



Profilering microbiota

Microbiologische technologieën in diervoeding

Techniek

[Carolien Makkink]

Nieuwe gentechnologieën in de moleculaire microbiologie bieden een gedetailleerd inzicht in de samenstelling van de microbiota in de darm. Dit heeft geleid tot voerconcepten die een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan vermindering van het antibioticagebruik in de veehouderij.

Een gezonde darmwand en een stabiele microbiota zijn essentieel voor een goede gezondheid. Verstoring van de barrièrefunctie van de darmmucosa en een onevenwichtige microbiota-samenstelling leiden tot verterings- en immuniteitsproblemen. Nieuwe technieken maken het mogelijk om de darmmicrobiota en het functioneren van de darmmucosa in kaart te brengen. Toepassing van deze technieken leidt tot de ontwikkeling van nieuwe, geïntegreerde voedingsconcepten ter ondersteuning van de dier- en darmgezondheid onder stressvolle omstandigheden.

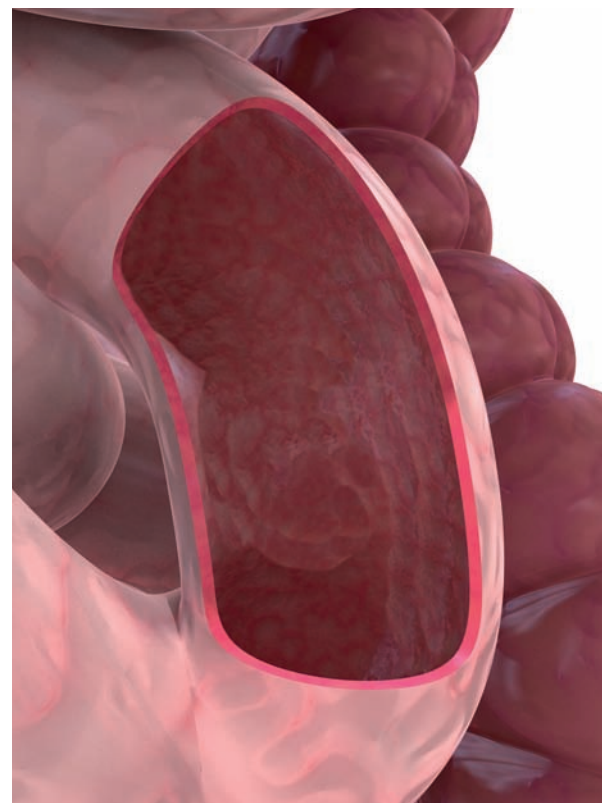
Stress

Stress is een ruim begrip: infectiedruk, transport, vaccinatie, voerovergangen, spenen en suboptimale omgevingsfactoren verstoren de stabiliteit in de darm en vormen gezondheidsrisico's voor het dier. Een onevenwichtige darmflora en dysbacteriose leiden tot verterings-

depressie en immuniteitsproblemen, zoals ontstekingsreacties in de darm. Stress veroorzaakt ook systemische veranderingen, waardoor de barrièrefunctie van de darmmucosa verzwakt. Uiteindelijk kunnen deze reacties leiden tot verslechtering van de voederconversie en de groei, diarree, infecties, verhoging van medicijngebruik en -kosten, sterfte en financiële schade voor het veehouderijbedrijf.

Microbiota profiling

Nieuwe gentechnologieën in de moleculaire microbiologie bieden een gedetailleerd inzicht in de samenstelling van de microbiota in de darm. Met behulp van 'bar-coded pyrosequencing' en kwantitatieve real-time PCR (polymerase chain reaction) wordt de darmmicrobiota in kaart gebracht. De volledige microbiota wordt gevisualiseerd in een microbiota-profiel, dat de diversiteit weergeeft op verschillende niveaus. Dit levert meer

