

Ministerstvo školstva Slovenskej republiky  
Vedecká rada Fakulty biotechnológie a potravinárstva  
Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre

**Ing. Daniela Košťálová**

**Vplyv probiotických preparátov na mikrobiologickú kvalitu  
hydínového mäsa**

**Nitra 2008**

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA  
V NITRE

FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA  
Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov

**Vplyv probiotických preparátov na mikrobiologickú kvalitu  
hydínového mäsa**

Autoreferát dizertačnej práce  
na získanie vedecko-akademickej hodnosti philosophiae doctor  
vo vednom odbore: 29-07-9  
**Biotechnológia**

**Ing. Daniela Košťálová**

**Nitra, 2008**

Dizertačná práca bola vypracovaná v externej forme doktorandského štúdia na Katedre hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov a Katedre mikrobiológie, Fakulty biotechnológie a potravinárstva Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre.

Doktorand: **Ing. Daniela Košťálová**

Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov  
Fakulta biotechnológie a potravinárstva  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Vedúci dizertačnej práce: **doc. Ing. Juraj Čuboň, CSc.**

Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov  
Fakulta biotechnológie a potravinárstva  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Oponenti: **prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc.**

Katedra hygieny a bezpečnosti potravín  
Fakulta biotechnológie a potravinárstva  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

**doc. MVDr. Milan Vasil', CSc.**

Univerzita veterinárneho lekárstva  
Košice

**Ing. Vladimír Foltys, PhD.**

VÚŽV – Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu  
Nitra

Autoreferát bol odoslaný dňa ..11.8.2008.....

Stanovisko k dizertácii vypracovala Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre.

Obhajoba doktorandskej dizertácie sa koná dňa .24.9.2008..... o ...11.00..... hod. pred komisiou pre obhajobu dizertačnej práce vedného odboru 29-07-9 Biotechnológia na Fakulte biotechnológie a potravinárstva, Slovenskej poľnohospodárskej univerzite v Nitre.

Miesto konania: Katedra biochémie a biotechnológie  
Fakulta biotechnológie a potravinárstva  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre  
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

Miestnosť: zasadačka katedry.....

S dizertačnou prácou sa možno oboznámiť na dekanáte Fakulty biotechnológie a potravinárstva.

Predseda komisie pre obhajoby vo vednom odbore Biotechnológia 29-07-9

.....  
**prof. Ing. Ivan Michalík, DrSc.**

## ABSTRAKT

V práci sú vyhodnotené výsledky troch druhov probiotických preparátov. Probiotický preparát na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis* bol aplikovaný do krmiva. Probiotický preparát na báze *Lactobacillus fermentum* bol aplikovaný do vody. Probiotický preparát na báze *Enterococcus faecium* bol aplikovaný do vody v rôznych dávkach. Probiotický preparát na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis* nemal výrazný vplyv na CPM v prsnej svalovine kurčiat ( $1,08 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup> - kontrolná skupina  $7,41 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup> - pokusná skupina), ale štatistiky preukazne ( $P > 0,05$ ) znížil počet koliformných baktérií ( $9,27 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup> - kontrolná skupina a  $6,10 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> - pokusná skupina). Pri baktériách *Escherichia coli* bol zaznamenaný ich štatisticky preukazne ( $P < 0,05$ ) vyšší počet v prsnej svalovine kontrolnej skupiny ( $5,4$  KTJ.g<sup>-1</sup>) ako v pokusnej skupine ( $0,85$  KTJ.g<sup>-1</sup>). V chýmuse kurčiat bol počet laktobacilov v kontrolnej skupine  $4,64 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej  $9,73 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>. Živá hmotnosť kurčiat pred zabitím bola v kontrolnej skupine 1233,1 g a u pokusnej 1265,0 g. Aplikácia probiotického preparátu na báze *Lactobacillus fermentum* sa prejavila na znížení počtu baktérií *Escherichia coli* v chýmuse kurčiat (kontrolná skupina  $2,08 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusná skupina I.  $1,48 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $1,14 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Prídavok probiotického preparátu štatisticky preukazne ( $P < 0,05$ ) vplýval na zvýšenie počtu laktobacilov v chýmuse (kontrolná skupina  $2,6 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusná skupina I.  $8,57 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $1,27 \cdot 10^7$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Živá hmotnosť kurčiat pred zabitím bola v kontrolnej skupine 1632,8 g, pokusnej skupine I. 1658,6 g a pokusnej skupiny II. 1750,6 g). CPM v prsnej svalovine bol v kontrolnej skupine  $1,74 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusnej skupiny I.  $1,03 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusnej skupiny II.  $4,05 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>. Počet koliformných baktérií v prsnej svalovine bol v kontrolnej skupine  $5,65 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusnej skupine I.  $2,47 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusnej skupine II.  $4,28 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>). V experimente na báze *Enterococcus faecium* v chýmuse kurčiat bol počet baktérií *Escherichia coli* v kontrolnej skupine  $1,9 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>, v pokusnej skupine I.  $1,3 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine II.  $8,88 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Počet laktobacilov v chýmuse bol v kontrolnej skupine  $1,4 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>, v pokusnej skupine I.  $3,02 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine II.  $3,6 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Živá hmotnosť kurčiat pred zabitím bola v kontrolnej skupine 1827,25 g, v pokusnej skupine I. 2041,20 g a pokusnej skupine II. 2012,40 g. Pri aplikácii probiotického preparátu na báze *Lactobacillus fermentum* bola vyššia intenzita rastu a priaznivejší pomer mikroorganizmov v tráviacej sústave v skupine kurčiat s rovnakou aplikáciou probiotického preparátu počas celého obdobia výkrmu.

**Príčné slová:** mikrobiologická kvalita, výkrmové kurčatá, mäso, *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus fermentum*, *Enterococcus faecium*, živá hmotnosť

## ABSTRACT

Results of three probiotics application are analyzed. Probiotics on the base of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* was added to fodder. Probiotics on the base of *Lactobacillus fermentum* was applied to drinking water. Probiotics on the base of *Enterococcus faecium* was applied in different amounts to water. Probiotics on the base of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* influenced the total bacteria count in the breast muscles non significantly ( $1.08 \cdot 10^5$  CFU.g<sup>-1</sup> in the control group and  $7.41 \cdot 10^4$  CFU.g<sup>-1</sup> in the experimental group). Number of coliforms bacteria ( $9.27 \cdot 10^4$  CFU.g<sup>-1</sup> in the control group and  $6.1 \cdot 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> in the experimental group) was significantly ( $P < 0,05$ ). Number of *Escherichia coli* in the breast muscles was significantly ( $P < 0,05$ ) higher in the control group ( $5.4$  CFU.g<sup>-1</sup>) opposite experimental group ( $0.85$  CFU.g<sup>-1</sup>). Number of lactobacilli was in the control group  $4.64 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> and in the experimental group  $9.73 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> in the ceacum. The live weight of chicken was in the control group 1233.1 g and in the experimental group 1265.0 g. The application of probiotics on the base of *Lactobacillus fermentum* showed number of *Escherichia coli*  $2.08 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> in the control group,  $1.48 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> in the 1<sup>st</sup> experimental group and  $1.14 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> in the 2<sup>nd</sup> experimental group in the ceacum. Probiotics showed increasing of lactobacilli number significantly ( $P < 0.05$ ) in the ceacum of chicken. Number of lactobacilli in the experimental group was  $2.2 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup>, in the 1<sup>st</sup> experimental group  $8.57 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> and in the 2<sup>nd</sup> experimental group  $1.27 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup>. The live weight of chicken before slaughter was in the control group 1632.8 g, in the 1<sup>st</sup> experimental group 1658.6 g and in the 2<sup>nd</sup> experimental group 1750.6 g. Total bacteria count of breast muscles in the experiment on the base of *Enterococcus faecium* was in the control group  $1.74 \cdot 10^5$  CFU.g<sup>-1</sup>, in the 1<sup>st</sup> experimental group  $1.03 \cdot 10^4$  CFU.g<sup>-1</sup> and in the 2<sup>nd</sup> experimental group  $4.05 \cdot 10^4$  CFU.g<sup>-1</sup>. The number of coliforms bacteria in the breast muscles where  $5.65 \cdot 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> in the control group,  $2.47 \cdot 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> in the 1<sup>st</sup> experimental group and  $4.28 \cdot 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup>. In the ceacum was number of *Escherichia coli*  $1.9 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> in the control group,  $1.3 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> in the 1<sup>st</sup> experimental group and  $8.88 \cdot 10^5$  CFU.g<sup>-1</sup> in the 2<sup>nd</sup> experimental group. The number of lactobacilli in the ceacum was  $1.4 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> in the control group,  $3.02 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> in the 1<sup>st</sup> experimental group and  $3.6 \cdot 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> in the 2<sup>nd</sup> experimental group. The live weight of chicken before slaughter was in the control group 1827.25 g, in the 1<sup>st</sup> experimental group 2041.20 g and in the 2<sup>nd</sup> experimental group 2012.40 g. In the experiment with probiotics on the base of *Lactobacillus fermentum* was higher growth intensity and the better proportion of bacteria in the ceacum in the group with same application in the all fattening period.

