer-kétszer mozgatják. A munka során pedig olyan intenzív terhelésnek vannak kitéve az állatok, amit csak nagy energiájú takarmányokkal lehet fedezni. A mai körülmények tehát jelentősen eltérnek a természetestől, és ez negatív hatással van a ló egészségi állapotára.

A lovas ágazat jövedelmezősége a ló teljesítményétől függ. A teljesítményére a genetikai háttér és a tréning mellett a legnagyobb hatással az általános és pillanatnyi egészségi állapota van. Tehát a tartás és a takarmányozás optimalizálása nem csak állatjóléti, hanem gazdasági szempontból is jelentős.

Az etetések gyakorisága, a takarmány minőségének és beltartalmi értékeinek megváltozása, az edzések és a versenyek okozta stressz mind változásokat okoz a ló emésztőrendszerében élő mikrobapopuláció összetételében. Ez különösen nagy teljesítményű sport- és versenylovaknál fordul elő, ahol az intenzív terhelés mellett elengedhetetlen a koncentrált, keményítőben dús takarmányok etetése. Kevésbé nagy terhelés alatt álló hobbilovak takarmányozása során is gyakran fordulnak elő hibák. Itt a leggyakoribb ok az, hogy a laikus ember lova iránt érzett szeretetét nagy mennyiségű abrakkal kívánja kifejezni.

A bélflóra abnormális változása következtében alakul ki két igen súlyos kórkép: a kólika és a savós patairha-gyulladás. Ezek mellett a felborult egyensúlyú flóra érzékenyebb a

patogén csírák okozta fertőzésekkel szemben.

A bélflóra stabilizálása céljából számos, különböző hatásmechanizmusú termék van forgalomban, például táplálékkiegészítők, vitaminok, mikroelemek, enzimek, immunerősítők, prebiotikumok, probiotikumok és synbiotikumok. Ezek hatékonyságukat tekintve igen eltérőek, legtöbbször csak a gyakorlati tapasztalat támasztja alá, hogy valóban jótékony hatásúak-e.

Az állatorvosi gyakorlatban a probiotikumok alkalmazása terjedt el, mind terápiás, mind prevenciós célból. Ezek a szerek kísérletileg bizonyított hatással bírnak a kedvenc állatok betegségeinek kiegészítő terápiájaként és a gazdasági haszonállatok termelési mutatóinak javítására.

A lovaknak szánt probiotikumok hatékonyságának vizsgálatáról viszonylag kevés kísérleti anyag áll rendelkezésre. Ennek oka valószínűleg az, hogy a lovakkal végzett kísérletek igen drágák és munkaigényesek, azonban az in vitro és a más kísérleti állatokkal végzett vizsgálatok eredményei nehezen ültethetők át a gyakorlatba.

Dolgozatomban két probiotikus takarmány-kiegészítő (a továbbiakban PB és PBS) hatékonyságának vizsgálatát tűztem ki célul egy adott lóállományban.

A munka során a következő kérdésekre kerestem a választ:

- A friss bélsár kvantitatív mikrobiológiai vizsgálata - mint nem invazív módszer-alkalmazható-e a bélmikroflórában lezajló változások követésére?
- A fenti készítmények etetése során kimutatható-e eubiotikus irányú bélflóra eltolódás a kontrollhoz képest?
- A két probiotikus készítmény hatékonyságában van-e kimutatható különbség?

4. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

4.1. A ló emésztési és táplálkozási sajátosságai

Az 55 millió évvel ezelőtt még kicsi, tömzsi, kutya nagyságú, négy ujjú ősből fokozatosan alakult ki a mai magas, gyors és elegáns ló. A testméret növekedésében fontos szerepet játszhatott a ló étrendjének és ezzel együtt emésztőrendszerének változása. Az erdőlakó ősló a klímaváltozás miatt a füves pusztákra szorult, így kénytelen volt a rügy-, gyümölcs- és magevésről áttérni a magas rosttartalmú fűfélék fogyasztására. Az emlősök azonban saját enzimeikkel képtelenek lebontani a növényi sejtfalat. A probléma megoldására az állatok szimbiózist építettek ki azokkal a mikrobákkal, melyek számukra is emészthető anyagokká bontják le a cellulózt. Ez azonban hosszadalmas folyamat, a gazdaállatnak egy olyan nagyméretű „erjesztő tartályra” van szüksége, ahol nagy mennyiségű növényi anyagot lehet tárolni, amíg a baktériumok elvégzik munkájukat (BUDIANSKY, 2001). A rostbontás fő helyszíne lovak esetében a vakbél, ide már előzetesen feldolgozott formában kerül a takarmány.

A ló érzékeny ajkaival válogatja ki a számára megfelelő táplálékot, ami alapos rágást követően kerül a gyomorba. A nyelőcső hegyesszögben szájadzik a cardiába és a gyomor nem éri el a ventrális hasfalat, ezért a ló képtelen hányni, ez akut gyomormegterhelés esetén végzetes lehet. Az együregű összetett gyomor úrtartalma relatíve kicsi, kb. 12-18 l, de 1-2 óra alatt 1/3-ig, 6-8 óra alatt pedig teljesen kiürül. A tartalom a gyomorban csak kis mértékben keveredik, ezért a gyomoremsztés igen korlátozott mértékű. A gyomor alapi része kevésbé savas (pH 5), ez megengedi a baktériumok és egyes nyálból származó emésztőenzimek működését, melynek során a szénhidrátok egy része tejsavra és illó zsírsavakra bomlik. A pylorusi részen zajlik a fehérjék sósavas pepszines emésztése (pH 2,5-2,7). A vékonybél 18-20 m hosszú, a tartalom továbbhaladása gyors, 2-4 óra, itt zajlik a vízoldható szénhidrátok, a zsírok és a fehérjék emésztése és felszívódása. A naponta termelődő 100-120 l bélnedv, 6-8 l hasnyál, és epehólyag híján a májból folyamatosan ürülő 4-6 l epe enzimeit végzik az emésztést. A nem rostalkotó szénhidrátok 60-90%-a egyszerű cukrokká bomlik, és felszívódva jelentős energiaforrást képvisel. A fehérjeemésztés 60-70%-a is ezen a szakaszon zajlik. A zsírok a folyamatos epeürülés emulgeáló hatása miatt rendkívül jól, akár 90%-os hatékonysággal emészthetők. A ló 15-18% zsírt is képes tolerálni és hasznosítani a fejadagban. A vékonybél a vitaminok, az elektrolitok és az ásványi anyagok fő felszívódási helye is.

A vastagbél két fő része a 35 l űrtartalmú vakbél és a 96 l térfogatú remesebél. Itt a passage lassul, kb. 1 napot tölt itt a béltartalom, hiszen ez a szakasz a mikrobiális emésztés fő helyszíne. A vastagbélben élő $5-7 \times 10^9$ /gramm mikrobapopulációt főként *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Ruminococcus* és coliform baktériumok, továbbá néhány protozoon (pl. *Blephacorys uncinata*, *Cyclospthium bipalmatum*) alkotja. Érdekes, hogy más gazdasági haszonállatok bélbéli mikrobiális ökoszisztémájáról jóval több ismeret áll rendelkezésünkre (FEKETE, 1991).

A vastagbélbe érkező szénhidrátok (keményítő és cellulóz) mikrobiális bontásának eredményeként illó zsírsavak, ecetsav, propionsav és vajsav keletkeznek, átlagosan 17:5:1 arányban. Az illó zsírsavak felszívódnak és jelentős mértékben hozzájárulnak az állat energiaháztartásához (FEKETE, 1991).

A vakbélemésztés működési mechanizmusa, bakteriális, fizikai és biokémiai jellemzői nagyban hasonlítanak a kérődzők bendőemésztéséhez. A különbség az, hogy a kérődzők 30%-kal több energiát vonnak ki ugyanakkora táplálékmenyiségből, mint a ló, továbbá a kérődzőkben a passage idő 70-90 óra, míg a lónál ez kb. 48 órát tesz ki. Ennek oka az, hogy a kérődzőknek meg kell várniuk, hogy az előzőleg felvett táplálék a bendőben lebomoljon, hiszen a recés és a százzrétű szűk, szelepszerű nyílásán csak az igen kisméretű részecskék képesek továbbhaladni.