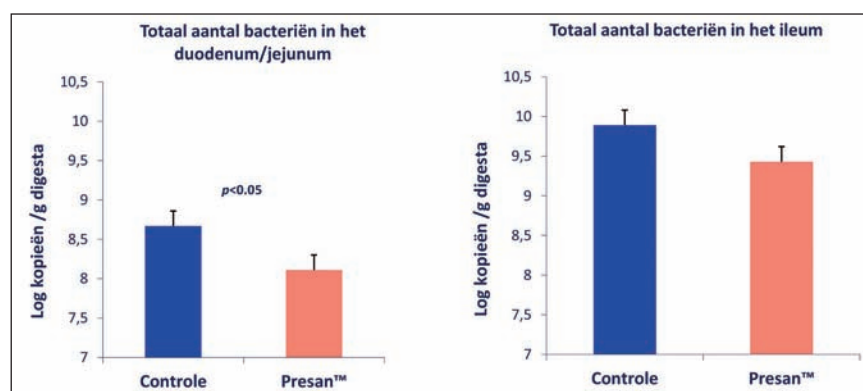


Een gezonde darmwand en een stabiele microbiota zijn essentieel voor een goede gezondheid.

kennis op dan voorheen werd verkregen met klassieke kweekmethodes.

Onderzoek

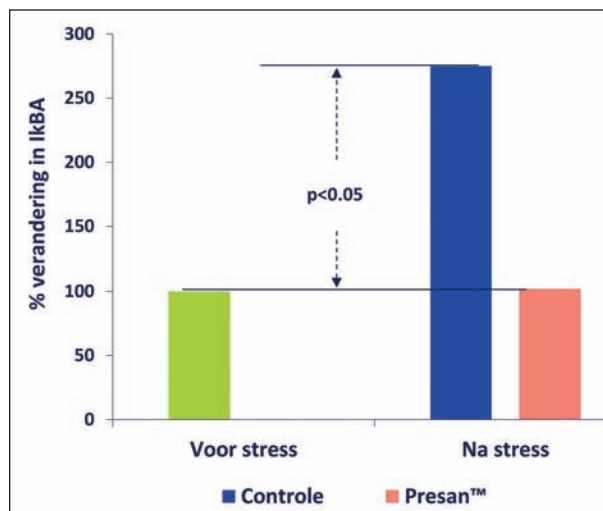
Onderzoekers van Nutreco Research and Development werken samen met wetenschappers van Nizo Food Research, Wageningen UR, Universiteit Utrecht en Inra in Frankrijk om toepassingen van de nieuwe technologie in de diervoeding te ontwikkelen. Zij gebruiken 'bar-coded pyrosequencing' en kwantitatieve real-time PCR om de microbiota van dieren met een verschillende gezondheidsstatus te bestuderen. Uit dit onderzoek is al gebleken dat biggen met niet-infectieuze diarree en vleeskuikens op nat strooisel meer bacteriën in hun dunne darm hebben dan gezonde dieren. Bovendien is gevonden dat de diversiteit van de microbiële populatie afneemt na een stressperiode, bijvoorbeeld na een voerover- >>>



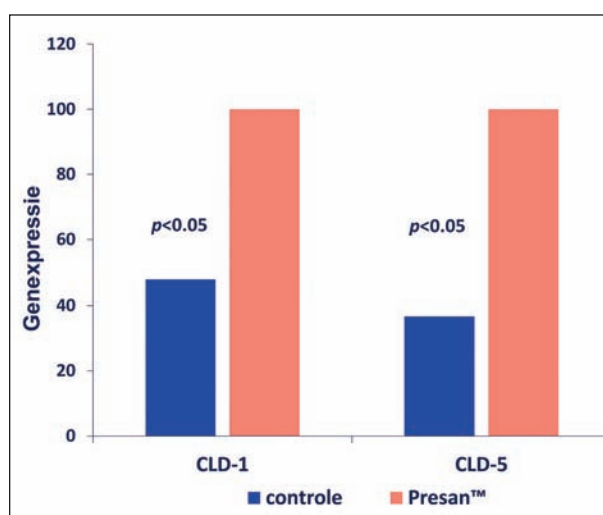
Figuur 1. Bacteriën in de dunne darm van gespeende biggen, bepaald via kwantitatieve real time PCR.



>> Profilering microbiota



Figuur 2. Effect van darmbarrièrestress op pro-inflammatoire reacties bij vleeskuikens. Op de Y-as staat de verandering in IKB α -niveau in leverweefsel.



