



Slovenské centrum polnohospodárskeho výskumu v Nitre



Výskumný ústav živočíšnej výroby



Králikárská únia

PROGRAM

XXIV. konferencie

AKTUÁLNE SMERY V CHOVE BROJLEROVÝCH KRÁLIKOV

12. november 2008 SCPV v Nitre

Hlohovská 2, 949 92 Nitra

VPLYV APLIKAČNEJ FORMY NA EFEKTÍVNOSŤ BAKTERIOCINOGENÉHO A PROBIOTICKÉHO KMEŇA *ENTEROCOCCUS FAECIUM CCM7420*

Monika POGÁNY SIMONOVÁ*, Andrea LAUKOVÁ*, Ľubica CHRASTINOVÁ**,
Viola STROMPOVÁ*, Klaudia ČOBANOVÁ*, Iveta PLACHÁ*,
Gabriela MICHLOVIČOVÁ*, Zuzana VASILKOVÁ***

*Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Slovenská akadémia vied, Šoltésovej 4-6, 04001 Košice, Slovensko

**Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, OMHZ, Hlohovská 2, 94992 Nitra, Slovensko

***Parazitologický ústav, Slovenská akadémia vied, Hlinkova 3, 04001 Košice, Slovensko

Abstrakt: Cieľom tejto práce bolo zistiť vplyv nového bakteriocinogénneho a probiotického kmeňa *Enterococcus faecium CCM7420* vyselektovaného na UFHZ SAV v Košiciach. Kmeň CCM7420 bol aplikovaný v rôznej forme – čerstvá kultúra bola podávaná v pitnej vode a lyofilizovaná kultúra bola zapracovaná do krmiva a vody. Počas pokusov boli králiky v dobrej zdravotnej kondicii a priemerné denné prírastky boli v skupine králikov prijímajúcich kmeň CCM7420 vyššie v porovnaní s kontrolnými hodnotami. Najlepšia kolonizácia tráviaceho traktu králikov sa potvrdila v prípade aplikácie čerstvej kultúry CCM7420; nižšie počty kmeňa sa zistili počas aplikácie lyofilizovaného kmeňa CCM7420 zapracovaného do krmiva v porovnaní s ostatnými formami aplikácie. V pokusných skupinách bola zaznamenaná redukcia zárodkov *S. aureus*, ako aj oocystí kokciidií *Eimeria sp.*, a vyššie hodnoty biochemických krvných parametrov, najmä v skupine s čerstvou kultúrou CCM7420. Nízke koncentrácie enzymu GSH-Px v pokusných skupinách svedčia o tom, že aplikácia kmeňa CCM7420 králikom v rôznych formách nevyvolala oxidatívny stres; navyše, preukázal sa aj imunostimulačný efekt kmeňa CCM7420. Vyššia energetická hodnota králičieho mäsa sa zistila pri každej aplikáčnej forme kmeňa CCM7420; ostatné fyzikálno-chemické parametre králičieho mäsa neboli negatívne ovplyvnené. Ďalšie experimenty so zámerom optimalizácie podmienok podávania kmeňa CCM7420 sú v procese testovania.

Kľúčové slová: králik, probiotikum, bakteriocin, aplikácia, mikroorganizmy

Abstract: The aim of this study was to test and compare the application forms (fresh culture in water, freeze-dried culture in pellets and water) of the new bacteriocinogenic and probiotic strain *Enterococcus faecium CCM7420* in rabbits. Increase in body weight of rabbits was achieved after CCM7420 application comparing to control weight. The highest counts of the CCM7420 strain was detected in the gastrointestinal tract of rabbits which received the fresh CCM7420 culture. Decreased levels of faecal *S. aureus* and *Eimeria sp.* oocysts as well were found in rabbits administering CCM7420, compared to control samples. Higher levels of biochemical parameters in blood serum were also observed in experimental groups, mainly in group with fresh CCM7420 culture. The measurement of the low activity of GSH-Px in experimental groups indicated that oxidative stress was not evoked during the experiment; moreover, immunostimulative effect of CCM7420 was noted. Higher energy value of rabbit meat was observed in all CCM7420 application forms; the other physico-chemical parameters in meat were not negatively influenced. Further experiments concerning the conditions and optimization of CCM7420 application to rabbits are processed.

Key words: rabbit, probiotic, bacteriocin, application, microorganisms

ÚVOD

Prírodné substancie – probiotiká, prebiotiká, bakteriocíny, rastlinné extrakty, organické kyseliny tvoria významnú a neoddeliteľnú súčasť výživy v chovoch králikov, či už na Slovensku alebo v iných krajinách, kde chov králikov má dlhú a významnú tradíciu (Pinherio a kol., 2004; Lauková a kol., 2006; Simonová, 2006; Chrastinová a kol., 2007; Simonová a kol., 2007, 2008a,b,c; Bónai a kol., 2008a,b; Cardinali et al., 2008; Kritas a kol., 2008; Szabóová a kol., 2008a,b,c). Aplikácia spomínaných naturálnych látok je opodstatnená aj vzhľadom na vyradenie antibiotických stimulátorov rastu z krmivového reťazca (od 01.01.2006, EÚ). Niektoré prírodné substancie sa vyznačujú antimikrobiálnym účinkom, čo je dôležitá vlastnosť uplatňujúca sa napr. pri udržiavaní resp. modulácii vhodného mikrobiálneho osídlenia tráviaceho traktu. Vplyvom pomnoženia kyselinu mliečnu