A lófélék mégis megélik rosszabb minőségű legelőn, ellentétben egy hasonló méretű kérődzővel, mivel képesek a fű kisebb tápanyagtartalmát úgy kompenzálni, hogy többet fogyasztanak belőle. A ló tehát ha nem is egységnyi súlyú, de egységnyi idő alatt több energiát tud hasznosítani a gyenge minőségű táplálékból, mint egy ugyan olyan súlyú szarvasmarha (BUDIANSKY, 2001).

4.2. A normál bélflóra és egyensúlybomlása

„A béltraktusban lévő mikroorganizmusok az ártalmatlannak minősített erjedési termékek mellett olyan anyagcsere- és bomlástermékek képzésében is részt vesznek, amelyek a gazdaszervezet immunológiai vagy toxikológiai értelemben vett terhelését egyaránt előidézhetik. A béllumen felől ható mikrobiális eredetű terhelés kivédésére mikrobiális, humorális, anatómiai és celluláris barrierék működnek. Enyhe antigénterhelés hatására - mely a gazdaszervezet számára még tolerálható – az immunrendszer „tréningben van és edződik”. Ez bizonyos mértékben még hasznosnak is tekinthető folyamat” (SZIGETI, 1991).

4.2.1. Eubiosis

„Az állatok bélcsatornájában fellépő mikrobiális terhelés jellege és mértéke a bélflóra mennyiségi és minőségi viszonyaival jellemezhető. Az intestinális mikroflórát fő-, kísérő- és maradványflórára tagolhatjuk. A gazdaállat és a bélflóra „legkisebb terhelés” mellett megvalósuló együttélése eubiosisként definiálható.

Eubiosisban a főflóra a teljes bélflóra legalább 90%-át teszik ki. A flóratagok Gram-pozitív anaerob homoiofermentatív és obligált anaerob heterofermentatív tejsavtermelők (lactobacillusok, bifidobacteriumok), valamint Gram-negatív, kizárólag anaerob vajsav- és egyéb illó zsírsav-termelő, pálcika formájú baktériumok (fusobaktériumok, *Bacteroides* nemzetség). Ugyancsak a főflórához soroljuk az obligát béllakó szimbionta élesztőket is, melyek egyes állatfajokhoz többé-kevésbé specifikusan alkalmazkodtak.

A kísérőflórát – amely gyakran a teljes bélflóra ritkán több mint 1%-a – Gram-pozitív enterococcusok és a Gram-negatív *Escherichia coli* baktériumok alkotják.

A maradványflóra azokat a bélbaktériumokat jelenti, amelyek gyakran idézik elő használatunk betegségeit. Tulajdonképpen fakultatív kórokozó mikroorganizmusok. Fő képviselőik egyes *Clostridium*-, *Staphylococcus*-, *Salmonella*-, *Proteus*-, *Pseudomonas*-fajok, valamint egyes élesztőgombák. Eubiosis esetén a maradványflóra a teljes bélflóra számarányának mindössze 0,01%-át teszi ki” (SZIGETI 1991).

4.2.2. Dysbiosis

„A kísérő- és maradványflóra számarányának a főflórához viszonyított megnövekedése az eubiosis megszűnéséhez vezet, helyette dysbiotikus állapot alakul ki. A dysbiotikus bélflóra fokozott terhelést jelent a gazdaszervezet számára. Mindez a kevéssé szervezetbarát (kórokozóként is figyelembe veendő) mikroorganizmusok (clostridiumok, salmonellák, enteropathogén *Escherichia coli*) elszaporodását jelenti. Dysbiosisban romlik az állatok takarmányhasznosítása, teljesítményük csökken, súlyosabb esetekben elhullás is bekövetkezhet. Dysbiosist a takarmányok kedvezőtlen mikrobiológiai állapota, a nem megfelelő takarmányösszetétel, az állat környezetéből felvett kórokozó szervezetek, stresszhatások egyaránt előidézhetik” (SZIGETI 1991).

4.3. A takarmányozás hatása a ló bélflórájára

A takarmányozással összefüggő változások a ló bélflórájának mikrobaközösségében már régóta ismertek. Hirtelen abrak túletetés esetén a vastagbélbe érkező nagy mennyiségű szénhidrát tejsavas erjedést indít el, ezáltal csökken a pH (5,5-5,8), ennek következtében

ozmotikus hasmenés, erjedéssel dyspepsia, savós patáirha-gyulladás, vagy akár halálos kimenetelű clostridium endotoxaemia is kialakulhat. Ez azonban akut módon csak súlyos takarmányozási hiba esetén fordul elő.

A verseny- és sportlovak takarmányozására jellemző, hogy folyamatosan nagy keményítőtartalmú takarmányt kapnak, hogy fedezzék a fizikai terhelés energiaigényét. Ennek az étrendnek a hosszú távon kiváltott hatásait vizsgálta egy 2007-es svéd tanulmány. Ennek során hat kifejlett herélt lóval crossover elrendezésben etettek csak szénát, és 50% széna - 50% koncentrált takarmányt tartalmazó fejadagot 29-29 napig, majd a begyűjtött bélsármintákat tenyésztés és molekuláris módszerekkel egyaránt vizsgálták. A koncentrált takarmány a lactobacillusok és a streptococcusok felszaporodását, illetve a *Lactobacillus ruminis* faj megjelenését okozta. Több más mikroorganizmus előfordulását is szignifikánsan befolyásolta a takarmány összetétele, azonosításuk azonban nehézségekbe ütközött, részletes ismeretek és referenciatörzsek hiányában. A bélsár kémhatása, az enterobaktériumoknak előfordulása, illetve a mikrobapopuláció diverzitása szignifikáns változást nem mutatott (WILLING, et al., 2009; VÖRÖS, 2009).

Pónikon végzett kísérletek is bizonyították, hogy a koncentrált takarmányok etetése során romlik a vastagbél rostbontó aktivitása és megváltozik az illó zsírsav arány. Jelentős mértékű savasodást azonban itt sem tapasztaltak, annak ellenére, hogy a laktát szintje emelkedett, ami valószínűleg a puffer-rendszer kompenzáló hatásának következménye.

A fentebb említett kísérletek egyikében sem kaptak a lovak extrém magas (4g/ttkg-nál nagyobb) keményítőterhelést, ami már bizonyítottan emésztési problémát okozna (FOMBELLE, et al., 2001; DROGOUL, et al., 2001).

A könnyen bomló szénhidrát-tületetést követő pH-csökkenés következtében a Gram-negatív csírák elpusztulnak, a vakbélben jelentős mennyiségű toxin keletkezhet, a bélnyálkahártya tejsav általi károsodása pedig segíti a toxinok felszívódását a véráramba (FEKETE 2009).

Egyes streptococcus és lactobacillus fajok elszaporodása (*Streptococcus bovis*, *Streptococcus equi*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus salivarius*.) összefüggésbe hozható a savós patáirha-gyulladás kialakulásával, a pontos mechanizmus azonban nem ismert. Feltételezik, hogy a baktériumok által termelt exotoxinok aktiválják a sejtek mátrix metalloproteináz enzimjeit és bizonyos aminosavak dekarboxilációját indítják el. A folyamat során termelődő vazoaktív anyagok is felelősek lehetnek a patatokba történő savókilépésért (VÖRÖS, 2009).

Egy tanulmány megpróbált fényt deríteni arra, hogy vajon van-e különbség a laminitisre hajlamos, és az egészséges lovak bélbaktériumainak fermentációs kapacitása között. Mindkét csoportból 7-7 ló bélsármintáját in vitro vizsgálva (inulin, keményítő, és egyéb tápanyagok

hozzáadása utáni gázprodukción, VFA szint, pH, tejsav) a két csoport nem mutatott eltérést (MURRAY, et al., 2009).

