

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



Využití probiotik ve výživě přežvýkavců

Bakalářská práce

Autor práce Barbora Hlůžová

Obor studia Živočišná produkce

Vedoucí práce

prof. Ing. Eva Vlková, Ph.D.

konzultant

Ing. Nikol Modráčková

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Využití probiotik ve výživě přežvýkavců" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16.06.2020 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Evě Vlkové, PhD. za odborné konzultace, cenné rady, trpělivost a čas, který mi věnovala při zpracování této bakalářské práce. Velké poděkování patří i rodině a přátelům za jejich pomoc a oporu, kterou mi poskytovali po celou dobu mého studia a psaní bakalářské práce.

Využití probiotik ve výživě přežvýkavců

Souhrn

Střevní mikrobiota se do značné míry podílí na vývoji a průběžné stimulaci celkové imunity zvířete. Mikrobiota se začíná utvářet již během porodu a je zcela žádoucí, aby se v zažívacím traktu vyskytovaly především pozitivní bakterie. Mezi ně patří například rody *Lactobacillus*, *Enterococcus* nebo *Bifidobacterium*. Pro zlepšení složení mikrobioty trávicího traktu lze použít probiotické doplňky. Po zákazu používání antibiotik v roce 2006 se použití probiotik jako složky krmné dávky významně rozšířilo a díky tomu vzrůstá poptávka na trhu.

Cílem této práce bylo vytvořit ucelený literární přehled nejnovějších poznatků týkajících se využití probiotik ve výživě přežvýkavců. Dále pak provést průzkum na trhu s probiotiky pro přežvýkavce, vytvořit přibližný přehled sortimentu dostupného na českém trhu a prozkoumat povědomí chovatelů o používání probiotik pomocí dotazníkového šetření.

V úvodu praktické části jsem zjišťovala, jaké probiotické produkty se dají zakoupit na českém trhu a které mikrobiální kmeny obsahují. Jako zdroje jsem využila internetové obchody, katalogy, letáky a přímé kontaktování chovatelů. Z průzkumu vyplynulo, že český trh s probiotiky je poměrně omezený a produkty obsahují malé spektrum možných probiotických kmenů, které navíc často nejsou ani přesně specifikovány. Výrobci často udávají vědecky nepodložená zdravotní tvrzení. Vědecké studie prokazující pozitivní efekt probiotických přípravků jsou z hlediska množství zcela nedostatečné.

Ve druhé části jsem vytvořila polostrukturovaný dotazník a oslovila jsem s ním skupinu přibližně 80 chovatelů různých druhů přežvýkavců. Získala jsem 25 vyplněných dotazníků, které bylo možné vyhodnotit. Z šetření vyplývá, že všichni chovatelé údajně vědí, co to jsou probiotika. Více než polovina chovatelů se setkala s podáváním probiotik v chovu. Z vypsaných produktů, které chovatelé používali, se nejčastěji opakoval výrobek Progal a pivovarské kvasnice. V prevenci chovatelé spoléhají především na správnou zoohygienu a krmení. Prevence je základ každého chovu a měl by na ni být kladen velký důraz. I když některé experimenty zaměřené na aplikaci probiotik přežvýkavcům prokazují jejich pozitivní efekt, celá problematika by si zasloužila více pozornosti a vědeckých studií zaměřených zejména na objasnění mechanismů účinků probiotik, která se v chovech reálně používají.

Klíčová slova: Přežvýkavci; mikrobiota; výživa; mikroorganismy; probiotika.

Probiotics in ruminant nutrition

Summary

The intestinal microbiota is largely involved in the development and stimulation of the immunity. Microbiota begins to form during birth and it is desired that primarily positive bacteria is contained in the gastrointestinal tract. These include for example the genera *Lactobacillus*, *Enterococcus*, or *Bifidobacterium*. Probiotic supplements can be used to improve intestinal microbiota. Probiotics are largely used as a feed supplements, especially since antibiotic have been ban as feed additives.

The aim of this thesis was to create a comprehensive literary review from the studies on probiotics in ruminant nutrition. Furthermore, to conduct a Czech market research in probiotics and to examine the awareness of farmers of the use of probiotics using a questionnaire survey.

Market research was focused on: what kinds of probiotic products can be purchased and which microbial strains they contain. As sources were used internet shops, catalogues, leaflets and liaison with farmers. Results showed that the Czech market for probiotics is limited and the products contain a small spectrum of probiotic strains, which are often not clearly specified. Manufacturers frequently use scientifically unsubstantiated health claims. Scientific studies demonstrating the positive effect of probiotic products are utterly inadequate in quantity.

In the second part, a semi-structured questionnaire has been created after addressing a group of approximately 80 breeders of different ruminant species. Twenty-five responses has been received and evaluated. The questionnaires show that all farmers understand what probiotics are. More than half of the responding farmers encountered probiotics in breeding. The most frequent product used by breeders was Progal and brewer's yeast. Regarding prophylaxis, farmers rely primarily on proper zoohygiene and feeding. Prophylaxis is the basis of every farmer and should be given great emphasis. Although some studies on the application of probiotics to ruminants may use non-representative or biased data to prove their positive effect, it is clear that probiotics can be used to improve the composition of gut microbiota, and consequently gut health. It is evident that the issue deserves more attention and there is a great need for more scientific studies aimed in particular at clarification of the mechanisms of effect of probiotics used in breeding.

Keywords: Ruminants; mikrobiota; nutrition; microorganisms; probiotics.

Obsah

| | |
|---|-----------|
| 1 Úvod | 2 |
| 2 Cíl práce..... | 3 |
| 3 Přehled literatury..... | 4 |
| 3.1 Trávení přežvýkavců | 4 |
| 3.1.1 Vývoj trávicího traktu během ontogeneze | 4 |
| 3.1.2 Specifika trávení dospělých přežvýkavců..... | 5 |
| 3.1.3 Osidlování trávicího traktu mláďete mikrobiotou | 7 |
| 3.1.4 Mikroorganismy bachoru a střev | 8 |
| 3.2 Probiotika..... | 10 |
| 3.2.1 Historie probiotik | 10 |
| 3.2.2 Požadavky na probiotika..... | 11 |
| 3.2.3 Aplikace probiotik | 12 |
| 3.2.4 Vlastnosti a mechanismy účinku probiotik..... | 13 |
| 3.2.5 Mikroorganismy používané jako probiotika..... | 14 |
| 3.2.6 Probiotické mikroorganismy a jejich prokázané účinky u přežvýkavců .. | 15 |
| 3.2.6.1 <i>Bacillus</i> | 15 |
| 3.2.6.2 <i>Enterococcus</i> | 16 |
| 3.2.6.3 <i>Lactobacillus</i> | 17 |
| 3.2.6.4 <i>Pediococcus</i> | 17 |
| 3.2.6.5 <i>Streptococcus</i> | 17 |
| 3.2.6.6 <i>Lactococcus</i> | 18 |
| 3.2.6.7 <i>Bifidobacterium</i> | 18 |
| 3.2.6.8 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 19 |
| 3.2.6.9 <i>Aspergillus oryzae</i> | 19 |
| 3.3 Prebiotika | 20 |
| 3.4 Synbiotika | 21 |
| 4 Materiál a metody..... | 22 |
| 5 Výsledky | 23 |
| 5.1 Probiotické přípravky..... | 23 |
| 5.1.1 Jednotlivé probiotické přípravky | 24 |
| 5.1.1.1 Em15 Skot..... | 24 |
| 5.1.1.2 Pro-Biotics em15 Ovce, kozy | 24 |
| 5.1.1.3 Progal | 25 |
| 5.1.1.4 Lactiferm Vit..... | 25 |
| 5.1.1.5 Kolostran..... | 25 |

| | | |
|------------|-------------------------------------|-----------|
| 5.1.1.6 | Bioplus YC | 26 |
| 5.1.1.7 | Probiocol L | 26 |
| 5.1.1.8 | Calf Renova | 26 |
| 5.1.2 | Výrobky s přídavkem probiotik | 28 |
| 5.2 | Odpovědi na dotazník | 28 |
| 6 | Diskuze | 31 |
| 7 | Závěr | 35 |
| 8 | Seznam literatury | 36 |

1 Úvod

Z evolučního hlediska došlo u skotu, ovcí, koz a ostatních přežvýkavců v trávicím traktu k celkovému přizpůsobení na rostlinnou výživu. Pomocí mikrobiálního trávení, dokážou přežvýkavci využít i těžce stravitelné složky krmiva jako je celulóza, hemicelulóza a lignin. Jednou z nejdůležitějších oblastí trávicího traktu je bachor a mikroorganismy žijící v něm.

Vzhledem k vysokým nárokům na produkci hospodářských přežvýkavců je nutné u zvířat zajistit životní pohodu a dobrý zdravotní stav, který značně ovlivňuje užitkovost.

Probiotika jsou u přežvýkavců stále aktuálním tématem v zemědělském využití, neboť jimi lze ovlivnit činnost bachoru (v případě mláďete hlavně činnost střev) a celkovou kondici zvířete, což přispívá k řešení metabolických poruch a snížení ekonomických ztrát.

Po zákazu používání antibiotik v roce 2006 se použití probiotik, jako složky krmné dávky, významně rozšířilo. Díky tomu vzrůstá poptávka a trh s krmnými aditivami na bázi probiotik se dynamicky rozvíjí.

2 Cíl práce

Cílem této práce je vytvořit ucelený literární přehled nejnovějších poznatků týkajících se využití probiotik ve výživě přežvýkavců. Dále pak provést průzkum na trhu s probiotiky pro přežvýkavce, vytvořit přibližný přehled sortimentu dostupného na českém trhu a prozkoumat povědomí chovatelů o používání probiotik pomocí dotazníkového šetření.

3 Přehled literatury

3.1 Trávení přežvýkavců

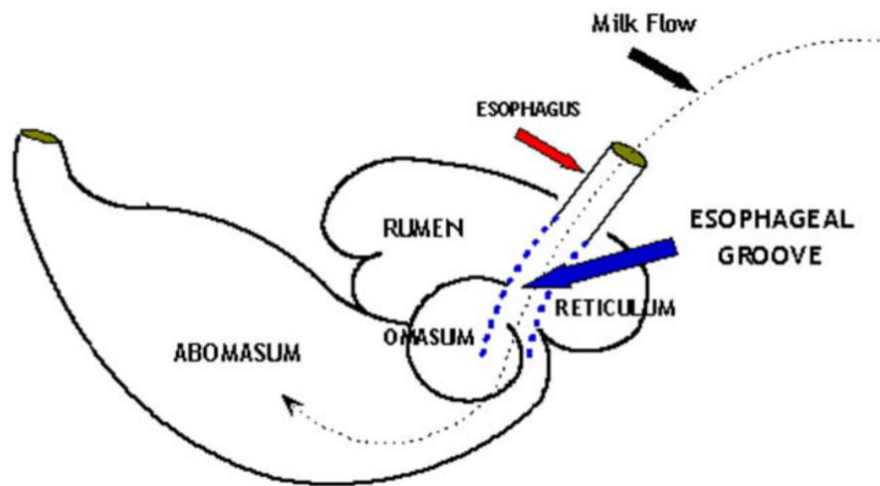
3.1.1 Vývoj trávicího traktu během ontogeneze

Mláďata mají výrazně odlišné trávení od dospělých jedinců. Vývoj trávicího traktu se odráží hlavně od způsobu chovu a jak rychle mládě začne přijímat i jinou stravu než jen mléko. Avšak obecně se mládě během prvních dvou týdnů života bere převážně jako monogastrické zvíře, protože většina živin je trávena ve slezu a střevech pomocí trávicích šťáv. Díky tomu mají mláďata mnohem větší objem slezu a knihy oproti čepci s bachorem (König & Liebich 2002). U čerstvě narozeného telete tvoří bachor 25 % své kapacity, jak se bachor vyvíjí a roste, mění se jeho kapacita ve věku 3-4 měsíce až na 65 % kapacity. U dospělého jedince se poměr slezu a bachoru zcela obrací, bachor dosahuje 100 % své kapacity a přebírá hlavní funkci trávení krmiva (viz obrázek č.2) (Diao et al. 2019). Pro lepší způsob trávení mléka je zde u mláďat přítomný čepcobachorový žlab a jícnová rýha (viz obrázek č.1). Sací reflex vyvolá jejich otevření, a dochází tak k přesunu mléka přímo do slezu (König & Liebich 2002). Čepcobachorový žlab je funkční u telat zhruba do 12. týdne věku. Pomocí postupného zařazení jednotlivých pevných krmných složek (hlavně zrna), dochází k nastartování trávicích procesů, a tím i k zvětšování jednotlivých částí trávicího traktu (Diao et al. 2019).