produkujúcich baktérií (probiotických mikroorganizmov) alebo priamou aplikáciou oligosacharidov (prebiotik), organických kyselín (vytvorením kyslejšieho pH v tráviacom trakte), ale aj vplyvom priameho antagonistickeho pôsobenia bakteriocínov či rastlinných extraktov dochádza ku zníženému výskytu nežiadúcich mikroorganizmov. Viaceré štúdie poukazujú na pozitívne účinky aplikácie probiotických prípravkov v chove králikov ako sú zvýšený apetít, vyššie prírastky, lepšia konverzia krmiva, lepšia využiteľnosť krmiva; čo sa prejaví aj v kvalite mäsa (vyšší obsah bielkovín, vyššia energetická hodnota mäsa), ale tiež v nižšej mortalite a morbidite, v redukcii nežiaducej mikroflóry a dokonca i v redukcii oocýst kokcidií (Lauková a kol., 2006; Simonová, 2006; Chrastinová a kol., 2007; Simonová a kol., 2007, 2008;a,c); niektorí autori však pri použití probiotik v chove králikov nezaznamenali pozitívne vplyvy (Maertens a kol., 2006; Falcão-e-Cunha a kol., 2007). Na našom pracovisku (Laboratórium živočíšnej mikrobiológie, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Slovenská akadémia vied, Košice, Slovensko) bol izolovaný a preštudovaný bakteriocinogénny kmeň s probiotickým účinkom z rodu *Enterococcus* - *Enterococcus faecium* CCM7420 (pôvodne označený ako EF2019; izolát z trusu králika; Simonová a Lauková, 2004), ktorý bol po laboratórnom otestovaní aplikovaný králikom v rámci modelového pokusu na ÚFHZ, ako aj na farme (v poloprevádzkových podmienkach - čerstvá kultúra podávaná vo vode) v spolupráci s SCPV v Nitre (Simonová, 2006). Zamerali sme sa na kolonizáciu a stabilitu aplikovaného probiotického kmeňa a bakteriálne osídlenie tráviaceho traktu králikov, na počty nežiaducej mikroflóry a výskyt oocýst kokcidií *Eimeria* sp., na zootechnické, biochemické a krvné parametre a na kvalitatívne ukazovatele králičieho mäsa. Tieto parametre sme sledovali aj počas aplikácie kmeňa CCM7420 králikom v lyofilizovanej forme v krmive a vo vode v experimente na jar 2008. Ďalšie experimenty so zámerom optimalizácie podmienok podávania kmeňa CCM7420 sú v procese testovania.

MATERIÁL A METÓDY

Aplikácia kmeňa CCM7420 v rôznej forme sa uskutočnila v dvoch experimentoch v spolupráci s kolegami z Oddelenia malých hospodárskych zvierat SCPV v Nitre; do 1. experimentu bolo zaradených 48 samcov králikov plemena Hy-plus vo veku 5 týždňov – po 24 zvierat v experimentálnej (CCM7420/ČKV - čerstvá kultúra vo vode) aj v kontrolnej skupine (KS/ČK); v jednej klietke boli ustajnené 2 zvieratá. Králikom v experimentálnej skupine bol podávaný rifampicínom značený variant kmeňa CCM7420 (rif^r; 1×10^9 KTJ/ml, kvôli rozlíšeniu od ostatných enterokokov) v dávke $500 \mu\text{l}/\text{zviera/deň}$ v pitnej vode počas 21 dní. Zvieratá boli kŕmené komerčne dostupnou granulovanou kŕmnou zmesou pre odchov králikov (ANPROFEED, VKZ Bučany, Slovensko) a mali prístup k vode *ad libitum*. Experiment sa uskutočnil na jeseň. Kmeň CCM7420 bol aplikovaný králikom aj v lyofilizovanej forme počas 21 dní (rif^r; 1×10^9 KTJ/g), a to v krmive pripravenom na OMHZ, SCPV (CCM7420/LKK) a rozpustený v pitnej vode (CCM7420/LKV); kontrolná skupina (KS/LK) prijíma diétu a pitnú vodu bez príavku kmeňa CCM7420. Experiment sa uskutočnil na jar a trval 42 dní. Zootechnické parametre (konverzia krmiva, priemerné denné prírastky) a zdravotný stav boli sledované denne. Vzorky trusu boli odoberané v nultý resp. 1. deň (začiatok pokusu), potom na 7. deň (týždeň aplikácie), 21.deň (3 týždne aplikácie), 35. deň (2 týždne od ukončenia aplikácie) a 42.deň (koniec pokusu, t.j. 3 týždne od ukončenia aplikácie). Vzorky obsahu slepého čreva boli odoberané po odporazení 3 zvierat z každej skupiny na 21. a 42. deň experimentu v súlade s platnými veterinárnymi predpismi. Vzorky na mikrobiologické vyšetrenie boli spracované štandardnou mikrobiologickou metódou a vysievané na príslušné selektívne média podľa ISO noriem. Bakteriálne počty boli vyjadrené ako log 10 kolónie tvorných jednotiek na gram (KTJ/g). Oocysty kokcidií *Eimeria* sp. boli detegované vo vzorkách trusu, odoberaných na 0., 7., 14., 21. a 42. deň experimentu pomocou flotačnej techniky podľa McMastera (1986). Oocysty boli odčítavané

