

## Úloha laktobacilov v prevencii salmonelových infekcií u hydiny

Salmonelóza v súčasnosti predstavuje vážny ekonomický aj chovateľský problém v chove hydiny. Chronické a asymptomatické infekcie sú spôsobené ubikvitárnym výskytom salmonel v prostredí, pretrváváním v bunkách lymfatického systému, s ich rezistenciou, prežívaním a množením vo zvyškoch krmiva a v podstielke. Chronické infekcie vedú ku kolonizácii črevného traktu a orgánov zvierat salmonelami. Extrémne vnímavé na infekciu sú kurčatá v čase liahnutia do tretieho dňa života (Koščová, 2006). Vekom sa vnímavosť zvierat na infekciu znižuje. Tráviaci trakt čerstvo vyliahnutých kurčiat sa rýchle obsadzuje mikroflórou prítomnou v prostredí. Zdrojom salmonel aj iných mikroorganizmov ako sú *E. coli*, laktobacily a ďalšie môže byť už žltkový vak kurčiat, prostredie, používané materiály a nástroje, cirkulujúci vzduch a bacilonosiči (ľudia, hľadavce, hmyz...).

Gastrointestinálny trakt kurčiat sa osídľuje rýchlo po vyliahnutí a predstavuje dôležitú bariéru pred patogénnymi mikroorganizmami. Ku kolonizácii mikroorganizmami dochádza od prvého dňa života do štyroch týždňov veku. Asi 90% mikroflóry zdravých kurčiat tvoria laktobacily, bifidobaktérie a druhy rodu *Bacteroides*. Pred prvým prijatím potravy a vody črevná mikroflóra kurčiat pozostáva hlavne z laktózopozitívnych koliformných baktérií, streptokokov a klostrídií. Po 24 hodinách sú ešte počty laktobacilov nízke ale od 3. dňa veku sa s klostrídiami, koliformnými baktériami a fekálnymi streptokokmi stávajú dominantnou mikroflórou (Koščová, 2004).

Laktobacily majú dôležitú úlohu v regulácii črevnej mikroflóry hydiny. Ich počty sú najvyššie v hrvoli a slepých črevách asi  $10^9$  živých buniek v 1 g tráveniny. V žalúdkoch a tenkom čreve hydiny sú laktobacily zastúpené tiež pomerne vysokými počtami (okolo  $10^8$  v 1 g.). Viacerí autori opísali schopnosť laktobacilov inhibovať rast patogénnych aj podmienene patogénnych mikroorganizmov vrátane salmonel a patogénnych *E. coli* v tráviacom trakte hydiny (Nemcová, 2003). Preto sú laktobacily najčastejšie používanými produkčnými mikroorganizmami pri príprave probiotík.

Probiotiká sú biopreparáty obsahujúce živé bunky alebo metabolity stabilizovaných autochtónnych mikroorganizmov jednotlivých druhov zvierat a ľudí, ktoré ovplyvňujú optimálne osídlenie a zloženie črevnej mikroflóry a stimulujú tráviace procesy a obranyschopnosť organizmu. Mechanizmus účinku probiotík úzko súvisí s vlastnosťami produkčných kmeňov (Nemcová, 1997).

Významnou vlastnosťou probiotík je inhibícia kolonizácie tráviaceho traktu patogénnymi mikroorganizmami. Existuje súťaž medzi patogénnou a prirodzenou mikroflórou o aderenčné miesta na črevnej mukóze a produkcia inhibičných látok. Schopnosť aderenencie a prežívania probiotického bakteriálneho kmeňa úzko súvisí s jeho pôvodom. Autochtónne (hostiteľovi vlastné) kultúry lepšie kolonizujú epitel, zatiaľ čo kmene allochtónne (hostiteľovi nevlastné) bývajú často potláčané interakciami mikrobiálneho spoločenstva alebo sú eliminované obrannými mechanizmami hostiteľa.

Súťaž o živiny na epitely čreva, ktoré môžu byť rastovými substrátmi tak pre probiotické ako aj pre patogénne kmene, je tiež jedným z faktorov, ktorý vplýva na kolonizáciu sliznice čreva. Túto súťaž v prospech laktobacilov možno podporiť rastovými substrátmi ako sú laktóza, maltodextrín, fruktózo-oligosacharidy, železo, horčík a ďalšie.