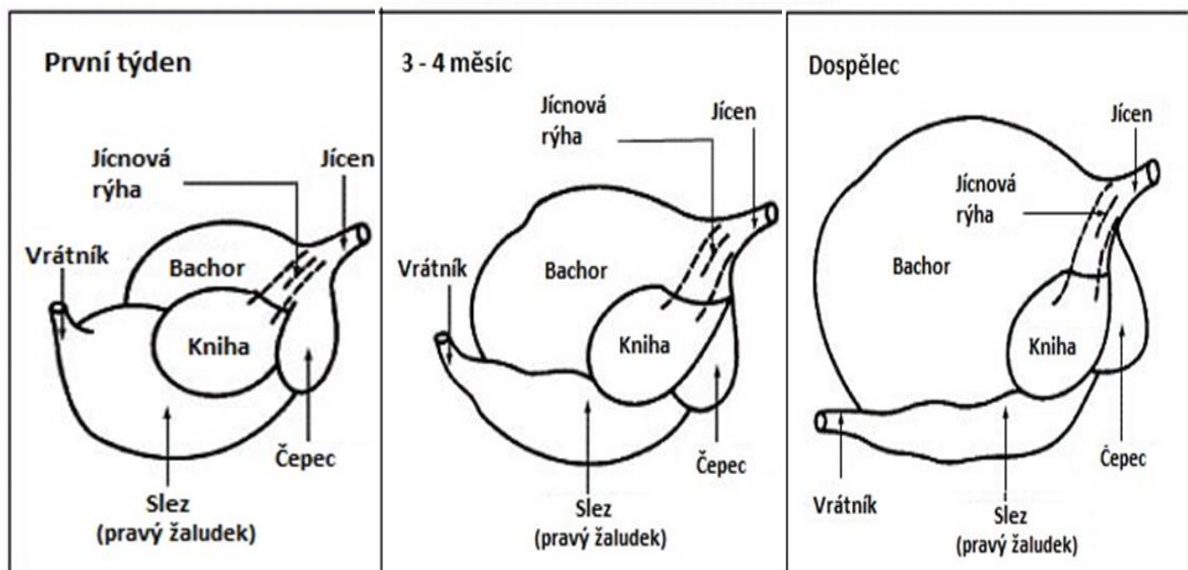
Pro novorozené přežvýkavce je typické neutrální pH slezu a vysoká aktivita inhibitoru trypsinu v mlezivu, který brání trávení imunoglobulinů v počátečních 24 hodinách po porodu. Díky tomu jsou imunoglobuliny vstřebávány sliznicí střeva bez porušení (Bouška 2006). Což je velice důležité, protože se telata rodí bez přirozené imunity. Placenta přežvýkavců je díky své intimitě spojení s plodem pro protilátky a mnoho dalších živin nepropustná. Místo toho kráva vkládá protilátky do kolostra. Protilátky, které obdrží, ho budou chránit alespoň po dobu prvních 3 až 4 týdnů života, což mu pomůže odolávat chorobám v jeho prostředí (Jelinek & Koudela 2003).

Tenké a tlusté střevo je při narození vyvinuto poměrně dobře, a tím je jejich intenzita vývinu v porovnání s ostatními orgány nižší. U tenkého střeva dochází do 9. měsíce věku k celkovému zvětšení přibližně 1,4krát. V případě tlustého střeva až 2,3krát (Strapák 2013). Nejdůležitější jsou změny probíhající u tenkého střeva, a to již za 32-36 hodin po narození, kde dochází na sliznici k ukončení propustnosti střevní stěny pro imunoglobuliny obsažené v kolostru. Skutečná propustnost sliznice střeva je však už po 24 hodinách absolutně nedostatečná

(Pavlata et al. 2005). V okamžiku uzavření střevní sliznice dochází ve slezu k poklesu pH, což způsobuje, že se imunoglobuliny při průchodu trávicím traktem rozkládají již ve slezu (Strapák 2013).



Obrázek 1 Schéma čepcobachorového žlabu (zdroj <https://calfcare.ca/management/the-calves-digestive-system/>)



Obrázek 2 Vývoj trávicího traktu (zdroj <https://www.psu.edu/search/gss?query=rumen%20calf>)

3.1.2 Specifika trávení dospělých přežvýkavců

Trávení přežvýkavců je jedním z nejvýznamnějších procesů v těle, s jehož správnou funkcí lze dosáhnout maximální využitelnosti potravy. Právě díky procesu trávení se přežvýkavci výrazně liší od ostatních savců. Jejich trávicí orgány jsou dokonale uzpůsobeny k trávení čistě rostlinného krmiva.

Trávicí trakt umožňuje přijatou potravu nejprve fermentovat v předžaludcích, kde dochází k mikrobiálnímu zpracování krmiva. Po natrávení se sousto přesouvá k enzymatickému zpracování do vlastního žaludku, který se nazývá slez, a následně do střev. Předžaludky jsou složeny ze tří částí: bachor, čepec a kniha. Každá část je jinak anatomicky uzpůsobena dle funkce při zpracování krmiva (Reece 2010).

Bachor (rumen) je první částí trávicího traktu, kam putuje potravu z jícnu a představuje největší ze tří částí předžaludků skotu, dosahuje celkového objemu 100 až 130 litrů (u nakrmených krav představuje až 100 kg hmotnosti) a vyplňuje téměř celou levou polovinu dutiny břišní. U ovce a kozy je bachor v porovnání velikosti zvířete menší a dosahuje 15-20 litrů objemu (Jelínek & Koudela 2003). Bachor je rozdělen pomocí bachorových pilířů do několika vaků. Nachází se zde dorzální a ventrální bachorový vak a dorzální a ventrální slepý vak. Sliznice bachoru je pokrytá rohovatějším vícevrstevným dlaždicovým epitelem a neobsahuje žlázy. Plochu sliznice pokrývají bachorové bradavky. Stěna bachoru obsahuje hladkou svalovinu, která má tři vrstvy – podélnou, kruhovou a šikmou (Reece 2010), díky kterým dochází k promíchávání zažitiny. Bachor je také nejdůležitější částí trávicího systému. Ukládá se zde potravu, dochází k jejímu ředění, mísení a následně třídění a posunu do dalších částí trávicího traktu. V prostoru mezi papilami na stěnách se nachází ideální podmínky pro rozvoj potřebných mikroorganismů. (Jelínek & Koudela 2003). Bachorová fermentace dokáže zajistit 60–85 % z celkové potřeby energie přežvýkavce (Reece 2010).

Čepec (reticulum) následující po bachoru přiléhá na bránici a ventrální břišní stěnu, jedná se o nejmenší část předžaludku a vytváří mírně protáhlý vak (Reece 2010). Zároveň je čepec nejnižší položenou částí předžaludků, ve které se často zachycují těžké a nestravitelné předměty (Jelínek & Koudela 2003). Na vnitřní straně čepece se nachází čepcový žlab, který je tvořen pravým a levým svalnatým rtem a ústí do čepcového otvoru. Stažení podélné svaloviny obou rtů vede k vytvoření uzavřené roury, a tak umožní proudění tekuté potravy z jícnu přímo do knihy. Čepec je vystlán na povrchu bezžláznatou zrohovatělou sliznicí s menšími papilami.

Kniha (omasum) představuje třetí část předžaludků. Je jedinou jejich částí, která leží napravo od mediální (střední) roviny, to jest v pravé polovině brániční kopule. Kniha má tvar koule. Sliznice knihy tvoří tzv. listy knihy, které jsou různě vysoké. Listy jsou od sebe odděleny mezilistovými štěrbinami (Reece 2010). Sliznice listů knihy je podobně jako čepec s četnými zrohovatělými papilami a také neobsahuje žlázy, avšak část slezoknihového otvoru je již žláznatou sliznicí vybavena. V oblasti knihy dochází k mechanickému trávení potravy na bázi tření a také resorbci vody (Jelínek & Koudela 2003).

Sliznice předžaludků neplní pouze mechanickou funkci, ale má i velice významnou funkci resorpční. Zajišťuje vstřebávání aminokyselin, těkavých mastných kyselin, laktátů a amoniaku do vrátničné žíly (Reece 2010).

Po knize následuje vlastní žaludek nazývaný slez (abomasum). Svým tvarem slez připomíná zahnutý kužel, který přechází vrátníkem (pylorem) do tenkého střeva. Stěna slezu má podobnou stavbu jako jednodomý žaludek. Sliznice je zde žláznatá a vytváří spirálovité řasy. Ve slezu probíhá hlavně chemické trávení potravy, tedy zpracování krmiva pomocí trávicích enzymů. Žaludek je však vybaven také motorikou, která slouží k promíchávání přijaté potravy s trávicími šťávami. Ze žaludku je částečně natrávená potrava předávána postupně do tenkého střeva (Reece 2010). Slez má pH 2–4, v tomto prostředí je usmrceno a tráveno mnoho mikrobů vstupujících z knihy, tím zvířeti dodává 60–90 % jeho aminokyselin, které jsou absorbovány v tenkém střevu. Tenké střevo je zodpovědné za neutralizaci kyseliny z žaludku, štěpení makromolekul enzymy a absorpci živin. Slepé střevo, tlusté střevo a konečník obsahuje mikrobiotu, která fermentuje zbývající vlákninu a produkuje energii a řadu vitamínů pro svého hostitele (Bergmann 2017).

3.1.3 Osidlování trávicího traktu mláďete mikrobiotou

Vývoj mikrobioty trávicího traktu mláďat během prvních týdnů života je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících celkové zdraví jedince. Stejně jako u jiných druhů savců se střevní mikrobiota mláďat přežvýkavců začíná utvářet již během porodu. Mikroorganismy z okolního prostředí a přirozená mikrobiota matky jsou hlavními kolonizátory, kteří osidlují trávicí trakt přežvýkavce (Bunešová et al. 2015). Mláďe je vystaveno bakteriím ze slin matky, porodních cest, výkalů a stejně tak bakteriím přítomných na kůži matky a v okolním prostředí, kde se matka nachází (Lukáš et al. 2007).

Střevní mikrobiota se do značné míry podílí na vývoji a průběžné stimulaci celkové imunity zvířete (Fuller 1999). Což bývá problém v podmínkách velkochovu, kde jsou telata ve velice krátké době po narození odebírána od matek, tudíž může být narušený přirozený vývoj intestinální mikrobioty (Bunešová et al. 2015). Proto je období po narození nejcitlivější pro ovlivnění mikrobioty mláďete. Povrch sliznice střev je postupně osidlován a dochází tak k vyžívání složek imunitního systému. Zdravá mikrobiota osidluje povrchy sliznic a brání tím patogenním mikroorganismům v jejich uchycení nebo případnému pomnožení (Geigerová et al. 2014).

Zpočátku se v trávicím traktu objevují fakultativně anaerobní bakterie, které jsou během následujících několika dní vystřídány striktně anaerobními mikroorganismy (Rytina 2004).

V prvních pár dnech po narození pak tvoří mikrobiotu střev přežvýkavců hlavně koliformní bakterie, bifidobakterie a bakterie mléčného kvašení (Bunešová et al. 2015). Dle Lukáš et al. (2007) se jedná především o bakterie *Escherichia coli* a *Bifidobacterium animalis*, později následované rody *Bacteroides*, *Clostridium* a *Faecalibacterium*.

V období mléčné výživy je u savců typický především vysoký počet bifidobakterií (Bunešová et al. 2015). Podle experimentu Vlkové et al. (2006), kde byl zkoumán vývoj gastrointestinální mikrobioty telat se zvláštním ohledem na bifidobakterie, byly bifidobakterie již po 7 dnech života značně dominantní skupinou mikrobioty telat. Z mikrobiálního hlediska představovaly bifidobakterie 10 % z celkového počtu bakterií. Bifidobakterie a laktobacily společně vykazovaly ze všech sledovaných skupin nejvyšší schopnost přežití během průchodu horními částmi trávicího traktu. Tyto bakterie hrají velmi důležitou roli v utváření gastrointestinálního traktu a odolnosti proti patogenním mikrobům (Vlková et al. 2006).