mikroskopicky a intenzita infekcie bola vyjadrená v počte oocýst na 1 gram trusu (OPG/g). Biochemické parametre - celkové bielkoviny a lipidy (g/l), cholesterol, glukóza a vápnik (mmol/l), enzym glutationperoxidáza (U/ml) ako aj imunologické parametre boli stanovené na 0.-1., 21. a 42. deň v krvi odoberanej z *vena auricularis* s použitím komerčných testov Randox. Fagocytárska aktivita (FA; %) a index FA boli testované modifikovanou metódou podľa Hrubiška (1981). V mäse králikov (*Musculus longissimus dorsi*) sa sledovali fyzikálno-chemické ukazovatele kvality mäsa 48 hodín *post mortem* – pH48, obsah celkovej vody (g/100g), celkové bielkoviny (g/100g), celkový tuk (g/100g), energetická hodnota (KJ/100g). Výsledky boli štatisticky vyhodnotené pomocou testu ANOVA (Tukey podtest).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Počas pokusu boli králiky v dobrej zdravotnej kondícii. Priemerné denné prírastky boli v pokusných skupinách vyššie v porovnaní s kontrolnými hodnotami (Tabuľka č.1); zvýšenie hmotnosti králikov po obohatení kŕmnej dávky probiotickými prípravkami popísali aj iní autori (Matusevičius a kol., 2004). Konverzia krmiva nebola výrazne ovplyvnená aplikáciou testovaného kmeňa.

Dobrá kolonizácia tráviaceho traktu kmeňom CCM7420 sa potvrdila najmä u zvierat ktorým bol podávaný kmeň vo forme čerstvej kultúry v pitnej vode (Tabuľka č. 2; ČKV: 7. deň - 4,32 log₁₀ KTJ/g; 21. deň - 4,34 log₁₀ KTJ/g); počty kmeňa dosahovali 3,3 log₁₀ KTJ/g aj 3 týždne od jeho nepodávania. V slepom čreve sme zaznamenali nižšie počty ČKV než v truse (Tabuľka č.3). V prípade lyofilizovaného kmeňa sme zaznamenali taktiež nižšie počty v truse králikov, čo môže byť vysvetlené aj dlhšou adaptáciou kmeňa v tráviacom aparáte.

Počas aplikácie kmeňa CCM7420 v truse králikov sme zaznamenali vyššie počty enterokokov, čo je výsledkom pomnoženia podávaného kmeňa. Nižšie počty zárodkov *Staphylococcus aureus* a klostridií sme detegovali vo fekálnych vzorkách králikov, ktorým bol podávaný kmeň CCM7420 v čerstvej forme (ČKV; Tabuľka č. 2); počty ostatných sledovaných bakteriálnych skupín neboli výrazne ovplyvnené. Redukčný efekt naturálnych substancií - probiotických mikroorganizmov, bakteriocínov, fytoaditív na nežiadúcu mikroflóru v tráviacom trakte králikov sa potvrdil aj počas našich predoších experimentov (Lauková a kol., 2006; Simonová a kol., 2007, 2008a,b,c; Szabóová a kol., 2008 a,b,c). Aplikáciou čerstvej kultúry kmeňa CCM7420 došlo v slepom čreve k poklesu všetkých sledovaných baktérií v porovnaní s kontrolou skupinou, pričom počty baktérií vo vzorkách slepého čreva boli detegované v nižších počtoch než v truse králikov. V prípade lyofilizovanej kultúry, signifikantné zníženie ($p<0,001$) koaguláza-pozitívnych stafylokokov bolo zaznamenané v obidvoch pokusných skupinách v porovnaní s kontrolou skupinou.

Vyššie hodnoty celkových bielkovín, lipidov a glukózy boli zaznamenané v skupine zvierat ktorým bol aplikovaný kmeň CCM7420/ČKV než v kontrolnej skupine (Tabuľka č. 4); zvýšenie koncentrácie celkových bielkovín, lipidov a glukózy môže súvisieť so zvýšenou resorbciou spomínaných substancií a minerálií v tráviacom trakte. V prípade aplikácie kmeňa v lyofilizovanej forme hodnoty biochemických parametrov krvi neboli výrazne ovplyvnené. Zaujímavé boli však vyššie koncentrácie vápnika a glukózy a nižšie koncentrácie cholesterolu a celkových bielkovín vo všetkých skupinách „lyofilizovanej kultúry“ v porovnaní s „čerstvou kultúrou“; môže to byť vysvetlené iným plemenom zvierat resp. sezónnym vplyvom. Najnižšie koncentrácie enzymu GSH-Px boli zaznamenané počas celého experimentu v pokusnej skupine CCM7420/ČKV ($p<0,01$; $p<0,05$), zatiaľ čo v prípade CCM7420/LKK a LKV boli namerané vyššie koncentrácie tohto enzymu v porovnaní s kontrolou (Tabuľka č. 4); aktivita enzymu GSH-Px (nízke hodnoty) ako aj dobrý zdravotný stav zvierat svedčí o tom, že aplikácia probiotických mikroorganizmov králikom nevyvolala oxidatívny stres. Výrazný imunostimulačný účinok bol zaznamenaný v skupine CCM7420/LKV ($p<0,001$),

kde sa zvýšila FA oproti kontrolným hodnotám (Tabuľka č. 4); imunostimulácia bola detegovaná aj počas aplikácie rastlinných extraktov a probiotického kmeňa CCM4231 králikom (Szabóová a kol., 2008a,b).