Több tanulmány foglalkozik azzal, hogy növelje a keményítő precaecalis emésztését, így csökkentve annak az esélyét, hogy a vastagbélbe kerülve fokozódjon a tejsavtermelés. Az energiahordozóként alkalmazott gabonamag fajtájának megválasztásával esetleg magkeverékek összeállításával is befolyásolható a vastagbélbe kerülő gyorsan bomló szénhidrát mennyisége. A zab ideális gabonaféle, de hosszútávon nem lehet vele fedezni a mai sportlovak igényeit. A kukorica pedig túl sok, inkább a vakbélben bomló keményítőt tartalmaz. Alternatívaként cirokkölessel, árpával és szójával is folynak vizsgálatok (JASSIM, 2006).

Az abraktakarmányok feldolgozása is (zúzás, darálás, pelletizálás, puffasztás, mikronizálás) befolyásolhatja a keményítőtartalom vékonybélben történő emésztését és felszívódását. (JULLIAND, et al., 2006).

A ló takarmányának minimum 16-18% nyersrost tartalommal kell rendelkeznie. Ezt a rostmennyiséget a szálás takarmányok fedezik. Egy 2007-es vizsgálat során ugyanarról a mezőről gyűjtött, széna, szenázs és szilázs formájában is feldolgozott takarmányt etettek. A bélsár és a colon ventrális fekvetének kanülálásával gyűjtött minták alapján a különbözőképpen feldolgozott szálás takarmányok nem befolyásolták eltérő módon a bélflorát (MÜLLER, et al., 2008).

4.4. Probiotikumok

A probiotikumok olyan élő mikroorganizmusok, melyek megfelelő csíraszámokban az emésztőrendszerbe juttatva, hasznos táplálkozásélettani tulajdonságaik mellett további jótékony hatással bírnak a szervezet egészére. A probiotikumok terápiás alkalmazása már az 1900-as években elkezdődött, és az utóbbi 10-20 évben óriási mértékben megnőtt az érdeklődés a téma iránt. A probiotikumok hatásmechanizmusa még nem teljesen tisztázott, az úgynevezett bioregulációs képességű mikroorganizmusok közé tartoznak. Nagy valószínűséggel kompetitív-antagonistként gátolják a patogén csírák megtelepedését (bélhámvédő, biofilmképző, tejsavtermelő, eznimaktivitás-fokozó hatásúak), így bélflóra ökoszisztémáját az eubiosis állapotában segítenek fenntartani. Ez a hatás még nem magyarázat arra a számos jótékony tulajdonságra, amit több fajban is megfigyeltek probiotikumok etetése alkalmával. Feltételezik, hogy a probiotikumok antimikrobiális, gyulladáscsökkentő és növekedési faktorokat, valamint emésztést segítő enzimeket termelnek, immunreguláló és antikarcinogén hatással bírnak, továbbá direkt hatással vannak a

bélnyalkahártya ellenálló- és tápanyagfelszívó képességére, és aktív mikrobiális védelemben részesítik a gazdaállatot a kórokozó mikroorganizmusokkal szemben (TIMMERMAN, et al., 2004; SZIGETI 1991; WEESE, 2002b).

Állatkísérletek és néhány humán vizsgálat is bizonyította a probiotikumok terápiás értékét a hasmenéses kórképek, antibiotikum okozta dysbiosis, laktózintolerancia, allergiás és atópiás betegségek, húgyúti és nemi fertőzések esetén, húgyhólyag és vastagbél daganat megelőzése során, sőt egyes esetekben a magas koleszterinszintet is csökkentette (MOMBELLI-GISMONDO, 2000).

Ezekon kívül állatokon (csirke, sertés, juh, egér, patkány) végzett vizsgálatok kimutatták, hogy a probiotikumok kedvező hatással vannak a termelési mutatókra (takarmányhasznosítás, hizlalási napok száma, vágósúly). Ígéretesen mérséklék a patogén csírák, főként a *Salmonella* (*Typhimurium*, *Enteritidis*) és az *Escherichia coli* (O157:H7) fertőzöttséget, így csökkenthető a gyógyszerköltség, valamint az elhullás és a kobzás okozta veszteség is (WILLING, et al., 2009).

A probiotikumok használata során a leggyakoribb és legegyszerűbb a szájon át történő beadás, de a végbélbe való applikációnak is vannak előnyei, mert így olyan mikrobák is használhatók, melyek kevésbé ellenállóak a gyomor alacsony pH viszonyaival szemben. Esetenként a hüvelybe is helyezhető a szer, ha a húgy- és nemi utak fertőződésének prevenciója vagy a flóra rekolonizációja a cél. A szájon át történő adagolás során a hatékony szerek csíraszámának adagonként el kell érni a 10^9 - 10^{11} CFU-t (Colony-Forming Unit/telepképző egység) (MOMBELLI-GISMONDO, 2000; WEESE, 2002b).

A probiotikumként használt fajok legtöbbször anaerob vagy fakultatív anaerob Gram-pozitív baktérium, főként a tejsavbaktériumok nemzetségeiből kerülnek ki, mint például a *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Laktobacillus*, *Leuconostok*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*, a nem tejsavbaktériumok csoportjába tartozó *Bacillus* genus a *Saccharomyces* vagy az *Escherichia coli* egyes törzsei is szerepelhetnek probiotikumként (MOMBELLI-GISMONDO, 2000).

A baktériumfajok különböznek anyagcseréjük, antibiotikum érzékenységük, pH és oxigén tűrő kapacitásuk tekintetében. Alkalmazásuk során kevéssel hatékonyabbnak bizonyultak azok a szerek, amik nem csak egy baktériumfaj képviselőit tartalmazták (multistrain/multispecies probiotikumok), mert valószínűleg szinergista hatást fejtenek ki egymásra a kolonizáció során. Ezek előállításuk egyszerűbb és olcsóbb, mint az egy fajt tisztán tartalmazó (monostrain) probiotikumoknak (TIMMERMAN, et al., 2004).

4.5. Probiotikumok használata a ló tartásban

A probiotikumok alkalmazása lovak esetében is egyre inkább terjed, de még kevés irodalmi adat áll rendelkezésre a szerek hatékonyságát illetően. Az ideális probiotikum túléli a feldolgozás és a tárolás körülményeit (aerotoleráns), a gyomor- és a vékonybélemésztés ellen ellenálló (sav- és epetoleráns), képes a kolonizációra, sokáig életképes marad a vastagbélben, gátolja a patogén csírák megtelepedését és nagy mennyiségben sem jelent veszélyt a gazdaszervezetre.

4.5.1. Probiotikumként alkalmazható fajok és a minimum hatékony dózis

A joghurtok annak ellenére, hogy anekdotikus adatok alátámasztják, nem alkalmasak lovaknak probiotikumként, mert a bennük élő, legtöbbször *Streptococcus thermophilus* és a *Lactobacillus bulgaricus* fajok a bélpassage során nagyszámban destruálódnak, továbbá a legtöbb joghurt mindössze 1×10^7 CFU/ml csírákat tartalmaz, így az ajánlott dózis felvételéhez minimum 30 litert kéne etetni (WEESE, 2002b).

A *Kluyveromyces fragilis (maxianus)* nevű faj használata is ígéretesnek tűnik, mivel nagy százalékban túléli a feldolgozást, a tárolást, a gyomor savas hatását és a vékonybélemésztést, de az in vivo kísérletek még hiányoznak.

A *Lactobacillus rhamnosus GG* nagy dózisban való etetésével felnőtt lovak esetén sikerült elérni a kolonizációt, csikónál pedig kisebb dózisban ígéretesen alkalmazható a csikókori hasmenés megelőzésében. Egy naposnál fiatalabb csikóknak nem adható probiotikum, mivel antigénjeik a maternális immunitás kifejlődése miatt nyitott passzív transzporttal bekerülhetnek a véráramba, és ott az ellenanyag szintet csökkentik.