**Key words:** microbiological quality, fattening chicken, meat, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus fermentum*, *Enterococcus faecium*, live weight

## ZOZNAM SKRATIEK A SYMBOLOV

GIT - gastrointestinálny trakt (tráviaca sústava), MRS - médium pre izoláciu laktobacilov, PK - Potravinový kódex, CPM - celkový počet mikroorganizmov, KTJ - Kolónie tvoriace jednotky, GTK - živné médium, VČŽL - živné médium

# OBSAH

|  |    |
|--|----|
| 1 ÚVOD .....   | 7  |
| 1.1 Definícia probiotík a história ich využívania.....   | 7  |
| 1.2 Mechanizmus účinku probiotík .....   | 7  |
| 1.3 Kompetícia o adhezívne receptory na sliznici tráviacej sústavy .....   | 8  |
| 1.4 Kompetícia a živiny .....  | 8  |
| 1.5 Produkcia antibakteriálnych látok .....  | 8  |
| 1.6 Využitie probiotík v chove hydiny .....  | 8  |
| 1.7 Vzťahy medzi mikroorganizmami.....   | 9  |
| 1.8 Mikrobiologická kvalita čerstvého mäsa .....   | 9  |
| 2 CIEĽ PRÁCE .....   | 10 |
| 3 MATERIÁL A METÓDY .....  | 10 |
| 3.1 Vlastná metodika .....   | 11 |
| 3.2 Mikrobiologická analýza prsnej svaloviny .....   | 11 |
| 3.2.1 Stanovenie počtu koliformných baktérií v mäse .....  | 11 |
| 3.2.2 Stanovenie počtu mezofilných anaeróbných sporulujúcich mikroorganizmov.....  | 11 |
| 3.2.3 Stanovenie počtu <i>Escherichia coli</i> .....   | 11 |
| 3.3 Mikrobiologický rozbor slepých čriev.....  | 11 |
| 3.3.1 Stanovenie baktérií rodu <i>Lactobacillus</i> .....  | 11 |
| 3.3.2 Stanovenie baktérií <i>Escherichia coli</i> .....  | 11 |
| 3.3.3 Stanovenie baktérií rodu <i>Enterococcus</i> .....   | 12 |
| 4 VÝSLEDKY .....   | 12 |
| 4.1 Probiotický preparát na báze <i>Bacillus subtilis</i> a <i>Bacillus licheniformis</i> .....  | 12 |
| 4.1.2 Vplyv probiotického preparátu na báze <i>Bacillus subtilis</i> a <i>Bacillus licheniformis</i> na jednotlivé skupiny baktérií v slepých črevách kurčiat..... | 12 |
| 4.2 Probiotický preparát na báze <i>Lactobacillus fermentum</i> .....  | 13 |
| 4.2.1 Vplyv probiotického preparátu na báze <i>Lactobacillus fermentum</i> na mikrobiologickú kvalitu prsnej svaloviny.....  | 13 |
| 4.2.2 Vplyv probiotického preparátu na báze <i>Lactobacillus fermentum</i> na jednotlivé skupiny baktérií v slepých črevách kurčiat.....                           | 13 |
| 4.3 Probiotický preparát na báze <i>Enterococcus faecium</i> .....   | 14 |
| 4.3.1 Vplyv probiotického preparátu na báze <i>Enterococcus faecium</i> na mikrobiologickú kvalitu prsnej svaloviny.....   | 14 |
| 4.3.2 Vplyv probiotického preparátu na báze <i>Enterococcus faecium</i> na jednotlivé skupiny baktérií v slepých črevách kurčiat.....                              | 14 |
| 5 NÁVHR NA VYUŽITIE .....  | 14 |
| 6 ZÁVER .....  | 15 |
| 7 POUŽITÁ LITERATÚRA.....  | 17 |
| 8 PUBLIKOVANÉ PRÁCE SÚVISIACE S PROBLEMATIKOU .....  | 19 |

# 1 ÚVOD

Výroba a spotreba hydinového mäsa ako jedného z najdôležitejších zdrojov kvalitných bielkovín má v celosvetovom meradle vzrastajúcu tendenciu. Je predpoklad, že v roku 2008 má u nás spotreba hydinového mäsa na jedného obyvateľa dosiahnuť až 21, 9 kg, v USA až 43, 3 kg na jedného obyvateľa. Využívanie probiotík umožňuje docieľiť optimálnu úžitkovosť a zamedziť stratám u hospodárskych zvierat bioregulačným zásahom do osídlenia. Po použití vybraných kultúr mikroorganizmov sa môže znížiť u hospodárskych zvierat výskyt neúspechov a množstvo strát. To možno dosiahnuť aplikáciou živých zárodkov mikroorganizmov v krmive. Podľa súčasných poznatkov spočíva stabilizujúce pôsobenie probiotík na črevnú mikroflóru v antibiotickom princípe. Jednak podporuje zárodky hlavnej flóry a tým znemožňuje zástupcom sprievodnej a zostatkovej flóry získať prioritu v celkovej populácii, ale zamedzuje aj pôvodcom ochorenia prístup k črevnému epitelu.

## 1.1 Definícia probiotík a história ich využívania

Po prvý raz bolo slovo probiotiká použité vo význame protikladu k antibiotikám, prípadne ako látka vylučovaná jedným organizmom, ktorá stimuluje rast druhého organizmu (Lilley a Stillwell, 1995).

Slovo probiotikum má pestrú históriu. Prvý raz bolo použité vo význame protikladu k antibiotikám, prípadne ako látka vylučovaná jedným organizmom, ktorá stimuluje rast druhého organizmu (Tannock, 2005).

Zhrnutím môžeme konštatovať, že probiotiká sa využívajú v poľnohospodárstve, potravinárskom priemysle a medicíne. Uplatňujú sa vo výžive hospodárskych zvierat za účelom zlepšenia konverzie krmiva a zvýšenia hmotnostných prírastkov. Pri riadenom ovplyvňovaní funkčného vývoja tráviacej sústavy mláďat, využívajú sa ako štartovacie kultúry v potravinárskych výrobkoch a v prevencii terapii ochorení ľudí a hospodárskych zvierat. Z hľadiska využitia probiotík v humánnej a veterinárnej medicíne a vo výžive hospodárskych zvierat je veľmi významný ich biomedicínsky účinok, ktorý spočíva v inhibičnom efekte proti patogénom, optimalizačnom vplyve na tráviace procesy, stimulačnom účinku na imunitný systém a antitumorovej a anticholesterolovej aktivite (Holzapfel et al., 2001; Ishibasti a Yamazaki, 2001; Siezen et al., 2004).