Kokcidióza je najrozšírenejším a ekonomicky najzávažnejším parazitárnym ochorením v chove králikov. Keďže úplná eradikácia kokcidiózy v chovoch králikov nie je možná a stále väčší problém znamená aj rozširujúca sa rezistencia na antikokcidiká, hľadajú sa nové cesty pri riešení tejto problematiky. Navyše, Európska Únia plánuje od roku 2010 ukončiť ich používanie, čím sa potvrdzuje potreba a uplatnenie sa iných alternatív. Uvažuje sa o vývoji vakcíny, o aplikácii prírodných látok a o zvyšovaní prirodzenej imunity zvierat šľachtením (Süvegová, 2004). V pokusnej skupine CCM7420/ČKV sme zaznamenali výraznú redukciu v počtoch *Eimeria* sp. oocyst (Graf č.1). Zvýšenie počtu oocyst v skupine CCM7420 na 21. deň experimentu mohlo byť spôsobené ukončením aplikácie kmeňa a následnými zmenami v bakteriálnom zastúpení resp. koncentrácií organických kyselín. Antiparazitické pôsobenie bakteriocinogénnych a probiotických izolátov, ich produktov – bakteriocínov aj rastlinných extraktov sa potvrdilo aj počas našich predošlých experimentov (Simonová a kol., 2007, 2008a,b; Szabóová a kol., 2008a,b). Tieto substancie majú výhodu aj v tom, že počas resp. po ukončení ich aplikácie nezanechávajú reziduá v produktoch živočíshneho pôvodu, na rozdiel od niektorých syntetických prípravkov.

Mäso králikov sa vyznačuje vhodným obsahom a podielom živín zodpovedajúcim zásadám racionálneho stravovania, vzhľadom na nízky obsah sodíka sa konzumácia králičieho mäsa odporúča zaradiť do diéty pacientov s vysokým krvným tlakom a ochoreniami kardiovaskulárneho systému (Hu a Willett, 2002). Kvalita a zloženie králičieho mäsa sú závislé hlavne na zložení krmnej dávky; prídatkom proteínov, aminokyselín resp. tukov do krmiva dochádza k zvýšeným prírastkom a k stimulácii fermentačných procesov, čím sa zvyšuje aj obsah celkového proteínu a celkového tuku v mäse. Pri sledovaní fyzikálno-chemických ukazovateľov kvality mäsa 48 hodín po zabité vo vzorkách svalu *M. longissimus dorsi* sme zistili len nevýrazné zmeny medzi pokusnými a kontrolnými hodnotami (Tabuľka č. 5); výnimku tvoril obsah celkového tuku v skupine CCM7420/ČKV, ktorý bol signifikantne nižší vo vzorkách zvierat z experimentálnej skupiny. Vyššia energetická hodnota mäsa bola detegovaná v skupinách CCM7420/ČKV a CCM7420/LKK v porovnaní s kontrolnými hodnotami; súvisí to aj s nízkym obsahom celkového tuku v mäse. Ostatné kvalitatívne ukazovatele mäsa v prípade lyofilizovaného kmeňa neboli výrazne ovplyvnené.

Vyselektované kmene a testované substancie resp. prípravky predstavujú novú alebo ďalšiu možnosť pre ich aplikačné použitie najmä však v ekosystéme králikov.

ZÁVER

Obohatenie krmnej dávky špecifickými aditívmi na prírodnej báze môže stimulovať nielen fyziologické a biochemické procesy trávenia, ale aj zdravotný stav organizmu a kvalitu produktov. Vyselektovaný a testovaný kmeň je perspektívnym aditívom pre odchov králikov. Čerstvá kultúra kmeňa CCM7420 bola najúčinnejšou aplikačnou formou; mala najvýraznejšie antimikrobiálne a antikokcidiálne vlastnosti; adaptácia a kolonizácia lyofilizovaného kmeňa CCM7420 v tráviacom trakte králikov trvá dlhšiu dobu, čo sa prejavilo aj slabším antimikrobiálnym účinkom, resp. miernymi rozdielmi v prípade biochemických parametrov v porovnaní s čerstvou kultúrou. Ďalšie testovania týkajúce sa optimalizácie lyofilizovanej kultúry CCM7420 – napr. vyššia koncentrácia, kombinácia s inými naturálnymi aditívmi sú predmetom ďalších experimentov.

