

**New research results on
the bacterial communities
of the digestive tract in
domestic chickens**

V. Farkas*
A. Molnár
L. Menyhárt
A. Márton
G. Csitári
L. Pál
N. Such
I. A. Koltay
M. A. Rawash
Á. Mezőlaki
K. Dublec

Pannon Egyetem, Georgikon Kar,
Állattudományi Tanszék,
Állatélettani és Takarmányozástani
Csoport
H-8360 Keszthely, Deák Ferenc u.16.

*e-mail: farkas.valeria@georgikon.hu

Új kutatási eredmények a házityúk emésztőtraktusának bakterióta-összetételéről

Farkas Valéria*, Molnár Andor, Menyhárt László, Márton Aliz, Csitári Gábor, Pál László, Such Nikoletta, Koltay Ilona Anna, Mohamed Ali Rawash, Mezőlaki Ákos, Dublec Károly

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők közleményükben áttekintik a házityúk emésztőrendszerének mikro-biomját – azon belül annak bakteriális összetételét (bakteriótát) – vizsgáló új kutatási eredményeket. A metagenomikai kutatások eredményeiből most kezdjük csak megérteni a mikrobióta gazdaszervezetre gyakorolt pozitív és negatív hatását. Az újgenerációs szekvenciameghatározáson alapuló vizsgálatokkal összetett mikrobiális közösségek széles körű vizsgálatára nyílt lehetőség, anélkül, hogy a közösség egyes tagjait izolálni, laboratóriumban tenyészteni kellene. A humán mikrobiomvizsgálatok mellett már a legtöbb gazdasági állatfajban, így a házityúk esetében is elkezdődtek hasonló kutatások.

SUMMARY

From the results of metagenomic research studies, we are just beginning to understand the positive and negative effects of the microbiome on the host. Metagenomics is the study of genetic materials from environmental or host-associated microbiota to identify the microbial diversity and its functions. These new sequencing techniques aim at analysing not only the human microbiome, but also that of the most commercial animal species, including poultry. High-throughput sequencing technologies have facilitated studies of the microbiome complex by allowing more comprehensive identification of microbes than traditional culture methods. Poultry digestive tract has significant bacterial activity, which can be seen as a unique complex microbial ecosystem. Microbial community in gastrointestinal tract (GIT) plays an important role in overall health and function of host, be it in human or animals. Newly developed sequencing platforms such as next-generation sequencing (NGS) have allowed the important researches into the diversity and functions of gut microbiota of various livestock animals.

Beginning in the chicken crop, starch breakdown, and lactate fermentation are mediated by various *Lactobacillus spp.* at cell densities up to 10^9 /g. *Lactobacilli* also dominate the proventriculus, and the gizzard.

In the gizzard, where the majority of mechanical and chemical breakdown of feed is performed, the low pH of gastric juices containing hydrochloric acid and pepsin decrease the total number of cells below 10^8 /g. The small intestine harbours large (10^8 – 10^9 /g) bacterial populations dominated by *Lactobacillus*, *Enterococcus*, and various *Clostridiaceae*. The most abundant groups in the chicken caeca were found to be *Clostridiaceae*, *Bacteroidaceae*, *Lactobacillus* and *Proteobacteria*.

In our article, the latest research results on the gastrointestinal microbiome of the domestic chicken are reviewed.

BAROMFI

Mikrobiótának (microbiota) nevezzük a gazdaszervezetben élő mikroorganizmusok összességét. Ezek lehetnek a gazdaszervezettel élő kommenzalista, szimbionta és patogén mikroorganizmusok is (24, 44). Ezek a mikrobák közös ökoszisztémát alkotnak a gazdaszervezettel, befolyásolva annak életműködését. Az ide tartozó baktériumok, gombák és archaeák részt vesznek a szervezet védelmében, nélkülözhetetlen anyagokat állítanak elő és megakadályozzák az idegen és patogén mikroorganizmusok tartós megtelepedését. A humán mikrobiótakutatások során gyakran második genomként („Second Genome”) utalnak a mikrobiom genetikai állományára.

A legnagyobb mikrobiális sejtsűrűség a gyomor-bél csatornában figyelhető meg

Az új kutatási eredmények révén egyre több adat áll rendelkezésünkre a mikrobióta összetételéről, stabilitásáról, fejlődéséről. A kutatások során a bélflóra, szájflóra, bőrflóra, hüvelyflóra stb. mintáinak elemzésére kerülhet sor. Fontos azonban megjegyezni, hogy mára már ez az inkább növényekre utaló, „régi” kifejezés a tudományos szakirodalomban nem használatos. Legtöbbet vizsgált a gyomor-bél csatorna, amelyre az egyik legnagyobb mikrobiális sejtsűrűség jellemző.

A bőr és a tápcsatorna hasznos baktériumai olyan rövid szénláncú szerves savakat, ecetsavat, propionsavat, vajsavat, tejsavat termelnek, amelyek hatásosan gátolják egyes kórokozók szaporodását és fontos energiaforrást jelentenek a bélhámsejtek számára (12). A mikrobióta lebontóenzimgének százaival rendelkezik, olyanokkal, amelyek a gazdaszervezetben nem fordulnak elő. Ezek segítségével rengeteg bonyolult szerves vegyület hasznosíthatóvá válik a gazdaszervezet számára, emellett növényi és rovar eredetű toxinokat is képesek lebontani (12).

A hozamfokozó antibiotikumok betiltása, majd napjainkban az antibiotikum-rezisztencia növekvő veszélyei miatt, a bélmikrobióta egyensúlyának fenntartása egyre nagyobb jelentőséggel bír.

A mikrobióta alkotóinak genetikai állománya a mikrobiom

A közelmúltig ez a bonyolult kapcsolatrendszer nehezen vizsgálhatóan és alig megismerhetőnek tűnt, mivel ezeknek a mikroorganizmusoknak a többsége hagyományos módszerekkel nem, vagy csak nehezen tenyésztethető. Ezt kiküszöbölendő metagenomikai (metagenomics) vizsgálatokkal az adott mintában lévő összes ismert organizmus jelenlétének egyidejű kimutatása lehetséges (részletesen később). Ebben az esetben nem a mikrobiótát alkotó mikroorganizmusokat, hanem azok DNS-ének, RNS-ének vizsgálatával azok genomjainak összességét az ún. mikrobiomot (microbiome) vizsgáljuk. A mikrobiomon belül megkülönböztetnek bakteriomot, viromot, mycobiomot stb. (22).