A *Saccharomyces boulardii* emberekben bizonyítottan segít az antibiotikum okozta hasmenés és a *Clostridium difficile* okozta hasmenés kezelésében. Mivel speciális proteázokat termel, direkt hatása van a clostridium toxinjaira. Hasonló hatás lehetséges lovak esetében is, de ez még nem teljesen bizonyított.

A forgalomban leginkább a nem spórás tejsavbaktériumokból álló készítmények elérhetőek, melyek a *Lactobacillus*, *Bifidobacter* és *Enterococcus* nemzetségből kerülnek ki. Kevésbé elterjedt, de hatékony nemzetség a *Bacillus* is.

Az *Enterococcus* genust tartalmazó termékeket azonban egyes európai országokban kivonták a forgalomból, mivel fakultatív patogénnek tekinthetők, továbbá a vankomicin rezisztencia kialakulásáért felelős gént átadhatják más baktériumoknak.

*Escherichia coli*t tartalmazó probiotikumot lovak részére nem gyártanak, mert a mikroba szerepe a ló emésztőszervi megbetegedéseiben még nem tisztázott (WEESE, 2002b).

A szerek igen változó minőségben és összetételben tartalmaznak élő organizmusokat, hatékonyságukat tekintve pedig kevés objektív vizsgálat történt.

Nyolc állatgyógyászati és öt humán probiotikummal mennyiségi bakteriológiai tenyésztést végeztek. A tizenhárom termékből kettőben fedték a valóságot a címkéken lévő tartalom- és koncentráció leírások, néhány termék olyan mikroorganizmusokat tartalmazott, melyeknek nincs ismert probiotikus hatásuk, néhány ezek közül ártalmas is lehet. A legtöbb kereskedelemben kapható állatgyógyászati készítmény összetétele nincs megfelelően feltüntetve a címkéken. A minőségellenőrzés az állatgyógyászati probiotikumok esetében meglehetősen hiányosnak bizonyult (WEESE 2002a).

A legtöbb áruban az élő mikrobák száma nem éri el a lovak számára ajánlott dózis alsó határát. Az ajánlott dózis kifejlett lovaknak 3×10^{11} , csikóknak 1×10^{10} (WEESE 2002b).

Feltételezhető, hogy a probiotikumok nagy része fajspecifikus tulajdonságokkal bír, hiszen az a baktérium, amely nem adaptálódott a gazdafajhoz, kisebb eséllyel éli túl az emésztést és tud kolonizálódni a vastagbélben. Ezért érdemes a célállatfaj egyedeiből kitenyészteni az ideális probiotikumot. J. S. Weese és munkatársai folytattak ilyen irányú vizsgálatokat. Klinikailag egészséges lovak és csikók bélsármintáiból tejsavbaktériumokat tenyésztettek ki és in vitro vizsgálták azokat. A 47 tesztelt baktériumfaj közül az összes aerotoleráns, de csak 18 bizonyult sav- és epetoleránsnak. Négy faj gátolta a salmonella fajok növekedését. A *Lactobacillus pentosus* WE7 volt az a faj, amiről a további vizsgálatok kiderítették, hogy gátolja az *Escherichia coli* szaporodását, mérsékelten gátlóhatást fejt ki a *Streptococcus zooepidemicus* és a *Clostridium difficile* fajokra, és enyhe gátlóhatása van a *Clostridium perfringens* szaporodására is. In vivo vizsgálatok során kétnapos (20-35 kg-os) pónicsikóknak, szájon át, 1×10^{11} CFU/nap csírád adagoltak öt napig. Felnőtt (450-475 kg-os) lovaknak pedig 7×10^{11} CFU/nap adagoltak szintén öt napig. Az első adagolást követő napon kilenc csikóból nyolcban (89%), nyolc felnőtt lóból hétben (87,5%) sikerült a bélsárból kitenyészteni úgy, hogy a kezelést megelőzően a csikókban a baktérium nem volt kimutatható, felnőtt lovakban pedig csak nagyon kis mértékben (WEESE, et al., 2004).

4.5.2. Probiotikumok szerepe a betegségek megelőzésében és kezelésében

Hasmenés/Kólika

A probiotikus szerek főként a hasmenéssel járó betegségek megelőzésében és kezelésében alkalmazhatóak. A kólikás betegségek megelőzésében is hasznosak, ha elég nagy dózisban adagoljuk ahhoz, hogy képes legyen kolonizálódni a bélben. A lovakat ért stressz, mint például antibiotikus kezelés, szisztémás betegségek, szállítás, versenyek, nem megfelelő

takarmányozás felborítják a bélflóra egyensúlyát. A probiotikumok adagolását, ha tehetjük, legjobb az ismert kockázati tényező megjelenése előtt 3 nappal megkezdeni, hogy a bélflóra egyensúlyát megőrizhessük (WEESE, 2002).

Salmonellózis

A probiotikumok használatának egyik fő célja a fertőzésekkel szembeni ellenállóképesség növelése, ugyanis az intakt bélmucosa és a bélbaktériumok gátolják a patogén csírák megtelepedését és véráramba jutását, valamint immunstimuláns hatással is bírnak. A salmonella okozta megbetegedések visszaszorítása főként a lóklinikák esetén jelent gondot, mert ezeken a helyeken sok lovat tartanak viszonylag kis helyen összezárva. A lovak immunstátusza erősen eltérő, hiszen más-más helyről érkeznek, legtöbbjük pedig legyengült állapotban van. Ez kedvez a betegségek kialakulásának, amik nagy problémát okoznak. A kockázat csökkentése érdekében az általános járványügyi intézkedések mellett a probiotikumok alkalmazása is felmerült, mint alternatív lehetőség.

Az Egyesült Államokban végzett kísérlet során 130, egy lóklinikára nem gastrointestinális panaszokkal érkező lótól vettek naponta bélsármintát. Az első 48 órában a lovak négy kivételtől eltekintve negatívak voltak, később az összesen 924 bélsár minta közül 36-ból sikerült kitenyészteni a *Salmonella* több szerotípusát (*Typhimurium*, *Meleagridis*, *Bovimorbificans*, *Mbandaka*, *Muenster*). A kísérlet során egyik ló sem mutatta a salmonellák okozta betegség tüneteit (láz, neutropénia, hasmenés). A lovakat randomizált dupla vak próbával két csoportra osztották, az egyik csoport napi 3×10^8 CFU élőcsírárt tartalmazó probiotikumot kapott egész kórházi tartózkodása (494 nap) során, a másik csoport placebót (433 nap). Az eredmények azt mutatták, hogy statisztikailag nem szignifikánsan ugyan, de a probiotikummal kezelt állatok 65%-ában csökkent a salmonella-ürítés. Ez arra enged következtetni, hogy a szer a salmonellózis járványos kitörését segítheti megelőzni, a hatékonyságot növeli, ha a lovak a kórházba érkezésüket követően minél hamarabb megkapják (WARD, 2004).

Homokürítés

Érdekes alkalmazása a probiotikumoknak a lovak homokürítésének segítése. Egyes területeken a ló a takarmánnyal nagy mennyiségű homokot vesz fel, ami a vakbélben és a remesefekvetekben leülepedve gátolja az emésztést, dysbacteriosist, hasmenést, krónikus súlyvesztést okoz. A homok felhalmozódása kólikás tüneteket is kiválthat, mert irritálja a bélfalat, obturációt és helyzetváltozást idézhet elő, amit súlyos esetben csak műtéttel lehet

orvosolni. A homokürítés mértékét psyllium és probiotikum adagolásával próbálták növelni klinikailag egészséges állatokban. Az eredmények azt mutatták, hogy a homokürítés fokozódott. A probiotikumok itt valószínűleg segítették a psyllium tapasztalati úton már bizonyított homok- ürítő hatását azzal, hogy növelték a bélmotilitást és gyulladáscsökkentő hatásuk is lehetett (LANDES, et al, 2008).

5. Saját vizsgálatok

A kísérlet helye: Nagykovácsi, Nagykovácsi Lovastanya

A kísérlet ideje: 2011. 03. 20- 2011. 04. 07.