LITERATÚRA

- Bónai, A., Szendrő, Zs., Maertens, L., Matics, Zs., Fébel, H., Kametler, L., Tornyos, G., Horn, P., Kovács, F., Kovács, M. 2008a: Effect of inulin supplementation on caecal microflora and fermentation in rabbits. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, jun 2008:555-560.*
- Bónai, A., Szendrő, Zs., Matics, Zs., Fébel, H., Pósa, R., Tornyos, G., Horn, P., Kovács, F., Kovács, M. 2008b: Effect of *Bacillus cereus* var. *Toyoii* on caecal microflora and fermentation in rabbits. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, jun 2008:561-566.*
- Cardinali, R., Rebollar, P.G., Dal Bosco A., Cagiola, M., Moscati, L., Forti, K., Mazzone, P., Scicutella, N., Rutili, D., Mugnai, C., Castellini, C. 2008: Effect of dietary supplementation of organic acids and essential oils on immune function and intestinal characteristics of experimentally infected rabbits. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, jun 2008:573-578.*
- Falcão-E-Cunha, L., Castro-Solla, L., Maertens, L., Marounek, M., Pinheiro, V., Freire, J., Mourão, J.L. 2007: Alternatives to antibiotic growth promoters in rabbit feeding: a review. *World Rabbit Science 15:127-140.*
- Hu, F.B., Willett, W.C. 2002: Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *Journal of American Medical Association 288:2569-2578.*
- Chrastinová, L., Ondruška, L., Chlebec, I., Parkányi, V., Lauková, A., Simonová, M., Szabóová, R., Strompfová, V. 2007: Súčasné trendy vo výžive brojlerových králikov. *Zborník referátov IX. Celoštátneho seminára „Nové smery v chove brojlerových králikov“, Praha Česká republika, november 2007:36-39.*
- Kritas, S.K., Petridou, E., Fortomaris, P., Tzika, E., Arsenos, G., Koptopoulos, G. 2008: Effect of probiotics on microorganisms content, health and performance of fattening rabbits: 1. study in a commercial farm with intermediate health status. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, jun 2008:717-722.*
- Maertens, L., Falcão-E-Cunha, L., Marounek, M. 2006: Feed additives to reduce the use of antibiotics. *Recent Advances in Rabbit Science (L. Maertens and P. Coudert Ed.) pp 259-265, ILVO, Melle (Belgium).* Supported by COST.
- Lauková, A., Strompfová, V., Skřivanová, V., Volek, Z., Jindřichová, E., Marounek, M. 2006: Bacteriocin-producing strain of *Enterococcus faecium* EK13 with probiotic character and its application in the digestive tract of rabbits. *Biologia, Bratislava 61:779-782.*
- Pinheiro, V., Alves, A., Mourão, J.L., Guedes, C.M., Pinto, L., Spring, P., Kocher, A. 2004: Effect of mannan oligosaccharides on the ileal morphometry and caecal fermentation of growing rabbits. *Proceedings of 8th World Rabbit Congress, Puebla, Mexico, september 2004:936-941.*
- Simonová, M., Lauková, A. 2004: Isolation of faecal *Enterococcus faecium* strains from rabbits and their sensitivity to antibiotics and ability to bacteriocin production. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 48:383-386.*
- Simonová, M. 2006: Probiotické a bakteriocín-produkujúce baktérie a ich vplyv na fyziológiu trávenia králikov. *Doktorandská dizertačná práca, Košice:8-10.*
- Simonová, M., Chrastinová, L., Szabóová, R., Lauková, A., Strompfová, V., Vasilková, Z., Plachá, I., Faix, Š., Čobanová, K., Chrenková, M., Ondruška, L., Rafay, J. 2007: Bakteriocinogénne kmene *Enterococcus faecium* CCM 7420 a CCM 4231 a ich využitie v chove králikov. *Zborník referátov IX. Celoštátneho seminára „Nové smery v chove brojlerových králikov“, Praha Česká republika, november 2007:36-39.*
- Simonová, M., Marciňáková, M., Strompfová, V., Čobanová, K., Gancarčíková, S., Vasilková, Z., Lauková, A. 2008a: Effect of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG and new isolate

Enterococcus faecium EF2019 (CCM7420) on growth, blood parameters, microbiota and coccidia oocysts excretion in rabbits. *International Journal of Probiotics & Prebiotics* 3(1):7-14.

Simonová, M., Szabóová, R., Chrastinová, L., Lauková, A., Haviarová, M., Strompfová, V., Plachá, I., Faix, Š., Vasilková, Z., Mojto, J., Rafay, J. 2008b: The use of a ginseng extract in rabbits. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, jun 2008:809-813.*

Simonová, M., Chrastinová, L., Lauková, A., Strompfová, V., Faix, Š., Vasilková, Z., Ondruška, L., Jurčík, R., Rafay, J. 2008c: *Enterococcus faecium* CCM7420, bacteriocin PPB CCM7420 and their effect in the digestive tract of rabbits. *World Rabbit Science, zaslané.*

Szabóová, R., Chrastinová, L., Strompfová, V., Simonová, M., Vasilková, Z., Lauková, A., Čobanová, K., Plachá, I., Chrenková, M., Mojto, J., Ondruška, L. 2008a: Combined effect of enterocin CCM4231 and sage in rabbits. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, jun 2008:815-819.*

Szabóová, R., Chrastinová, L., Strompfová, V., Simonová, M., Vasilková, Z., Lauková, A., Plachá, I., Čobanová, K., Chrenková, M., Mojto, J., Jurčík, R. 2008b: Combined effect of bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* CCM4231 and sage in rabbits. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, jun 2008:821-825.*