A METAGENOMIKAI VIZSGÁLATOK FONTOSABB LÉPÉSEI

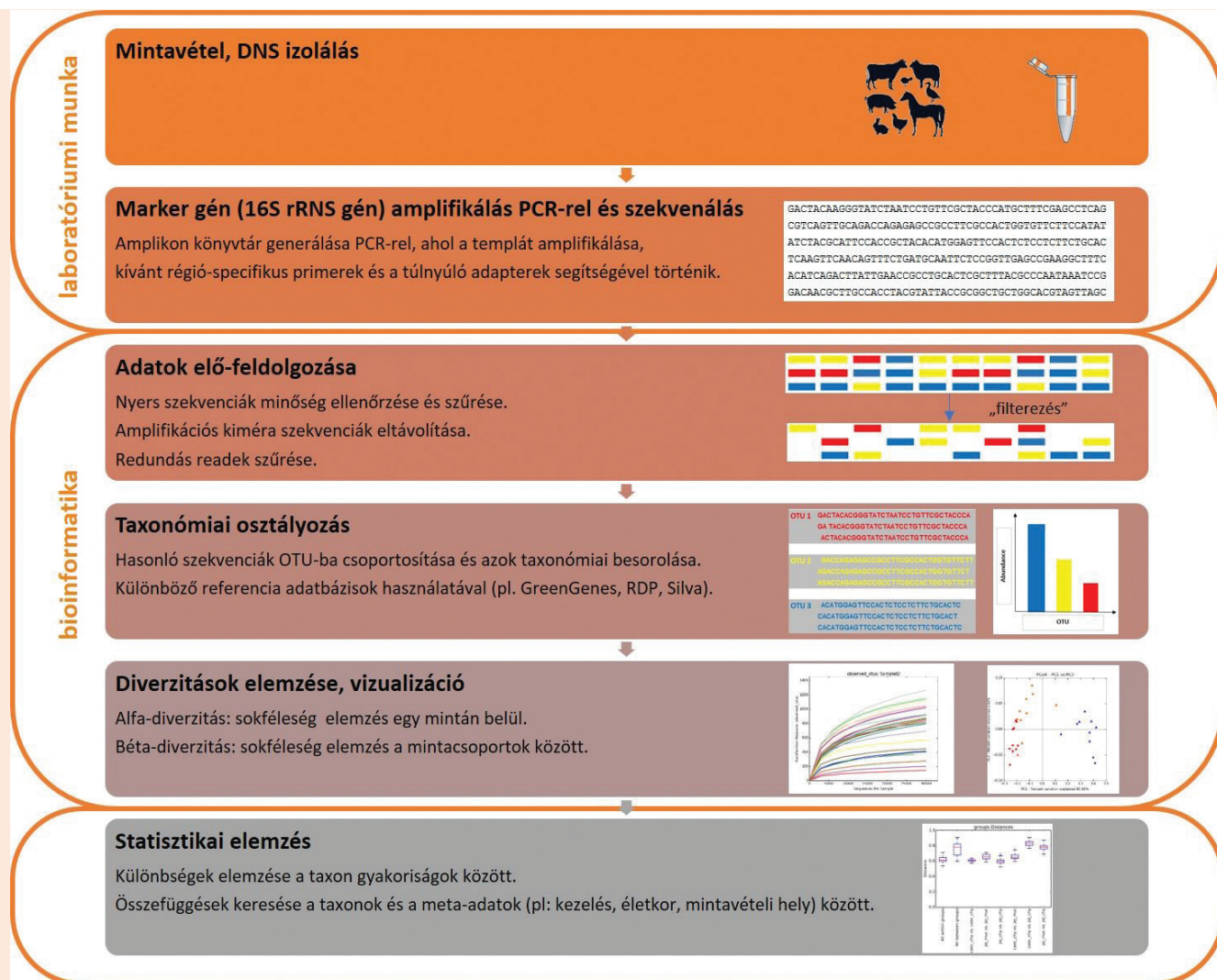
Az ezredfordulót követően, az újgenerációs szekvenciameghatározási technológiák segítségével a mikrobiális közösségekből kivont DNS-, RNS-minták vizsgálata gyors és nagy áteresztőképességű (high-throughput) szekvenálással történik. Ezzel a módszerrel a mintában lévő mikroorganizmusok (vírusok, baktériumok, archeák, gombák), beleértve a nem tenyésztethető mikrobák genomját is vizsgálni lehet.

Az újgenerációs szekvenciameghatározási módszerek lehetővé tették a mikrobiom részletes vizsgálatát

Az újgenerációs szekvenálás egy új kutatási területet hozott létre, az úgynevezett metagenomikát, amellyel összetett mikrobiális közösségek széles körű vizsgálatára nyílt lehetőség, anélkül, hogy a közösség egyes tagjait izolálni, laboratóriumban tenyészteni kellene. A módszer információt nyújt a mikrobák együttműködéséről, a közösségi szintű anyagcsere-folyamatokról is. A metagenomikai vizsgálatok során két módszer terjedt el, az egyik a shotgun-szekvenálás, a másik az ún. célzott amplicon-szekvenálásra alapuló metagenomika. Shotgun-szekvenáláson alapuló, háziállatokkal kapcsolatos béltartalom-metagenomikai vizsgálatot elsőként KRÍKÓ és mtsai (22) mutattak be hazánkban.

A bakteriomot leginkább a 16S rRNS célzott szekvenálásával vizsgálják

Az alábbiakban az utóbbi módszer fontosabb lépéseit részletezzük, mely a minta célzott pl. 16S rRNS gén szakaszának szekvenálásán alapul (1. ábra). A DNS-kivonást követően a szekvenálás célja a 16S rRNS-t kódoló gén valamely hipervariábilis régiója (pl. V1–V3, V3–V4, V4). A bakteriális 16S rRNS-gén egy körülbelül 1500 bázispár hosszúságú génszakasz, amely kilenc hipervariábilis régióval rendelkezik, és amelyeket erősen konzervált régiók határolnak. A nagy mennyiségű szekvenációs adatot ezután bioinformatikai adatfeldolgozás során elemezzük tovább. A 16S rRNS génszekvenciák alapján történő bakteriális sokféleség és taxonómiai összetétel-elemzéséhez mára már számtalan nyílt forráskódú szoftver és webes felület érhető el (pl. QIIME [4], mothur [36], MG-RAST [28], MEGAN [30] stb.).



