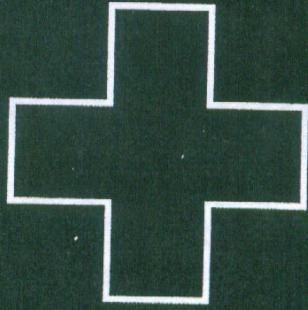


Slovenský veterinársky časopis



Štátnej
veterinárskej a
potravinovej
správe SR



Univerzita
veterinárskeho
lekárstva
Košice

Slovak
veterinary
journal

ISSN 1335-0099

2003, XXVIII: 1



PROBIOTIKÁ A CHOV PSOV

Lauková, A., Stropková, V., Fialkovičová, M.*

Ústav fyziologie hospodárskych zvierat SAV, Šoltésovej 4–6, 040 01 Košice,

*Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 040 01 Košice, Slovenská republika

ÚVOD

V súčasnosti sa stále častejšie stretávame s informáciami ohľadom používania probiotických mikroorganizmov a nás trh je i stále viac zásobovaný produktami s obsahom takýchto mikroorganizmov. Probiotiká sú vlastne živé mikroorganizmy, mikrobiálne prepráty, ale tiež i metabolity stabilizovaných autochtonných mikroorganizmov, ktoré majú posilňujúci účinok na zdravie a celkovú odolnosť hostiteľského organizmu; ovplyvňujú optimálne osídlenie a zloženie črevnej mikroflóry so stimulačným účinkom na tráviace procesy a obranyschopnosť makroorganizmu (Nemcová, 1997). Probiotiká boli úspešne použité ako profylaktiká, ale aj ako terapeutická, resp. post-terapeutická pri tzv. cestovných gastritídach alebo i hnačkových ochoreniach iné etiológie u dospejly ľudskej populácie, ale aj u detí (Mikeš a kol., 1995; Ouwehand, 1999). Avšak pozitívny účinok probiotik bol popísaný aj u zvierat. Odporuča sa používať probiotiká u mláďat prežívavcov počas prvých dní po narodení najmä ako profylaktikum pri hnačkových ochoreniach u teliat, ale aj ako protistresové profylatikum. Preventívne podávanie probiotického kmeňa *Lactobacillus casei* 294/89 gnotobiotickým jahňatám inhibovalo nepriaznivé účinky spôsobené enterotoxigennymi *Escherichia coli*, zmiernilo klinické symptómy hnačky, signifikantne klesol počet zárodkov *E. coli* a významne boli ovplyvnené i patologicko-anatomické nálezy (Bomba a kol., 1996). Používanie probiotík je napr. v chovoch ošípaných stále častejšie uprednostňované pred používaním antibiotík (spomedzi ktorých je stále viac zakazovaných pre ich využitie ako kŕmne aditíva v rámci Európskej legislatívy), najmä pri diagnózach diarhoického syndrómu (Gancarciková a kol., 2002). Potencované probiotiká (t. j. bioprípravky obsahujúce produkčné kmene mikroorganizmov a synergicky pôsobiacich komponentov prirodzeného pôvodu) predstavujú nový koncept pre efektívnejšiu prevenciu a terapiu chorôb mláďat hospodárskych zvierat (Bomba a kol., 2002). Pri odchove hydiny sa taktiež veľmi dobre uplatňujú probiotiká, najmä tie s bakteriocinogénym účinkom na potláčanie, či elimináciu salmonel (Lauková a kol., 2003). Salmonely sú totiž častou hrozobou pri odchovoch úžitkovej hydiny na hydinárskych farmách, ale aj v súkromných malochovoch. Aj pri chove králikov má používanie probiotik svoje opodstatnenie najmä z hľadiska zvýšenia ich imunity

(Skřivanová a kol., 1999). Skrmovanie kyselinu mliečnu produkujúcich baktérií, ktoré sú najviac využívané ako probiotiká (hlavne laktobacy či enterokoky) sa ukázalo byť veľmi osožným i vo výžive psov. Avšak z ostatných rokov sú známe len nepatrné informácie v súvislosti s probiotickými prípravkami, ich typmi a napokon aj s ich účinkom napr. pri klinických ochoreniach psov (Rinkinen a kol., 2000; Stropková a kol., 2002).