Produkcia inhibičných látok, ktoré v prípade laktobacilov predstavujú laktoperoxidázo-tiokyanátový systém, toxické metabolity kyslíka, organické kyseliny, efekt pH, bakteriocíny. Tieto metabolity vedú k bakteriostatickému alebo bakteriocídnemu účinku a sú dôležitou súčasťou konkurenčných vzťahov medzi mikroorganizmami v danom ekosystéme. Napr. na laktoperoxidázo-tiokyanátovom systéme (LPS) mlieka je založené aj potlačenie množenia a prežívania mikroorganizmov v čerstvom mlieku od zdravých dojníc. LPS je bakteriostatický

pre *Lactobacillus lactis* a bakteriocídny pre *E. coli* pričom mlieko skysne až po určitom čase pri vhodnej teplote a samo je schopné zničiť kontaminujúcu mikroflóru.

Produkcia organických kyselín je považovaná za primárny regulátor mikrobiálnej aktivity čreva zvierat. Kyselina mliečna, charakteristický fermentačný produkt laktobacilov, môže redukovať pH na hladinu pri ktorej sa inhibuje alebo ničí rast patogénnej mikroflóry. Len málo baktérií je schopných rásť pri pH nižšom ako je prahová hodnota pH pre laktobacily (3,8). Hranica pH, umožňujúca začiatok rastu G- mikroorganizmov je väčša viac ako 4,4 salmonely (4,0 – 4,4), *E. coli* (4,4), pre G+ mikroorganizmy je väčšinou viac ako 4,7. Len *Staphylococcus aureus* má (4,0). Je popísaný synergický inhibičný efekt kyseliny mliečnej a octovej, produkovanými laktobacilmi, voči *E. coli* a *Salmonella enteritidis*.

Bielkovinové aj nebielkovinové substancie produkované laktobacilmi s bakteriocídnym alebo bakteriostatickým účinkom majú obmedzené spektrum inhibície len v rámci rodu alebo taxonomicky blízke rody. Ale existujú kmene, ktoré produkujú inhibičné látky na široké spektrum patogénnych baktérií. Okrem týchto látok bola u laktobacilov popísaná aj antienterotoxická aktivita, dekonjugácia žlčových kyselín, aktivácia makrofágov a antitumorová aktivita (Nemcová, 1997).

Nemcová a kol. (2003) izolovali 100 kmeňov laktobacilov z gastrointestinálneho traktu domácej dospelej hydiny schopných rásť v 0,3 % prostredí žlčových kyselín a žalúdočnej šťavy (pH 2,5). Kmene boli senzitívne na väčšinu testovaných antibiotík. Tridsať z vybraných kmeňov vykazovalo inhibičnú aktivitu *in vitro* voči *Salmonella enterica* ser. *enteritidis* a *Salmonella dusseldorf*. Desať kmeňov z testovaných laktobacilov vybrali podľa najväčších inhibičných zón a testovali ich na agregáčnú a koagregačnú schopnosť (viazať sa s proteínom vlastným aj cudzím). Táto schopnosť laktobacilov zvyšuje ich kolonizačný potenciál v gastrointestinálnom trakte kurčiat. Vybrali tri kmene, z nich dva vykazovali vysokú produkciu kyseliny mliečnej a octovej. Vybraný kmeň *Lactobacillus fermentum* CCM 7158 testovali v lyofilizovanej aj aktivovanej forme u jednoduchých kurčiat japonských prepelíc na schopnosť kolonizácie čreva a ochranu pred kolonizáciou salmonelami. *Lactobacillus fermentum* CCM 7158 vykazoval veľmi dobré kolonizačné vlastnosti na sliznicu celého tráviaceho traktu (hrvoľ až kolon) a zároveň veľmi dobrú ochranu pred adhérenciou a množením salmonel v tráviacom trakte kurčiat. Tento kmeň bol vybraný ako produkčný kmeň potencovaného probiotického prípravku PROPOUL.

Koščová, (2006) a Mudroňová, (2006) použili tento kmeň v kombinácii s rastlinnými extraktami z oregana a materiny dúšky (Koščová, 2006) a v kombinácii s propionátom zinočnatým (Mudroňová, 2006), ktoré zvyšovali jeho antisalmonelové vlastnosti. Rastlinné extrakty podávané spolu s *Lactobacillus fermentum* CCM 7158, podstatne znížili množstvo *Salmonella enterica* var. *Dusseldorf* v hrvoľi a slepých črevách kurčiat a celkom obmedzili výskyt salmonel v pečeni a slezine týchto kurčiat. Propionát zinočnatý neznižoval antisalmonelový účinok *Lactobacillus fermentum* CCM 7158. Naopak, v slepých črevách kurčiat bol zaznamenaný vyšší obsah kyseliny mliečnej a nižšie pH oproti kontrole, ktorej bol podávaný len laktobacilus.