Postupné osidlování trávicího traktu rozvíjí bachor, a tím zcela ovlivňuje jeho funkčnost. Během prvního týdne se zde objevují archea, následně celulólytické bakterie a ve dvou týdnech života lze pozorovat i anaerobní houby. Ovšem maximální funkčnosti bachoru je docíleno až po výskytu jednotlivých zástupců prvoků (Rytina 2004). Po odstavení mláďate začínou ve střevní mikrobiotě převládat striktně anaerobní bakterie a počet bakterií *Escherichia coli* a enterokoků klesá (Lukáš et al. 2007).

V případě poruchy přirozeného vývoje mikrobioty trávicího traktu může docházet ke zvyšování počtu patogenních bakterií, které způsobují nepříjemná průjmová onemocnění. Střevní infekční onemocnění u mláďat hospodářských zvířat jsou na příklad nejčastěji způsobeny patogeny typu *Escherichia coli*, rotaviry, koronaviry, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* sp. a *Cryptosporidium* spp. Skot navíc představuje hlavní rezervoár patogenních *Escherichia coli*, tyto patogeny se nacházejí také u ovcí, koz a u divokých přežvýkavců. Infekční průjmová onemocnění jsou jednou z hlavních příčin ekonomických ztrát v důsledku mortality mladých jedinců. Úmrtnost telat v prvních 16 týdnech života obvykle bývá 8-12 %, toto rozmezí hodnot však platí pro mírné klimatické podmínky a mezi stády se může lišit, v závislosti na prostředí. Dalo by se říct, že výživa a prostředí telat v období před odstavením ovlivňuje zdraví zvířete po celý jeho život (Bunešová et al. 2015).

3.1.4 Mikroorganismy bachoru a střev

V bachorovém prostředí lze pozorovat velice rozmanitý ekosystém mikroorganismů. Uvádí se, že bachorová tekutina obsahuje velké množství mikroorganismů, a to více než miliardu mikroorganismů na mililitr. Tato mikrobiota se skládá hlavně z bakterií (40-50 %),

prvoků (40-50 %) a hub (5-10 %). Společně tak fermentují přijaté krmivo a mění jej na energii potřebnou pro tělo přežvýkavce (Hulsen & Dries 2014). Kromě výše zmíněného v bacheru také nacházíme archea, viry a kvasinky (Creevey et al. 2014).

Bakterie jsou nejpočetnější organismy v mikrobiotě bacheru. Jejich množství se pohybuje v rozsahu 10^{10} až 10^{11} bakterií v jednom mililitru bacherové tekutiny. Celkově tvoří více než 50% buněčné hmoty (Creevey et al. 2014). Dle výzkumu Creevey et al. (2014) bylo v bacheru identifikováno 88 rodů bakterií. Převážně se v bacherové tekutině nachází rody kmenů *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* a *Euryarchaeota*. Zejména vlákninu degradující rody, jako jsou *Fibrobacter*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio* a *Bacteroides* spolu s dalšími velice významnými rody jako jsou například *Prevotella*, *Selenomonas*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* a *Megasphaera* (Bunešová et al. 2015).

Druhové zastoupení a počet bakterií značně závisí na krmné dávce a vše se odvíjí, mimo jiné, od průběhu dne a daného ročního období (Ogunade et al. 2018). Část bakterií se nazývá adherentní, a to díky tomu, že jsou přichyceny přímo na částicích krmiva nebo na stěně předžaludku. Až polovina bakterií přichycených na stěně bacheru patří mezi fakultativní anaeroby, to znamená, že tyto bakterie potřebují ke svému životu kyslík. Využívají kyslík, který se zde objevuje prostupem z kapilárního řečiště ve stěně předžaludku. Právě díky tomuto procesu spotřeby kyslíku je zajištěno pro ostatní bakterie anaerobní prostředí. Jednotlivé druhy bakterií se ve svých funkcích často překrývají, a proto je rozdělujeme dle substrátu, na jehož rozkladu se podílejí. Nachází se zde bakterie celulolytické, které produkující enzymy štěpící molekuly celulózy. Amylolytické a dextrinolytické bakterie, které tráví škrob a další rozpustné cukry, eventuálně bílkoviny. Sacharolytické bakterie, ty způsobují fermentaci rozpustných cukrů na těkavé mastné kyseliny. Dále se zde nachází metanogenní archea (prokaryota), které syntetizují veškeré látky z oxidu uhličitého a pro svou energii metabolismu využívají oxidaci vodíku. A nakonec proteolytické a lipolytické bakterie rozkládající bílkoviny a tuky (Jelinek & Koudela 2003). Zároveň bakterie dokážou syntetizovat vitamíny skupiny B (Reece 2010).

Skupinu celulolytických bakterií zastupují zejména druhy *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* a *Eubacterium cellulosolvens*. Amylolytické bakterie *Bacteroides amylopilus*, *Selenomonas ruminantium* a *Streptococcus bovis*. Ze skupiny sacharolytických bakterií lze v bacheru vidět *Megasphaera elsdenii*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, dále mimo jiné čtyři druhy *Prevotella*, *P. ruminicola*, *P. bryantii*, *P. albensis*, a *P. brevis* a mnoho dalších (Seshadri et al. 2018).

Dalším obyvatel bacherového ekosystému jsou nálevníci (protozoa). Množství mikroorganismů se pohybuje okolo 10^4 – 10^7 v jednom mililitru bacherové tekutiny (Reece

2010). Nejčastěji lze zde nalézt nálevníky třídy *Ciliata*. Dále podtřídy *Holotricha* s obrveným povrchem těla, zastoupené rody *Isotricha* a *Dysatricha*. Druhou podtřídu tvoří *Entodiniomorpha* s brvami, které jsou soustředěné do společných svazečků s rody *Epidinium*, *Entodinium* a *Diplodinium*. Nálevníci jsou velice citliví na změny pH bachorové tekutiny. Snížením pod 5,5 pH dochází k postupnému umírání nálevníků v předžaludku a při hodnotách nižších než 4,5 pH předžaludek přichází o veškeré přítomné nálevníky. U zvířat bez nálevníků byly prokázány nižší přírůstky živé hmotnosti, což znamená, že nálevníci značně ovlivňují trávicí pochody v bachoru (Jelinek & Koudela 2003).

Součástí bachorové mikrobioty jsou také anaerobní houby, které se značně podílejí na trávení celulózy. Tvoří spory většinou oválného tvaru a jsou vybaveny bičíky, které zajišťují jejich pohyb. Počet spor se obvykle pohybuje v rozmezí 10^2 - 10^5 v jednom mililitru bachorové tekutiny, avšak může kolísat v závislosti na složení krmné dávky (Jelinek & Koudela 2003). Hlavními rody, které se v bachoru nachází jsou *Neocallimastix* a *Piromyces* (Krause et al. 2003).

Stejně jako u jiných savců, tak i u přežvýkavců jsou střeva dalším důležitým místem pro procesy mikrobiálního trávení (Jelinek & Koudela 2003). Ve střevní mikrobiotě dominují bakteriální kmeny *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* a *Verrucomicrobia*. Jejich úkolem je, mimo jiné, fermentace zbývající vlákniny a produkce řady vitamínů a biologicky aktivních látek (Vlková et al. 2013).

3.2 Probiotika

Probiotika jsou definována jako „živé mikroorganismy, které jsou-li podávány v adekvátním množství, přispívají ke zlepšení zdravotního stavu hostitele“ (Hill et al. 2014). Obecný přínos probiotik působí na principu vytvoření příznivého prostředí střevní mikrobioty. Hlavní výhoda spočívá v podpoře imunitního systému a udržení zdravého zažívacího traktu (Terpou et al. 2019). Podávání probiotických bakterií hospodářským zvířatům může dokonce pomoci zvýšit hmotnostní přírůstek případně zlepšit konverzi krmiva (Markowiak & Śliżewska 2018).

3.2.1 Historie probiotik

Z historického hlediska je podstatné jméno Ilji Mečnikov (1907). Jedná se o člověka, který jako jeden z prvních poukázal na příznivé účinky jogurtových bakterií na lidské zdraví, a dokonce v nich viděl i důvod dlouhověkosti lidí žijících na Balkáně. Když zajdeme ještě dále

do minulosti, je zde uváděn jako jeden ze zakladatelů probiotik Henry Tissiera. Tento muž údajně v roce 1899 poprvé izoloval bifidobakterie (dnes asi nejpoužívanější druh probiotických bakterií) ze stolice kojenců. Další velice významnou osobností byl také Alfréd Nissle, jenž izoloval v roce 1916 nepatogenní *Escherichia coli* ze stolice vojáka, který jako jediný odolával infekci úplavice během první světové války. Tento kmen je především zajímavý tím, že se dodnes používá preventivně jako probiotikum střevních infekčních onemocnění (Rada 2011). Ačkoliv v tomto ohledu byly první pokusy na zvířatech uskutečněny již před druhou světovou válkou, hlavní rozvoj v používání probiotik nastal až v šedesátých a sedmdesátých letech dvacátého století. Hlavní používané mikroorganismy byly zpočátku bakterie mléčného kvašení (BMK), především laktobacily. Určitým zvratem bylo zavedení smíšených, mnohdy nedefinovaných probiotických kultur, které se například osvědčily jako prevence proti bakteriím rodu *Salmonella* u kuřat. Tato metoda byla ze začátku pojmenována jako „Nurmiho koncepce“ avšak nyní je spíše známa pod pojmem „Competitive exclusion“ (CE). Od sedmdesátých let jsou dostupné komerční probiotické výrobky založené zejména na čistých kulturách BMK. Od osmdesátých let se na trhu objevují i komerční CE kultury. V následujících letech potom dochází ke kombinaci probiotik a prebiotik, jenž se využívá zejména u drůbeže (Rada & Marounek 2005).

Zájem o využití probiotických přípravků ve výživě hospodářských zvířat významně vzrostl po roce 2006, kdy byl v Evropské unii vydán zákaz používání antibiotik ke krmným účelům. Hlavním úkolem antibiotik byla dříve prevence infekčních onemocnění a úprava složení mikrobioty trávicího traktu, čímž docházelo k lepší konverzi krmiva a zvýšení přírůstků zvířat. Plošné užívání antibiotik však postupně vedlo k nárůstu rezistence mikroorganismů, a díky tomu se antibiotika stávala neefektivní při léčbě infekčních onemocnění (Markowiak & Śliżewska 2018). Proto se v současné době testují možnosti pozitivního ovlivnění mikrobioty trávicího traktu hospodářských zvířat přirozenými způsoby. Probiotika se zdají být ideálními potenciálními krmnými aditivami (Vlková et al. 2013).

3.2.2 Požadavky na probiotika

Je důležité, aby se probiotika do místa svého účinku dostala v dostatečném počtu životaschopných mikroorganismů. Pro testování probiotických vlastností se ve výzkumu používá řada *in vitro* testů a následně *in vivo* studií (Rada 2010). Během selekce probiotik je třeba dbát na celou řadu aspektů, které ovlivňují jejich účinnost. Jedná se v první řadě o věk a druh zvířete, způsob krmení a ustájení (Markowiak & Śliżewska 2018). Zároveň je třeba brát

v potaz, že u mláďat přežvýkavců na mléčné výživě se fyziologie trávicího traktu podobá fyziologii monogastrických zvířat, tudíž je účinek probiotik směřován především na tlusté střevo a podle toho je důležitý výběr probiotik s tímto cílovým zaměřením (Vlková et al. 2013). Probiotika by měla vždy především pozitivně ovlivňovat zdraví hostitele. Pro zvýšení pravděpodobnosti kolonizace hostitele je doporučeno použít kmen, jenž byl původně izolovaný z trávicího traktu toho druhu zvířete, pro který jsou daná probiotika určena (Markowiak & Śliżewska 2018).

Očekávané vlastnosti a bezpečnostní kritéria pro probiotika (Dicks & Botes 2010):

- Netoxické a nepatogenní
- Přesná taxonomická identifikace a charakterizace
- Přežívání, kolonizace a metabolická aktivita v trávicím traktu hostitele, kdy je vyžadována:
 - Odolnost vůči žaludečním šťávám a žluči
 - Perzistence v gastrointestinálním traktu
 - Adheze na střevní epitel a hlen
 - Kompetice s rezidentní mikrobiotou
 - Produkce antimikrobiálních látek
 - Antagonismus vůči patogenním organismům
 - Modulace imunitní odpovědi
 - Genetická stabilita
 - Schopnost vyvinout alespoň jednu zdraví prospěšnou vědecky podpořenou vlastnost
 - Poddajnost a stabilita kmene během zpracování, skladování a aplikace
 - Životaschopnost ve vysokých počtech
 - Žádoucí organoleptické a technologické vlastnosti

3.2.3 Aplikace probiotik

Probiotické mikroorganismy mohou být aplikovány samostatně nebo společně s krmivem či vodou. Společné podávání probiotika s krmivem však nese určité riziko možné interakce probiotických bakterií s komponenty krmiva. Vlastní způsob aplikace probiotického přípravku může být ve formě pasty, lyofilizovaného prášku nebo aerosolu. Pro krmivářské účely bývají nejčastější užívanou formou probiotik lyofilizované prášky. Obsah živých probiotických mikroorganismů by měl být aspoň 10^6 /g krmné směsi. Je možné volit mezi jednokmenovými

a víceimenovými preparáty. Avšak výhodnější se ukázalo být podávání víceimenových probiotik, protože dosahují vyšší efektivity díky synergickému účinku jednotlivých kmenů (Timmerman et al. 2004).