V tejto práci by sme chceli predstaviť kmeň *Lactobacillus* sp., izolát z fekálií psa, ktorý spĺňa vlastnosti kvalitného probiotického mikroorganizmu t.j. je dostačne stabilný po kolonizácii na sliznicu čreva, dobre adheruje na intestinálnu mukózu, je stabilný



v prostredí žalúdočno-črevných kyselín, je dobre kultivovateľný a svoje kvality prejavil aj pri niektorých klinických aplikáciach, najmä však pri gastrointestinálnych ochoreniach u psov ako živý per orálne podávaný probiotický kmeň.

MATERIÁL A METODIKA

Lactobacillus sp. AD1 bol izolovaný z fekálií zdravého psa spomedzi 40 izolátov vyselektovaných z 10 psov na selektívnom médiu MRS agar (Merck, Nemecko). Na základe biochemických testov bola potvrdená jeho príslušnosť ku rodu *Lactobacillus*. Tolerancia na žltú bola testovaná v BHI bujón s príslušnou koncentráciou oxgalu (Becton & Dickinson, USA; Oxoid, Veľká Británia). Prežívanie kmeňa pri nízkom pH bolo testované podľa Jina a kol. (1998). Adhézia na mukózne membrány bola sledovaná podľa Ouwehand a kol. (1999) pomocou scintilačného média a rádioaktívne značených bunkových suspenzií z testovaných baktérií. Adhézívna schopnosť bola potom vyjadrená v %, pričom

každý kmeň bol testovaný v štyroch sériach pri troch opakovaniach. Ľudská i psia mukóza boli spracované taktiež podľa Ouwehand a kol. (2002) a Kirjavainen a kol. (1998). Prežívanie a stabilitu kmeňa *Lactobacillus* sp. AD1 sme sledovali na psoch, ktoré sú do testovania zaraďované postupne podľa vyskytujúcich sa diagnóz. *Lactobacillus* sp. AD1 (rifampicin rezistentný mutant) bol aplikovaný per os v koncentráции 109 cfu/ml v roztoku raftilózy. Počty kmeňa AD1 po aplikácii boli sledované na MRS agare s prídomkom rifampicínu (Becton & Dickinson). Vplyv probiotika AD1 na niektoré klinické parametre bol vyhodnotený zatiaľ na 5 psoch, pričom boli sledované hodnoty celkových krvných lipidov, bielkovín, hladina cholesterolu a enzym alianinamnotransferáza. Fekálne boli odoberané vždy pred podaním kmeňa AD1 a potom v týždňových časových intervaloch.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Lactobacillus sp. AD1 neprejavil hostiteľskú špecifitu z hľadiska testovania jeho schopnosti prioritne adhérovať na psiu či ľudskú mukózu. Jeho adhézívna kapacita dosahovala v prípade ľudskej mukózy 2,7 0,9 % a v prípade psej mukózy to bolo 2,1 0,1 %. Aj keď v porovnaní s komerčným humánnym probiotikom *Lactobacillus rhamnosus* GG (34,0 4,0%; Tuomo a kol., 2000) je táto kapacita oveľa nižšia, overovanie prežívania a stability kmeňa AD1 nám potvrdilo, že bol prítomný v tráviačom trakte v množstve 108 až 1010 cfu/ml; t. j. dosahoval počiatocnú koncentráciu aj 7, 14 dní od ukončenia jeho podávania (počas doteraz sledovaného obdobia). Hostiteľskú ašpecificitu v adhézii na mukózne membrány sme zistili aj u enterokokov izolovaných z fekálií psa ako aj z krmiva pre psov (Lauková a kol., 2003). Rinkinen a kol. (2003) pri testovaní *in vitro* adhézie u kyselinu mliečnu produkujúcich baktérií na psiu mukózu zistil, že komerčné probiotiká adhérovali v rozsahu od 0,5 % do 35 %; avšak *Ent. faecium* z preparátu Biobak (Biofarm, Fínsko) pre psov preukázal nižšiu adhézívnu schopnosť na psiu mukózu než humánny *L. rhamnosus* GG.