Ševčíková, (2004) uvádza, že experimentálne nízke infekčné dávky *Salmonella enteritidis* nespôsobia klinickú reakciu u hydiny a možno ich porovnať so spontánnou infekciou hydiny v krdli. Rezervoárom salmonel u takto infikovanej hydiny je žltkový vak a granulocyty. *Salmonella enteritidis* je nebezpečná tým, že dlhodobo perzistuje v organizme hydiny bez klinických príznakov. Stres – oslabenie celkovej odolnosti zvierat, môže vyprovokovať aktiváciu a vylučovanie salmonel z latentne infikovaných zvierat.

Elektrónovou mikroskopiou sa dokázalo, že infekcia jednoduchých kurčiat *Salmonella enteritidis* vyvolá nahromadenie heterofilných granulocytov v sliznici slepých čriev, spôsobuje intracelulárne zmeny v monocyto – makrofágovom systéme a spôsobuje jeho deštrukciu. Tieto bunky sú zdrojom infekcie a generalizovaného procesu (infikovanie

orgánov), nakoľko imunitný systém tak malých kurčiat ešte nie je dostatočne vyvinutý, aby mohol infekciu eliminovať.

Ako už bolo uvedené, čerstvo vyliahnuté kurčatá sú extrémne vnímavé na infekciu salmonelami a prvým zdrojom salmonel býva ich žltkový vak, prostredie liahne... Je otázne do akej miery vakcinácia oslabenými kmeňmi salmonel v prvý deň života kurčiat, potlačí perzistentnú infekciu, keďže imunitný systém kurčat'a v tomto veku nie je zrelý. Materské protilátky nezohrávajú podstatnú úlohu v ochrane kurčiat proti salmonelám.

Jednou z možností ozdravenia chovov od salmonel je veľmi skoré obsadenie aderenčných miest na sliznici tráviaceho traktu kurčat'a prirodzenou mikroflórou – laktobacilmi s antisalmonelovou aktivitou, ich podaním čo najskôr po vyliahnutí (napr. postrekom na vajcia v doliachni, namiešaním do krmiva, ktoré sa nasype na papiere v prepravných lieskach). Tiež podávaním laktobacilov nosičiam počas znášky na potlačenie množenia salmonel, *E. coli* a ďalších podmienene patogénnych mikroorganizmov v črevách nosíc (klostrídií...), Tým sa podporí a urýchli konkurenčná schopnosť mikroorganizmov v prospech autochtónnych laktobacilov u samotných nosíc a následne aj u ich potomstva.

Gabriel, (2006) okrem iného uvádza, že probiotiká majú priaznivý vplyv aj na zloženie vaječnej hmoty, na kvalitu hydinových produktov (mäsa, vajec) na ich zloženie aj hygienickú kvalitu (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*). Poznatky o mikroflóre tráviaceho traktu hydiny a jej dôležitosti môžu zaistiť jej efektívne využitie v prospech chovateľov aj spotrebiteľov.

#### Použitá literatúra:

- Gabriel, I., Lessire, M., Mallet, S., Guillot, J.F.: Mikroflóra tráviaceho traktu drúbeže. INRA Francie – World s Poultry Science Journal, vol. 62, 2006. Preklad J. Výmola.
- Koščová, J., Nemcová, R., Gancarčíková, S., Jonecová, Z. a kol.: Probiotiká pomáhajú zdravo rásť. Slovenský chov, 11 / 2004.
- Koščová, J., Nemcová, R., Gancarčíková, S., a kol.: Effect of two plant extracts and *Lactobacillus fermentum* on colonization of gastrointestinal tract by *Salmonella enterica* var. Dusseldorf in chick. Biologia, Bratislava, 61/6, 2006.
- Mudroňová, D., Nemcová, R., Lauková, A., Koščová, J., Strompfová, V., Gyoryová, K., Szunyogová, E., Lazar, G.: Effect of *Lactobacillus fermentum* alone, and in combination with zinc (II) propionate on *Salmonella enterica* serovar Dusseldorf in Japanese quails. Biologia, Bratislava, 61/6, 2006.
- Nemcová, R.: Kritéria výberu laktobacilov pre probiotické účely. Vet. Med. – Czech, 42, 1997.
- Nemcová, R., Guba, P., Gandarčíková, S., Bomba, A., Lauková, A.: Study into the probiotic properties of lactobacilli in poultry. Agriculture, 49, 2003.
- Ševčíková, Z.: The total and local immunity of poultry infected with *Salmonella* spp. Folia Veterinaria, 48, 1, 2004.