Aby se zachovaly vlastnosti probiotických přípravků, musí být vždy skladovány a používány podle doporučení jejich výrobců. Vzhledem k tomu, že probiotické přípravky obsahují živé mikroorganismy, jsou tyto přípravky citlivé na nepříznivé podmínky, jako je například teplota a světlo. Je velmi podstatné, aby se při podávání probiotik nepoužívaly žádné jiné látky a aby voda použitá k ředění přípravku neobsahovala žádný chlór ani jiné dezinfekční prostředky. Voda s probiotikem by měla být zvířatům podávána do 6–12 hodin. Důležitý je také interval 24–48 hodin mezi ukončením antibiotické léčby, případně mezi podáváním jiných antimikrobiálních látek a nástupem probiotické terapie (Markowiak & Śliżewska 2018).

Mikrobiota bачору u dospělého zvířete je podstatně hůře ovlivnitelná (Rada & Marounek 2005), z tohoto důvodu se doporučuje použití probiotik již u mláďat. Novorozená mláďata mají prakticky sterilní trávicí trakt, a díky tomu je u nich mnohem vyšší pravděpodobnost kolonizace probiotickými bakteriemi (Geigerová et al. 2014).

Obecně je vhodné podávat probiotika preventivně ve stresujících obdobích. U hospodářských zvířat se často jedná o dobu odstavu, začátek laktace, případně změnu krmné dávky (Markowiak & Śliżewska 2018).

3.2.4 Vlastnosti a mechanismy účinku probiotik

Je třeba brát v úvahu, že probiotické vlastnosti jsou druhově a případně i kmenově specifické. Mechanismus účinku probiotik je rozmanitý v závislosti na použitém mikroorganismu a zároveň je také značně ovlivněn fyziologickým stavem a stářím hostitele (Rada 2010). Použití probiotických přípravků může pomoci snížit rychlost vývoje kmenů rezistentních na antibiotika. Avšak na druhou stranu některé mikroorganismy používané jako probiotika mají samy o sobě schopnost získávat rezistenci na antibiotika. Z pohledu sdíleného mikrobiálního prostředí v gastrointestinálním traktu zvířat existuje riziko, že patogenní mikroby získají geny rezistence na antibiotika z probiotických mikrobů a naopak. Proto je třeba vždy dbát na bezpečnostní podmínky pro použití probiotických přípravků (Markowiak & Śliżewska 2018).

Podle Hill et al. (2014) lze vlastnosti a mechanismy účinku probiotik dělit do tří skupin v závislosti na četnosti jejich výskytu u jednotlivých probiotických kmenů. Některé mechanismy účinku mohou být rozšířeny mezi běžně studovanými probiotickými rody. Jiné mohou být pozorovány mezi většinou kmenů probiotického druhu a některé mohou být dokonce vzácné a

přítomné pouze v několika kmenech daného druhu (Hill et al. 2014). Například u laktobacilů a bifidobakterií, které jsou jednoznačně považovány za pozitivní mikroorganismy, lze některé probiotické vlastnosti zobecnit téměř na všechny rody. Jednou z takových vlastností je například produkce organických kyselin. Jedná se o primární metabolity, které vznikají při rozkladu cukrů těmito bakteriemi. Tuto vlastnost lze pozorovat, při výskytu výše zmíněných bakterií vyznačujících se metabolickou aktivitou (Bunešová et al. 2015).

Možné mechanismy účinku probiotik rozdělené do 3 skupin (Hill et al. 2014):

- Vzácně se vyskytující: kmenově specifické účinky
 - Neurologické účinky
 - Imunologické účinky
 - Endokrinnologické účinky
 - Produkce specifických bioaktivních látek
- Častý výskyt: druhově specifické účinky
 - Syntéza vitamínů
 - Přímý antagonismus
 - Posílení střevní bariéry
 - Metabolismus solí žlučových kyselin
 - Enzymatická aktivita
 - Neutralizace karcinogenních látek
- Četné mechanismy: mezi testovanými probiotiky
 - Kolonizační rezistence
 - Tvorba kyselina mastných kyselin s krátkým řetězcem
 - Regulace střevního tranzitu
 - Ustálení narušené mikrobioty
 - Zvýšený obrat enterocytů
 - Konkurenční vyloučení patogenů

3.2.5 Mikroorganismy používané jako probiotika

Mikroorganismy používané jako doplňkové probiotické látky u hospodářských zvířat jsou převážně bakterie. Nejčastěji se jedná o grampozitivní bakterie patřící do rodů *Bacillus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* (Markowiak & Śliżewska 2018) a *Lactococcus* (Vlková et al. 2013). Probiotiky mohou být také některé houby a kmeny kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* a *Kluyveromyces*. Například u dospělých přežvýkavců mohou být

podávány právě kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, případně plísně *Aspergillus oryzae* (Markowiak & Śliżewska 2018).

Bakterie, které patří do rodu *Lactobacillus* a *Enterococcus* jsou přirozenou součástí mikrobioty trávicího traktu zvířat. Avšak kvasinky a bakterie rodu *Bacillus* obvykle v gastrointestinálním systému přítomny nejsou. Většina výše uvedených mikroorganismů by měla být pro hostitele potenciálně bezpečná (Markowiak & Śliżewska 2018).

Ve výživě lidí, včetně kojenců, se hojně využívají jako probiotika bifidobakterie. Díky tomu, že jsou bifidobakterie pravidelnou součástí mikrobioty trávicího traktu mláďat přežvýkavců na mléčné výživě, je vysoká pravděpodobnost, že se z nich mohou stát efektivní probiotika právě pro tuto skupinu hospodářských zvířat (Vlková et al. 2013).

3.2.6 Probiotické mikroorganismy a jejich prokázané účinky u přežvýkavců

3.2.6.1 Bacillus

Bacillus je grampozitivní, sporotvorná, aerobní případně fakultativně anaerobní, tyčinkovitá bakterie, řadící se do kmene Firmicutes. Typicky se rod *Bacillus* vyskytuje v půdě. Nicméně, *Bacillus* spp. mohou být izolovány z různých zdrojů, včetně vzduchu, vody, lidských a zvířecích střev, a také ze zeleniny a potravin. *Bacillus* má příznivé technologické a funkční vlastnosti. Vykazuje dobrou odolnost vůči kyselinám a stabilitu během tepelného zpracování a skladování při nízkých teplotách, což je dáno schopností tohoto rodu tvořit odolné spory. Bylo prokázáno, že mají také antimikrobiální, antioxidační a imunomodulační schopnosti. Nejčastěji se v probiotických využívají rody *Bacillus licheniformis* a *Bacillus subtilis* (Elshagabee et al. 2017).

Mráz (2015) píše o sledování chovů, kde cíleně aplikují probiotika s druhy *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis*. Tyto bakterie jsou navázány na nosič uhličitán vápenatý a mají vysokou enzymatickou aktivitu, která zlepšuje využití živin. Probiotika podporují rozvoj mléčných bakterií v zažívacím traktu a působí také konkurenčně. Významný je jejich tlak na patogenní klostridie, *E. coli*, salmonely, kryptosporidie a kokcidie. Tím, že mají bakterie schopnost vytvářet spory, odolávají nízkým i vysokým teplotám. Ve sledovaném chovu se vyskytovaly zejména patogenní bakterie *Clostridium perfringens* a *Escherichia coli*. S podáváním probiotika se začalo 2. den po narození přidáním do mleziva, následně do mléčné náhražky, a to jedenkrát za den po dobu 14 dnů. U telat, kterým byla podávána probiotika byl průkazně nižší výskyt průjmů, popřípadě byly zaznamenány průjmy s nižší intenzitou. Telata, zvyšovala svou hmotnost a byla mnohem odolnější vůči nemocem. Experiment trval několik měsíců a

svými výsledky ukazoval, že se při použití probiotik dařilo úspěšně potlačovat negativní tlak patogenů. Díky tomu odchovávali normálně se vyvíjející telata, aniž by museli aplikovat více a dlouhodoběji antibiotika (Mráz 2015).

Kritas et al. (2006) studovali účinek probiotika obsahujícího *Bacillus licheniformis* a *Bacillus subtilis* na mortalitu mladých jehňat a produkci ovčího mléka. Na ovčí farmě byly vytvořeny dvě skupiny dojnic se stejným genetickým materiálem a podmínkami chovu. Jedna skupina (48 bahnic) byla ošetřena probiotiky a druhá skupina (46 bahnic) sloužila jako kontrola. Výsledek byl zhodnocen 1,5 měsíce po bahnění. V neošetřené kontrolní skupině byla pozorována 13,1% úmrtnost jehňat, avšak ve skupině ošetřené probiotiky dosahovala úmrtnost jehňat „pouze“ 7,8 %. Úmrtnost v obou skupinách byla zapříčiněna hlavně průjmem způsobeným přítomností patogenní bakterie *Escherichia coli* ve střevech. Ve skupině léčené probiotiky byla také výrazně vyšší průměrná denní produkce mléka a zároveň došlo ke zlepšení obsah tuku a bílkovin v mléce (Kritas et al. 2006).

3.2.6.2 *Enterococcus*

Enterococcus je grampozitivní, nesporulující, fakultativně anaerobní kulovitá nebo oválná bakterie, řadící se do kmene Firmicutes. Enterokoky patří do skupiny bakterií mléčného kvašení, což je jedna z biotechnologicky nejvýznamnějších skupin bakterií, která má společnou metabolickou schopnost převádět cukry na kyselinu mléčnou. Enterokoky obsahují patogenní i komenzální mikroorganismy. Typicky se tyto bakterie vyskytují jako symbionti v trávicím traktu, avšak díky své schopnosti adaptace se mohou běžně vyskytovat i v okolním prostředí. Kmeny patřící do rodu *Enterococcus* produkují širokou škálu bakteriocinu, jinak také nazývaný enterocin. Enterokoky jsou charakteristicky tolerantní k extrémním pH, teplotám a vysoké koncentraci solí. Enterokoková probiotika lze použít jako prevenci proti průjmu nebo ke zlepšení růstu u zvířat. U hospodářských zvířat se využívá zejména rod *Enterococcus faecium*. Některé enterokoky dokonce vykazují antikarcinogenní, hypocholesterolemické a imunitní regulační účinky. Například *Enterococcus durans* vytváří butyrát, který indukuje významné protizánětlivé účinky a přispívají k integritě střevního epitelu (Hanchi et al. 2018).

Mamuad et al. (2019) studovali vliv rodu *Enterococcus faecium* na funkci bачorové mikrobioty. V experimentu použili 3 krávy Holštýnského plemene, které byly krmené kompletní krmnou směsí a rýžovou slámou. Vzorky byly odebírány 3 hodiny po nakrmení. Nejprve byly odebrány kontrolní vzorky od neošetřených krav a následně vzorky krav po ošetření doplňku probiotického mikroorganismu *Enterococcus faecium*. Při porovnání vzorků

bylo výsledkem pokusu u ošetřených krav zvýšení obsahu těkavých mastných kyselin a zároveň snížení koncentrace metanu v bachoru (Mamuad et al. 2019).

3.2.6.3 *Lactobacillus*

Lactobacillus patří mezi bakterie mléčného kvašení. Jedná se o grampozitivní, nesporulující, fakultativně anaerobní tyčinkovitou bakterii, řadící se kmene Firmicutes (Venema & Carmo 2015). Kromě jejich klíčové úlohy při fermentaci potravin se laktobacily vyskytují v gastrointestinálním traktu u lidí a zvířat v různém množství v závislosti na druhu zvířete, věku hostitele nebo umístění ve střevě. Bakterie mají schopnost zvyšovat bariérovou funkci epitelu střevní stěny proti patogenům a toxinům. Mohou tak působit preventivně i léčebně proti průjmům případně zánětům střev (Lebeer et al. 2008).