Použitie probiotík je efektívnejšie u zvierat s vyvíjajúcou sa mikroflórou, alebo po narušení jej stability (Fric, 2002). To naznačuje, že probiotiká sú určené predovšetkým pre mláďatá v ranom veku. K narušeniu rovnováhy ekosystému tráviacej sústavy môže dôjsť aj u hospodárskych zvierat starších vekových kategórií (napr. zmenou krmiva, odstavom, terapiou antibiotikami), alebo je potrebné podporiť imunitný systém (ochorenia, stres).

## 1.2 Mechanizmus účinku probiotík

Mnohí autori rozoberali spôsob účinku probiotík, no existuje len málo definitívnych dôkazov, ktoré by podporovali ktorýkoľvek z navrhnutých mechanizmov. Fuller (1992) vysvetľuje mechanizmus probiotického účinku: kompetíciou o adhezívne receptory na črevnom epiteli, kompetíciou o živiny, produkciou antibakteriálnych látok, stimuláciou buniek imunity, stimuláciou aktivity črevných enzýmov mikrobiálneho pôvodu.



### 1.3 Kompetícia o adhezívne receptory na sliznici tráviacej sústavy

Dôkazy o tom, že indigénna gastrointestinálna mikroflóra má schopnosť inhibovať kolonizáciu patogénnych mikroorganizmov, pochádzajú zo štúdií u hydiny. Klasickým prípadom sú novovyliahnuté kurčatá z komerčných liahní, u ktorých je vývin natívnej mikroflóry oneskorený (Hankkinen a Schneitz, 2000). Zavedenie črevnej mikroflóry zo zdravej dospeléj hydiny novovyliahnutým kurčatám zvýšilo ich rezistenciu proti infekcii, ak boli tieto následne infikované salmonelami podanými v krmive. Táto inhibičná koncepcia je známa ako „Nurmiho koncepcia“, alebo „konkurenčná exklúzia“ (CE-comparative exclusion).

Lee et al., (2001) sa zmieňujú o pozitívnom vplyve *Lactobacillus reuteri*, ktorý sa bežne nachádza v gastrointestinálnom trakte kurčiat a moriek. *Lactobacillus reuteri* je schopný konvertovať produkt metabolizmu tukov, glycerolov, na reuterin, ktorý má významné postavenie v antimikrobiálnej aktivite a tým napomáha k zlepšeniu rovnováhy črevnej mikroflóry. Po perorálnej aplikácii *Lactobacillus reuteri* novovyliahnutým kurčatám zistili, že sa znížil počet baktérií *Salmonella typhimurium* a následne sa znížila mortalita kurčiat v prvých týždňoch chovu. Zároveň sa dosiahla vyššia živá hmotnosť zvierat, ktorá sa udržiavala počas celého chovu.

Podobné antiinfekčné účinky dosiahnuté zavedením natívnej mikroflóry za účelom kontrolných patogénov u novonarodených zvierat a u ľudí boli nazvané ako „kolonizačná rezistencia“ alebo „bariérový efekt proti kolonizácii“ (Mead, 2000; Rabsch et al., 2000).

### 1.4 Kompetícia a živiny

Hypotéza kompetície o živiny v črevnom lumene medzi osídlenými a invadujúcimi baktériami bola odvodená od pozorovania, že tieto baktérie kontinuálne spolu kultivované súťažia o živiny. Baktérie mliečneho kvasenia, ktoré rastú na mieste kolonizácie, môžu využívať živiny, ktoré by inak boli dostupné pre patogény, alebo môžu produkovať metabolity, ktoré inhibujú rast patogénov (Perdigon et al., 2001).

### 1.5 Produkcia antibakteriálnych látok

Inhibičné látky produkované *Lactobacillus spp.* zahrňujú dobre charakterizované bakteriocíny (napr. nizín, acidolín, bulgaricín), látky podobné bakteriocínom a iné antagonistické látky, ako napr. peroxid vodíka a niektoré organické kyseliny (Asahara et al., 2001).

Organické kyseliny (mliečna, octová, maslová, propiónová) produkované fakultatívnymi a obligátnymi anaeróbnymi v nedisociovej forme znižujú pH (Reid et al., 2001a).

### 1.6 Využitie probiotík v chove hydiny

Mičan (1993) zdôrazňuje výhody použitia laktacidoprodukčných baktérií nasledovne:

- špecifická schopnosť laktacidoprodukčných baktérií prednostne kolonizovať určité oblasti gastrointestinálneho traktu u hydiny bola preukázaná výrazná adhérenca týchto baktérií na výstelke hrvoľa, v distálnej časti tenkého čreva a na cekálnej mukóze,
- laktacidoprodukčné baktérie majú selektívnu výhodu v tom, že dobre znášajú pasáž acidotickej bariéry žalúdka a sú schopné multiplikácie v prostredí

- obsahujúcom žľčové kyseliny a intestinálne enzýmy (laktacidoprodukčné baktérie produkujú makromolekulové látky (bakteriocíny) s bakteriocídnymi účinkami,
- konečné metabolity laktacidoprodukčných baktérii kyselina mliečna a kyselina octová majú bakteriostaticky účinok na široké spektrum mikrobiálnych konkurentov,
  - k vytvoreniu prevahy laktacidoprodukčných baktérií nad konkurentmi slúži i mierne znížené pH črevného chýmu, pokles redox potenciálu, schopnosť vytvárať peroxid vodíka a dekonjugovať soli žľčových kyselín.

Efekt vplyvu dvoch probiotík na výkrmnosť, prvé probiotikum obsahovalo kmeň *Saccharomyces boulardii* a druhé kmeň *Bacillus cereus var toyoi*, overovali Gil De Los Santos et al. (2005) u brojlerových kurčiat infikovaných *Salmonella enteritidis*. Vo veku 14 dní im boli perorálne podané v množstve  $1 \times 10^7$  živé zárodky *S. enteritidis*. Vo veku kurčiat 42 dní bola živá hmotnosť kurčiat 1. skupiny 1,77 kg, 2. skupiny 1,89 kg a 3. skupiny 2,06 kg. Uvedené rozdiely boli štatisticky významné. Konverzia krmiva v 1.skupine bola 2,61, v 2. skupine 2,35 kg a v 3. skupine 2,30 kg. Obe probiotiká zvyšovali produkčné parametre kurčiat vo všetkých troch sledovaných skupinách.

### 1.7 Vzťahy medzi mikroorganizmami

Vzťah medzi mikroorganizmami na povrchu jatočného trupu kurčiat analyzovali Hang'ombe et al. (1999). Počet mikroorganizmov *Salmonella sp.* preukazne kladne koreloval ku *E. coli* ( $r = 0,51$ ) a ku *Citrobacter sp.* ( $r = 0,52$ ). Záporne preukazný vzťah zistili medzi *E. coli* a *Streptococcus sp.* ( $r = - 0,52$ ) a medzi *Staphylococcus sp.* a *Alcaligenes sp.* ( $r = - 0,53$ ).

*Clostridium perfringens*, *E. coli* a *Salmonella sp.* môžu kolonizovať tráviacu sústavu kurčiat. *Clostridium perfringens*, a *Salmonella sp.* sú hlavnými patogénmi hydiny a môžu spôsobiť viaceré onemocnenia človeka. Prítomnosť *E. coli* v spracovanej hydine je indikátor fekálneho znečistenia. Baktérie mliečneho kvasenia v podmienkach *in vitro* inhibujú typické črevné mikroorganizmy (*E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* a *Clostridium difficile*). *L. plantarum* znižuje počet baktérii *E. coli*. *Lactobacillus salivarius* má schopnosť inhibovať rast mikroorganizmov *Salmonella enteritidis* a *E. coli* (Murphy et al., 1999).