1. ÁBRA. Célzott 16S metagenom-elemzés főbb lépesei

FIGURE 1. Main steps in targeted 16S metagenome analysis

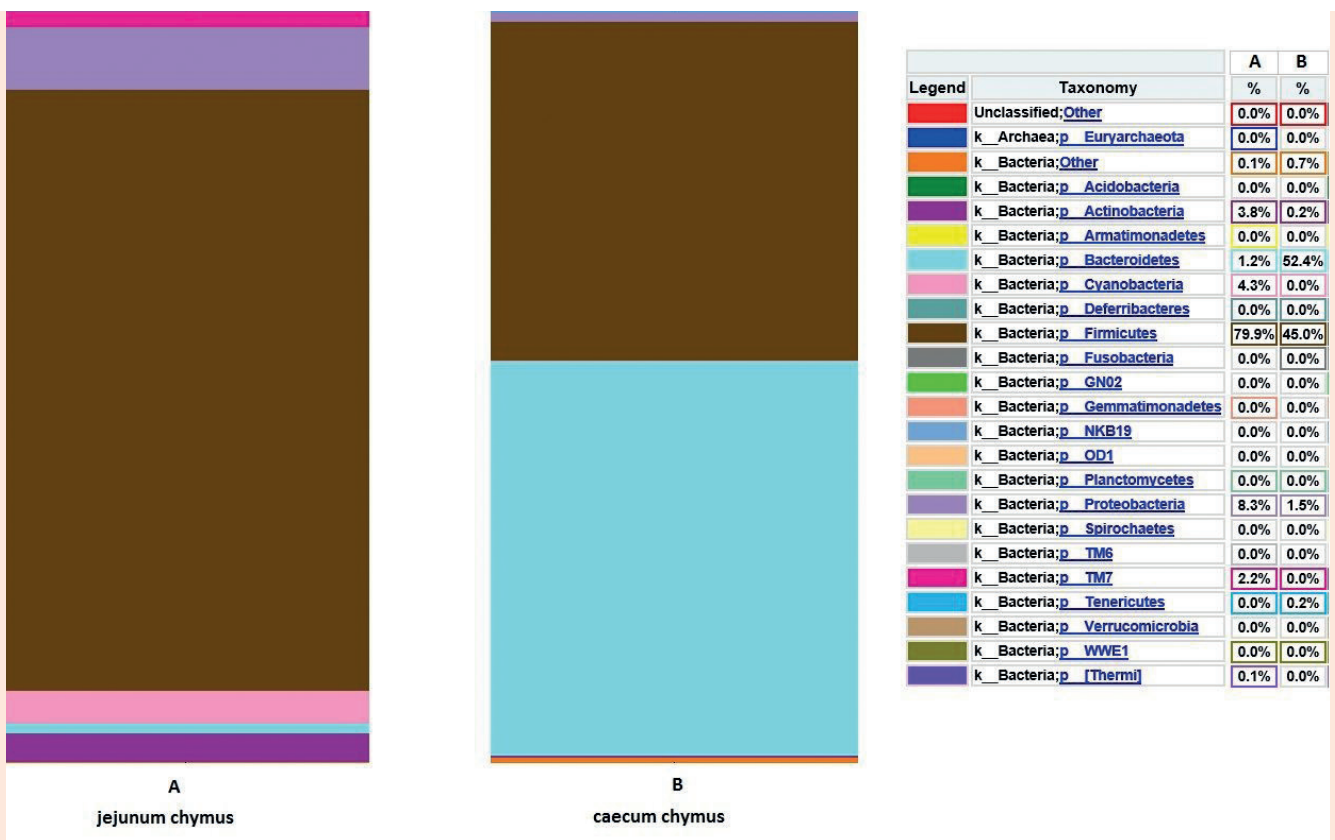
A szekvenációs adatokat bioinformatikai módszerekkel elemzik

Az adatok előfeldolgozása során a nyers szekvenciák minőségellenőrzése, szűrése és a PCR-amplifikáció következtében keletkezett hibás szekvenciák (kimérák) eltávolítása, a redundancia kiszűrése történik. Ezután a „tisztított” readokat nyilvános adatbázisokra illesztik (pl. GreenGenes, Ribosomal Database Project, SILVA) az osztályozás során pedig ún. operatív taxonómiai egy-

ségekként (OTU: Operational Taxonomic Unit) csoportosítják, összegzik azokat (7). A taxonómiai információk mellett az OTU-számok elemzésével a bakteriális életközösség sokféleségét (diverzitását) is jellemezhetjük. Az alfa-diverzitás az adott életközösségen belüli sokszínűséget jelöli (pl. egy homogén életközösségen belüli fajok számával és egyenletességével kifejezve), amelyhez különböző diverzitási indexeket (pl. Simpson- vagy a Shannon-index) számolhatunk ki (9). A béta-diverzitás az életközösség gazdagságát veti össze különböző élőhelyek között, ahol a különböző közösségek vagy mintatípusok közötti eltérések elemzése főkoordináta elemzéssel (Principal Coordinate Analysis, PCoA) történik.

Statisztikai módszerekkel tovább vizsgálhatjuk a relatív gyakorisági értékkülönbségeket az eltérő taxonómiai szinteken (törzs, osztály, rend, család, nemzetség). Saját kutatási eredményeink alapján (13), a 2. ábrán brojlercsirke éhbél- (jejunum) és vakbél- (caecum) tartalom mintáiból azonosított baktériumtörzsek részarányát láthatjuk QIIME-program (4) segítségével történt taxonómiai besorolást követően. Látható, hogy a különböző bélszakaszokból vett béltartalomminták bakteriális összetétele jelentősen eltér egymástól. A vékonybél-tartalomban a *Firmicutes*- (79,9%), *Proteobacteria*- (8,3%), *Cyanobacteria*- (4,3%), *Actinobacteria*- (3,8%) törzsek nagyobb arányban vannak jelen, a *Bacteroidetes*-törzs gyakorisága csupán 1,2%. A vakbélben ehhez képest a *Bacteroidetes*- (52,4%), *Firmicutes*- (45,0%) és a *Proteobacteria*- (1,5%) törzsek dominálnak.

