

... Janý

**Ministerstvo pôdohospodárstva, životného prostredia
a regionálneho rozvoja SR – Kontaktný bod SR pre vedeckú
a technickú spoluprácu s EFSA**

Univerzitou veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

ZDRAVIE A POHODA ZVIERAT

Medzinárodná vedecká konferencia

Zborník referátov



30. 09. – 01. 10. 2010

KOŠICE, SLOVENSKÁ REPUBLIKA

VEDECKÝ VÝBOR:

Prof. MVDr. Emil Pilipčinec, PhD.
Prof. Ing. Oľga Ondrašovičová, CSc.
Doc. MVDr. Anna Ondrejková, PhD.
Prof. MVDr. Jana Mojžišová, PhD.
Prof. MVDr. Miloslav Ondrašovič, CSc.
Doc. MVDr. Peter Korim, CSc.
Doc. Ing. Ján Brouček, DrSc.
Prof. Dr. Roman Kolácz, PhD.

ORGANIZAČNY VÝBOR:

MVDr. Naďa Sasáková, PhD.
JUDr. Silvia Rolfová
Doc. MVDr. Jana Kotferová, PhD.
MVDr. Katarína Laktičová, PhD.
MVDr. Ján Venglovsý, PhD.
MVDr. Rudolf Hromada, PhD.
MVDr. Jana Mareková, PhD.
MVDr. Gabriela Gregová
MVD. Jana Kišová
MVDr. Marián Prokeš
Ing. Zuzana Bírošová, CSc., MPŽPaRV SR
Ing. Marica Theiszová, PhD., MPŽPaRV SR
Ing. Martina Hanzalíková, MPŽPaRV SR

RECENZENTI:

Prof. MVDr. Jaroslav Legáth, PhD.
Prof. MVDr. Lýdia Čisláková, CSC.

ODBORNÉ TÉMY:

- EFSA – Európsky úrad pre bezpečnosť potravín
- Welfare farmových zvierat
- Vplyv chovateľského prostredia na zdravotný stav zvierat
- Hygiena chovu farmových zvierat a kvalita živočíšnych produktov
- Zdravie zvierat vo vzťahu k verejnému zdraviu

ISBN 978 – 80 – 8077 – 209 – 3

**BAKTERIOCÍN-PRODUKUJÚCE KMENE ENTEROCOCCUS FAECIUM CCM
7420 A AL41 A ICH VYUŽITIE PRI ODCHOVE KRÁLIKOV**

BACTERIOCIN-PRODUCING STRAINS OF *ENTEROCOCCUS FAECIUM* CCM 7420
AND AL41 AND THEIR USE IN RABBITS HUSBANDRY

**Lauková, A., Chrastinová, L., Plachá, I., Strompfová, V., Čobanová, K., Chrenková, M.,
Formelová, Z., Ondruška, L., Jurčík, R.**

¹Ústav fyziologie hospodárskych zvierat SAV, Šoltésovej 4-6, 04001 Košice;

²Centrum výskumu živočisnej výroby; Hlohovecká 2, 95141 Nitra-Lužianky;

Abstrakt

V práci sme zistovali vplyv 2 kmeňov *Enterococcus faecium* (izolátov ÚFHZ SAV) v chove králikov, pričom *E. faecium* CCM 7420 je izolovaný z ekosystému králika a *E. faecium* AL41 je environmentálny izolát. Sledovali sme nasledovné parametre: mikrobiálny profil, fagocytárnu aktivitu a index fagocytárnej aktivity (FA, IFA), hladinu enzymu glutathionperoxidáza (GPx), biochemické a zootechnické parametre. Obidva podávané kmene dosahovali v truse králikov počty do 10^2 KTJ/g počas celého experimentu, čo znamená, že prejavili značnú stabilitu bez ohľadu na ich pôvod. Zaznamenané boli nižšie počty aplikantov v céku než v truse. Zistili sme signifikantný pokles koaguláza-negatívnych i pozitívnych stafylokokov, klostridií i pseudomonad ($P<0.01$) a tiež *E. coli* ($P<0.05$, 0.01). Podávanie kmeňov *E. faecium* výrazne zvýšilo fagocytárnu aktivitu ($P<0.001$) oproti kontrole po celú dobu experimentu a neevokovalo oxidatívny stres. Biochemické hodnoty neboli ovplyvnené. Boli zaznamenané vyššie denné prírastky. Prezentované kmene predstavujú sľubné aditívne baktérie.