Murri et al., 2004 uvádzajú že *Lactobacillus salivarius* a *Lactobacillus plantarum* štatisticky preukazne ( $P < 0,001$ ) znižovali rast *E. coli*, *Clostridium perfringens* a *Salmonella typhimurium*.

### 1.8 Mikrobiologická kvalita čerstvého mäsa

Hejlová (1997) uvádza, že po omráčení jatočných zvierat, ktorým sa prakticky nemení zloženie mikroorganizmov v mäse, nasleduje vykrvenie. V dôsledku rýchleho poklesu tlaku v cievnom systéme, ktorý nastáva po vpichu, je tento rozdielny oproti tlaku v zažívacom trakte. Mikroorganizmy črevného obsahu sú potom nasávané cez sliznicu čreva do lymfatických ciest, do kapilár vrátnice, do pečene a do lymfatických uzlín črevného traktu a pečene. Z pečene je krv nasávaná žilou do srdca a z neho je ešte počas vykrovovania rozvádzaná do celého krvného obehu a následne ostáva aj v malých krvných vlásočniciach. Pri vykrovaní môže počet mikroorganizmov stúpnuť zo 100 až 200 v 1 ml v priebehu troch minút. U zvierat nedokonale vykrovených, v dôsledku menšej únavy pred porážaním, prenikajú do mäsa aeróbne a po silnej únave aj anaeróbne mikroorganizmy. Takýmto spôsobom sa môžu do mäsa dostať salmonely, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* a iné.

Horník (1996) uvádza, že zviera v dobrej jatočnej kondícii má vysoký obsah glykogénu vo svaloch a pri správnom priebehu zrejúceho procesu dôjde k poklesu pH na požadovanú hodnotu pH 5,5 čím mäso získava dobrú baktericídnu schopnosť. Pri nedostatočnom obsahu glykogénu v mäse nastáva jeho nedostatočné okyslenie s možnosťou rozvoja mikroorganizmov. Rozvoj nežiaducej, najmä hnilobnej mikroflóry nastáva až po prekročení nad hodnotu pH 6,2 resp. ak pri zrení mäsa kyslosť neklesla pod túto hodnotu. V čerstvom mäse sa z baktérií najčastejšie vyskytujú rody *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium* a *Escherichia*. Z vláknitých húb sú to *Cladosporium*, *Sporotrichum*, *Geotrichum*, *Thamnidium*, *Penicillium*, *Alternaria* a *Monilia*. Treba však rátať aj s možnosťou kontaminácie mäsa humánnymi mikroorganizmami, najmä intestinálneho pôvodu (napr. baktériami z rodu *Shigella*).

Kačániová (2005) v pokuse podávali brojlerovým kurčatám rôzne dávky probiotických preparátov na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis* do kŕmnych zmesí kurčiat. Výsledné hodnoty mikroorganizmov boli nižšie v pokusnej skupine, kde bol podávaný probiotický preparát. V kontrolnej skupine zistili CPM 2,81 – 4,11 log<sub>10</sub> KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej 1,14 – 3,18 log<sub>10</sub> KTJ.g<sup>-1</sup>, koliformné mikroorganizmy sa v mäse obidvoch skupín nenachádzali. Počet mezofilných mikroorganizmov bol v kontrolnej skupine 1,15 – 3,23 log<sub>10</sub> KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej 0,67–1,75 log<sub>10</sub> KTJ.g<sup>-1</sup>.

## 2 CIEĽ PRÁCE

Cieľom práce bolo skúmanie a matematicko-štatistické vyhodnotenie vplyvu probiotických preparátov použitých vo výkrme kurčiat na mikrobiologickú kvalitu mäsa a na črevnú mikroflóru v slepých črevách.

V experimentoch s výkrmovými kurčatami sme sa zamerali na sledovanie mikrobiologickej kvality mäsa a vplyvu probiotických preparátov vo vzťahu k zastúpeniu jednotlivých mikroorganizmov v črevnej mikroflóre ako významného zdroja mikrobiálnej kontaminácie mäsa.

### **Pri analýze mäsa sme sledovali:**

- celkový počet mikroorganizmov,
- počet koliformných baktérií,
- počet *Escherichia coli*,
- počet mezofilných anaeróbných sporulujúcich mikroorganizmov.

### **Pri analýze tráviacej sústavy (slepé črevá) sme sledovali:**

- počet zárodkov *Escherichia coli*,
- počet zárodkov fekálnych enterokokov,
- počet zárodkov laktobacilov.

## 3 MATERIÁL A METÓDY

V práci sme analyzovali vplyv troch probiotických preparátov u výkrmových kurčiat vybraných hybridných kombinácii na mikrobiologickú kvalitu mäsa a zastúpenie mikroorganizmov v chýmuse.

### 3.1 Vlastná metodika

V práci sme sledovali tieto ukazovatele: živá hmotnosť kurčiat, zastúpenie mikroorganizmov v tráviacej sústave (slepé črevá), mikrobiologická kvalita mäsa.

Analyzovali sme vplyv probiotických preparátov na báze: a) *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis*, b) *Lactobacillus fermentum*, c) *Enterococcus faecium* M 74 .

### 3.2 Mikrobiologická analýza prsnej svaloviny

Pre stanovenie CPM sme použili živnú pôdu GTK. Zo skúšanej vzorky (navážky) sa po príprave príslušných riedení ( $10^{-4}$  a  $10^{-5}$ ), ktoré sa pripravili tak, aby bolo možné stanoviť predpokladané celkové počty mikroorganizmov v 1,0 g skúšanej vzorky. Po naočkovaní a stuhnutí agarových platní sa označené Petriho misky inkubovali v termostate pri teplote  $30 \pm 1$  °C  $72 \pm 3$  hodín dnom nahor.

#### 3.2.1 Stanovenie počtu koliformných baktérií v mäse

Pre stanovenie počtu koliformných mikroorganizmov sme použili VČŽL agar. Zo skúšaných vzoriek sa pripravilo desiatkovým zried'ovacím systémom príslušné riedenia ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  a  $10^{-3}$ ), aby sa mohli stanoviť predpokladané počty koliformných baktérií v 1 g vzorky .

Na stuhnutú živnú pôdu sme napipetovali v troch opakovaniach sterilnou pipetou po 1 ml z každého príslušného riedenia ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  a  $10^{-3}$ ) vzoriek. Po sušení sa Petriho misky inkubovali v termostate pri teplote  $37 \pm 1$ °C po dobu 24 až 48 hodín v polohe dnom nahor.

#### 3.2.2 Stanovenie počtu mezofilných anaeróbnych sporulujúcich mikroorganizmov

Pre stanovenie počtu mezofilných anaeróbnych sporulujúcich mikroorganizmov sme použili živné médium Živný bujón č. 2 – MPA (mäso peptónový agar) a kultivovali sme pri teplote 37 °C po dobu 24 až 48 hodín.

#### 3.2.3 Stanovenie počtu *Escherichia coli*

Pre stanovenie počtu *Escherichia coli* sme použili živné médium VČŽL agar a naočkované vzorky sme kultivovali pri teplote 37 °C po dobu 24 až 48 hodín.

### 3.3 Mikrobiologický rozbor slepých čriev

#### 3.3.1 Stanovenie baktérií rodu *Lactobacillus*

Pre stanovenie baktérií z rodu *Lactobacillus* sme použili MRS agar. Živnú pôdu s inokulom sme nechali stuhnúť a v prevrátenej polohe sme kultivovali 72 hodín pri teplote 37 °C. Lactobacily vytvárajú jantárové kolónie, ktoré sme sčítali a prepočítali na 1 g chýmsu.