A különböző bélszakaszokból vett béltartalomminták bakteriális összetétele baromfiban is jelentősen eltér



1. ÁBRA. Brojlercsirke éhbél- (jejunum) és vakbél- (caecum) tartalmának mintáiból azonosított baktériumtörzsek részaránya QIIME program segítségével

A: éhbél-; B: vakbél béltartalom minták

FIGURE 1. Percentage of bacterial phyla identified from broiler chicken jejunum and caecum chymus samples by QIIME

A: jejunum; B: caecum chymus samples

A HÁZITYÚK BÉLMIKROBIÓTÁJÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK

Az elmúlt évtizedekben elért genetikai előrehaladás, a modern takarmányozási és a tartástechnológiai rendszerek fejlődése, a házityúk különböző hasznosítási típusaiban (tojás, hús), mind a termelési eredményekben, mind pedig a takarmányértékesítésben hatalmas javulást eredményezett, ami a házityúk bélfiziológiáját és a mikrobióta összetételét is megváltoztatta (17, 27).

A tojás-, és hústípusú egyedek bélszövevei között morfológiai különbségeket figyeltek meg (pl. bélbolyhok magassága, szélessége és a kripták mélysége), amelyek befolyásolják a bél felszívódási felületét és összefüggésben állnak a brojlersírkék nagyobb testtömegével (46).

Az utóbbi években számos közlemény jelent meg a házityúk termelését és egészségi állapotát befolyásoló bakterióta összetételéről és összefüggéseiről (2, 21, 42, 54). A gazdaszervezethez kapcsolódó tényezők, mint pl. az életkor, az ivar és a fajta, nagy hatással vannak a bélmikrobiótára. A házityúk eltérő hasznosítási típusait (brojlersírkék és a tojótyúk) összehasonlító kutatás kevés (16, 21, 50). Ezekben a szerzők megállapították, hogy a bélbakterióta diverzitása az élet első heteiben növekszik a legintenzívebben és eltérő kolonizációs minták figyelhetők meg a tojás-, és hústípusú egyedek között. A környezeti tényezők, mint pl. a takarmányozás, a tartási körülmények, az alom és az éghajlat is befolyásolják bélmikrobióta összetételét (26, 41, 42, 45).

A gyomor-bélrendszeri mikrobióta is jelentős hatással van a gazdaszervezetre, pl. a házityúk emésztőrendszerének fejlődésére, az élettani, biokémiai, immunológiai folyamatokra, a génexpressziós mitázatra, ill. a nem-specifikus védekezőrendszeri folyamatokra (14, 20, 32, 39, 55).

A bélmikrobióta-vizsgálatokat leíró kutatások elemzését, összehasonlíthatóságát nagyban megnehezítik a sok esetben ismeretlen vagy rejtett, s gazdaszervezetet érintő (pl. kor, fajta, ivar) és a környezeti tényezők (pl. takarmányozás, tartás, alom, stressz faktorok) közötti különbségek (3, 24). Az eredmények összehasonlíthatósága miatt ezért rendkívül fontos a gazdaszervezethez és környezeti tényezőkhöz kapcsolódó mikrobióta-összetételt befolyásoló változók széles körének részletes leírása.

A HÁZITYÚK EMÉSZTŐTRAKTUSÁNAK BAKTERIÓTA-ÖSSZETÉTELE

Az emésztőcső bakteriális kolonizációja alapvetően már a kelés után kezdődik, amit a keltetési környezet jelentősen befolyásol (43). A teljes bélmikrobióta kialakulása több hetet is igénybe vehet (35). A **Táblázatban** a házityúk emésztőtraktusának egyes szakaszaiban előforduló baktériumcsoportok megoszlása látható.

A begyben döntően a *Lactobacillus*-fajok jelen. Az itteni baktériumok sejtsűrűsége elérheti a 10^9 /g-ot (34, 43, 47). A begyben, kisebb számban, jelen vannak még *Clostridium*-, *Bifidobacterium*-, *Enterobacterium*- és *Enterococcus*-fajok is (37).

A mirigyes és a zúzógyomorban is a *Lactobacillus*ok jelentik az uralkodó baktériumfajt. Az itt termelődött sósav és pepszin tartalmú gyomornedvek hatására kialakult savas pH a sejtek teljes számát 10^8 /g alatti értékre korlátozza (54). Ebben a szakaszban ugyancsak megfigyelhetők a *Clostridium*- és *Enterococcus*-fajok, valamint egyes coliform baktériumok is (34).

A vékonybél-bakterióta rendkívül változatos képet mutat és a jelenlevő baktériumok sejtsűrűsége 10^8 - 10^9 /g között változhat. A csípőbelében, hasonlóan az epésbélhez a *Lactobacillus*-fajok dominálnak. Itt a baktériumok több mint 68%-a tartozhat a tejsavtermelők közé (26). Az emésztőtraktus e szakaszaiban *Streptococcus*-, *Enterococcus*-, és különböző *Clostridium*-fajok is jelen vannak (21, 33, 34, 43, 47, 51).

A bélbakterióta diverzitása az élet első heteiben növekszik a legintenzívebben

A gyomor-bélrendszeri mikrobióta jelentős hatással van a gazdaszervezetre

A begyben, a mirigyes és a zúzógyomorban, ill. a vékonybélben *Lactobacillus*-fajok dominálnak

TÁBLÁZAT. A házityúk emésztőtraktusának egyes szakaszaiban előforduló baktérium csoportok

TABLE. Summary of the most abundant bacterial residents of different chicken GIT sections