Szabóová, R., Lauková, A., Chrastinová, L., Simonová, M., Strompfová, V., haviarová, M., Plachá, I., Faix, Š., Vasilková, Z., Chrenková, M., Rafay, J. 2008c: Experimental application of sage in rabbits husbandry. *Acta Veterinaria Brno, v tlači.*

Poděkovanie: Táto práca vznikla za finančnej podpory vedeckej agentúry VEGA (projekt 2/0008/08). Časť výsledkov týkajúca sa aplikácie kmeňa CCM7420 vo forme čerstvej kultúry je súčasťou publikácie s názvom „*Enterococcus faecium* CCM7420, bacteriocin PPB CCM7420 and their effect in the digestive tract of rabbits“, zaslanej do časopisu World Rabbit Science, 2008. Poděkovanie patrí pani M. Bodnárovej (ÚFHZ SAV, Košice) za vynikajúcu odbornú pomoc, ako aj MVDr. R. Jurčíkovi, Ing L. Ondruškovi, MVDr. V. Parkányimu, PhD. a celému personálu (Ústav malých hospodárskych zvierat, SCPV v Nitre) za pomoc pri odberoch materiálu.

Kontaktná adresa: Monika Pogány Simonová, MVDr., PhD., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat Slovenskej akadémie vied, Šoltésovej 4-6, 04001 Košice, e-mail: simonova@saske.sk

Tabuľka č.1 Súhrnné výsledky pokusu s králikmi na farme - zootechnické parametre

	CCM7420/ČKV	KS/ČK	CCM7420/LKK	CCM7420/LKV	KS/LK
Priemerné denné prírastky (g)	40.11	38.29	38.51	38.35	34.86
Konverzia krmiva (za pokus v kg/kg)	3.47	3.32	2.85	2.82	2.78
Mortalita (ks/%)	3/12	1/4	3/12	3/12	7/29

ČKV-čerstvá kultúra podávaná vo vode, KS-kontrolná skupina, ČK-čerstvá kultúra, LKK-lyofilizovaná kultúra spracovaná do krmiva,
LKV-lyofilizovaná kultúra podávaná vo vode, LK-lyofilizovaná kultúra

Tabuľka č.2 Súhrnné výsledky pokusu s králikmi na farme - počty mikroorganizmov v truse

	CCM7420/ČKV	KS/ČK	CCM7420/LKK	CCM7420/LKV	KS/LK
	0.deň				
Enterokoky	5.97 ± 0.91			2.98 ± 0.12	
Kyselinu mliečnu produkujúce bakt.	5.05 ± 0.83			2.33 ± 0.28	
Koaguláza-negatívne stafylokoky	5.07 ± 1.40			2.48 ± 0.20	
Koaguláza-pozitívne stafylokoky	3.04 ± 0.60			2.47 ± 0.88	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.46 ± 0.46			—	
<i>E.coli</i>	7.06 ± 0.62			1.71 ± 0.54	
<i>Clostridium</i> -like species	4.17 ± 1.32			2.81 ± 1.01	
7.deň					
Rifampicínom značený kmeň	4.32 ± 0.34	—	2.80 ± 0.00	< 1.0	—
21.deň					
Rifampicínom značený kmeň	4.34 ± 0.75	—	1.78 ± 0.00	< 1.0	—
Enterokoky	5.63 ± 1.21	4.11 ± 0.08	3.02 ± 0.87	2.81 ± 0.56	2.33 ± 0.60
Kyselinu mliečnu produkujúce bakt.	4.34 ± 0.75	5.56 ± 0.97	4.36 ± 0.38	4.13 ± 0.26	3.56 ± 0.69
Koaguláza-negatívne stafylokoky	5.62 ± 0.30	3.06 ± 0.39	3.98 ± 0.65	3.34 ± 0.50	3.72 ± 0.30
Koaguláza-pozitívne stafylokoky	3.45 ± 0.76	3.08 ± 0.47	3.47 ± 0.80	2.49 ± 0.71	1.22 ± 0.19
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 1.0	1.53 ± 0.92	< 1.0	< 1.0	< 1.0
<i>E.coli</i>	5.63 ± 0.84	5.72 ± 0.87	1.57 ± 0.96	3.42 ± 0.08	1.64 ± 0.46
<i>Clostridium</i> -like species	3.86 ± 0.79	4.19 ± 0.41	2.14 ± 0.18	2.14 ± 0.05	1.98 ± 0.22
42.deň					
Rifampicínom značený kmeň	3.30 ± 0.30	—	< 1.0	< 1.0	—
Enterokoky	3.17 ± 0.38	3.20 ± 0.31	4.03 ± 0.38	3.62 ± 0.63	3.08 ± 1.03
Kyselinu mliečnu produkujúce bakt.	4.84 ± 0.74	3.45 ± 0.19	4.75 ± 0.38	4.49 ± 0.11	4.11 ± 0.60
Koaguláza-negatívne stafylokoky	3.82 ± 0.80	4.01 ± 0.54	3.15 ± 0.13	3.40 ± 0.21	3.55 ± 0.95
Koaguláza-pozitívne stafylokoky	2.53 ± 0.75	2.64 ± 0.81	3.24 ± 0.78	2.76 ± 1.62	1.45 ± 0.78
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.26 ± 0.24	2.36 ± 1.10	1.30 ± 0.00	1.45 ± 0.05	1.00 ± 0.00
<i>E.coli</i>	3.01 ± 0.79	2.47 ± 0.76	2.45 ± 0.87	1.33 ± 0.86	1.18 ± 0.56
<i>Clostridium</i> -like species	3.06 ± 1.29	2.80 ± 1.53	2.57 ± 0.95	3.74 ± 0.55	1.33 ± 0.47