#### 3.3.2 Stanovenie baktérií *Escherichia coli*

Pre stanovenie baktérií *Escherichia coli* sme použili MacConkey agar. Živnú pôdu s inokulom sme nechali stuhnúť a v prevrátenej polohe sme kultivovali 24 až 48

hodín pri teplote 37 °C. Baktérie *Escherichia coli* vytvárajú ružové kolónie a počet vyrastených kolónií sme prepočítali na 1 g chýmusu.

### 3.3.3 Stanovenie baktérií rodu *Enterococcus*

Pre stanovenie baktérií z rodu *Enterococcus* sme použili Slanetz-Bartley agar. Živnú pôdu s inokulom sme nechali stuhnúť a v prevrátenej polohe sme kultivovali 48 až 72 hodín pri teplote 37 °C. Baktérie z rodu *Enterococcus* vytvárajú červené kolónie a pre vyhodnotenia sme použili Petriho misky na ktorých vyrástlo 30 až 300 KTJ. Počet KTJ sme prepočítali na 1 g chýmusu.

## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Probiotický preparát na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis*

Živá hmotnosť pred zabitím bola u kontrolnej skupiny 1233,1 g a v pokusnej skupine štatisticky nepreukazne ( $P > 0,05$ ) vyššie 1265,0 g.

Priemerný celkový počet mikroorganizmov (CPM) v 1 g mäsa v kontrolnej skupine bol  $10,8 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup> a u pokusnej skupiny štatisticky nepreukazne nižší  $7,41 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>. V kontrolnej skupine kurčiat bez prídavku probiotika sa hodnoty pohybovali od  $2,04 \cdot 10^5$  (vzorka 7/095) do  $2,91 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup> (vzorka 14/168). V pokusnej skupine kurčiat s prídavkom probiotika na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis* do krmnej zmesi počet KTJ celkového počtu mikroorganizmov sa pohybovali od  $4,55 \cdot 10^3$  do  $1,95 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>. Najnižšiu hodnotu sme zistili u kurčat'a číslo 7/389 a to  $4,55 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

Celkový počet mikroorganizmov (CPM) v mäse kontrolnej a pokusnej skupiny kurčiat vyhovovali požiadavkám Potravinového kódexu SR (max.  $5 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>), i keď nižšie hodnoty CPM boli zistené u pokusnej skupiny.

Priemerný počet koliformných baktérií v 1 g mäsa v kontrolnej skupine bol  $9,27 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine štatisticky nepreukazne nižší  $6,10 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>. V kontrolnej skupine bez prídavku probiotika sa hodnoty pohybovali v rozmedzí od  $2,43 \cdot 10^3$  do  $16,23 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

V pokusnej skupine s prídavkom probiotika na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis* do krmnej zmesi sme zistili najnižší počet koliformných baktérií v mäse  $0,40 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> a najvyšší  $9,64 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>. V žiadnej vzorke analyzovaného mäsa nebola prekročená maximálna hodnota stanovená Potravinovým kódexom SR ( $10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>).

Priemerný počet baktérií *Escherichia coli* bol v kontrolnej skupine 5,40 KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine štatisticky preukazne nižší 0,85 KTJ.g<sup>-1</sup>. Počet baktérií *Escherichia coli* bol v kontrolnej skupine od 0 do 12 KTJ.g<sup>-1</sup> pri pokusnej skupine od 0 do 4 KTJ.g<sup>-1</sup>.

#### 4.1.2 Vplyv probiotického preparátu na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis* na jednotlivé skupiny baktérii v slepých črevách kurčiat

Priemerný počet KTJ.g<sup>-1</sup> *Escherichia coli* v tráviacej sústave brojlerových kurčiat v kontrolnej skupiny bol  $2,40 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine takmer zhodný  $2,18 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>. V kontrolnej skupine sa počet baktérií *Escherichia coli* pohyboval od  $1,07 \cdot 10^6$  do  $8,68 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine od  $1,01 \cdot 10^6$  do  $7,80 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>. Pri

porovnaní počtu  $\text{KTJ.g}^{-1}$  *Escherichia coli* sme zistili len mierny pokles počtu týchto baktérii v pokusnej skupine oproti skupine kontrolnej. Vplyv probiotického preparátu na počet  $\text{KTJ.g}^{-1}$  *Escherichia coli* sa prejavil pozitívne a však štatisticky nepreukazne.

Priemerný počet fekálnych enterokokov v slepých črevách brojlerových kurčiat v kontrolnej skupine bol  $6,89 \cdot 10^5 \text{ KTJ.g}^{-1}$  a v pokusnej skupine  $6,85 \cdot 10^5 \text{ KTJ.g}^{-1}$ . Počet fekálnych enterokokov v kontrolnej skupine sa pohyboval od  $2,81 \cdot 10^5$  do  $13,45 \cdot 10^5 \text{ KTJ.g}^{-1}$  a v pokusnej skupine od  $1,81 \cdot 10^5$  do  $9,86 \cdot 10^5 \text{ KTJ.g}^{-1}$ .

Vplyv probiotického preparátu na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis* na počet buniek laktobacilov v slepom čreve. Priemerný počet laktobacilov v kontrolnej skupine bol  $4,64 \cdot 10^6 \text{ KTJ.g}^{-1}$  a v pokusnej skupine štatisticky vysoko preukazne vyšší  $9,73 \cdot 10^6 \text{ KTJ.g}^{-1}$  ( $P < 0,01$ ).

Priemerný počet laktobacilov sa pohyboval od  $0,22 \cdot 10^6$  do  $15,32 \cdot 10^6 \text{ KTJ.g}^{-1}$  u kontrolnej skupiny a v pokusnej skupine s použitím probiotického preparátu na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis* od  $0,63 \cdot 10^6$  do  $26,90 \cdot 10^6 \text{ KTJ.g}^{-1}$ . Pri aplikácií sme zaznamenali pozitívny vplyv probiotického preparátu do krmiva na počet laktobacilov v obsahu tráviacej sústavy kurčiat pokusnej skupiny.

## 4.2 Probiotický preparát na báze *Lactobacillus fermentum*

Priemerná živá hmotnosť u kontrolnej skupiny bola 1 623,80 g. Pri pokusnej skupine I. bola priemerná živá hmotnosť 1658,60 g a pri pokusnej skupine II. bola zistená najvyššia priemerná živá hmotnosť 1750,60 g. Štatisticky preukazný ( $P < 0,05$ ) vplyv probiotického preparátu sme zistili len medzi kontrolnou skupinou a pokusnou skupinou II.

### 4.2.1 Vplyv probiotického preparátu na báze *Lactobacillus fermentum* na mikrobiologickú kvalitu prsnej svaloviny

Priemerný celkový počet mikroorganizmov v mäse v kontrolnej skupine bol  $1,84 \cdot 10^4 \text{ KTJ.g}^{-1}$ . Zistené hodnoty sa pohybovali od  $1,221 \cdot 10^5$  do  $2,49 \cdot 10^5 \text{ KTJ.g}^{-1}$ . Priemerný CPM v analyzovaných vzorkách mäsa v pokusnej skupine I. bol  $1,1 \cdot 10^5 \text{ KTJ.g}^{-1}$ . Priemerná hodnota CPM pokusnej skupiny II. dosiahla  $5,30 \cdot 10^4 \text{ KTJ.g}^{-1}$ .

Priemerný počet koliformných baktérií v 1 g mäsa v kontrolnej skupine bol  $7,56 \cdot 10^3 \text{ KTJ.g}^{-1}$ , v pokusnej skupine I. bol priemerný počet koliformných baktérií v mäse  $6,06 \cdot 10^3 \text{ KTJ.g}^{-1}$  a u pokusnej skupiny II.  $4,39 \cdot 10^3 \text{ KTJ.g}^{-1}$ . Počet koliformných baktérií v 1 g prsnej svaloviny I. pokusnej skupiny kurčiat a v II. pokusnej skupine sa pohybovali v rozmedzí od  $2,98 \cdot 10^3$  do  $5,39 \cdot 10^3 \text{ KTJ.g}^{-1}$ .