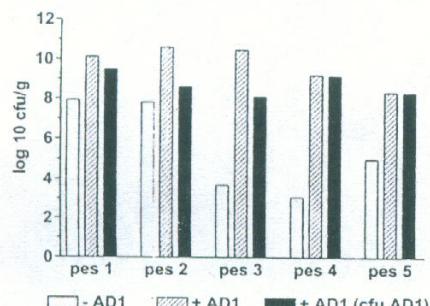
Kmeň AD1 prežíval v kyslom prostredí t.j. počas jednohodinovej kultivácie v médiu - pH 1,0 dosahoval počty 103 cfu/ml; pri pH 2,0 po kultivácii 1 hodinu dosahoval počty 106 cfu/ml a po 2 hodinách a 3 hodinách kultivácie jeho počty dosahovali ešte stále 103 cfu/ml. Pri pH 3 aj po troch hodinách dosahoval kmeň



AD1 počty 108 cfu/ml. Kmeň AD1 je schopný rásť v prítomnosti oxgalu (žľče) v koncentráciach od 1,0 %, 3,0 % až 5,0 %.

Významný je reduktívny účinok kmeňa AD1 na počty *E. coli* vo fekáliach psov. Pri všetkých psoch (5) poklesli počty *E. coli* po aplikácii kmeňa AD1 po týždni o 1 až 6 matematických rádov (z 10^8 – 10^9 cfu/ml na 10^7 –

Obr. 1 Celkové počty laktobacilov a aplikovaného kmeňa Lactobacillus sp. AD1 – The total counts of lactobacilli and the strain of Lactobacillus



-AD1: Celkové počty laktobacilov bez kmeňa AD1; The total counts of lactobacilli without AD1 strain; +AD1: Celkové počty laktobacilov po aplikácii kmeňa AD1; The total counts of lactobacilli after/or during application of AD1 strain; cfu/ml AD1: Celkové počty kmeňa AD1 po aplikácii zvieratám: The total counts of AD1 strain after or during application to animals/dogs

10^3 cfu/ml). U jedného pacienta dokonca boli takmer úplne eliminované počty pseudomonad a *Staphylococcus aureus*; aj keď ich pôvodné počty neboli vysoké (101 cfu/ml). Na dobrú kolonizačnú schopnosť kmeňa AD1 poukazujú i výsledky uvedené na Obr. 1, kedy samotné počty laktobacilov boli zvýšené po aplikácii kmeňa AD1 o niekoľko matematických rádov. A samotný *Lactobacillus* sp. AD1 dosahoval počty od 108 cfu/ml po 109 cfu/ml. Redukciu zárodkov *Salmonella enteritidis* subsp. *Typhimurium* v pokusoch na konvenčných a gnotobiatických myšiach publikoval Sílva a kol. (1999) po aplikácii tzv. bifidového mlieka t.j. mlieka s obsahom probiotického kmeňa *Bifidobacterium bifidum* (Christian Hansen Lab., Dánsko).

Z hľadiska vplyvu na niektoré klinické resp. biochemické parametre, aplikácia kmeňa AD1 znamenala jednoznačne zníženie

hladiny cholesterolu (Tab. 1) alebo neovplyvnila negatívne jeho hodnoty v krvi psov. Rovnako poklesli i hodnoty alanínaminotransferázy (ALT) u 4 z 5 psov. Pokles v hodnotách ALT bol zaznamenaný aj Adawim a kol. (2001) po aplikácii viacerých probiotických kmeňov laktobacilov a bifidobaktérií. Hodnoty celkových lipidov poklesli alebo viac menej zostali nezmenené. Pri nízkom počte vyšetrení z hľadiska celkových proteínov nie je možné urobiť záver.

V tejto štúdii sme sa snažili podať prvotné výsledky z testovania probiotického kmeňa u psov. Táto štúdia pokračuje, rovnako ako aj selekcia probiotických kmeňov vhodných pre ich zavedenie do výživy pre psov. Iste nám dajú za pravdu všetci chovatelia, že existujú mnohé stresové faktory u psov, podobne ako je to i v ľudskej populácii. U psov je to najčastejšie odstav šteniat, diéta, transport, očkovanie, drobné chirurgické zákroky, antibiotická liečba, zmeny počasia. Tieto faktory môžu viesť ku narušeniu rovnováhy črevnej mikroflóry s klinickými prejavmi ako sú napr. hnačka, nevoľnosť, únava. Preto v snahe predchádzať takémuto narušeniu, chovatelia psov vyhľadávajú tzv. bioprípravky ako sú vo svete bežne používané Eagle Pack, Super Premium Pet Food, Eagle Products, Inc. USA alebo FastrackR Canine Microbial Supplement, Conklin, USA; VitacanisR Microbial, Brazília; Paciflor, Prodeta, Vannes, Francúzsko). Našou snahou je ale zásobiť slovenský, teda domáci trh vlastnými probiotickými prípravkami, prípadne ich kombináciou s prebiotikami, či s bakteriocinogénnymi kmeňmi. Probiotické mikroorganizmy v kombinácii s ďalšími prípravkami totiž vedú ku optimalizácii črevnej mikroflóry, ku zníženiu zápacu z výkalom obmedzia vznik prípadných alergických reakcií, nehovoriac o celkovej podpore organizmu a jeho imunitného systému (Huml, 2002) sledujúc konečný zámer t.j. dosiahnuť zdravý chov a spokojných chovateľov.