Emésztőkészülék szakasza	Sejtsűrűség (CFU/g)	Domináns és előforduló baktérium nemzetségek (f. family – család, o. order – rend)	Források
Begy	10 ⁸ –10 ⁹	<i>Lactobacillus</i> (domináns), <i>Clostridiaceae</i> (f.), <i>Bifidobacterium</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> (f.), <i>Enterococcus</i>	(15, 34, 37, 43, 47)
Mirigyes gyomor Zúzógyomor	10 ⁷ –10 ⁸	<i>Lactobacillus</i> (domináns) <i>Clostridiaceae</i> (f.) <i>Enterococcus</i> ,	(15, 34, 54)
Vékonybél	10 ⁸ –10 ⁹	<i>Lactobacillus</i> (domináns), <i>Streptococcus</i> , <i>Bacteroidaceae</i> (f.), <i>Enterococcus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> (f.), <i>Clostridiaceae</i> (f.)	(23, 26, 33, 34, 40, 43, 47, 51, 52)
Vakbél	10 ¹⁰ –10 ¹¹	<i>Bacterioidetes</i> , <i>Ruminococcaceae</i> (f.), <i>Clostridiales</i> (o.), <i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Escherichia</i> , Egyéb ismeretlen és nem tenyésztendő baktériumcsoportok	(1, 26, 38, 40, 52)

(A mikroorganizmusok számának meghatározása során a sejtszám helyett gyakran használják az élősejtszám, telepkepző egységek száma [CFU – Colony Forming Units] kifejezéseket a mikrobiológiában.)

Madarakban a vakbéltre jellemző a legnagyobb bakteriális sejtsűrűség és változatosság

Emlősökben az emésztés szempontjából a vakbél elhanyagolható, madaraknál azonban lényeges szerepet tölt be, így a házityúk vakbelének mikrobiális profilját széles körben vizsgálják. Madarakban a vakbéltre jellemző a legnagyobb bakteriális sejtsűrűség, ami elérheti a 10¹¹/g-ot. Ebben a bélszakaszban a hosszabb tartózkodási idő révén intenzív mikrobiális tevékenység zajlik.

A vakbél baktériumai képesek az oldható rostfrakciókat (glükánok, xilánok) és az egyéb rövidebb láncú szénhidrátokat, pl. a fruktóz-oligoszacharidokat vagy man-nán-oligoszacharidokat lebontani és energiaforrásként hasznosítani (5, 38, 51).

Az itt előforduló baktériumcsaládok tagjai között a *Clostridia*, *Bacteroida*, *Lactobacillus*, *Proteobacteria*, és a vajsavtermelő cluster különböző fajait azonosították, valamint számos ez idáig ismeretlen *Firmicutes* törzshöz tartozó *Clostridium*-, *Ruminococcus*-, *Eubacterium*-, *Faecalibacterium*- és *Lactobacillus*-fajt is találtak (1, 26, 38, 40, 52).

A TAKARMÁNYÉRTÉKESÍTÉS JAVÍTÁSÁT CÉLZÓ BÉL BAKTERIÓTA-VIZSGÁLATOK

A takarmányértékesítő képesség fontos értékmérő tulajdonság, ami döntően befolyásolja a termelés gazdaságosságát, és amelyet feltételezhetően nemcsak az állat genetikai képessége, a takarmányozás és az állategészségügyi helyzet, hanem a bélmikrobióta is befolyásol. A bélmikrobióta összetételére közismerten hatással vannak a takarmány tápláló- és antinutritív anyagai, a táp fizikai szerkezete, továbbá a gyógyszerek (antibiotikumok és kokcidiosztatikumok) és a különféle takarmánykiegészítők (exogén enzimek, probiotikumok, prebiotikumok, növényi hatóanyagok, illóolajok stb.) (18, 34).

A jó és rossz fajlagos takarmányértékesítésű brojlercsirkék bélbakterium-összetétele eltér

SINGH és mtsai, a jó és rossz fajlagos takarmányértékesítésű brojlercsirkék ürülék-mintáinak bakteriom-összetétele közötti különbséget vizsgálták (41). Eredményeik szerint a rosszabb takarmányértékesítésű brojlercsirkékben az *Acinetobacter*-, az *Anaerospobacter*- és az *Arcobacter*-nemzetségek, míg a takarmány táplálóanyagait jobban hasznosító állatokban az *Escherichia*- / *Shigella*-, a *Faecalibacterium*- és a *Helicobacter*-nemzetségek domináltak. A *Lactobacillus*- és a *Bacteroides*-nemzetségek gyakorisága mindkét csoportban hasonló volt. MIGNON-GRASTEAU és mtsai kvantitatív polimeráz láncreakció (qPCR) módszerét alkalmazták a vakbél-tartalom-ban jelenlévő egyes baktériumok azonosítására. Vizsgálataikban a jobb takarmányértékesítésű brojlercsirkék esetében a *Clostridium leptum*, a *Clostridium coccooides* és a *Lactobacillus salivarius* fajok nagyobb arányát figyelték meg (29). YAN és mtsai, 2017-ben jobb és rosszabb takarmányértékesítéssel rendelkező tyúkok vakbél-tartalmának baktérium összetételét vizsgálva megállapították, hogy a jobb takarmányértékesítésű csoportban szignifikánsan nagyobb arányban volt jelen a *Lactobacillus*- és az *Akkermansia*-nemzetség (53). Bár sok ellentmondásos irodalmi adattal találkozhatunk e témában, ezek az eredmények rámutattak a vakbélmikrobióta kiemelkedő szerepére a házityúk takarmányértékesítésében, és sok esetben a *Lactobacillus*-fajok felhasználását ajánlják a gazdaszervezet takarmányértékesítésének javítására. Ugyanakkor a *Lactobacillus*-fajok között is lényeges különbségek vannak ebből a szempontból. CRIZOL-MARTÍNEZ és mtsai kutatási eredményeikben leírták, hogy egyes *Lactobacillus*-fajok kedvezően (*Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus agilis*, *Lactobacillus saerimneri*) más fajok (*Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus vaginalis*) kedvezőtlen hatással voltak a brojlercsirkék termelési eredményeire (10).

ÚJ KUTATÁSI EREDMÉNYEK A HÁZITYÚK BÉLBAKTERIÓTA ÖSSZETÉTELÉNEK MÓDOSÍTÁSÁRA

COATES és mtsai már 1963-as kísérleteik során megfigyelték, hogy a csíramentes környezetben nevelt brojlercsirkék gyorsabb ütemben fejlődtek, mint a hagyományos környezetben neveltek, ahol az egyedek mikrobiális kihívásoknak voltak kitéve (6). Ugyanakkor a csíramentes környezetben nevelt állatok számos élettani rendellenességét is megfigyelték, mint a csökkent bélmotilitás, alacsonyabb testhőmérséklet és gyengén fejlett immunrendszer (32). Ezek az élettani jellemzők azonban javíthatók voltak miután a csirkéket normál körülmények között nevelt csirkék bélizolátumával kezelték (32).