Priemerný počet *Escherichia coli* v kontrolnej skupine  $11,3 \text{ KTJ.g}^{-1}$  bol vyšší ako u pokusnej skupiny I.  $2,1 \text{ KTJ.g}^{-1}$  a u pokusnej skupiny II.  $1,9 \text{ KTJ.g}^{-1}$ . Zistené hodnoty sa pohybovali v kontrolnej skupine od  $7 \text{ KTJ.g}^{-1}$  do  $19 \text{ KTJ.g}^{-1}$  u pokusnej skupiny I. a II. od  $1 \text{ KTJ.g}^{-1}$  do  $3 \text{ KTJ.g}^{-1}$ .

Priemerný počet mezofilných anaeróbne sporulujúcich mikroorganizmov bol štatisticky preukazne vyšší pri kontrolnej skupine  $6,3 \text{ KTJ.g}^{-1}$  oproti pokusným skupinám. V mäse pokusnej skupiny I. sme zistili priemerný počet  $1,9 \text{ KTJ.g}^{-1}$  a v pokusnej skupine II.  $0,7 \text{ KTJ.g}^{-1}$ .

### 4.2.2 Vplyv probiotického preparátu na báze *Lactobacillus fermentum* na jednotlivé skupiny baktérii v slepých črevách kurčiat

V kontrolnej skupine kurčiat bola priemerná hodnota  $1,78 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>. V pokusnej skupine I.  $1,81 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine II. bola priemerná hodnota  $2,07 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

Dosiahnuté ukazovatele potvrdzujú priaznivý vplyv probiotického preparátu na počet KTJ.g<sup>-1</sup> fekálnych enterokokov aj keď rozdiely medzi kontrolnou a obidvomi pokusnými skupinami boli štatisticky nepreukazné ( $P > 0,05$ )

Priemerný počet laktobacilov v 1 g chýmusu slepých čriev v kontrolnej skupine bol  $2,60 \cdot 10^6$ , v pokusnej skupine I. bola priemerný počet laktobacilov  $8,57 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a u pokusnej skupiny II. bola priemerná hodnota  $1,27 \cdot 10^7$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

### **4.3 Probiotický preparát na báze *Enterococcus faecium***

Živá hmotnosť brojlerových kurčiat pred zabitím v kontrolnej skupine ktorá bola 1827,25 g, v pokusnej skupine I. 2041,20 g a v pokusnej skupine II. 2012,40 g.

#### **4.3.1 Vplyv probiotického preparátu na báze *Enterococcus faecium* na mikrobiologickú kvalitu prsnej svaloviny**

CPM v 1 g mäsa v kontrolnej skupine bolo  $1,74 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup> v pokusnej skupine I.  $1,03 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine II.  $4,05 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

Počet koliformných baktérií v 1g mäsa kurčiat kontrolnej skupiny  $5,65 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> bol vyšší ako u pokusnej skupiny I.  $2,47 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusnej skupiny II.  $4,28 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>. V kontrolnej skupine sa hodnoty pohybovali od  $1,40 \cdot 10^2$  do  $8,98 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

Priemerný počet baktérií *Escherichia coli* v mäse kurčiat kontrolnej skupine bol 4,9 KTJ.g<sup>-1</sup> v pokusnej skupine I. 4,0 KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine II. 2,7 KTJ.g<sup>-1</sup>.

Priemerný počet mezofilných mikroorganizmov bol v mäse kontrolnej skupine  $4,90 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup>, v pokusnej skupine I.  $3,10 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine II.  $5,10 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup>

#### **4.3.2 Vplyv probiotického preparátu na báze *Enterococcus faecium* na jednotlivé skupiny baktérií v slepých črevách kurčiat**

Najvyšší priemerný počet *Escherichia coli* bol v kontrolnej skupine je  $1,90 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>, štatisticky preukazne vyšší v pokusnej skupine I. a II..  $1,31 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a II.  $8,88 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

V kontrolnej skupine bol počet fekálnych enterokokov  $1,23 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>, v pokusnej skupine I.  $1,37 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine II.  $3,42 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

Počet laktobacilov sa prejavil štatisticky preukazným zvýšením ich počtu v obidvoch pokusných skupinách. V pokusnej skupine I. priemerný počet laktobacilov bol  $3,02 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine II.  $3,62 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v kontrolnej skupine  $1,40 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

## **5 NÁVHR NA VYUŽITIE**

Na základe výsledkov pokusu s probiotickým preparátom na báze *Lactobacillus fermentum* odporúčame rovnaké dávkovania probiotického preparátu do vody počas celého obdobia výkrmu v množstve 3,3 ml ( $3,3 \cdot 10^9$  zárodokov *Lactobacillus fermentum* na skupinu), čo predstavuje 5,5 ml na 100 ks kurčiat ( $5,5 \cdot 10^9$  zárodokov *Lactobacillus fermentum* na 100 kurčiat).

V pokuse s probiotickým preparátom na báze *Enterococcus faecium* do vody môžeme na základe našich výsledkov odporučiť nižšie dávkovanie probiotického preparátu od 1. týždňa 5,04 g ( $5,04 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na skupinu), čo predstavuje 8,4 g ( $8,4 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na 100 ks kurčiat) a od druhého týždňa do konca výkrmu 2,10 g ( $2,10 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na skupinu), čo predstavuje 3,5 g ( $3,5 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na 100 ks kurčiat). Vyššia dávka probiotického preparátu 16,8 g probiotického preparátu od 1. týždňa ( $16,8 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na 100 kurčiat) a od druhého týždňa do konca výkrmu 7,0 g ( $7,0 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na 100 ks kurčiat) pôsobí na úžitkovosť kurčiat depresívne.

Pozitívny vplyv probiotického preparátu sa potvrdil aj zastúpení jednotlivých mikroorganizmov v črevnej mikroflóre v neprospech koliformných mikroorganizmov a baktérií *Escherichia coli*. Na základe našich výsledkov a hlavne výsledkov citovaných autorov sekundárna kontaminácia mäsa po zabití je hlavne z povrchu jatočného tela a z obsahu tráviacej sústavy, v konečnom dôsledku je povrch tela do značnej miery kontaminovaný baktériami z trusu. Z uvedeného dôvodu môžeme konštatovať, že aplikácia probiotického preparátu priaznivo ovplyvnila aj mikrobiologickú kvalitu mäsa.

## 6 ZÁVER

V práci sme použili tri probiotické preparáty vo výkrme kurčiat, ktoré sme aplikovali v rôznych koncentráciách, ktoré vychádzali z odporúčania výrobcu a skutočného počtu mikroorganizmov v probiotickom preparáte. V pokuse 1 bol aplikovaný probiotický preparát na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus Licheniformis* do krmiva. V pokuse 2 bol aplikovaný probiotický preparát na báze *Lactobacillus fermentum* do vody. V pokuse 3 bol aplikovaný probiotický preparát na báze *Enterococcus faecium* do vody v rôznych dávkach.