Kľúčové slová: králiky; *Enterococcus faecium*; vplyv

Summary

Effect of 2 *Enterococcus faecium* strains (isolates in IAP SAS) was tested in rabbits husbandry; *E. faecium* CCM7420 is rabbits isolate and *E. faecium* AL41 is environmental isolate. Following parameters were searched: microbial profile, phagocytic activity (PA) and index of PA, enzyme glutathionperoxidase (GPx), biochemical and zootechnical parameters. Both strains applied reached up to 10^2 CFU/g in rabbits during whole experiment; it indicates their stability without their origin. In caecum lower counts of applicants were detected than in faeces. Significant reduction of coagulase-negative and positive staphylococci, clostridia and pseudomonads ($P<0.01$) as well as *E. coli* ($P<0.05$, 0.01) was determined. After both strains application, significant increase in PA was found ($P<0.001$) comparing with control during whole experiment. No oxidative stress was evoked. Biochemical values were not influenced. There were higher daily weight gains detected. The strains presented are promising additive bacteria.

Key words: rabbits; *Enterococcus faecium*; effect

Úvod

Králiky predstavujú tzv. malé hospodárske-úžitkové zvieratá. Ich chov mal i má na Slovensku tradíciu s kolísavým trendom odchovu v súvislosti s ich farmovým chovom, avšak s pretrvávajúcim záujmom najmä zo strany tzv. malochovateľov [1]. Majitelia ako aj spotrebiteľia požadujú zdravé zvieratá, a preto sledujúc inovatívne trendy chovu siahajú i po tzv. prírodných aditívach [2, 3]. Inováciu predstavujú i bakteriociny-produkujúce baktérie s probiotickým účinkom, ktoré dokážu podporiť napr. imunitný systém jedinca a tým dosiahnu jeho vyššiu odolnosť pred nežiadúcimi „nástrahami“ najmä v poodstavovom období [2, 4]. Enterokoky sú kyselinu mliečnu produkujúce

baktérie, ktoré sú dostatočne zastúpené v tráviacom systéme králikov [2], a tak ich probiotické využitie pri odchove králikov je najperspektívnejšie. Preto sme sa v našej práci zamerali na zistenie vplyvu 2 kmeňov *Enterococcus faecium* (izolátov nášho laboratória) v chove králikov, pričom *E. faecium* CCM 7420 je izolovaný z ekosystému králika a *E. faecium* AL41 je environmentálny izolát. Sledovali sme nasledovné parametre: mikrobiálny profil, fagocytárnu aktivitu a index fagocytárnej aktivity (FA, IFA), hladinu enzýmu glutathionperoxidáza (GPx), biochemické a zootechnické parametre.

Materiál a metodika

Experimenty sme uskutočnili na jar roku 2009 v spolupráci s Centrom výskumu živočíšnej výroby (CVŽV) v Nitre, ktoré disponuje farmou králikov. Všetky experimenty ako aj umiestnenie zvierat a starostlivosť o zvieratá boli v súlade s veterinárnymi nariadeniami a schválené Štátou veterinárnu a potravinovou správou SR ako aj Etickou komisiou Ústavu fyziológie hospodárskych zvierat a CVŽV. Zvieratá (72) vo veku 5. týždňov (hybrid Hyplus, samce aj samice) boli rozdelené do 2 pokusných skupín (PS) a 1 kontrolnej skupiny (KS), v každej skupine po 24 zvierat. Experiment trval 42 dní resp. 6 týždňov. Zvieratá dostávali granulovanú kŕmnu zmes pre odchov králikov a mali prístup k vode *ad libitum*. Počas 3 týždňov tiež skrmovali čerstvú kultúru bakteriocín-produkujúcich a probiotických kmeňov *E. faecium* CCM 7420 a AL41 v množstve 500 µl na zviera a deň do vody (1.0×10^9 KTJ/ml). Odbery boli robené v 0. resp. 1. deň, po 3. týždňoch podávania (21. deň) a 3 týždňoch nepodávania kmeňov (42. deň). Odoberaný bol trus, krv a na 2. a 3. odber boli zvieratá odporazené (n=3) a odoberané bolo i caecum, appendix a *Musculus longissimus dorsi*. Vzorky boli spracované štandardnou mikrobiologickou metódou a vysievané na agarové selektívne médiá podľa ISO. Kmene na aplikovanie boli pripravené podľa Pogány Simonovej a kol. [2], rovnako aj ďalšie metodiky boli bližšie popísané v ostatne citovanej práci.