VARMUZOVA és mtsai egy összetett kísérletben vizsgálták, hogy vajon kísérletileg módosítható-e a naposcsibék (ISA Brown – tojóhibrid) bélbakterióta-összetétele orálisan beadott, 1-, 3-, 16-, 28-, és 42-hetes donor csirkéktől származó vakbél-tartalommal (48). A kísérletbe vont naposcsibék vakbél-tartalmának vizsgálatára a beoltást követő 8. és 12. életnapon került sor. A kísérlet során a szerzők azt tapasztalták, hogy a naposcsibék bármilyen összetételű vakbél-tartalom-izolátummal kolonizálhatók és a recipiens naposcsibékben meghatározó szerepe van a donor csirkéktől származó baktériumoknak, amelyek az elemzés során külön csoportokat képeztek.

A BÉLBAKTERIÓTA ÖSSZETÉTELÉNEK MEGVÁLTOZTATÁSA A KÓROKOZÓ BAKTÉRIUMOK RÉSZARÁNYÁNAK CSÖKKENTÉSE ÉRDEKÉBEN

A házityúk bélmikrobiótájában jelen levő zoonotikus fertőzést okozó baktériumok az állatok és az ember egészsége szempontjából egyaránt fontosak. A kórokozó baktériumok, mint pl. a *Campylobacter*- és a *Salmonella*-fajok az emberi ételfertőzések legfontosabb előidézői. Ezek a kórokozók és mások, mint pl. az *Escherichia coli* és a *Clostridium perfringens* alapvetően kis számban előfordulnak a bél mikrobái között. VARMUZOVA és mtsai mind tenyésztéses, mind pedig

Idősebb tyúkok vakbél tartalom-izolátuma napos csibékbe oltva védelmet nyújthat Salmonella-fertőzéssel szemben

génexpressziós vizsgálatokkal megerősítették, hogy a naposcsibék beoltása 3 hetes vagy idősebb csirkékből származó vakbél tartalom-izolátummal védelmet biztosíthat számukra a *Salmonella enteritidis* fertőzés ellen (48). A fiatal, csupán 1 hetes donor csirkétől származó izolátummal történt beoltás még nem védte meg a naposcsibéket a fertőzéssel szemben. Felmerülhet a kérdés vajon lehet-e megelőzés céljára is alkalmazni a donor csirkétől származó vakbél tartalom-izolátumot pl. a *S. enteritidis* esetében. Az előbb említett kutatócsoport ezt a kérdést két kísérletben vizsgálta meg. Első kísérletükben a naposcsibéket a kelés napján oltották be 35 hetes tyúkokból származó vakbél tartalommal, majd 24 órával később *S. enteritidis*-szel fertőztek. A másik kísérletük során napos korban történt a *Salmonella*-fertőzés és 24 óra múlva a vakbél tartalommal történő kezelés. Eredményeik szerint a 35 hetes tyúkból származó vakbél tartalom-izolátum a beadás után 24 órával már megvédte a csirkéket a fertőzéssel szemben (48). Az egyidejű vagy a fertőzést követő kezelés azonban nem volt hatásos. Eredményeik szerint az idősebb, 35 hetes tyúkoktól származó vakbél tartalom-izolátum használható az *S. enteritidis* fertőzés megelőzésére, de a donor állatokból származó bélmikrobióta változó összetétele és napos kori beadása miatt nem jelent garantálható hatékonyságot.

Saját kutatási eredményeink szerint búza alapú xilanáz enzimmel kiegészített tápok etetésekor szignifikánsan ($p < 0,001$) lecsökkenthető a vakbél pH-ja és csökkenthető a *Campylobacter jejuni* bélbeli kolonizációja a kukorica alapú kontroll táphoz képest (31). Az eredmény azzal magyarázható, hogy a búzában található oldható arabinoxilánt a xilanáz enzim rövidebb xilán-oligoszacharidokra hasítja, amelyek fontos szubsztrátot jelentenek a vakbélben a vajsavtermelő baktériumoknak.

AZ ANTIBIOTIKUMOK HATÁSA A BÉLBAKTERIÓTA ÖSSZETÉTELÉRE

Az emésztőkészülékben felszaporodó kórokozó baktériumok ellen az antibiotikumok hatékony eszközt jelentenek. Az alkalmazott antibiotikum baktériumokra gyakorolt hatása függ az alkalmazott adagtól, a kezelés hosszától és az állat életkorától (56). Az egyes baktérium-közösségek eltérő módon reagálnak a kezelésekre. Egyes kutatások szerint, csökkenti a *Lactobacillus*-fajok számát és elősegítik a clostridiumok szaporodását, miközben csökkentik az általános változatosságot (25), a bélmikrobióta homogénebbé válik (8). A mikrobiális közösség egyensúlya általában gyorsan visszaáll az antibiotikum-kezelés után, egyes taxonok azonban még 6 hónap alatt sem regenerálódnak (11). VIDENSKA és mtsai tyúkok (Lohmann Brown) bálármintáiban vizsgálták a tetraciklin- és a sztreptomycin-kezelés hatásait (49). Mindkét antibiotikum terápiás alkalmazása után 2 nappal azt tapasztalták, hogy csökkent az ürülmikrobióta komplexitása. Az ürülekben lévő OTU-k száma (rend taxonómiai szinten) a kezelés előtt 4 592 volt, ami 709-re csökkent a sztreptomycin és 263-re a tetraciklin kezelést követően 2 nappal. Az antibiotikum-kezelés 12 napig történő megszakítása lehetővé tette a baktérium gyors regenerálódását és a diverzitást jellemző egy másik mutatószám, a Chao1 index értéke a sztreptomycin- és a tetraciklin-kezelés abbahagyása után 1675-re és 1860-ra emelkedett. Az ismételt antibiotikum-adagolás azonban ismét csökkentette a mikrobióta összetettségét. Az alacsonyabb taxonómiai szinteken végzett elemzések azt mutatták, hogy a két antibiotikum-kezelés csökkentette a *Bifidobacteriales*-, *Bacteroidales*-, *Clostridiales*-, *Desulfovibrionales*-, *Burkholderiales*-rendek dominanciáját. Másrészt az *Enterobacteriales*-, azon belül főleg az *Escherichia*-nemzetség és a *Lactobacillales*-rendekhez, azon belül főleg az *Lactobacillus*-, *Enterococcus*-, *Paralactobacillus*- és a *Streptococcus*-nemzetségekhez tartozó baktériumok száma nőtt mindkét antibiotikum alkalmazása esetén.