V experimente s probiotickým preparátom na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus Licheniformis*, ktorý bol aplikovaný do krmiva sme zistili, že prídavok probiotického preparátu štatisticky nepreukazne ovplyvnil CPM v prsnej svalovine kurčiat ( $1,08 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>- kontrolná skupina a  $7,41 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>- pokusná skupina), sa štatistiky preukazne ( $P < 0,05$ ) prejavil na znížení počtu koliformných baktérií ( $9,27 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>- kontrolná skupina a  $6,10 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>- pokusná skupina). Taktiež sme zistili preukazne vyšší počet baktérií *Escherichia coli* v prsnej svalovine kontrolnej skupiny ( $5,4$  KTJ.g<sup>-1</sup>) ako v pokusnej skupine ( $0,85$  KTJ.g<sup>-1</sup>). V chýmuse kurčiat sme zistili štatisticky preukazný vplyv prídavku probiotického preparátu v počte laktobacilov, kde v kontrolnej skupine bolo  $4,64 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a v pokusnej skupine  $9,73 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>. Uvedené zmeny mikroflóry tráviacej sústavy sa prejavili na zvýšení živej hmotnosti pred zabitím nepreukazne (kontrolná skupina 1233,1 g a pokusná skupina 1265,0 g).

V experimente s prídavkom *Lactobacillus fermentum* do vody sme analyzovali aj vplyv rôzneho dávkovania probiotického preparátu.

Pri hodnotení mikrobiologickej kvality prsnej svaloviny sme zistili v pokusných skupinách I. a II. štatisticky preukazný až vysoko preukazný vplyv prídavku probiotického preparátu na CPM (kontrolná skupina  $1,84 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusná skupina I.  $1,1 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $5,3 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Taktiež sme zistili preukazne nižší počet koliformných baktérií v prsnej svalovine (kontrolná skupina  $7,56 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusná skupina I.  $6,06 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $4,39 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>).

Aplikácia probiotického preparátu sa štatisticky preukazne prejavila na znížení počtu baktérií *Escherichia coli* v chýmuse kurčiat (kontrolná skupina  $2,08 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>,



pokusná skupina I.  $1,48 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $1,14 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Naopak prídavok probiotického preparátu mal preukazný vplyv na zvýšenie počtu laktobacilov v chýmuse (kontrolná skupina  $2,6 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusná skupina I.  $8,57 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $1,27 \cdot 10^7$  KTJ.g<sup>-1</sup>).

Vplyv rôznej aplikácie probiotického preparátu sa prejavil na zvýšení živej hmotnosti pred zabitím (kontrolná skupina 1632,8 g, pokusná skupina I. 1658,6 g a pokusná skupina II. 1750,6 g) avšak štatisticky preukazný rozdiel sme zistili len medzi kontrolnou a pokusnou skupinou II.

V experimente na báze *Enterococcus faecium* bol probiotický preparát kurčatám podávaný do pitnej vody počas celého obdobia výkrmu. V pokusnej skupine I. sme od 1. týždňa aplikovali 5,04 g ( $5,04 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na skupinu) probiotického preparátu a od druhého týždňa do konca výkrmu 2,10 g ( $2,10 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na skupinu) probiotika v rozdielnych objemoch pitnej vody. V pokusnej skupine II. sme aplikovali 10,08 g probiotického preparátu od 1. týždňa ( $10,08 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na skupinu) a od druhého týždňa do konca výkrmu 4,20 g ( $4,20 \cdot 2 \cdot 10^{10}$  zárodkov *Enterococcus faecium* na skupinu) v rozdielnom objeme pitnej vody.

Pri hodnotení mikrobiologickej kvality prsnej svaloviny sme zistili v pokusných skupinách I. a II. štatisticky preukazný až vysoko preukazný vplyv prídavku probiotického preparátu na CPM (kontrolná skupina  $1,74 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusná skupina I.  $1,03 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $4,05 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Taktiež sme zistili preukazne nižší počet koliformných baktérií v prsnej svalovine (kontrolná skupina  $5,65 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusná skupina I.  $2,47 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $4,28 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>).

Aplikácia probiotického preparátu sa štatisticky preukazne prejavila na znížení počtu baktérií *Escherichia coli* v chýmuse kurčiat (kontrolná skupina  $1,9 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusná skupina I.  $1,3 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $8,88 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Naopak prídavok probiotického preparátu mal preukazný vplyv na zvýšenie počtu laktobacilov v chýmuse (kontrolná skupina  $1,4 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>, pokusná skupina I.  $3,02 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> a pokusná skupina II.  $3,6 \cdot 10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup>).

Aplikácia probiotického preparátu na báze *Enterococcus faecium* sa prejavila štatisticky preukazne na vyššej živej hmotnosti kurčiat pred zabitím kontrolná skupina 1827,25 g, pokusná skupina I. 2041,20 g a pokusná skupina II. 2012,40 g.

Na základe výsledkov riešenia doktorandskej práce môžeme konštatovať, že aplikácia probiotického preparátu do krmiva nepriniesla očakávané výsledky, pravdepodobne z dôvodu čiastočnej inaktivácie probiotických baktérií vysokými teplotami pri granulácii krmiva.

Na základe analýzy výsledkov pri aplikácii probiotického preparátu na báze *Lactobacillus fermentum* môžeme konštatovať, že pre zabezpečenie vyššej intenzity rastu a priaznivejší pomer mikroorganizmov v tráviacej sústave je vhodnejšia rovnaká aplikácia probiotického preparátu počas celého obdobia výkrmu ako zmeny dávkovania v priebehu výkrmu kurčiat.

Na základe analýzy výsledkov pri aplikácii probiotického preparátu na báze *Enterococcus faecium* môžeme konštatovať, že nižšia dávka probiotického preparátu mala priaznivejší vplyv na živú hmotnosť pred zabitím. Vyššia dávka probiotického preparátu na báze *Enterococcus faecium* pôsobila na intenzitu rastu depresívne.

Aplikácia všetkých analyzovaných probiotických preparátov priaznivo ovplyvnila zastúpenie črevnej mikroflóry a tiež mikrobiologickú kvalitu mäsa.

## 7 POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ASAHARA, T. - NOMOTO, K. - WATANUKI, M. - YOKOKURA, T. 2001. Antimicrobial activity of intraurethrally administered probiotic *Lactobacillus casei* in a murine model of *Escherichia coli* urinary tract infection. In *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, Vol. 45, p. 1751–1760.
2. FRIC, P. 2002. Probiotics in Gastroenterology. In *J. Gastroenterol.*, Vol. 40, 2002, no. 3, p. 197-201.
3. FULLER, R. 1992. *Probiotics. The sciences basis*. 1<sup>st</sup> edition. London : Chapman & Hall, 1992, p. 398.
4. GIL DE LOS SANTOS, J. R – STORCH, O. B. – GIL-TURNES, C. 2005. *Bacillus cereus* var. *toyii* and *Saccharomyces boulardii* increased feed efficiency in broilers infected with *Salmonella enteritidis*. In: *British Poultry Science*. roč. 46, 2005, č. 4, p. 494-497.
5. HAKKINEN, M. - SCHNEITZ, C. 2000. Effect of commercial competitive exclusion product against *Campylobacter jejuni*. In *Brit. Poult. Science*. Vol. 40, 2000, no. 5, p. 619-621.
6. HANG'OMBE, B. M. – SHARMA, N. R. – SKJERVE, E. – TUCHILI, L. M. 1999. Isolation of Bacteria during processing of Chicken Carcasses for the Market in Lusaka, Zambia. In *Veterinarski arhiv*. Published in Croatia, 1999, no. 69, (4), p. 191-197, ISSN 1331-8055.
7. HEJLOVÁ, Š. 1997. *Mikrobiológia potravín*. České Budejovice, Jihočeská univerzita, 1997, s. 81-94, ISBN 80-7040-254-7.
8. HOLZAPFEL, W. H. - HABERER, P. - GEISEN, R. et al. 2001. Taxonomy and Important Features of Probiotik Microorganisms in Food and Nutrition. In *Am. J. Clinic. Nutrit.*, Vol. 73, 2001, p. 365-373.
9. HORNÍK, A. 1996. *Špeciálna mikrobiológia*. Nitra : SPU, 1996, s. 63-72. ISBN 80-7137-301-X.
10. ISHIBASHI, N. - YAMAZAKI, S. 2001. Probiotics and Safety. In *Am. J. Clinic. Nutrit.*, Vol. 73, 2001, no. 2, p. 465-470.
11. KAČÁNIOVÁ, M. 2005. *Bacillus subtilis* a *Bacillus Licheniformis* ako probiotikum vo výžive kurčiat. *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín. 1. vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou*. Nitra, SPU, 2005, CD, Zborník abstraktov. ISBN 80 – 8069.
12. LEE, Y. K - KANG, M. S. - WOO, Y. K. et al. 2001. Competitive Exclusion Against *Salmonella gallinarum* of *Salmonella enteritidis* Infected Chickens. In *J. of Vet. Sci.*, Vol. 2, 2001, no. 1, p. 33-36.
13. LILLEY, D. M. – STILLWELL, R. H. 1995. Probiotics. Growth Promoting Factors Produced by Microorganism. In *Science*, Vol. 147, 1995, p. 747-748.
14. MEAD, G. C. 2000. *Bacteria in the gastrointestinal tract of birds*. In *Gastrointestinal Microbiology*. Vol. 2, R. I. Mackie, B. A. White, R. E. Isaacson (ed.). London U.K. : Chapman and Hall, 2000, p. 216-240, ISBN 0412-98361-3.
15. MIČAN, P. 1993. Probiotika a konkurenční exkluze salmonel v chovech drúbeže. In *Veterinárství*. roč. 63, 1993, č. 11, s. 417- 421.
16. MURRY, JR. A. C. – HINTON, A. JR. – MORRISON, H. 2004. Inhibition of Growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Clostridia perfringens* on Chicken Feed Media by *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus plantarum*. In *International Journal of Poultry Science*. 2004, no. 3, 9 p. 603-607.
17. MURPHY, L. – DUNNE C. – KIELY, B. 1999. IN VIVO TAUXE, R.V. 1999. Forward: transmission of human assessment of potential probiotic *Lactobacillus*