Výsledky a diskusia

Obidva podávané kmene dosahovali v truse králikov počty do 10^2 KTJ/g počas celého experimentu, čo znamená, že prejavili značnú stabilitu bez ohľadu na ich pôvod. Ravnako počty enterokokov boli vyrovnané a to aj po skončení podávania daných kmeňov. Kmeň *E. faecium* CCM7420, izolát z králika dosiahol v našom predchádzajúcom experimente počty až 10^3 KTJ/g [2]; naopak kmeň AL41 dosahoval v predchádzajúcom experimente nižšie počty (<1.0) [4]; v ostatnom zmienenom experimente boli v pokuse zaradené zvieratá plemena Hycole, a bola tiež podávaná iná kŕmna zmes, čo by mohlo ovplyvniť kolonizáciu daných kmeňov. Naproti tomu, v céku aplikované kmene i enterokoky dosahovali len menej ako 10^1 KTJ/g. Opakovane zaznamenávame nižšie počty aplikantov v céku než v truse. Inak počty sledovaných baktérií neboli v céku ovplyvnené. V skupinách aplikantov v céku než v truse. Inak počty sledovaných baktérií neboli v céku ovplyvnené. V skupinách s kmeňmi *E. faecium* sme v truse po 3. týždňoch-na 21. deň zaznamenali signifikantný pokles s kmeňmi *E. faecium* sme v truse po 3. týždňoch-na 21. deň zaznamenali signifikantný pokles s kmeňmi *E. faecium* s kmeňom CCM7420 (P<0.01) a na 42. deň teda 3. týždne od ich nepodávania bol zaznamenaný aj ich pokles v skupine s kmeňom CCM 7420 (P<0.05) v porovnaní so zvieratami v skupine s kmeňom AL41 a K. Koaguláza-pozitívne stafylokoky (CPS) v porovnaní so zvieratami v skupine s kmeňom AL41 a K. Koaguláza-negatívnych stafylokokov (CNS), v porovnaní s kontrolou (P<0.01) a na 42. deň teda 3. týždne od ich nepodávania bol zaznamenaný aj ich pokles v skupine s kmeňom CCM 7420 (P<0.05) v porovnaní so zvieratami v skupine s kmeňom AL41 a K. Koaguláza-pozitívne stafylokoky (CPS) v porovnaní so zvieratami v skupine s kmeňom AL41 (P<0.01) na 21. deň. V obidvoch PS došlo na 21. deň ku poklesu zárodkov *E. coli* v porovnaní s K (P<0.05) s pretrvávajúcim poklesom i na 42. deň (P<0.01, P<0.05). Pokles *Clostridium*-like baktérií bol zistený ako u zvierat s kmeňom AL41, tak i s kmeňom CCM7420 (P<0.01). Pseudomónady boli zredukované na 21. deň v skupine s kmeňom AL41 (P<0.01) a na 42. deň v skupine s kmeňom CCM7420 v porovnaní s K i so skupinou AL41 (P<0.01). V appendixe boli zaznamenané pomerne vysoké počty baktérií, avšak nižšie o 2. 74 log cyklu v skupine s kmeňom AL41 oproti K a o 2.54 log cyklu v skupine s kmeňom CCM 7420 oproti K. Antimikrobiálny účinok *E. faecium* na klostrídie, pseudomonády a CPS či CNS uvádzajú aj Pogán