ČKV-čerstvá kultúra podávaná vo vode, KS-kontrolná skupina, ČK-čerstvá kultúra, LKK-lyofilizovaná kultúra spracovaná do krmiva,

LKV-lyofilizovaná kultúra podávaná vo vode, LK-lyofilizovaná kultúra

Tabuľka č.3 Súhrnné výsledky pokusu s králikmi na farme - počty mikroorganizmov v slepom čreve

	CCM7420/ČKV	KS/ČK	CCM7420/LKK	CCM7420/LKV	KS/LK
21.deň					
Rifampicínom značený kmeň	4.43 ± 1.56	—	<1.00	3.35 ± 0.65	—
Enterokoky	<1.00	<1.00	<1.00	2.78 ± 0.00	3.31 ± 0.84
Kyselinu mliečnu produkujúce bakt.	4.23 ± 1.04	5.26 ± 1.10	3.08 ± 0.28	3.40 ± 0.78	
Koaguláza-negativne stafylokoky	2.47 ± 0.50	3.16 ± 0.28	2.44 ± 0.19	2.91 ± 1.07	3.77 ± 0.46
Koaguláza-pozitívne stafylokoky	1.20 ± 0.17	2.65 ± 1.58	1.16 ± 0.23***	1.23 ± 0.27***	2.74 ± 0.79
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1.00	<1.00	< 1.0	< 1.0	< 1.0
<i>E.coli</i>	5.67 ± 2.10	6.24 ± 2.07	<1.00	<1.00	<1.0
<i>Clostridium</i> -like species	1.67 ± 1.15	4.15 ± 1.20	1.95 ± 0.11	1.99 ± 0.17	1.66 ± 0.08
42.deň					
Rifampicínom značený kmeň	2.00 ± 1.41	—	< 1.0	< 1.0	—
Enterokoky	1.00 ± 0.50	<1.00	<1.00	1.79 ± 1.19	<1.00
Kyselinu mliečnu produkujúce bakt.	3.30 ± 0.00	3.33 ± 0.29	4.11 ± 0.47	4.78 ± 0.77	3.72 ± 0.62
Koaguláza-negativne stafylokoky	4.38 ± 0.35	3.36 ± 0.45	2.25 ± 0.11	2.28 ± 0.04	2.21 ± 0.12
Koaguláza-pozitívne stafylokoky	1.89 ± 0.22	2.00 ± 0.14	1.07 ± 0.17	1.29 ± 0.27	1.45 ± 0.78
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1.00	<1.00	1.30 ± 0.00	1.45 ± 0.05	1.00 ± 0.00
<i>E.coli</i>	<1.00	2.26 ± 1.82	<1.00	1.03 ± 0.19	
<i>Clostridium</i> -like species	3.10 ± 0.14	1.67 ± 0.47	1.39 ± 0.29	1.56 ± 0.06	1.64 ± 0.15

ČKV-čerstvá kultúra podávaná vo vode, KS-kontrolná skupina, ČK-čerstvá kultúra, LKK-lyofilizovaná kultúra spracovaná do krmiva,