bacterial pathogens through poultry (Banquet salivarius strains: evaluation of their establishment, address). In *Colonisation Control of Human persistence, and localisation in the murine Bacterial Enteropathogens* ed. Blankenship, L.C. p. gastrointestinal tract. *Micro Ecol Health Dis.*, 11: XV-XXIII. New York: Academic Press. 149-57. Vescovo, M., S. Torriani, F. Dellagilo and V. Bottazzi, 1999.

18. PERDIGON, G. - FULLER, R. - RAYA, R. 2001. Lactic acid Bacteria and their effect on the immune System. In *Curr. Issues Intest. Microbiol.*, 2001, no 2, p. 27–42.
19. RABSCH, W. – HARGIS, B. M. – TSOLIS, R. M. et al. 2000. Competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* by *Salmonella gallinarum* in poultry. Emerging In: *Infect. Dis.*, Vol. 6, 2000, no. 5, p. 443-448.
20. REID, G. - BRUCE, A.W. - FRASER, N. et al. 2001. Oral probiotics can resolve urogenital infections. In *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2001, no. 30, p. 49-52.
21. SIEZEN, R. J. - VAN ENCKRVORT, F. H. - KLEERENEZEN, M. - TEUSINK, B. 2004. Genome data mining of lactic acid bacteria the impact of bioinformatics. In *Curr. Opin. Biotechnol.*, Vol. 15, 2004, no. 2, p. 105-115.
22. TANNOCK, G.W. 2005. Probiotics and probiotics. Scientific aspects. Caister Academic Press : Otago, 2005, p. 230, ISBN 1-904455-01-8.

## 8 PUBLIKOVANÉ PRÁCE SÚVISIACE S PROBLEMATIKOU

1. **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - KAČÁNIOVÁ, M. - ČUBOŇ, J. 2003. Mikrobiologická kvalita kozieho mlieka z ekologického a konvenčného chovu. In: *Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe*. Nitra : SPU, 2003, s. 399-400, ISBN 808069-295-5.
2. **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - KAČÁNIOVÁ, M. - ČUBOŇ, J. 2004. Microbiological quality of goat milk from ecological and conventional breeding. In: *Journal of central european agriculture*. Vol. 5, 2004, no 1, p. 73.
3. **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - KAČÁNIOVÁ, M. - ČUBOŇ, J. - HAŠČÍK, P. 2004. Mikrobiologická kvalita hydinového mäsa po aplikácii probiotika. In: *Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe*. Nitra : SPU, 2004, s. 416-458, ISBN 80-8069-488-6.
4. **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - KAČÁNIOVÁ, M. - ČUBOŇ, J. - HAŠČÍK, P. 2004. Microbiological quality of poultry meat after probiotics application. Topical tasks solved in agro-food sector. Nitra, 2004, p. 65, ISBN 80-8069-477-8.
5. **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - ČUBOŇ, J. 2005. Mikrobiologická kvalita kravského mlieka z ekologického a konvenčného chovu CD. In: *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín*. Nitra : SPU 2005, Zborník vedeckých prác z I. Vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou. ISBN 80-8069-614-4.
6. MINDEK, S. - KAČÁNIOVÁ, M. - WEIS, J. - **KOŠŤÁLOVÁ, D.** 2003. Mikrobiologická kvalita mäsa husí. In *Rizikové faktory potravinového reťazca*. Nitra, 2003, s. 101-102, ISBN 80-8069-282-3.
7. KAČÁNIOVÁ, M. - MINDEK, S. - HAŠČÍK, P. - **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - PETROVÁ, J. 2004. Microbiological quality of will duck meat. In: *Rizikové faktory potravinového reťazca*, Nitra, 2004, p. 98-100, ISBN 80-8069-415-X.
8. KAČÁNIOVÁ, M. - ANDREJI, J. - **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - STRÁŇAI, I. - PETROVÁ, J. 2004. Microbiological quality of fish meat In *Rizikové faktory potravinového reťazca*. Nitra, 2004, s. 101-103. ISBN 80-8069-415-X.
9. ČUBOŇ, J. - HAŠČÍK, P. - MOJTO, J. - KAČÁNIOVÁ, M. - VAGAČ, V. - **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - PAVLIČOVÁ, S. 2004. Vplyv mliečnanu sodného na mikrobiologické, fyzikálne a zmyslové vlastnosti hovädzieho masa. In *Acta fytotechnica et zootechnica 3*. Nitra : SPU, 2004, s. 62-66.
10. ČUBOŇ, J. - HAŠČÍK, P. - VAGAČ, V. - KAČÁNIOVÁ, M. - HLUCHÝ, S. - PAVLOVIČOVÁ, S. - HORŇANOVÁ, Ľ. - **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - KOŽUCH, J. 2005. Kvalita mäsa mladého hovädzieho dobytku z ekologickej a konvenčnej produkcie. In: *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín*. Nitra : SPU, 2005, s. 47, ISBN 80-8069-612-8.
11. ČUBOŇ, J. - MOJTO, J. - HAŠČÍK, P. - KAČÁNIOVÁ, M. - **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - VAGAČ, V. - PAVLIČOVÁ, S. - KOŽUCH, J. 2005. Vplyv aplikácie mliečnanu sodného na kvalitu mladého hovädzieho mäsa. In: *Pol'nohospodárstvo*. 2005, č. 11, s. 580 -585.
12. ČUBOŇ, J. - KADLEČÍK, O. - KAČÁNIOVÁ, M. - **KOŠŤÁLOVÁ, D.** - VAVRIŠÍNOVÁ, K. - HAŠČÍK, P. - LÁTEČKOVÁ, A. - BYSTRICKÁ, J. - UBREŽIOVÁ, I. - BOBKO, M. 2007. Analýza procesu zrenia a technologických vlastností mäsa volov pinzgauského plemena z pastevného výkrmu a po intenzívnom dokrme. In *Acta fytotechnica et zootechnica 1*. Nitra : SPU, 2007, s. 20-23.