ZÁVER

Probiotický kmeň *Lactobacillus* sp. AD1, izolát z fekálií zdravého psa bol aplikovaný u psov s rôznymi gastrointestinálnymi ochoreniami. Pri sledovaní niektorých biochemických parametrov, znamenala jeho aplikácia zníženie hladiny cholesterolu u sledovaných zvierat a pokles hodnôt en-



zýmu alanínaminotransferáza. Hodnoty celkových krvných lipidov zostávali viac menej nezmenené. Kmeň AD1 preukázal ašpecifickú schopnosť adhézie na mukózne membrány; t. j. jeho schopnosť adherovať sa bol rovnaká na ľudskú i na psiu mukóznu membránu. Tento kmeň je stabilný v kyslom prostredí, je rezistentný na žľč a jeho kolonizácia je schopnosť, stabilita (14 dní od ukončenia aplikácie dosahovali počty 108 až 109 cfu/ml) ako aj jeho redukčné schopnosť (pokles *E. coli* o 1 až 6 matematických rádov a eliminácia *S. aureus* a pseudomonad v fekáliach psov) ho predurčujú na probiotické použitie pri odchove psov. Samozrejme že jeho testovanie a charakterizácia sú predmetom ďalšieho prebiehajúceho štúdia.

SUMMARY

LAUKOVÁ A., STROMPOFOVÁ, V., FIALKOVÁ Ľ., ČOVÁ, M.: Probiotics in dog's breeding.

Probiotic strain *Lactobacillus* sp. AD1, isolated from the faeces of healthy dog, was fed to dogs suffering from different gastrointestinal disorders. After the application of AD1 strain, reduction of cholesterol and alanine aminotransferase in blood was noted. The values of total lipids were not influenced. Concerning the adhesion capacity of AD1 strain, no host specificity was detected; it means that *Lactobacillus* sp. AD1 showed almost the same adhesion capacity to human as well as to canine mucus. AD1 strain is stable under low pH, tolerant to bile and its colonization ability in the intestinal tract as well as its stability there (14 days from the last AD1 strain application, its counts reached 108 and 109 cfu/ml) and its inhibitory effect against *E. coli*, *S. aureus* and pseudomonads (presented here) indicates its use as probiotic in the dog breeding. Of course, its testing and characterization are the subject of the other temporary studies.

Výsledky boli dosiahnuté za podpory grantu VEGA č. 2/2043/23.

LITERATÚRA u autorky
Došlo 30. januára 2003

Lektor: Nemcová, R.
VÚVM UVL Košice

Tab. 1 Vybrané biochemické hodnoty u psov s ochoreniami tráviaceho traktu pred a po aplikácii probiotického kmeňa *Lactobacillus* sp. AD1 – Selected blood biochemistry in dogs suffered from disorders of the digestive system

Plemeno, pohlavie, vek	TP ¹	TL ²	CHOL ³	ALT ⁴
Nemecký boxer, suka, 3 r.	69,8/75,3	7,8/8,4	8,9/3,1	0,656/0,270
Nemecký ovčiak, suka, 4 r.	86,3/83,9	6,9/6,8	5,7/5,8	2,00/0,835
Malý hladkosrstý pinč, pes, 2 r.	ND	5,0/4,1	5,6/4,0	1,2 /0,796
Maltézsky pinč, suka, 2 r.	ND	ND	4,6/6,5	0,391/0,200
Zlatý retriever, pes	ND	5,0/1,8	4,7/5,5	0,104/0,600

¹Celkové proteíny. The total proteins; ²Celkové lipidy. The total lipids; ³Cholesterol;

⁴alaninaminotransferáza, alanine aminotransferase;