Az antibiotikum-használat csökkenti a bélmikrobióta változatosságát

A rohamléptekkel fejlődő mikrobiom-kutatásoknak köszönhetően egyre több adat áll rendelkezésünkre a gazdaszervezetre ható mikrobiális közösségek összetételéről és nélkülözhetetlen szerepéről. Ennek a rendkívül összetett szimbiotikus rendszernek a részletesebb megismerése azonban még nagyon sok további kutatást igényel.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A Pannon Egyetem Georgikon Kar Állattudományi Tanszékén jelenleg is folynak hasonló, a csirke emésztőkészülékének mikrobiom összetételét meghatározó metagenomikai vizsgálatok. Az irodalmi összefoglaló a Széchenyi 2020 Program keretein belül az Európai Regionális Fejlesztési Alap és Magyarország Kormánya támogatásával a GINOP-2.3.2-15-2016-00054 számú, „Festetics Imre Bioinnovációs Kiválósági Központ és Stratégiai K+F+I Projektműhely” című projekt részeként készült.

IRODALOM

1. APAJALAHTI, J. – KETTUNEN, A. – GRAHAM, H.: Characteristics of the gastrointestinal microbial communities – with special reference to the chicken. *Worlds Poult. Sci. J.*, 2004. 60. 223–232.
2. BRISBIN, J. T. – GONG, J. – SHARIF, S.: Interactions between commensal bacteria and the gut-associated immune system of the chicken. *Anim. Health Res. Rev.*, 2008. 9. 101–110.
3. BROOKS, J. P. – EDWARDS, D. J. et al.: The truth about metagenomics: quantifying and counteracting bias in 16S rRNA studies. *BMC Microbiol.*, 2015. 15. 66.
4. CAPORASO, J.G. – KUCZYNSKI, J. et al.: QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods.*, 2010. 7. 335–336.
5. CLENCH, M.H. – MATHIAS, J.R.: The avian cecum: a review. *Wilson Bull*, 1995. 107. 93–121.
6. COATES, M. E. – FULLER, R. et al.: A comparison of the growth of chicks in the Gustafsson germ-free apparatus and in a conventional environment – with and without dietary supplements of penicillin. *Br. J. Nutr.*, 1963. 17. 141–150.
7. COLE, J. R. – WANG, Q. et al.: Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Res.*, 2013. 42 (D1). D633–D642.
8. COLLIER, C.T. – VAN DER KLIS, J.D. et al.: Effects of tylosin on bacterial mucolysis – *Clostridium perfringens* colonization – and intestinal barrier function in a chick model of necrotic enteritis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003. 47. 3311–3317.
9. COLWELL, R. K.: Biodiversity: concepts, patterns, and measurement. *The Princeton Guide to Ecology*, 2009. 257–263.
10. CRISOL-MARTÍNEZ, E. – STANLEY, D. et al.: Understanding the mechanisms of zinc bacitracin and avilamycin on animal production: linking gut microbiota and growth performance in chickens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2017. 101. 4547–4559.
11. DETHLEFSEN, L. – HUSE, S. et al.: The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol.*, 2008. 6. e280.
12. FALUS A. – BARCS I. – DUDA E.: Testünk – mint ökoszisztéma – avagy a metagenomika „szép új világa”. *Lege Artis Medicinæ*, 2014. 24. 49–55.
13. FARKAS V. – MOLNÁR A. – PÁL L. – MÁRTON A. – MENYHÁRT L. – CSITÁRI G. – KOLTAY I. – SUCH N. – BATÓ E. – DUBLECZ K.: Csirke emésztőtraktusából származó éh- és vakbélminták 16S rRNS gén-alapú mikrobiomvizsgálata. Fenntartható agrárium és környezet, az Óvári Akadémia 200 éve – múlt, jelen, jövő, XXXVII. Óvári Tudományos Napok Konferenciaközlemény, 2018. 8. 340–347.
14. FORDER, R. E. A. – HOWARTH, G. S. et al.: Bacterial modulation of small intestinal goblet cells and mucin composition during early posthatch development of poultry. *Poult. Sci.*, 2007. 86. 2396–2403.
15. GONG, J. – SI, W. et al.: 16s rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: From crops to ceca. *FEMS Microbiol Ecol.*, 2007. 59. 147–157.
16. HAN Z. – WILLER, T. et al.: Differences in host breed and diet influence colonization by *Campylobacter jejuni* and induction of local immune responses in chicken. *Gut Pathog.*, 2016. 8. 56.
17. HAVENSTEIN, G. B. – FERKET, P. R. – QURESHI, M. A.: Growth – livability – and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poult. Sci.*, 2003. 82. 1500–1508.
18. HUBENER, K. – JAHJEN, W. – SIMON, O.: Bacterial responses to different dietary cereal types and xylanase supplementation in the intestine of broiler chicken. *Arch. Anim. Nutr.*, 2002. 56. 167–187.
19. KERS, J. G. – VELKERS, F. C. et al.: Host and Environmental Factors Affecting the Intestinal Microbiota in Chickens. *Front. Microbiol.*, 2018. 9. 235.
20. KLASING, K. C.: Nutrition and the immune system. *Br. Poult. Sci.*, 2007. 48. 525–537.
21. KOHL, K. D.: Diversity and function of the avian gut microbiota. *J. Comp. Physiol.*, 2012. B182. 591–602.
22. KRÍKÓ E. – FARKAS R. – ADORJÁN A. – MAKRAI L. – SOLYMOSSI N.: Metagenomika – a velünk élő mikroorganizmusok megismerésének új megközelítése. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2018. 140. 423–429.
23. LEDERBERG, J. – MCCRAY, A. T.: 'Ome Sweet 'Omics – a genealogical treasury of words. *Scientist*. 2001. 15. 8.
24. LOZUPONE, C. A. – STOMBAUGH, J. et al.: Meta-analyses of studies of the human microbiota. *Genome Res.*, 2013. 23. 1704–1714.