A kísérlet időtartama: 21 nap

5.1. Anyag és módszer

5.1.1. Anyagok

5.1.1.1. Takarmányok

A takarmányok a lovarda rendszeres beszállítótól származtak. A takarmányt havonta szállítják a telepre, a réti széna és a zab is a Bakonyban terem. A kísérleti időszak alatt etetett takarmányok mért beltartalmi összetevőit az 1. táblázatban tüntettük fel.

1. táblázat

A kísérlet során etetett takarmányok beltartalma

	Száranyag	Nyershamu	Nyerszsír	Nyersrost	Nyersfehérje	Penészsám
	%					CFU/g
Korpa	85,2	6,07	2,55	9,79	15,2	$5,2 \times 10^4$
Müzli	86,4	2,23	1,97	4,50	10,6	$3,9 \times 10^4$
Zab	87,9	2,81	4,87	13,1	9,95	$3,5 \times 10^5$
Réti széna	88,5	5,38	1,39	30,4	7,48	$1,2 \times 10^6$

Müzli: roppantott kukorica, árpa és zab keveréke

5.1.1.3. Az etetett takarmány-kiegészítők

A vizsgálat során kétféle kiegészítőt etettünk a lovakkal, melyeket a PB és a PBS rövidítéssel jelöltünk. A két probiotikum baktériumflórája azonos, de egyéb összetevőit tekintve nagyban eltér egymástól. A PBS a probiotikus baktériumok mellett tartalmaz vitaminokat, aminosavakat és ásványi anyagokat is (1. kép).

PB

Összetétele:

4000 mg/kg „bio-mos” nevű probiotikum, mely mannán-oligoszacharidokból és az élesztő sejtfalából származó glukomannán fehérje komplex vegyületekből áll.

Lactobacillus acidophilus és *Bifidobacterium*: 2×10^9 CFU/gramm.

A PB adagolása 15-30g/nap/ló, mérettől függően.



1. kép

PBS

Összetétele

Prebiotikum: 2000 mg/kg

Probiotikumok: *Lactobacillus acidophilus* és *Bifidobaktérium* 2×10^9 CFU/g.

Saccharomyces cerevisiae 13000 mg/kg

Kémiai összetétel

nyersfehérje	nyerszsír	nyersrost	nyershamu
%			
12,5	4	1	38

Vitaminok

A	500 IU/kg	B1	310mg/kg	Biotin	34 mg/kg
D3	125 IU/kg	B2	320 mg/kg	Pantoténsav	520 mg/kg
E	6800 IU/kg	B6	220 mg/kg	Nikotinsav	840 mg/kg
		B12	5,5 mg/kg	Kolin	6000 mg/kg
		K	450 mg/kg	Folsav	200 mg/kg

Ásványi anyagok

Kalcium	8,5%	Cink	4500mg/kg	Jód	35mg/kg
Foszfor	4,5%	Mangán	2500mg/kg	Kobalt	15mg/kg
Nátrium	0,15%	Vas	4500mg/kg	Szelén	14mg/kg
Magnézium	0,16%	Réz	550mg/kg		

Szervesen kötött ásványi anyagok: Cink, Réz, Mangán, Kobalt, Vas, Szelén és Króm.

Aminosavak

Lizin 3000 mg/kg

Metionin 3000 mg/kg

Továbbá: Alanin, Arginin, Cisztin, Gluténsav, Glicin, Hisztidin, Izoleucin, Leucin, Triptofán, Lizin, Metionin, Fenilalanin, Prolin, Szerin, Threonin, Tirozin, Valin.

A PBS adagolása 15-45g/nap/ló, mérettől függően.

Tárolása: szobahőmérsékleten.

5.1.2. Kísérleti állatok

A telepen (Nagykovácsi Lovastanya, 2. kép) hobbi célból tartott 34 lóból 24 (3x8) állatot vontunk be a kísérletbe. A beosztás során figyelembe vettük, hogy a lovak ugyan azonos körülmények között élnek, de eltérő koruk, fajtájuk és egyéb ismert vagy ismeretlen tulajdonságaik miatt különböznek egymástól. Törekedtünk arra, hogy a kísérleti alanyok között minden korosztály és fajta-típus képviselői azonos arányban szerepeljenek; a gyengébb kondícióban lévő, és/vagy más tulajdonságuk (karórágó/levegőnyelő) miatt eltérő egyedek pedig mindhárom csoportban előforduljanak (2. és 3. táblázat).



2. kép

2. táblázat

A kísérleti állatok neve, kora, ivara, fajtája és csoportba sorolásuk alapja

Sor-szám	Csoport	Név	kor (év)	Ivar	fajta	A csoportba sorolás alapja
1	K	Délibáb	4	kanca	hucul	hucul
2	K	Villám	13	herélt	welsh	welsh póni
3	K	Dagi	18	kanca	MF	idős ló
4	K	Baba	19	kanca	MF	gyengébb kondíció
5	K	Harti	13	herélt	haflingi	karórágó/levegő nyelő
6	K	Szelli	13	kanca	ügető	norm. kanca
7	K	Figura	18	herélt	furioso	norm. herélt
8	K	Sári	13	kanca	MF	egyéb
9	PB	Bogár	6	herélt	hucul	hucul
10	PB	Herceg	17	herélt	welsh	welsh póni
11	PB	Csinos	27	kanca	MF	idős ló
12	PB	Szemi	18	herélt	MF	gyengébb kondíció
13	PB	Virág	15	kanca	MF	karórágó/levegőnyelő
14	PB	Szépség	10	kanca	MF	norm. kanca
15	PB	Napsugár	12	herélt	MF	norm. herélt
16	PB	Piton	16	herélt	MF	egyéb
17	PBS	Kobold	17	herélt	hucul	hucul
18	PBS	Pinocchio	4	herélt	welsh	welsh póni
19	PBS	Sandokan	26	herélt	MF	idős ló
20	PBS	Keringő	13	kanca	MF	gyengébb kondíció
21	PBS	Füles	10	kanca	MF	karórágó/levegőnyelő
22	PBS	Piroska	12	kanca	furioso	norm. kanca
23	PBS	Tabu	19	herélt	MF	norm. herélt
24	PBS	Bolygó	17	herélt	MF	egyéb

K = kontroll, PB, PBS = takarmány-kiegészítők (ld. 5.1.1.2.), MF = Magyar félvér

3. táblázat

A kísérleti állatok marmagassága, körmérete abrak- és takarmánykiegészítő adagja

Sorszám	Csoport	Név	Marmagasság (cm)	Körméret (cm)	reggeli abrak (mérő)	esti abrak (mérő)	Takarmánykiegészítő (adagoló kanál)
1	K	Délibáb	140	195	0	0	-
2	K	Villám	115	162	0	0	-
3	K	Dagi	163	210	1	2	-
4	K	Baba	164	193	1	2	-
5	K	Harti	145	194	1	1	-
6	K	Szelli	155	182	1	2	-
7	K	Figura	160	197	1	2	-
8	K	Sári	156	190	1	2	-
9	PB	Bogár	135	170	1	1	1 PB
10	PB	Herceg	136	169	1	1	1 PB
11	PB	Csinos	156	177	1	2	2 PB
12	PB	Szemi	162	191	1	2	2 PB
13	PB	Virág	165	188	1	2	2 PB
14	PB	Szépség	148	187	1	1	1,5 PB
15	PB	Napsugár	158	192	1	2	2 PB
16	PB	Piton	164	216	1	2	3 PBS
17	PBS	Kobold	130	182	1	1	1 PBS
18	PBS	Pinocchio	121	101	1	0	1 PBS
19	PBS	Sandokan	168	189	1	3	3 PBS
20	PBS	Keringő	156	182	1	2	2 PBS
21	PBS	Füles	157	183	1	2	2 PBS
22	PBS	Piroska	158	193	1	2	2 PBS
23	PBS	Tabu	165	192	1	3	3 PBS
24	PBS	Bolygó	164	196	1	2	3 PBS

K = kontroll, PB, PBS = takarmánykiegészítők (ld. 5.1.1.2.)