Izuddin et al. (2019) zkoumali vliv probiotického rodu *Lactobacillus plantarum* na mikrobiotu bachoru při odstavu. Dvanáct čerstvě odstavených jehňat bylo náhodně rozděleno do dvou skupin. Jedna skupina byla ošetřena přídatkem probiotického doplňku *Lactobacillus plantarum* a druhá skupina bez přídatku probiotika sloužila jako kontrolní. Pokus probíhal 60 dní. U ošetřených jehňat byl pozorován vyšší nárůst bachorových papil, lepší integrita střevní sliznice a snížení střevní populace patogenních mikroorganismů (Izuddin et al. 2019).

3.2.6.4 *Pediococcus*

Rod *Pediococcus* představují bakterie mléčného kvašení, patřící do kmene Firmicutes. Jedná se o grampozitivní, fakultativní anaeroby ve tvaru koků. Existuje mnoho kmenů *Pediococcus*, které produkují pediocin, účinný bakteriocin. Například rod *Pediococcus acidilactici*. Tento rod lze použít jako probiotikum k léčbě zácpy, průjmu, zmírnění stresu a posílení imunitní reakce u ptáků a malých zvířat (Porto et al. 2017).

Bohužel, relevantní studie zaměřené na aplikaci bakterií rodu *Pediococcus* u přežvýkavců chybí.

3.2.6.5 *Streptococcus*

Streptococcus je grampozitivní, nesporulující, fakultativně anaerobní bakterie patřící do kmene Firmicutes. Tvar bakterií je kulovitý a vytváří řetězky. Streptokoky mají mezi sebou několik druhů smrtících lidských patogenů (např. *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*). Nicméně například *S. thermophilus* je obecně uznávaný jako bezpečný a patří tak mezi nejvýznamnější zástupce streptokoků s probiotickou funkcí. Tento rod má velký význam pro potravinářský průmysl, protože se masivně používá k výrobě jogurtů (Hols et al. 2005).

Bohužel, relevantní studie zaměřené na aplikaci bakterií rodu *Streptococcus* u přežvýkavců chybí.

3.2.6.6 *Lactococcus*

Lactococcus patří mezi bakterie mléčného kvašení. Jedná se o grampozitivní, nesporulující, fakultativně anaerobní bakterii, řadící se kmene Firmicutes. Tvar bakterií je kulovitý případně oválný a mohou se vyskytovat v párech nebo kratších řetězcích (Oliveira et al. 2017). *Lactococcus* je hojně obsažen v syrovém mléce. Avšak ve výrobním procesu zpracování mléka je z bezpečnostního hlediska zavedena pasterizace mléka, která značně snižuje nebo eradikuje populace *Lactococcus* ze syrového mléka. Rod *Lactococcus* (zejména *L. lactis*) je zásadní při výrobě sýrů, zejména pro okyselení a fermentaci laktózy. Výsledkem tohoto okyselení je snížení výskytu a replikace patogenních mikroorganismů (Issa & Tahergorabi 2019). Využití *L. lactis* jako probiotika, má údajně protizánětlivý a imunomodulační účinek, a může zmírnit i příznaky kolitidy (Oliveira et al. 2017).

Bohužel, relevantní studie zaměřené na aplikaci bakterií rodu *Lactococcus* u přežvýkavců chybí.

3.2.6.7 *Bifidobacterium*

Bifidobacterium jsou grampozitivní, nesporulující, anaerobní bakterie ve tvaru nepravidelných tyčinek. Taxonomicky se řadí do kmene aktinobakterií. Bifidobakterie patří mezi hlavní představitele střevní mikrobioty savců (Lugli et al. 2018). Vysoké počty bifidobakterií jsou u savců typické především v období mléčné výživy. V lidské výživě jsou bifidobakterie běžně užívány jako probiotikum. Lze se s nimi setkat v produktech, jako jsou jogurty, sýry a jiné mléčné výrobky, kojenecká výživa a potravinové doplňky (Bunešová et al. 2015). Bifidobakterie použité jako probiotikum u mláďat přežvýkavců přispívají především ke snižování výskytu průjmových onemocnění (Vlková et al. 2009). Díky tomu, že produkují antimikrobiální látky, jako jsou organické kyseliny nebo bakteriociny, potlačují patogenní a potenciálně patogenní mikroorganismy. Mimo jiné mají také schopnost posilovat slizniční imunitu, čímž přispívají k celkovému zlepšení zdravotního stavu zvířat (Vlková et al. 2013).

V několika pokusech Vlkové et al. (2013) byla telatům skotu plemene Charolais podávána směs obsahující 10 vybraných kmenů bifidobakterií. Směs obsahovala izoláty *B. animalis* ssp. *animalis* (6 izolátů), *B. thermophilum* (2 izoláty), *B. choerinum* (1 izolát) a *B. longum* ssp. *suis* (1 kmen). Probiotická směs byla podávána ve formě fermentovaného mléka nebo lyofilizovaného prášku telatům druhý den po narození. Výsledkem experimentů bylo

zvýšení počtů probiotických bakterií v trávicím traktu mláďat, které značně omezují možnost kolonizace střeva patogenními případně potenciálně patogenními bakteriemi. Patogenní bakterie mohou způsobovat průjemy, což je u mláďat přežvýkavců nejčastější příčinou úhynů. Zároveň nebyl mezi pokusy zaznamenán rozdíl životaschopnosti bifidobakterií v různých formách podávání, tedy ve formě čerstvě kysaného mléka nebo ve formě lyofilizovaného prášku. Z výsledků studie vyplývá, že probiotika s bifidobakteriemi pozitivně upravují složení střevní mikrobioty mláďat na mléčné výživě a podporují tím jejich imunitu vůči nemocem (Vlková et al. 2013).

3.2.6.8 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae jsou nejčastější kvasinky používané při fermentaci potravin. Jsou oválného až vejčitého tvaru, reprodukují se pučením a mohou vytvářet askospory. Dále se také mimo jiné používají jako probiotikum v prevenci, případně léčbě střevních chorob (Moslehi-Jenabian et al. 2010). *Saccharomyces cerevisiae* je jedním z nejpoužívanějších probiotických druhů na podporu bachorové fermentace při přechodu na pevnou stravu u telat. Studie ukazují, že dokáže zvýšit produkci mléka a využití krmiva u laktujících dojníc (Zhu et al. 2017).

V experimentu Zhu et al. (2017) byl zkoumán vliv probiotického přípravku *Saccharomyces cerevisiae* na fermentaci v bachoru a laktaci u Holštýnského skotu. Po dobu 8 týdnů bylo 80 krav krmeno krmivem (nízké kvality) s přídavkem výše uvedeného probiotika. Výsledkem bylo mimo jiné zvýšení produkce mléka a funkce bachoru, vyšší osídlení bachorových mikroorganismů a lepší konverze dusíku z krmiva (Zhu et al. 2017).

3.2.6.9 *Aspergillus oryzae*

Aspergillus oryzae je vláknitá houba (plíseň) ze které se vyrábí extrakt, jenž může být použit jako probiotikum v krmivu pro telata, avšak běžněji se používá v dietních krmivech pro ovce a dospělý skot. V japonském potravinářském průmyslu se *Aspergillus oryzae* dlouhá léta používá pro fermentaci potravin, jako je saki, sojová omáčka a miso. Tato vláknitá houba je považována za bezpečnou pro použití, protože neprodukuje aflatoxin. Probiotikum s obsahem *Aspergillus oryzae* podporuje růst přirozeně se vyskytující populace bachoru. Díky tomu lze snížit výskyt, případně trvání enteritidy a průjmů a celkově zlepšit zdraví střev (Yohe et al. 2015).

Ve studii Tricarico et al. (2005) byl pozorován vliv alfa-amylázové aktivity probiotika *Aspergillus oryzae* na produkci a složení mléka. V pokusu bylo použito 24 krav, probiotikum

bylo podáváno po dobu několika týdnů. Výsledkem bylo zlepšení bachorové fermentace, vyšší produkce mléka a zlepšení obsahu složek v něm (Tricarico et al. 2005).

3.3 Prebiotika

Kromě probiotik se jako přírodní doplňkové látky krmiv používají také prebiotika, která jsou velmi často naprosto přirozenou součástí krmiv (Markowiak & Śliżewska 2018). Problematika prebiotik je oproti probiotikům podstatně mladší. Za otce tohoto termínu jsou považováni Gibson a Roberfroid, kteří v roce 1995 definovali prebiotika jako „nestravitelné potravní ingredience, které příznivě ovlivňují hostitele prostřednictvím selektivní stimulace růstu a/nebo aktivity určitých bakterií v tlustém střevě“. V roce 2004 původní autor Glenn Gibson upravil definici tak, že „prebiotika jsou selektivně fermentované ingredience, které umožňují specifické změny, ve složení a/nebo aktivitě střevní mikrobioty, což má příznivý vliv na hostitelovo prospívání a zdravotní stav“. Druhý muž ze zakladatelů – Marcel Roberfroid zase v roce 2007 formuloval tři kritéria pro prebiotika. Látky musí (Rada 2011):

1. být rezistentní vůči žaludečním kyselinám a vůči hydrolytickým enzymům trávicího traktu
2. fermentovatelné střevními bakteriemi
3. selektivně stimulovat růst případně alespoň aktivitu střevních bakterií, které mají příznivý vliv na zdravotní stav hostitele

V podstatě by se zjednodušeně dalo říct, že prebiotika jsou jakási „potrava“ pro probiotické bakterie (Rada 2011). Avšak, aby bylo možné určit a prokázat, že daná látka je potenciální prebiotikum, je třeba uvést její zdroj, původ, chemické složení a strukturu. Zdůrazňuje se, že pojem prebiotikum lze použít pouze tehdy, pokud má prospěšný účinek na zdravotní stav v souvislosti s úpravou mikrobioty zažívacího traktu. Mezi prebiotické látky patří například nestravitelné sacharidy (oligosacharidy a polysacharidy), peptidy, proteiny a lipidy. Z toho důvodu jsou luštěniny, ovoce a obiloviny skvělými přírodními zdroji prebiotik. Mnoho podobných látek však bývá také syntetizováno chemicky nebo enzymaticky (Markowiak & Śliżewska 2018). Velice podstatné oligosacharidy jsou obsaženy v mateřském mléku, kde mají rozmanité funkce. V první řadě podporují růst bifidobakterií ve střevě kojenců, rozvoj nervové soustavy, vstřebávání vápníku a mimo jiné také negativně působí na adhezi patogenních bakterií na střevní stěnu (Rada 2011).

Ve výživě hospodářských zvířat jsou nejčastěji používaná prebiotika fruktooligosacharidy (FOS), galaktooligosacharidy (GOS), inulin, isomaltooligosacharidy

(IMO), xylooligosacharidy (XOS), lakticol, laktulóza a obilná vláknina. Při navrhování složení prebiotických přípravků je nezbytné stanovení vhodné dávky, protože předávkování prebiotiky může vést k nadýmání nebo průjmům. Na druhou stranu, velkou výhodou tohoto druhu krmných doplňků je, že mohou být používány dlouhodobě i jako prevence, neboť na rozdíl od antibiotik u nich nebyly zaznamenány žádné nepříznivé účinky (Markowiak & Śliżewska 2018).

3.4 Synbiotika

Nejmladším termínem jsou synbiotika, která jsou definována jako produkty, které obsahují jak probiotika, tak prebiotika, přičemž se očekává tzv. synergický účinek od těchto dvou složek (Rada 2011). Synergický účinek znamená, že prebiotická složka selektivně zvýhodňuje probiotický mikroorganismus. Hlavním účelem této kombinace je zlepšení přežití probiotických mikroorganismů v gastrointestinálním traktu. Probiotika příznivě ovlivňují střevní rovnováhu a tvoří ochrannou bariéru pro zažívací trakt. Na druhé straně prebiotika dodávají živiny a energii probiotickým bakteriím. Společně by měly tyto dvě složky zajistit mnohem lepší účinek. Avšak zdravotní účinek je především závislý na individuální kombinaci probiotik a prebiotik. Krmný doplněk může být považován za synbiotikum pouze pokud je potvrzena selektivní stimulace růstu prospěšných mikroorganismů, spolu s žádnou nebo omezenou stimulací růstu jiných nepříznivých mikrobů. Když se zvažují technologické aspekty, je stanovení složení synbiotického doplňku nesmírně obtížný úkol, který vyžaduje mnoho studií. Nejvíce populární se zdá být kombinace rodů *Bifidobacterium* nebo *Lactobacillus* s fruktooligosacharidy (Markowiak & Śliżewska 2018).