25. LU, J. – HOFACRE, C. et al.: Effects of feed additives on the development on the ileal bacterial community of the broiler chicken. *Animal*, 2008. 2. 669–676.
26. LU, J. – IDRIS, U. et al.: Diversity and succession of the intestinal bacterial communities of the maturing boiler chicken. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003. 69. 6816–6824.
27. LUMPKINS, B. S. – BATAL, A. B. – LEE, M. D.: Evaluation of the bacterial community and intestinal development of different genetic lines of chickens. *Poult. Sci.*, 2010. 89. 1614–1621.
28. MEYER, F. – PAARMANN, D. et al.: The metagenomics RAST server – a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes. *BMC Bioinform.*, 2008. 9. 386.
29. MIGNON-GRASTEAU, S. – NARCY, A., et al.: (2015) Impact of selection for digestive efficiency on microbiota composition in the chicken. *PLoS One*, 2015. 10. e0135488.
30. MITRA, S. – STÄRK, M. – HUSON, D. H.: Analysis of 16S rRNA environmental sequences using MEGAN. *BMC Genomics*, 2011. 12. Suppl. 3. S17.
31. MOLNÁR, A. – HESS, C. – PÁL, L. – WÁGNER, L. – AWAD, W. A. – HUSVÉTH, F. – HESS, M. – DUBLECZ, K.: Composition of diet modifies colonization dynamics of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. *J. Appl. Microbiol.*, 2015. 118. 245–254.
32. NIBA, A. T. – BEAL, J. D. et al.: Bacterial fermentation in the gastrointestinal tract of non-ruminants: influence of fermented feeds and fermentable carbohydrates. *Trop. Anim. Health Prod.*, 2009. 41. 1393–1407.
33. PAN, D. – YU, Z.: Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut Microbes*, 2013. 5. 108–119.
34. REHMAN, H. U. – VANHJEN, W. et al.: Indigenous bacteria and bacterial metabolic products in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Arch. Anim. Nutr.*, 2007. 61. 319–335.
35. RINTILÄ, T. – APAJALAHTI, J.: Intestinal microbiota and metabolites – implications for broiler chicken health and performance. *J. App. Poult. Res.*, 2013. 22. 647–658.
36. SCHLOSS, P. D. – WESTCOTT, S. L. et al.: Introducing mothur: open-source – platform-independent – community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009. 75. 7537–7541.
37. SEKELJA, M. – RUD, I. et al: Abrupt temporal fluctuations in the chicken fecal microbiota are explained by its gastrointestinal origin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012. 78. 2941–2948.
38. SERGEANT, M. J. – CONSTANTINIDOU, C. et al.: Extensive microbial and functional diversity within the chicken cecal microbiome. *PLoS One*, 2014. 9. e91941.
39. SHIRA, E. B. – SKLAN, D. – FRIEDMAN, A.: Impaired immune responses in broiler hatchling hindgut following delayed access to feed. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2005. 105. 33–45.
40. SIEGERSTETTER, S. C. – SCHMITZ-ESSER, S. et al.: Intestinal microbiota profiles associated with low and high residual feed intake in chickens across two geographical locations. *PLoS One*, 2017. 12. e0187766.
41. SINGH, K. M. – SHAH, T. M. et al.: Taxonomic and gene-centric metagenomics of the fecal microbiome of low and high feed conversion ratio (FCR) broilers. *J. Appl. Genet.*, 2014. 55. 145–154.
42. STANLEY, D. – DENMAN, S. E. et al.: Intestinal microbiota associated with differential feed conversion efficiency in chickens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012. 96. 1361–1369.
43. STANLEY, D. – HUGHES, R. J. – MOORE, R. J.: Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health – productivity and disease. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2014. 98. 4301–4310.
44. The NIH HMP Working Group: The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.*, 2009. 12. 2317–2323.
45. TÖRÖK, V. A. – OPHEL-KELLER, K. et al.: Application of methods for identifying broiler chicken gut bacterial species linked with increased energy metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008. 74. 783–791.
46. UNI, Z. – NOY, Y. – SKLAN, D.: Development of the small intestine in heavy and light strain chicks before and after hatching. *Br. Poult. Sci.*, 1996. 37. 63–71.
47. VAN DER WIELEN, P. W. – KEUZENKAMP, D. A. et al.: Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. *Microb. Ecol.*, 2002. 44. 286–293.
48. VARMUZOVA, K. – KUBASOVA, T. et al.: Composition of gut microbiota influences resistance of newly hatched chickens to *Salmonella Enteritidis* infection. *Front. Microbiol.*, 2016. 7. 957.
49. VIDENSKA, P. – FALDYNOVA, M. et al.: Chicken faecal microbiota and disturbances induced by single or repeated therapy with tetracycline and streptomycin. *BMC Vet. Res.*, 2013. 9. 30.
50. VIDENSKA, P. – RAHMAN, M. M. et al.: Characterization of egg laying hen and broiler fecal microbiota in poultry farms in Croatia, Czech Republic, Hungary and Slovenia. *PLoS One*, 2014. 9. e110076.
51. WAITE, D. – TAYLOR, M.: Characterising the avian gut microbiota: membership – driving influences and potential function. *Front. Microbiol.*, 2014. 5. 223.
52. XIAO, Y. – XIANG, Y. et al.: Microbial community mapping in intestinal tract of broiler chicken. *Poult. Sci.*, 2017. 96. 1387–93.
53. YAN, W. – SUN, C. et al.: Gut metagenomic analysis reveals prominent roles of *Lactobacillus* and cecal microbiota in chicken feed efficiency. *Sci. Rep.*, 2017. 7. 45308.
54. YEOMAN, C.J. – CHIA, N. et al.: The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. *Anim. Health. Res. Rev.*, 2012. 13. 89–99.
55. YIN, Y. – LEI, F. et al.: Exposure of different bacterial inocula to newborn chicken affects gut microbiota development and ileum gene expression. *ISME J.*, 2010. 4. 367–376.
56. ZHOU, H. – GONG, J. et al.: Appropriate chicken sample size for identifying the composition of broiler intestinal microbiota affected by dietary antibiotics – using the polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis technique. *Poult. Sci.*, 2007. 86. 2541–2549.

Közlésre érk.: 2019. máj. 21.