A lovak napközben közös legelőn, este, illetve rossz idő esetén egyedi bokszokban tartózkodnak (2. kép). A takarmányozás egyedileg reggeli abraketetésből és esti abrak- és széna-etetésből áll. Az abrak roppantott zab és korpa vizezett keveréke. Ivóvíz és nyalósó folyamatosan elérhető volt az állatok számára. A vizsgálat időszakában a legelőn széna-kiegészítést kaptak. Az állatok könnyű-közepes munkát végeznek. Az utolsó féreghajtást szeptemberben végezték az állományon. A vizsgálat ideje alatt megbetegedést nem tapasztaltunk egyik állaton sem.

5.1.3. Módszerek

5.1.3.1. Kezelési rend

A reggel 7⁰⁰ órás etetés alkalmával minden ló egyedileg megkapta az előre kimért adagot a probiotikumból, az abrakadagba keverve (3. kép), amit maradéktalanul el is fogyasztott. A lovak napi adagja átlagosan 4×10^{10} CFU csírát tartalmazott.



3. kép

5.1.3.2. Adat- és mintagyűjtés

A kísérleti etetést megelőző 10. napon valamennyi állattól bélsármintát vettünk az állomány salmonella-státuszának felmérésére. Ez a mintavétel szolgált a további kísérleti tenyésztésekhez szükséges hígítások meghatározására is. Ugyancsak az etetést megelőzően mértük az állatok marmagasságát és körméretét.

Nnaponta regisztráltuk a környezeti hőmérséklet minimum - maximum értékeit.

A bélflóra állapotának felmérésére szolgáló mintákat a kísérlet 0., 10. és 21. napján (2011. 03. 20-án, 2011. 03. 30-án és 2011. 04. 07-én), a reggeli etetés után gyűjtöttük. Minden lótól egyedileg friss bélsármintát vettünk, műanyag rektális vizsgálati kesztyűbe (4. kép). Ezt követően a mintákat 3 órán belül a tanszék laboratóriumába szállítottuk és feldolgoztuk.



4. kép

5.1.3.3. Laboratóriumi mérések

Kémiai összetétel

A takarmány alapanyagok kémiai összetételét az alábbi szabványok alapján határoztuk meg.

MSZ ISO 6496:1993 Takarmányok nedvességtartalmának meghatározása

MSZ 6830-4:1981 Nitrogéntartalom meghatározása makro-Kjeldahl módszerrel a nyersfehérje-tartalom meghatározásához

MSZ ISO 5984:1992 Takarmányok nyershamu-tartalmának meghatározása

MSZ 6830-6:1984 Nyerszsírtartalom meghatározása dietil-éteres extrahálással

MSZ 6884-3: 1994 A nyersrosttartalom meghatározása.

pH-mérés

A homogenizált bélsármintákból 20 g-ot 60 ml desztillált vízben szuszpendáltunk és a pH-mérő kombinált üvegelektrodját a felrázott szuszpenzióba merítve végeztük el a mérést.

Mikrobiológiai vizsgálatok

A friss bélsarat aseptikus körülmények között homogenizáltuk, majd az MSZ EN ISO 6887 szabványban rögzítettek szerint hígítottuk. A decimális hígítási sorokká alakított bélsárminta szuszpenziókból a tejsavtermelő mikrobák grammonkénti telepkepző számát (colony forming unit, CFU) az MSZ ISO 15214, az aerob mezofil (összcsíra), a coliform és a szulfitredukáló anaerob (clostridium) baktériumokét az MSZ 6977-87 szabvány szerint határoztuk meg. Az előzetes Salmonella érintettség felmérést a MSZ EN ISO 6579:2002/A1:2007 szabvány útmutatásai alapján végeztük.



Az előkísérlet tapasztalatai alapján az aerob mezofil baktériumok meghatározása a 10^4 , 10^5 és 10^6 -szoros, a tejsavtermelőké a 10^4 és a 10^5 -szoros, a coliformoké a 10^2 és 10^3 -szoros, a szulfitredukáló anaeroboké a 10 és 10^2 -szoros hígításokból történt.

A vizsgálatok során alkalmazott szabványok:

MSZ EN ISO 6887-1:2000. Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. A vizsgálati minták, az alapsuszpenzió és a decimális hígítások elkészítése mikrobiológiai vizsgálatához. 1. rész: Az alapsuszpenzió és a decimális hígítások elkészítésének általános szabályai

MSZ EN ISO 6579:2002/A1:2007 Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a Salmonellafajok kimutatására. 1. módosítás: D melléklet: Salmonellafajok kimutatása állati ürülékből és az elsődleges termelési szakasz környezeti mintáiból (ISO 6579:2002/Amd 1:2007).

MSZ ISO 15214:2005. Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a mezofil tejsavtermelő baktériumok megszámlálására. Telepszámlálási technika 30 °C-on.

MSZ 6977-87 Takarmányok mikrobiológiai vizsgálata

- 5.3.3. A mezofil szulfitredukáló klosztridiumok titerértékének meghatározása
- 5.3.5. A mezofil aerob mikrobák számának megállapítása
- 5.3.2. Az aerob baktériumflóra analízise, bélsár eredatú és újabb keletű E. coli fertőzöttség kimutatása

5.2. Eredmények

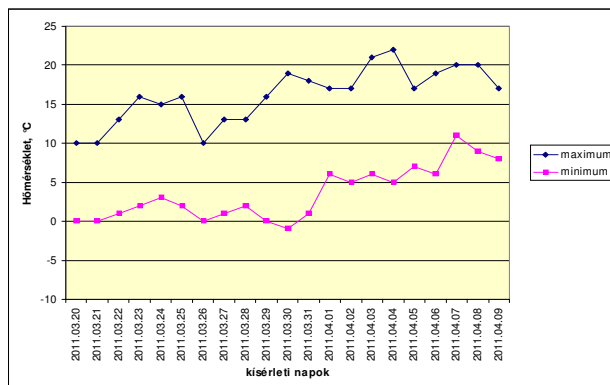
Megfigyelt paraméterek

A vizsgálat során az állományban klinikai tünetekben, vagy az általános állapot változásában megnyilvánuló betegséget nem észleltünk.

Az állatok testméretének mérési adatait a 3. táblázatban tüntettem fel. Bár a takarmánykiegészítők adagolásánál a haskörméret adatokat közvetlenül nem alkalmaztam, a meghatározását fontosnak tartottam az állomány esetleges kondícióváltozásának követésére. A naponta regisztrált minimum – maximum hőmérsékleti értékekből (1. ábra) látható, hogy a kísérlet alatt az időjárás szélsőséges napok nélkül, az évszaknak megfelelően alakult.

1. ábra

A napi minimum- és maximum hőmérséklet alakulása a kísérlet folyamán



Bélsárvizsgálatok a bélmikroflóra állapotának megítélésére

A kísérletet megelőző felmérés eredményeként megállapíthattuk, hogy a kísérletbe vont állatok között Salmonella-ürítés nem fordult elő.

A friss bélsár állapotát jellemző mérési adatok mintavételenkénti csoportátlag értékeit a 4- 8. táblázatban foglaltuk össze.