4 Materiál a metody

Práce je rozdělená na dvě studie. V první části jsem provedla průzkum českého trhu s probiotiky a vytvořila přibližný přehled sortimentu dostupného na českém trhu. Jako zdroj informací jsem použila tištěné katalogy obchodů, příbalové letáky, internetové obchody, webové stránky výrobců probiotických doplňků a přímé kontaktování chovatelů, kteří žijí v mém okolí. U firmy Em-eko jsem kontaktovala přímo výrobce ohledně přesnějšího složení jejich produktů. Přímé kontaktování chovatelů, kteří žijí v mém okolí, nepřineslo nové informace, protože žádný z nich probiotika nepoužívá. Veškeré mnou zjištěné probiotické přípravky jsem zapsala do tabulky (výrobce, název výrobku, použité probiotikum) a některá vybraná probiotika popsala podrobněji. Kompletní analýza trhu by naneštěstí zdaleka převyšovala rámec této bakalářské práce.

V druhé části práce jsem vytvořila anonymní polostrukturovaný dotazník (viz I. příloha), který obsahoval 8 otázek ohledně použití probiotik v chovech přežvýkavců. Pro lepší sběr a přehlednost odpovědí jsem využila internetový server Survio. Následně jsem dotazník pomocí webového odkazu rozeslala sdruženým skupinám velkochovatelů i malochovatelů na sociálních sítích.

5 Výsledky

5.1 Probiotické přípravky

V následující tabulce je uveden seznam probiotických přípravků, které je dle výsledků mého průzkumu možno zakoupit na českém trhu.

Tabulka 1 Probiotické přípravky dostupné v ČR

| Název | Výrobce | Probiotický mikroorganismus | Kategorie zvířat |
|--------------------------------|----------------|---|-------------------------------|
| Em15 Skot | Em-Eko | Kmen Firmicutes: <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> Kvasinky: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Skot, telata |
| Pro-Biotics em15 Ovce, kozy | Em-Eko | Kmen Firmicutes: <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> Kvasinky: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Ovce, kozy, včetně mláďat |
| Progal | Int. Probiotic | Kmen Firmicutes: <i>Lactobacillus casei</i> | Přežvýkavci, včetně mláďat |
| Lactiferm Vit | CHr. Hansen | Kmen Firmicutes: <i>Enterococcus faecium</i> | Mláďata přežvýkavců |
| Kolostran | CHr. Hansen | Kmen Firmicutes: <i>Enterococcus faecium</i> | Telata |
| BioPlus YC | CHr. Hansen | Kmen Firmicutes: <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> | Telata |

| | | | |
|-------------|------------------|---|------------------|
| Probiocol L | Agrochemica GmbH | Kvasinky: <i>Saccharomyces cerevisce</i> | Jehňata, kůzlata |
| Calf Renova | TechMix | Kmen Firmicutes: <i>Bacillus Subtilis</i> , <i>Bacillus Licheniformis</i> Kvasinky: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Telata |

5.1.1 Jednotlivé probiotické přípravky

5.1.1.1 Em15 Skot

Em15 Skot je přírodní probiotický doplněk, který slouží jako přísada do vody a ke krmivu. Obsahuje směs aktivních a prospěšných mikroorganismů. Výrobce uvádí, že produkt zajišťuje mikrobiologickou rovnováhu ve střevech zvířat, chrání organismus před patogeny, chorobotvornými zárodky, toxiny a celkově posiluje jejich imunitu. Zároveň údajně přispívá k rychlejší léčbě poranění a kožních problémů.

Složení: Organická melasa z cukrové třtiny, nechlorovaná voda, mořská sůl, minerální komplex, výtažky z bylin a rýžových otrub a probiotické mikroorganismy laktobakterií (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus plantarum*), celkový počet - $3,6 \times 10^5$ KTJ/ml, celkový počet kvasinek není uveden (*Saccharomyces cerevisce*).

Dávkování: Dospělý skot 50 ml. a 20 ml. pro tele na den, dvakrát až 3krát týdně.

Cena je 218 Kč za litr.

5.1.1.2 Pro-Biotics em15 Ovce, kozy

Tento přípravek je obdobný jako předchozí preparát. Jedná se o přírodní probiotický doplněk krmiva a vody určený pro kozy a ovce. Obsahují směs aktivních a prospěšných mikroorganismů. Výrobce uvádí, že produkt zlepšuje kondici a zdravotní stav zvířat.

Složení: Organická melasa z cukrové třtiny, nechlorovaná voda, mořská sůl, minerální komplex, výtažky z bylin a rýžových otrub a probiotické mikroorganismy laktobakterií (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus plantarum*) a kvasinky (*Saccharomyces cerevisce*). Celkový počet laktobakterií je $3,6 \times 10^5$ KTJ/ml, celkový počet kvasinek není uveden.

Dávkování: Dospělému jedinci 30ml. a pro mládě 20ml., dvakrát týdně (doporučeno dávat dlouhodobě).

Cena je 191 Kč za litr.

5.1.1.3 Progal

Progal je probiotický přípravek v podobě prášku určený pro více druhů přežvýkavců. Je indikován jako prevence nebo případně terapie proti průjmovým onemocněním. Výrobce uvádí, že produkt brání růstu a množení nežádoucích patogenních mikroorganismů a zlepšuje tím zdraví přežvýkavců.

Složení: Mikroorganismy *Lactobacillus casei* (celkový počet není uveden), maltodextrin a fruktooligosacharidy.

Dávkování: Preventivně, telata, dospělý hovězí dobytek a velcí přežvýkavci (jeleni, daňci): 55 g na ks a den, minimálně 10 dnů. V kritických obdobích podle indikace, minimálně 30 dnů. Malí přežvýkavci, jehňata, kůzlata, dospělé ovce a kozy: 2 g na ks a den minimálně 10 dnů. Doporučuje se aplikovat minimálně 1x za 2-3 měsíce.

Cena se pohybuje kolem 541 Kč za 1 kg.

5.1.1.4 Lactiferm Vit

Lactiferm Vit je probiotická pasta obohacená o širokou škálou vitaminů. Dle popisu výrobku má údajně sloužit ke zlepšení zdravotního stavu a zvýšení odolnosti mláďat vůči infekcím. Tento probiotický doplněk je určen pro telata, selata a hříbata.

Složení: 1 g pasty obsahuje 2 miliardy zárodků *Enterococcus faecium* a vitamíny A, D3, E, B1, B12 a B3.

Dávkování: Pro tele se používá 2–4 ml. pasty na den (po celý první týden života).

Cena jednoho balení 80 ml. je přibližně 270 Kč.

5.1.1.5 Kolostran

Kolostran je pasta určena pro novorozená telata. Výrobce uvádí, že produkt zvyšuje odolnost telat vůči celkovým, respiračním a střevním infekcím a zároveň urychluje vývoj imunitního systému telat.

Složení: Sušené bovinní kolostrum, mikroorganismy *Enterococcus faecium* (celkový počet není uveden), oligosacharidy, vitamíny (A, D3, E, B1, B2, B12, C, B3) a mikroprvky (železo, zinek, mangan a selen).

Dávkování: Základní dávka je 15 ml. na tele. Podání se doporučuje co nejdříve po narození buď jednorázově, nebo opakovaně v intervalu 6-12 hodin.

Cena jedné pasty (obsah balení 15 ml.) se pohybuje kolem 125 Kč.

5.1.1.6 Bioplus YC

Bioplus YC je krmný doplněk na bázi probiotika v podobě prášku. Použití je určené především pro prasata, avšak lze použít i u telat. Aplikace se doporučuje jako přídavek do krmné směsi (lze přidat i do mléčné krmné směsi). Dle popisu výrobku má produkt sloužit k úpravě střevní mikrobioty a posílení imunity organismu zvířete.

Složení: Mikroorganismy *Bacillus licheniformis* a *Bacillus subtilis* (přesný počet není uveden).

Dávkování: U telat se používá 40 g na 100 kg živé hmotnosti na den (do 3 měsíců věku).

Cena přípravku je přibližně 370 Kč za 1 kg.

5.1.1.7 Probiocol L

Probiotický přípravek, který lze údajně použít jako doplněk nebo náhradu kolostra pro jehňata a kůzlata. Výrobce udává, že preventivně podaný preparát u čerstvě narozených mláďat snižuje jejich ztráty, protože jeho hlavní funkce spočívá ve zvýšení odolnosti organismu vůči patogenním mikroorganismům.

Složení: Slunečnicový olej, mlezivo, dextróza, vitamíny A, D3, E, kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* (celkový počet není uveden).

Dávkování: Ihned po narození 2 ml. pasty na jednoho jedince. Výrobce také doporučuje podávat v kritické fázi vývoje mláďete, tj. 3. a 7. den života a po odstavení 2 ml. V případě poruch trávicího ústrojí například průjmů podávejte ráno a večer vždy 2 ml., dokud průjem zcela nezmizí.

Cena za jednu pastu (obsah balení 20 ml.) je přibližně 195 Kč.

5.1.1.8 Calf Renova

Doplňkové krmivo pro telata Calf Renova je produkt určený pro průjmová telata. Jeho úkolem je dle výrobce vyčistit trávicí trakt od škodlivých patogenů a současně podpořit zdravou mikrobiotu pomocí obsažených probiotik. Výrobce uvádí, že produkt podporuje imunitu a napomáhá návratu zdravého trávení.

Složení: Maltodextrin, uhličitán vápenatý, oreganový olej, mikroorganismy *Bacillus Subtilis* a *Bacillus Licheniformis* v počtu 2.56×10^{11} KTJ/kg.

Dávkování: Prevence 1 kapsle na jedno tele, během prvního týdnu života (od 3 dne narození), lze podat 1 kapsli i při odstavu a následném přechodu na rostlinnou stravu. Léčebně se dává 1 kapsle na jedno tele a den (od 3. dne věku výše) nejlépe po zpozorování prvních příznaků průjmů nebo kdykoliv v jejich průběhu. V případě potřeby možné opět aplikovat další 2 dny s odstupem 24 hodin.

Cena za jedno balení (180 g) je 3 240 Kč, obsahuje 36 kapslí (1 kapsle 5 g).

Tabulka 2 Porovnání cen přípravků

| Název produktu | Cena za 1 dávku mládě/dospělec | Četnost podávání | Celková cena za preventivní podání mládě/dospělec |
|---------------------------------------|--|--|--|
| Em15 Skot | 5/11 Kč | 2-3krát týdně | 10-15/22-33 Kč/týden |
| Pro-Biotics em15 Ovce, kozy | 4/6 Kč | 2krát týdně | 8/12 Kč/týden |
| Progal | 1 Kč (malí přežvýkavci) 30 Kč (velcí přežvýkavci) | Preventivně 1krát denně 10 dnů, v případě léčebné terapie 30 dní | 10 Kč (malí přežvýkavci) 300 Kč (velcí přežvýkavci) |
| Produkty určené pro jehňata a kůzlata | | | |
| Probiocol L | 20 Kč | Jednorázově po narození, léčebně až 2krát denně | 20 Kč |
| Produkty určené pro telata | | | |
| Lactiferm Vit | 10 Kč | 1krát denně prvních 7 dní života | 70 Kč |
| Kolostran | 125 Kč | Jednorázově po narození nebo opakovaně po 6-12 h | 125 Kč |
| Bioplus YC | 15 Kč | 1krát denně po dobu 90 dní | 1350 Kč |
| Calf Renova | 90 Kč | Jednorázově jako prevence, léčebně 1krát denně 2-3 dny | 90 Kč |

5.1.2 Výrobky s přidavkem probiotik

V následující tabulce jsou uvedeny různé doplňky krmiv na bázi vitamínů, minerálů nebo případně dietních krmiv, kde jsou probiotika uvedena jako přídavek složení daného produktu.