Figuur 3. CLD-genexpressie in het duodenum van vleeskuikens na blootstelling aan darmbarrièrestress.

gang. Dit geeft aan dat bepaalde bacteriën in de darm de overhand krijgen ten koste van andere bacteriespecies. Zo'n overmatige bacteriegroei leidt tot een slechtere nutriëntenvertering en -absorptie en tot een niet-specifieke immuunstimulering, waardoor de voeropname daalt en de dierprestaties afnemen.

Darmbarrièrefunctie

Een verstoring van de barrièrefunctie van de darmmucosa zorgt voor meer blootstelling aan antigenen, toxinen en pathogenen en is daardoor een bedrei-

ging voor de gezondheid. De mucuslaag, de doorlaatbaarheid van de epitheel laag en de reactiviteit van het gut-associated lymphoid tissue (GALT; het immuunsysteem in de darm) zijn de belangrijkste componenten van de darmbarrière. Het is nu mogelijk om de barrièrefunctie te bestuderen in een in vivo-model dat een verstoring van deze functie induceert (darmbarrièrestress-test). Met behulp van dit model kan worden bepaald welke voerfactoren de negatieve effecten van de experimentele stressor kunnen tegengaan.

Voerconcepten

Coen Smits en Ajay Awati van Nutreco R&D onderzochten de microbiota in de darm van biggen onder slechte hygiënische omstandigheden, waarbij het aantal bacteriën in de darm is verhoogd en de bacteriële diversiteit verlaagd. Op basis van in vitro- en in vivo-studies ontwikkelde Nutreco R&D een voederadditief bestaande uit een mengsel van natuurlijke ingrediënten die het complexe microbiële ecosysteem in de darm van varkens en pluimvee moduleren. Uit onderzoek blijkt dat toevoeging van dit mengsel (Presan) aan het voer de hoeveelheid bacteriën in de dunne darm van biggen verlaagt (zie figuur 1). Hetzelfde effect werd gevonden bij pluimvee. Ook was de microbiota van de biggen een week na spenen diverser als Presan was toegevoegd aan het voer. Beide effecten worden geassocieerd met minder diarree.

Stabilisering

Stabilisering van de darmmicrobiota verbetert ook de weerstand tegen infectiedruk. Dit werd aangetoond in een experiment met vleeskuikens, die werden gechallenged met een pathogene *Clostridium perfringens*-stam. Als de kuikens Presan kregen, bevatte hun darminhoud minder *C. perfringens* en werden minder necrotische enteritis-lesies aangetroffen in de dunne darmwand. Smits en Awati onderzochten ook de

invloed van verschillende voeraddities op de darmbarrière bij varkens en pluimvee. "Uit deze studies hebben we stoffen kunnen identificeren die de negatieve effecten van de darmbarrièrestress verminderen", leggen de onderzoekers uit. In figuur 2 zijn de resultaten van de darmbarrièrestress-test weergegeven bij kuikens met en zonder Presan in hun voer. De stressbehandeling leidt tot een duidelijke verhoging van de IKB α -niveaus in leverweefsel en dit is een indicatie voor ontstekingsreacties. Door toevoeging van Presan aan het kuikenvoer blijven de IKB α -niveaus laag. Uit figuur 3 blijkt dat Presan de expressie van CLD-genen significant verhoogt. CLD-1 en CLD-5 zijn eiwitten waaruit de tight junctions tussen de darmepitheelcellen zijn opgebouwd. "Goed functionerende tight junctions zorgen ervoor dat er geen ongewenste stoffen door de darmwand lekken. Een lekkende darm kan ontstekingen veroorzaken, die de darmlekkage kunnen verergeren. De ontstekingremmende componenten in Presan voorkomen dit", aldus de onderzoekers.

Totaalconcept

De combinatie van microbiotamanagement met ondersteuning van de darmbarrièrefunctie kan dysbacteriose en darmwandschade voorkomen. Dit zorgt voor minder gezondheidsproblemen en betere dierprestaties. De resultaten bij biggen en vleeskuikens zijn veelbelovend. Toepassing van Presan verbetert de voederconversie, voeropname en groei. Bij biggen treedt minder diarree op en de strooiselkwaliteit verbetert bij vleeskuikens. Momenteel worden uitgebreide validatietesten en veldproeven uitgevoerd om de bevindingen verder te onderbouwen. De ontwikkeling van nieuwe microbiologische technieken heeft geleid tot voerconcepten die een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan vermindering van het antibioticagebruik in de veehouderij. ■