4. táblázat
A friss bélsár pH-értékei
(csoportátlag±szórás)

		A mintavétel ideje		
Csoport		0. nap	10. nap	21. nap
Kontroll	n=8	6,68 ± 0,29	6,98 ± 0,17	6,81 ± 0,16
PB	n=8	6,91 ± 0,27	6,85 ± 0,28	6,80 ± 0,20
PBS	n=8	6,75 ± 0,34	6,72 ± 0,14	6,62 ± 0,29

5. táblázat
A friss bélsárban mért mezofil aerob mikrobaszám
csoportátlagok, CFU/g

		A mintavétel ideje		
Csoport		0. nap	10. nap	21. nap
Kontroll	n=8	2,2 x 10 ⁶	2,0 x 10 ⁷	1,63 x 10 ⁷
PB	n=8	3,36 x 10 ⁶	3,18 x 10 ⁷	3,2 x 10 ⁷
PBS	n=8	3,68 x 10 ⁶	4,20 x 10 ⁷	2,5 x 10 ⁷

6. táblázat
A friss bélsárban mért mezofil tejsavtermelő baktériumszám
csoportátlagok, CFU/g

		A mintavétel ideje		
Csoport		0. nap	10. nap	21. nap
Kontroll	n=8	6,46x10 ⁵	2,9x10 ⁶	2,6x10 ⁶
PB	n=8	6,81x10 ⁵	3,3x10 ⁶	4,5x10 ⁶
PBS	n=8	6,37x10 ⁵	5,68x10 ⁶	4,23x10 ⁶

7. táblázat
A friss bélsárban mért coliform baktériumszám
csoportátlagok, CFU/g

		A mintavétel ideje		
Csoport		0. nap	10. nap	21. nap
Kontroll	n=8	4×10^4	$3,08 \times 10^4$	$3,26 \times 10^4$
PB	n=8	$4,5 \times 10^4$	$5,91 \times 10^4$	$1,98 \times 10^4$
PBS	n=8	$5,2 \times 10^4$	$4,65 \times 10^4$	$1,80 \times 10^4$

8. táblázat
Mezofil anaerob szulfitredukáló clostridiumok nagyságrendje a friss bélsárban

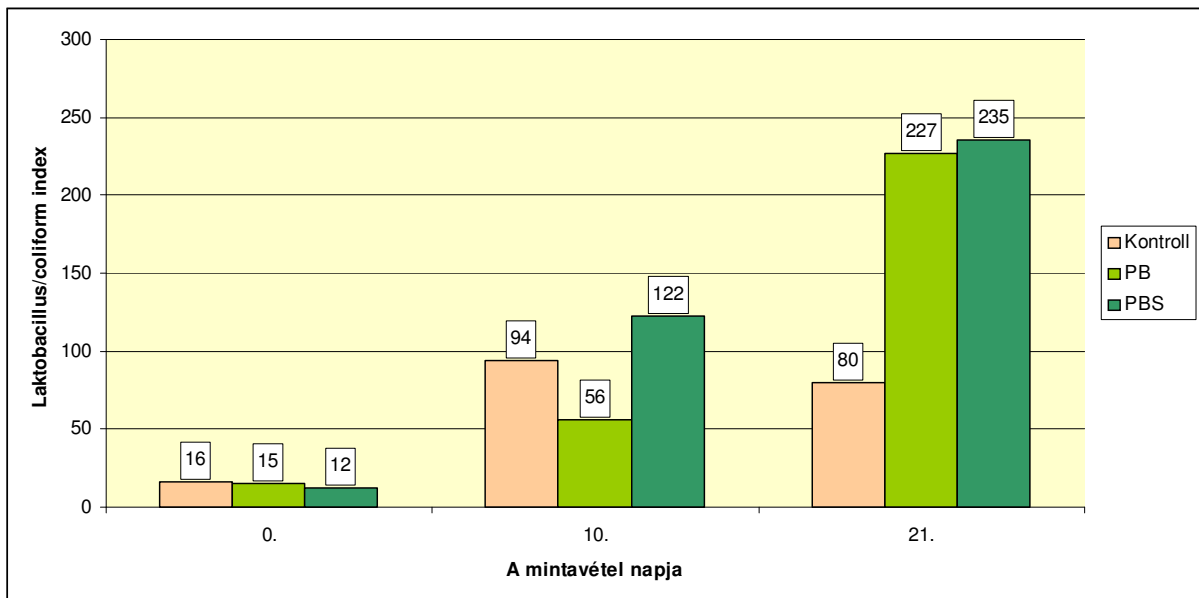
		A mintavétel ideje		
Csoport		1. nap	10. nap	21. nap
Kontroll	n=8	< 10	< 10	< 10
PB	n=8	< 10	< 10	< 10
PBS	n=8	< 10	< 10	< 10

A bélmikroflórában történt változások jellemzésére minden mintavételi időpontra kiszámítottuk a tejsavtermelő / coliform baktériumok arányát (9. táblázat, 2. ábra)

9. táblázat
A tejsavtermelő / coliform indexek alakulása

		A mintavétel ideje		
Csoport		0. nap	10. nap	21. nap
Kontroll		16	94	80
PB		15	56	227
PBS		12	122	235

2. ábra
A tejsavtermelő és a coliform baktériumok aránya a bélsárban



6. Következtetések

A kísérlet célja annak felmérése volt, hogy friss bélsárminták kvantitatív mikrobiológiai vizsgálatával kimutatható-e eubiotikus irányú bélflóra eltolódás a két probiotikus készítmény hatására. Továbbá a két készítmény hatékonyságának összehasonlítása egyes bélmikroflóra csoportok számának vizsgálatával, a lovak haskörméretének mérésével és küllemi szemrevételezésével.

A kísérlet eredményeit befolyásolhatta, hogy a vizsgált állatok nem voltak kitéve nagyobb stresszhatásnak, betegség nem fordult elő, és a takarmány is a megszokott volt a kísérlet során és azt megelőzően. Egyik ló sem végzett megterhelő munkát, nem vett részt versenyen és nem utazott, az adott időszakban és az azt megelőző hetekben sem.

Tehát feltételezhetjük, hogy mindegyik állat egészséges, a korának megfelelő bélflórával rendelkezett, és ismereteink szerint ez gátolja az idegen baktériumok megtelepedését, legyenek azok patogének, avagy jótékony hatású probiotikumok.

Az átlagosan 4×10^{10} CFU csírát (a PBS-ben a *Saccharomyces cerevisiae* -t nem számolva) tartalmazó probiotikus készítmény, amit lovanként beadtunk, WEESE 2002-es ajánlása alapján csak a tizede a felnőtt lovak ajánlott napi dózisének. Ennek ellentmond ugyan, hogy több kísérletben is dolgoztak sikeresen ennél alacsonyabb csíraszámú napi adagokkal, például Ward és munkatársai 2004-ben, 3×10^8 CFU/ló/nap dózissal, Landes és munkatársai pedig 2008-ban $4,38 \times 10^{10}$ CFU/ló/nap dózissal (ebből 4×10^{10} *Saccharomyces cerevisiae* és csak $3,8 \times 10^9$ CFU probiotikus baktérium) érték el eredményeket.

A mintagyűjtés és feldolgozás között a mintákat ért hőingadozás is ronthatta a vizsgálat érzékenységét, de mivel az összes mintára ez egyszerre volt érvényes, a végeredményt nem befolyásolta.

A kapott eredmények alapján az alábbi következtetések vonhatók le:

A bélsár pH értéke minden csoportban mindvégig 6,62 és 6,98 között volt. Az irodalmi adatok alapján ez várható volt, a bélsár pH értékét ugyanis csak extrém körülmények mozdítják el. Murray és munkatársai laminitisre predisponált lovak bélsárvizsgálata során sem találtak 6,5-6,89-től különböző pH értéket. DE FOMBELLE és mtsai (2001), továbbá WILLING és mtsai (2009) is leírták hogy akár 50%-os abrakarány a fejadagban sem okoz a bélsár pH-ban jelentős változást. A kísérlet során mi egészséges lovakkal dolgoztunk és a takarmányozás során sem alkalmaztunk extrém keményítőterhelést.

A probiotikus kezelés hatására a friss bélsárban az összcsíraszám egy nagyságrenddel

történő emelkedése mindhárom csoportban megfigyelhető volt, a PB és a PBS csoportban azonban az emelkedés egy kevéssel kifejezettebb volt. Ez utalhatna akár valamilyen bakteriális eredetű betegség megjelenésére is az állományban, de ezt sem a klinikai tünetek, sem a további kvalitatív mikrobiológiai vizsgálatok nem támasztják alá.