Tabulka 3 Krmné doplňky s přidavkem probiotik

| Název | Výrobce | Probiotický mikroorganismus | Kategorie zvířat |
|-----------------------------|-------------|---|---------------------------|
| Veyxal antilax BactoFerm | VEYX | kmeny <i>Lactobacillus</i> | Telata, jehňata a kůzlata |
| Recofast Entericum | CODIFAR | Není přesně uvedeno | Telata, jehňata a kůzlata |
| FOS Calforte Farm-O-San | Biofaktory | Není přesně uvedeno | Telata |
| NutriMix | Biofaktory | Kmen Firmicutes: <i>Enterococcus faecium</i> | Telata |
| MIKROP OVIS | Mikrop | Kmen Firmicutes: <i>Enterococcus faecium</i> | Jehňata, kůzlata |
| Rehymed | Chr. Hansen | Kmen Firmicutes: <i>Enterococcus faecium</i> | Telata |
| Diasecur | Provit | Kvasinky: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Telata jehňata a kůzlata |

5.2 Odpovědi na dotazník

S dotazníkem jsem oslovila okolo 80 chovatelů a získala jsem dohromady 28 odpovědí. Z toho 3 odpovědi jsem vyloučila z důvodu nesmyslných informací. Z počtu 25 zbylých odpovědí, 5 chovatelů chová ovce i kozy, jeden chovatel skot a ovce a jeden všechny 3 zmíněné druhy hospodářských zvířat. V následujícím přehledu jsou zpracované počty, případně obsah odpovědí zaznamenaných na internetovém serveru Survio.

- Otázka č. 1: Jakého přežvýkavce vlastníte? (četnost odpovědí)
 - Skot: 10
 - Ovce: 9
 - Kozy: 14
- Otázka č. 2: Kolik kusů? (počet jedinců ve stádě jednotlivých chovatelů)
 - Skot: 2, 5, 6, 30, 45, 100, 200, 200, 350, 678 (z toho 80 ks telat)
 - Ovce: 2, 2, 2, 5, 5, 6, 6, 6, 40
 - Kozy: 1, 1, 2, 2, 4, 4, 5, 14, 15, 20, 30, 50, 150, 300
- Otázka č. 3: Víte, co to jsou probiotika? (ano/ne)
 - Všichni chovatelé skotu, ovcí i koz odpověděli ano
- Otázka č. 4: Dávali jste někdy probiotika? (ano/ne)
 - Skot: 50 % chovatelů odpovědělo ano a dalších 50 % ne
 - Ovce: 67 % chovatelů odpovědělo ano dalších 33 % ne
 - Kozy: 57 % chovatelů odpovědělo ano dalších 43 % ne
- Otázka č. 5: Pokud ano, za jakým účelem? (léčebně/preventivně)
 - Skot: 48 % chovatelů léčebně a dalších 52 % preventivně
 - Ovce: 63 % chovatelů léčebně a dalších 37 % preventivně
 - Kozy: 50 % chovatelů léčebně a dalších 50 % preventivně
- Otázka č. 6: Případně jaká probiotika? (odpovědělo 15 chovatelů, z toho 7 chovatelů si údajně nepamatuje název)
 - Skot: Calf renova, rehydratační přípravky s přidavkem probiotik, přípravky s rodem *Saccharomyces cerevisce*, Probiosan, Em výrobky, LiguiPro, Diamond V, Diasecur
 - Ovce: Progal (uvedeno od 3 chovatelů), Probicol, pivovarské kvasnice, Probiotyk (výrobek ze Slovenska)
 - Kozy: Probiosan, Em výrobky, Progal, pivovarské kvasnice, Probiotik
- Otázka č. 7: Jaká jsou pro Vás dostupné na trhu? (odpovědělo 10 chovatelů)
 - Skot: Calf renova, rehydratační přípravky s přidavkem probiotik, přípravky s rodem *Saccharomyces cerevisce*, Probiosan, Em výrobky, LiquiPro, Diamond V, Diasecur, pivovarské kvasnice, dále vše na doporučení veterináře
 - Ovce: Progal (shodná odpověď 4 chovatelů), Probicol, Lambaid, Propoul, pivovarské kvasnice, Mikros

- Kozy: Probiosan, Em výrobky, Progal, pivovarské kvasnice, Probiotyk, Calforte, Mikros,
- Otázka č. 8: Prevence. Čím bojujete proti možným onemocněním? (odpovědělo 24 chovatelů)
 - Skot
 - Velmi častá odpověď (3-4 odpovědi): správná zoohygiena, krmná dávka a pravidelné kontroly
 - Častá odpověď (1-2 odpovědi): přídavek minerálních lizů a vitamínových doplňků, dostatek pohybu, pravidelné odčervení
 - Méně častá odpověď (1 odpověď): ochrana proti parazitům, pravidelné očkování, ošetřování paznehtů, šlechtění
 - Ovce
 - Velmi častá odpověď (3-4 odpovědi): správná zoohygiena, krmná dávka a pravidelné kontroly
 - Častá odpověď (1-2 odpovědi): přídavek minerálních lizů a vitamínových doplňků, dostatek pohybu, pravidelné odčervení a očkování
 - Méně častá odpověď (1 odpověď): šlechtění
 - Kozy
 - Velmi častá odpověď (3-4 odpovědi): správná zoohygiena, krmná dávka a pravidelné kontroly
 - Častá odpověď (1-2 odpovědi): přídavek minerálních lizů, dostatek pohybu, pravidelné odčervení, očkování a ošetření paznehtů
 - Méně častá odpověď (1 odpověď): vitamíny

6 Diskuze

Vědecké studie dokazují, že použití probiotik v chovech přežvýkavců pozitivně ovlivňuje složení střevní mikrobioty a zároveň podporuje imunitu jedinců, s čímž může být spojen i nižší výskyt průjmů a mortality zvířat. Probiotika mohou příznivě působit i na užitkovost zvířat, jak se uvádí například ve studiích Kritas et al. (2006), Zhu et al. (2017) a Tricarico et al. (2005), kde zaznamenali výrazně vyšší průměrnou denní produkci mléka u sledovaných skupin přežvýkavců. Mikrobiota bачoru u dospělého zvířete je podstatně hůře ovlivnitelná a z toho důvodu se doporučuje použití probiotik již u mláďat. Mláďata mají před narozením prakticky sterilní trávicí trakt, který se porodem začíná kolonizovat zejména mikroorganismy matky a z okolního prostředí. Je žádoucí, aby se mikrobiota mláďat kolonizovala především pozitivními mikroorganismy. V opačném případě, kdy se v trávicím traktu rozvinou ve vysokých počtech patogenní mikroorganismy, může docházet například k průjmům, které jsou ve výsledku nejčastější příčinou úhynu mláďat v chovech přežvýkavců. Vědecká studie Kritas et al. (2006), kde sledovali účinek probiotika obsahujícího *Bacillus licheniformis* a *Bacillus subtilis* na mortalitu mladých jehňat dokazuje, že použití probiotik může úhyny mláďat značně snížit.

Z vytvořeného přehledu zjištěných probiotických přípravků, které lze zakoupit na našem trhu vyplývá, že český trh s probiotiky není příliš obsáhlý. Výrobci doporučují své probiotické produkty v první řadě jako prevenci proti průjmům a na podporu imunity zvířat. Většina u nás dostupných preparátů obsahuje bakterie rodů *Enterococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus* nebo kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Jako jednoho z největších výrobců probiotických přípravků lze označit firmu Ch. Hansen. Ve vytvořeném přehledu zastupuje hned několik produktů z řad probiotických výrobků a doplňků s přídavkem probiotické složky, které jsou především určené pro kategorii mláďat přežvýkavců.

Probiotické produkty obsahují poměrně malé spektrum možných probiotických kmenů. U většiny nejsou uvedeny počty mikroorganismů a u krmných aditiv s přídavkem probiotické složky často chybí i označení použitého probiotického kmene. Vysoký počet probiotických doplňků je obohacen o minerální složky a vitamíny. Když se zaměříme detailněji na produkty, tak například firma Em-eko uvádí, že jejich produkty Em15 skot a Pro-Biotics em15 Ovce, kozy mají zajistit mikrobiologickou rovnováhu ve střevech zvířat, chránit jejich organismus před patogeny a celkově posilovat imunitu přežvýkavců. Vědecké studie Izuddin et al. (2019), jenž zkoumal vliv kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* a Zhu et al. (2017), který vytvořil studii na probiotický mikroorganismus *Lactobacillus plantarum* potvrzují, že tyto mikrobiální druhy skutečně mohou pozitivně působit na trávení přežvýkavců, potlačovat patogenní

mikroorganismy a posilovat imunitu i produkci přežvýkavců. Problémem je, že řada probiotických vlastností je kmenově specifická (Hill et al. 2014), tudíž není možné jednoznačně říct, že kmeny použité ve výrobku budou mít na mikrobiotu a zdravotní stav zvířat stejný efekt, jako kmeny použité v uvedených studiích.

Výrobek Progal, který obsahuje *Lactobacillus casei*, je indikován jako prevence nebo případně terapie proti průjmovým onemocněním. Výrobce uvádí, že tento produkt brání růstu a množení nežádoucích patogenních mikroorganismů a zlepšuje tím zdraví přežvýkavců. Avšak u probiotického mikroorganismu *Lactobacillus casei* chybí relevantní studie na přežvýkavce, tudíž nelze potvrdit jednoznačný probiotický účinek tohoto produktu. Nicméně kmeny laktobacilů produkují organické kyseliny a v některých případech i další biologicky aktivní látky (Lebeer et al. 2008), tudíž lze alespoň nějaký probiotický efekt předpokládat.

Lactiferm a Vit Kolostran jsou probiotické pasty pro telata s obsahem *Enterococcus faecium*. Pasty mají údajně podporovat imunitu narozených mláďat, zejména vůči patogenním mikroorganismům ve střevech. Z vědeckých studií na probiotický mikroorganismus *Enterococcus faecium*, však nelze prokázat jejich účinek, protože jediná dohledaná relevantní studie Mamuad et al. (2019) byla provedena u dojnic skotu, které mají od mláďat trávení zcela odlišné.

BioPlus YC a Calf Renova jsou produkty s obsahem *Bacillus Subtilis* a *Bacillus Licheniformis*. Výrobci uvádí, že mají mimo jiné sloužit k podpoře střevní mikrobioty a posílení imunity organismu zvířete. Tyto účinky lze zcela prokazatelně doložit studiemi Kritas et al. (2006) a Mráz (2015), kde byly zaznamenány nižší výskyty průjmů, nárůst hmotnosti mláďat, vyšší odolnost vůči nemocem, menší úmrtnost, a dokonce zvýšení produkce mléka matek.

Jeden z posledních podrobněji popsanych výrobků je Probiocol L, který výrobce uvádí jako probiotický přípravek s obsahem kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, pro jehňata a kůzlata na podporu imunity a trávení. Vědecké studie Izuddin et al. (2019) potvrzují pozitivní účinek na trávení přežvýkavců, avšak výzkum byl proveden u dospělého skotu, který má od mláďate zcela odlišné trávení. Z toho důvodu nelze vědecky zcela prokázat pozitivní účinek produktu u mláďat.

Z výše uvedeného je zřejmé, že množství vědeckých studií jednoznačně prokazujících pozitivní efekt probiotických přípravků dostupných na českém trhu je nedostatečné. Další nedostatky jsou v oblasti legislativy. Zatímco při použití probiotik jako doplňků stravy pro člověka je nepřipustné používat vědecky nepodložená zdravotní tvrzení, což vychází z evropské legislativy na základě doporučení EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin), u použití zdravotních tvrzení v oblasti výživy hospodářských zvířat podobná regulace neexistuje.

Výrobci krmných aditiv pak mohou při propagaci svých výrobků používat tvrzení, která nemusí být vědecky podložená a relevantní. Navíc výrobci v některých případech neuvědli, jaké probiotické kmeny jsou v jejich produktech obsaženy, a v jakých počtech.

Z vytvořeného cenového přehledu lze vyčíst, že pro dospělé přežvýkavců lze použít pouze tři produkty. U malých přežvýkavců se cena mezi produkty příliš neliší, avšak u velkých přežvýkavců můžeme vidět výrazný rozdíl. V tomto případě je výhodnější produkt Em15 Skot. Avšak nutno brát v potaz, že výrobce neuvádí časový interval použití výrobku a v případě delšího používání se bude cena lišit. Mláďata přežvýkavců jsou v přehledu rozdělená dle druhu. U jehňat a kůzlat se ceny příliš neliší. Nejvýhodněji vycházejí výrobky Pro-Biotics em15 Ovce, kozy a Progal. U telat lze z přehledu použít až 6 produktů. Z finančního hlediska opět nejlépe vychází produkt Em15-skot a po něm následuje probiotická pasta Lactiferm Vit. Nejdraž ze všech produktů vychází Bioplus YC. Cena za jednu dávku je sice relativně nízká, avšak z důvodu dlouhodobé aplikace mnohonásobně převyšuje ostatní produkty.