Tonová a kol. [2] a Szabóová a kol. [5]. V ostatnej menovanej práci bol použitý bachtorový kmeň *E. faecium* CCM 4231 v chove králikov. Po podávaní tohto kmeňa boli zredukované aj oocysty *Eimeria* spp. V našej štúdii sme tiež sledovali tento parameter; keďže je ešte v procese vyhodnocovania, rovnako ako aj kvalita brojlerového mäsa, tieto hodnoty tu neudávame. Podávaním kmeňa *E. faecium* CCM 4231 nebola negatívne ovplyvnená kvalita mäsa králikov [6]. Podávanie kmeňov *E. faecium* výrazne zvýšilo FA ($P<0.001$) oproti K po celú dobu experimentu. Tento výsledok považujeme za veľmi významný a po podávaní kmeňa AL41 sme zvýšenie FA zaznamenali aj u kurčiat [7]. Podávanie kmeňov zvieratám neevokovalo oxidatívny stres. Biochemické hodnoty neboli ovplyvnené podávaním daných kmeňov. V kontrolnej skupine uhynuli 3 zvieratá, zatiaľčo v skupine s kmeňom CCM 7420 len 1 zviera a skupina s kmeňom AL 41 bola bez úhybu. V skupine s kmeňom CCM7420 boli zaznamenané vyššie denné prírastky oproti skupine s kmeňom AL41 a K (40.42 g oproti 37.11 resp. 37.18 g). Hodnoty unikavých mastných kyselín (UMK) v céku neboli ovplyvnené; zaznamenaný bol len mierny pokles v hodnotách kyseliny octovej oproti K a v skupine s kmeňom AL41 i kyseliny maslovej.

Záver

Bez rozdielu pôvodu, obidva kmene sa veľmi dobre uplatnili v ekosystéme králikov jednak svojim antimikrobiálnym účinkom ako aj výraznou stimuláciou fagocytárnej aktivity. Môžu sa uplatniť v chove králikov a doporučiť chovateľom ako vhodné výživové doplnky samozrejme po patričných legislatívnych schváleniach.

Práca vznikla v rámci projektu VEGA 2/0008/08 a čiastočne i projektu APVV-0586-07. Za pomoc tiež ďakujeme Dr. V. Parkányimu, Ing.J. Mojtovi a Dr. G. Michlovičovej.

Literatúra

- Rafay, J., Suvegová, K., Chrastinová, L. Príručka chovateľa brojlerových králikov. Králikárska únia, VÚŽV Hlohovec, 2003, s. 3-71.
- Pogány Simonová, M., Lauková, A., Chrastinová, I., Strompfová, V., Faix, Š., Vasilková, Z., Ondruška, L., Jurčík, R., Rafay, J. *Enterococcus faecium* CCM 7420, a bacteriocin PPB CCM 7420 and their effect in the digestive tract of rabbits. Czech Journal of Animal Science 2009, 54, s. 376-386.
- Chrastinová, L., Ondruška, L., Chlebec, I., Parkányi, V., Lauková, A., Simonová, M., Szabóová, R., Strompfová, V. Súčasné trendy vo výžive brojlerových králikov. Zborník referátov z IX. Celostátneho seminára „Nové smery v chove brojlerových králikov“, Praha, 14.11.2007, s. 36-39.
- Lauková, A., Chrastinová, L., Strompfová, V., Pogány Simonová, M., Michlovičová, G., Plachá, I., Čobanová, K., Jurčík, R., Ondruška, L., Parkányi, V. Nový, enterocín M produkujúci kmeň *Enterococcus faecium* AL41 a jeho testovanie v ekosystéme králikov. XXIV. Konferencia Aktuálne smery v chove králikov Nitra, 2008, s. 44-50.
- Szabóová, R., Chrastinová, L., Lauková, A., Havariarová, M., Simonová, M., Strompfová, V., Faix, Š., Vasilková, Z., Chrenková, M., Plachá, I., Mojto, J., Rafay, J. Bacteriocin-producing strain *Enterococcus faecium* CCM 4231 and its use in rabbits. International Journal of probiotics and Prebiotics 2008, 3, s. 77-82.
- Pogány Simonová, M., Lauková, A., Chrastinová, L., Szabóová, R., Mojto, J., Strompfová, V., Rafay, J. Quality of rabbit meat after application of bacteriocinogenic and probiotic strain *Enterococcus faecium* CCM 4231 in rabbits. International Journal of probiotics and Prebiotics 2009, 4, s. 1-6.
- Lauková, A., Strompfová, V., Michlovičová, G., Plachá, I., Čobanová, K., Pogány Simonová, M., Faix, Š. Model experiment testing new enterocin M producing probiotic *Enterococcus faecium* AL41 in chicken. In Intestinal barrier of animals and alternative methods of their influence „Science and practise“ eds. Levkut et al., 2009, s. 27-30. ISBN 978-80-8077-129-4