LKV-lyofilizovaná kultúra podávaná vo vode, LK-lyofilizovaná kultúra

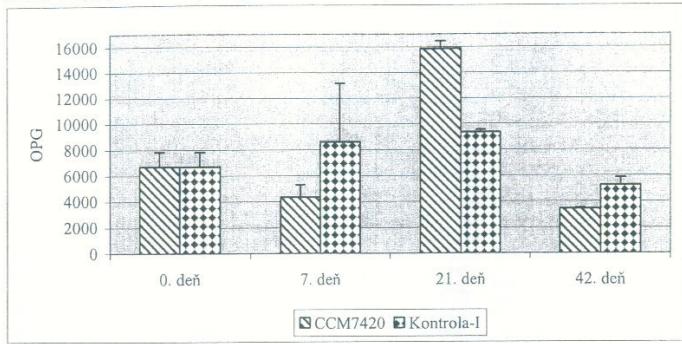
*** p<0,001

Tabuľka č.4 Biochemické a hematologické parametre v krvi králikov

	CCM7420/ČKV	KS/ČK	CCM7420/LKK	CCM7420/LKV	KS/LK
Celkové bielkoviny (FH: 40-85 g/l)					
0.deň	52,9 ± 5,1			52,8 ± 6,6	
21.deň	62,9 ± 6,7	60,1 ± 7,8	51,1 ± 6,1	54,0 ± 5,6	54,7 ± 5,8
42.deň	66,8 ± 4,9***	49,2 ± 2,4	60,6 ± 2,9	55,2 ± 8,4	56,1 ± 8,6
Celkové lipidy (FH: 1,5-9,5 g/l)					
0.deň	7,3 ± 2,9			1,6 ± 0,7	
21.deň	8,7 ± 2,3	6,6 ± 2,9	1,1 ± 0,4	1,6 ± 0,7	1,3 ± 0,4
42.deň	2,2 ± 0,5	3,2 ± 0,7	1,0 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,2
Glukóza (FH: 3-8 mmol/l)					
0.deň	4,9 ± 1,4			9,6 ± 1,4	
21.deň	6,7 ± 1,5	5,9 ± 1,1	7,3 ± 0,9	9,1 ± 2,0	8,2 ± 0,8
42.deň	6,9 ± 0,7*	5,1 ± 1,0	7,0 ± 1,0	8,5 ± 1,6	7,1 ± 0,8
Cholesterol (FH: 1-8 mmol/l)					
0.deň	2,5 ± 0,6			1,5 ± 0,7	
21.deň	2,5 ± 0,7	1,9 ± 0,1	1,4 ± 0,6	1,6 ± 0,7	1,7 ± 0,7
42.deň	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,2	0,6 ± 0,5	0,7 ± 0,4	0,6 ± 0,4
Vápník (FH: 2,4-3,4 mmol/l)					
0.deň	2,6 ± 0,2			2,9 ± 0,0	
21.deň	2,1 ± 0,6	1,5 ± 0,2	2,8 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,7 ± 0,1
42.deň	3,1 ± 0,4	3,3 ± 0,4	2,8 ± 0,2	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,2
Glutation-peroxidáza (U/ml)					
0.deň	20,3 ± 4,2			119,4 ± 49,1	
21.deň	23,2 ± 5,1**	38,9 ± 5,1	141,4 ± 24,1	139,8 ± 32,7	118,9 ± 47,6
42.deň	23,4 ± 2,9*	32,5 ± 6,9	100,3 ± 45,9	111,1 ± 70,4	130,1 ± 46,9
Fagocytárna aktivita (%) / Index fagocytárnej aktivity					
0.deň	ND			52,8 ± 3,4/5,2 ± 0,6	
21.deň	ND		31,2 ± 0,8/2,6 ± 0,1	31,2 ± 0,8/2,7 ± 0,1	32,2 ± 0,6/1,9 ± 0,2
42.deň	ND		33,2 ± 0,7/1,6 ± 0,2	48,8 ± 0,7***/2,5 ± 0,1	35,4 ± 0,5/1,7 ± 0,1

* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001, FH - fyziologické hodnoty, ND - nedetegované

Graf č. 1 Výskyt *Eimeria* sp. oocyst v truse králikov po aplikácii kmeňa CCM7420



Tabuľka č.5 Fyzikálno-chemické ukazovatele králičieho mäsa po aplikácii kmeňa CCM7420 v rôznych formách

Ukazovatele (n = 3)	CCM7420/ČKV	KS/ČK	CCM7420/LKK	CCM7420/LKV	KS/LK
Obsah celkovej vody (g/100g)	74,93 ± 0,32	75,17 ± 0,21	75,37 ± 0,06	75,60 ± 0,46	75,50 ± 0,44
Celkové bielkoviny (g/100g)	22,90 ± 0,36	22,70 ± 0,36	21,83 ± 0,15	21,90 ± 0,20	22,00 ± 0,26
Celkový tuk (g/100g)	1,133 ± 0,058***	3,733 ± 0,456	1,800 ± 0,100	1,467 ± 0,305	1,500 ± 0,200
Voľne viazaná voda (g/100g)	34,15 ± 4,52	34,58 ± 4,58	29,49 ± 6,67	26,30 ± 5,94	33,55 ± 5,19
Obsah celkového popola (g/100g)	1,033 ± 0,058	1,100 ± 0,00	1,000 ± 0,000	1,033 ± 0,058	1,000 ± 0,000
Energetická hodnota (kJ/100g)	426,28 ± 4,00	419,16 ± 0,42	433,53 ± 1,34	423,34 ± 14,86	425,02 ± 11,27
pH 48	5,75 ± 0,08	5,89 ± 0,08	5,56 ± 0,02	5,57 ± 0,04	5,65 ± 0,04
Farba L	39,40 ± 4,73	41,04 ± 7,00	51,96 ± 2,06	48,04 ± 4,16	51,79 ± 1,20
a	1,56 ± 2,13	1,80 ± 1,16	0,50 ± 0,49	1,14 ± 0,49	0,08 ± 0,06
b	6,01 ± 0,60	6,30 ± 1,41	7,46 ± 0,60	6,88 ± 1,16	7,89 ± 0,68

ČKV - čerstvá kultúra podávaná vo vode, KS - kontrolná skupina, ČK - čerstvá kultúra, LKK - lyofilizovaná kultúra spracovaná do krmiva,

LKV - lyofilizovaná kultúra podávaná vo vode, LK - lyofilizovaná kultúra

L - merná svetlosť mäsa, a - spektrum vlnových dĺžok farieb od zelenej po červenú (500 - 700 nm),

b - spektrum vlnových dĺžok farieb od modrej po žltú (446 - 568 nm), *** - p<0,001