A coliform baktériumszám mindhárom csoportban a kísérlet teljes ideje alatt 10^6 alatt ($1,8 \times 10^4 - 5,9 \times 10^4$) volt, ami az állatok bélfloájának eubiosisára utal. A coliformok száma nem szignifikáns mértékben ugyan, de a probiotikus készítményekkel kezelt állatok esetében enyhén csökkent. Ez a probiotikumok általánosan már bizonyított patogéncsírák elleni kompetitív-antagonista hatásával magyarázható. Az alacsony baktériumszám önmagában is igazolja, hogy a lovak szubklinikai fertőzöttsége sem állt fönt.

Továbbá az anaerob rothasztó baktériumszám is minden csoportban kisebb volt 10-nél, ez is alátámasztja, hogy a lovak bélfloája eubiotikus állapotban volt kísérlet egész ideje alatt.

A kísérlet során a lactobacillusok számának egy nagyságrenddel történő emelkedését figyeltük meg mindhárom csoportban. A probiotikummal kezelt állatok esetében azonban a kezelés végére a lactobacillusszám emelkedése kifejezettebb volt. Ebből arra lehet következtetni, hogy a probiotikumok az elvárásoknak megfelelően elérték a vastagbelet, a kolonizációjuk azonban nem bizonyított. WEESE és mta 2004-ben végzett kísérlete során, egyes szájon át beadott lactobacillusok eljutnak a vastagbélbe és izolálhatóak a bélsárból, és néhány esetben a bélben való kolonizáció is megtörtént. Esetünkben azonban nem volt lehetőség a baktériumok fajszintű azonosítására, így nem tudhatjuk, hogy valóban a beadott tejsavbaktériumok szaporodtak-e el, vagy az állatok saját lactobacillusai számára teremtettünk olyan körülményeket, amik segítik szaporodásukat.

A kontrollcsoportban a lactobacillus-szám növekedését a közös legelőn tartózkodással (kismértékben felvehették szájon át a kezelt állatok bélsárból) és az időjárás enyhülésével (a szállítás kevésbé viselte meg a baktériumokat) esetleg magyarázhatjuk.

A kezelések bélfloára gyakorolt hatásának jellemzésére alkalmazott lactobacillus/coliform index-értékekből arra lehet következtetni, hogy mindkét probiotikum kedvező irányba befolyásolta a bélfloa összetételt. A két termék hatékonysága között nem volt kimutatható különbség.

A kísérleti időszakot megelőzően valamennyi állat bélsárból végzett Salmonella-tenyésztés, ami alapján az állomány mentesnek ítéhető, összecseng azzal a ténnyel, hogy a lovak körében a Salmonella fertőzöttség ritka, azonban amerikai felmérések szerint előfordul 1-5%-ban. Esetünkben a fertőzöttség felmérését az indokolta, hogy az állomány idősebb,

gyengébb kondíciójú egyedei esetleg üríthetnek salmonellát.

Az eredmények alapján arra következtethetünk, hogy ezen probiotikumok etetése a lovak bélcsatornájának ökoszisztémáját ugyan nem befolyásolta statisztikailag szignifikáns mértékben, de a számok arra utalnak, hogy mindkét készítmény jótékony hatású a lovak egészséges bélflórájának megőrzésében.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni:

Dr. Hullár István docens úrnak az Állatorvos-tudományi Kar Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Intézet vezetőjének, hogy bekapcsolódhattam a tanszék munkájába,

Andrásófszky Emese az Állatorvos-tudományi Kar Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Intézet takarmányanalitikai laboratórium vezetőjének, témavezetőmnek, a dolgozat elkészítésében nyújtott segítségét és szakmai észrevételeit

Forgácsné Geric Rózsának, Kisné Koncz Klárának és Krizsán Juditnak a Takarmányozástani Tanszék analitikai laboratóriumának munkatársainak,

Dr. Szigeti Gábor tudományos tanácsadónak a szakmai tanácsait,

Dr. Hadusfalvy-Sudár Somának, a Nagykovácsi Lovastanya ellátó állatorvosának gyakorlati segítségét!

8. Irodalomjegyzék

BUDIANSKY, S. 2001: A ló természetrajza. Budapest: Vince kiadó Kft. 310 p.

DE FOMBELLE, A. et al. 2001: Feeding and microbial disorders in horses: 1-effects on abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profile and activities. *Journal of Equine Veterinary Science*, 21 vol. 9 no. p. 439-445

DROGOUL, C. et al. 2001: Feeding and microbial disorders in horses: 2: Effect of three hay: Grain ratios on digesta passage rate and digestibility in ponies. *Journal of Equine Veterinary Science*, 21. vol. 10. no. p. 487-491

FEKETE S. 1991: A ló takarmányozása. Budapest: Állatorvos-tudományi Egyetem. 60 p.

FEKETE S. 2009: 27.5. A lódietaetika időszerű kérdései. In: FEKETE S.(szerk.): Állatorvosi takarmányozástan és dietetika. Budapest: Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar. p. 583-590

FEKETE S. 2009: 22. A ló emésztésélettana és takarmányozása. In: FEKETE S.(szerk.): Állatorvosi takarmányozástan és dietetika. Budapest: Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar. p. 425-449

JASSIM, R.A.M. 2006: Supplementary feeding of horses with processed sorghum grains and oats. *Animal Feed Science and Technology*, 125 vol. p. 33-44

JULLIAND, V. et al. 2001: Feeding and microbial disorders in horses: Part 3-Effects of three hay:grain ration on microbial profile and activities. *Journal of Equine Veterinary Science*, 21 vol. 11 no. p. 543-546

JULLIAND, V. et al. 2006: Starch digestion in horses: The impact of feed processing. *Livestock Science*, 100 vol. p. 44-52

LANDES, A. D. et al. 2008: Fecal sand clearance is enhanced with a product combining probiotics, prebiotics and psyllium in clinically normal horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28 vol. 2 no. p. 79-84

MOMBELLI, B. GISMONDO M. R. 2000: The use of probiotics in medical practice. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16 vol. p. 531-536

MURRAY, J.-A. et al. 2009: Fermentative capacity of equine faecal inocula obtained from clinically normal horses and those predispose to laminitis. *Animal Feed Science and Technology*, 151 vol. p. 306-311

MÜLLER, C. E. et al. 2008: Effect of forage conservation method on microbial flora and fermentation pattern in forage and in equine colon and faeces. *Livestock Science* 119 vol. p.116-128

ROSENFELD, I. AUSTBO, D. 2009: Digestion of cereals in the equine gastrointestinal tract measured by the mobile bag technique on caecally cannulated horses. *Animal Feed Science and Technology*, 150 vol. p. 249-258

SZIGETI G. 1991: A gazdaszervezet, a takarmány- és a bélmikroflóra kölcsönhatásai. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 46 évf. 7 sz. p. 391-394

TIMMERMAN, H.M. et al. 2004: Monostrain, multistrain and multispecies probiotics- A comparison of functionality and efficacy. *International Journal of Food Microbiology*, 96 vol. p. 219-233

VÖRÖS A. 2009: A takarmány-összetétel hatása a lovak gasztrointesztinális mikrobapopulációjára. Szakdolgozat összefoglaló URL:
http://agrarunio.hu/index.php?option=com_content&view=article&id=1623:a-takarmany-oesszetel-hatasa-a-lovak-gasztrointesztinalis-mikrobapopulaciojara&catid=149:allattenyesztes&Itemid=1093 Letöltés időpontja: 2011.04.26.

WARD, M. P. et al. 2004: A randomized clinical trial using probiotics to prevent Salmonella fecal shedding in hospitalized horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 24 vol. 6. no. p. 242-247

WEESE, J. S. 2002a: Microbiologic evaluation of commercial probiotics. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 220 vol. 6 no. p. 794-497

WEESE, J. S. 2002b: Probiotics, prebiotics and synbiotics. *Journal of Equine Veterinary Science*, 22 vol. 8 no. p. 357-360

WEESE, J. S. et al. 2004: Screening of the equine intestinal microflora for potential probiotic organisms. *Equine Veterinary Journal*, 36 vol. 4 no. p. 351-355

WILLING, B. et al. 2009: Changes in faecal bacteria associated with concentrate and forage-only diets fed to horses in training. *Equine Veterinary Journal*, 41 vol. 9 no. p. 908-914