V druhé části práce jsem za účelem zjištění povědomí chovatelů o použití probiotik v chovech vytvořila anonymní dotazník. S dotazníkem jsem oslovila okolo 80 chovatelů různých druhů přežvýkavců. Dohromady jsem získala 28 odpovědí, což je pouze 22,4 % z počtu oslovených. Z výsledků vyplývá, že největší ochota odpovídat byla z řad malochovatelů (50 a méně kusů) koz. Všichni dotazovaní odpověděli, že vědí, co jsou to probiotika. Avšak výsledek může být nepřesný. Přesnější by bylo nechat chovatele popsat, co probiotika jsou. Dále z výsledků vyplývá, že více jak 50 % z dotázaných chovatelů v minulosti podávalo probiotický přípravek převážně za účelem léčby zvířat. Na otázku, jaká probiotika používali, jsem získala pouze 8 plnohodnotných odpovědí z 15. Zbytek chovatelů si nepamatuje název nebo spoléhají na svého veterináře. Mezi používanými probiotiky se nejvíce objevoval Progal a po něm následovaly výrobky od firmy Em-eko. Několikrát chovatelé zmínili i pivovarské kvasnice, které obsahují mimo jiné kvasinky *Saccharomyces cerevisce*, které lze také považovat za probiotický doplněk. Určitě by bylo vhodné od chovatelů zjistit i zpětnou vazbu ohledně účinku probiotických produktů na zvířata, což už však není možné z důvodu anonymity dotazníku. Jako prevenci před možným onemocněním chovatelé v první řadě hlídají správnou zoohygienu, krmení a provádějí pravidelné kontroly. Tyto body by samozřejmě měly být základem každého chovu.

Prevence je základní stavební kámen každého chovu a vždy by na ni měl být kladen velký důraz. Mimo zoohygienu a kvalitní krmení lze pomoci i preventivními zákroky, jako například pravidelné ošetření paznehtů, očkování nebo aplikace antiparazitik a jiné. Skvělým příkladem je článek Šlosárková et al. (2016), kde se můžeme dozvědět více informací o příčinách, léčbě a

v první řadě prevenci onemocnění končetin u dojnic skotu. I když tato opatření a zákroky mnohdy znamenají značnou finanční zátěž pro chovatele, vždy se více vyplatí předcházet možným onemocněním, protože případná léčba je nakonec mnohem nákladnější. Navíc se při léčbě často musí užívat antibiotika, což vede k podpoře rozvoje rezistence bakterií na antibiotika (Markowiak & Śliżewska 2018). Bylo by vhodné vytvořit studii, zda se náklady na prevenci z finančního hlediska vyplatí. Taková studie by však vyžadovala několikaleté sledování v mnoha různých chovech a přímý kontakt s chovateli, a zdaleka by přesahovala rámec bakalářské práce.

7 Závěr

Český trh s probiotiky je poměrně omezený. Produkty obsahují malé spektrum možných probiotických kmenů a často u produktů chybí informace o počtu obsažených mikroorganismů. U některých probiotických doplňků chybí označení použitých probiotických kmenů a nelze zkontrolovat, zda se vůbec jedná o probiotický produkt. Výrobci často uvádějí vědecky nepodložená zdravotní tvrzení. Vědecké studie, které prokazují pozitivní efekt probiotických přípravků dostupných na českém trhu jsou množstvím zcela nedostatečné.

Z dotazníku vyplývá, že údajně všichni chovatelé vědí, co to jsou probiotika a více jak polovina se již setkala s jejich použitím. Mezi nejčastěji používané produkty patří výrobek Progal a pivovarské kvasnice. V prevenci chovatelé spoléhají v první řadě na správnou zoohygienu a krmění. Prevence je základ každého chovu a měl by na ní být kladen velký důraz. Použití probiotik u přežvýkavců by si zasloužilo více pozornosti a bylo by vhodné vytvořit více vědeckých studií.

8 Seznam literatury

Bergmann GT. 2017. Microbial community composition along the digestive tract in forage-and grain-fed bison. *BMC Veterinary Research* (253) DOI: 10.1186/s12917-017-1161x.

Bouška J. 2006. Chov dojeného skotu. Profi Press, Praha.

Bunešová V, Geigerová M, Vlková E. 2015. Bifidobakterie jako možná probiotika pro mláďata přežvýkavců. *Veterinářství* **65**:528-532.

Creevey JC, Kelly JW, Hendersonová G, Leahy CS. 2014. Determining the culturability of the rumen bacterial microbiome. *Biotechnology & Applied Microbiology* **7**:467-479.

Diao Q, Zhang R, Fu T. 2019. Review of strategies to promote rumen development in calves. *Animals* (490) DOI: 10.3390/ani9080490.

Dicks LMT, Botes M. 2010. Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: health benefits, safety and mode of action. *Beneficial Microbes* **1**:11-29.

Elshagabee FMF, Rokana N, Gulhane RD, Sharma C, Panwar H. 2017. *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Frontiers in Microbiology* (1490) DOI: 10.3389/fmicb.2017.01490.

Fuller R. 1999. Probiotics – a critical review. Horizon scientific press, Wymondham.

Geigerová M, Vlková E, Skřivanová E, Bunešová V. 2014. Odlišnosti v mikrobiotě různých druhů savců a možnosti jejího ovlivnění. *Veterinářství* **64**:522-526.

Hanchi H, Mottawea W, Sebei K, Hammami R. 2018. The genus *Enterococcus*: between probiotic potential and safety concerns-an update. *Frontiers in Microbiology* (1791) DOI: 10.3389/fmicb.2018.01791.

Hill C, et al. 2014. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* **11**:506–514.

Hols P, et al. 2005. New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews* **29**:435–463.

Hulsen J, Dries A. 2014. Feeding signals: practical guide for feeding healthy and productive dairy cows. Profi Press, Praha.

Issa AT, Tahergorabi R. 2019. Dietary interventions in gastrointestinal diseases. Academic Press, United Kingdom.

Izuddin WI, Loh TC, Foo HL, Samsudin AA, Humam AM. 2019. Postbiotic *L. plantarum* RG14 improves ruminal epithelium growth, immune status and upregulates the

intestinal barrier function in post-weaning lambs. *Scientific Reports* (9938) DOI: 10.1038/s41598-019-46076-0.

Jelínek P, Koudela K. 2003. Fyziologie hospodářských zvířat. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno.

König HE, Liebich HG. 2002. Anatomia domácich cicavcov 2. Hajko a Hajková, Slovensko.

Krause DO, Denman SE, Mackie RI, Morrison M, Rae AL, Attwood GT, McSweeney CS. 2003. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS Microbiology Reviews* **27**:663-693.

Kritas SK, Govaris A, Christodoulopoulos G, Burriel AR. 2006. Effect of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* supplementation of ewe's feed on sheep milk production and young lamb mortality. *Journal of Veterinary Medicine Series A* **4**:170-173.

Lebeer S, Vanderleyden J, Keersmaecker S. 2008. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **72**:728–764.

Lugli GA, Milani C, Duranti S, Mancabelli L, Mangifesta M, Turrone F, Viappiani A, Sinderen D, Ventura M. 2018. Tracking the taxonomy of the genus *Bifidobacterium* based on a phylogenomic approach. *Applied and Environmental Microbiology* (84) DOI: 10.1128/AEM.02249-17.

Lukáš F, Koppová I, Kudrna V, Kopečný J. 2007. Postnatal development of bacterial population in the gastrointestinal tract of calves. *Folia Microbiologica* **52**:99-104.

Mamuad LL, Kim SH, Biswas AA, Yu Z, Cho KK, Kim SB, Lee K, Lee SS. 2019. Rumen fermentation and microbial community composition influenced by live *Enterococcus faecium* supplementation. *AMB Express* (123) DOI: 10.1186/s13568-019-0848-8.

Markowiak P, Śliżewska K. 2018. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathogens* (21) DOI: 10.1186/s13099-018-0250-0.

Moslehi-Jenabian S, Lindegaard L, Jespersen L. 2010. Beneficial effects of probiotic and food borne yeasts on human health. *Nutrients* **2**:449-473.

Mráz S. 2015. Tele a jeho zdraví je základ. *Chov skotu* **5**:14-15.

Ogunade I, Schweickart H, Andries K, Lay J, Adeyemi J. 2018. Monensin alters the functional and metabolomic profile of rumen microbiota in beef cattle. *Animals* (211) DOI: 10.3390/ani8110211.

Oliveira LC, Saraiva TDL, Silva WM, Pereira UP, Campos BC, Benevides LJ, Rocha FS, Figueiredo HCP, Azevedo V, Soares SC. 2017. Analyses of the probiotic property and stress resistance-related genes of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCDO 2118 through

comparative genomics and in vitro assays. PLoS ONE 12 (e0175116) DOI: 10.1371/journal.pone.0175116.

Pavlatá L, Pechová A, Dvořák R. 2005. Veterinářství **55**:689-695.

Porto MCW, Kuniyoshi TM, Azevedo POS, Vitolo M, Oliveira RPS. 2017. *Pediococcus* spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. Biotechnology Advances **35**:361-374.

Rada V, Marounek M. 2005. Probiotika a prebiotika ve výživě zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha.

Rada V. 2010. Využití probiotik, prebiotik a synbiotik. Interní medicína pro praxi **12**:92-97.

Rada V. 2011. Využití probiotik, prebiotik a synbiotik. Medicína pro praxi **8**:10-15.

Reece OW. 2010. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Grada, Praha.

Rytina L. 2004. Role mikroorganismů v bachoru. Zemědělec **3**:12, 33.

Seshadri R, et al. 2018. Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the hungate 1000 collection. Nature Biotechnology **36**:359–367.

Strapák P. 2013. Chov hovädzieho dobytku. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Nitra.

Šlosárková S, Fleischer P, Staněk S, Antoš D, Vacek M, Mikyska F, Novák P. 2016. Jak na zdravé končetiny. Náš chov **2**:1-50.

Terpou A, Papadaki A, Lappa IK, Kachrimanidou V, Bosnea LA, Kopsahelis N. 2019. Probiotics in food systems: significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. Nutrients (1591) DOI: 10.3390/nu11071591.

Timmerman HM, Konig CJM, Mulde L. 2004. Monostrain, multistain and multispecies probiotics – a comparison of functionality and efficacy. International Journal of Food Microbiology **153**:88-93.

Tricarico JM, Johnston JD, Dawson KA, Hanson KC, McLeod KR, Harmon DL. 2005. The effects of an *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on ruminal fermentation and milk production in lactating Holstein cows. Animal Science (81) DOI: 10.1079/ASC50410365.

Venema K, Carmo AP. 2015. Probiotics and prebiotics: current research a future microbes consultancy, Wageningen.

Vlková E, Bunešová V, Rada V. 2013. Podávání bifidobakterií mláďatům přežvýkavců. Veterinářství **5**:371-374.

Vlková E, Grmanová M, Rada V, Homutová I, Dubná S. 2009. Selection of probiotic bifidobacteria for lambs. Czech Journal of Animal Sciences **54**:552-565.

Vlková E, Trojanová I, Rada V. 2006. Distribution of bifidobacteria in the gastrointestinal tract of calves. Folia Microbiologica **51**:325-328.

Yohe TT, O'Diam KM, Daniels KM. 2015. Growth, ruminal measurements, and health characteristics of Holstein bull calves fed an *Aspergillus oryzae* fermentation extract. Journal of Dairy Science **9**:6163-6175.

Zhu W, Wei Z, Xu N, Yang F, Yoon I, Chung Y, Liu J, Wang J. 2017. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on performance and rumen fermentation and microbiota in dairy cows fed a diet containing low quality forage. Journal of Animal Science and Biotechnology (36) DOI: 10.1186/s40104-017-0167-3.

I. Příloha

Dotazník využití probiotik ve výživě přežvýkavců

1. Jakého přežvýkavce vlastníte?
 - Skot
 - Ovce
 - Kozy
 - Jiné
2. Kolik kusů?
3. Víte, co to jsou probiotika?
 - Ano
 - Ne
4. Dávali jste někdy probiotika?
 - Ano
 - Ne
5. Pokud ano, za jakým účelem?
 - Léčebně
 - Preventivně
6. Případně jaká probiotika?
7. Jaká jsou pro Vás dostupná na trhu?
8. Prevence. Čím bojujete proti možným onemocněním?