

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Kolonizace trávicího traktu telat bifidobakteriemi**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Tereza Nohejlová**

**Obor studia: Živočišná produkce**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Eva Vlková, Ph.D.**

**Konzultant: Ing. Nikol Modráčková**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Kolonizace trávicího traktu telat bifidobakteriemi" 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 18. 4. 2019

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Evě Vlkové, Ph.D. za vedení a odborný dohled při psaní této práce a rodině za podporu v průběhu celého studia.

# Kolonizace trávicího traktu telat bifidobakteriemi

## Souhrn

Mikrobiota gastrointestinálního traktu (GIT) je složité společenství mikroorganismů obývajících různorodé prostředí po celé délce trávicí trubice. Podle nejnovějších poznatků je možné, že se mikrobiota trávicího traktu rozvíjí už prenatálně migrací střevních bakterií do krevního řečiště matky odkud následně kolonizují plod. Od okamžiku porodu se mikrobiota střev rychle rozvíjí. Telata se nejprve kolonizují vertikálně od matky, důležitým zdrojem bakterií je i mléko. Po dosažení stabilního střevního mikrobiomu se růst zastavuje a mikrobiota zůstává relativně stálá. Stabilní kolonie chrání hostitele před invazivními patogeny. Nerovnováha ve složení střevní mikroflóry by mohla vést k poruchám trávení a riziku průjmů způsobených mikrobiálními infekcemi.

Dominantní mikrobiální skupinu tvoří bakterie, které osidlují střeva po celé délce. Čtyři bakteriální kmeny Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes a Actinobacteria představují téměř 93 % všech identifikovaných bakterií. Do kmene Actinobacteria patří i rod *Bifidobacterium*, u nějž byly prokázány probiotické účinky. Přítomnost bifidobakterií v GIT ve vysokém počtu je spojováno s dobrým zdravotním stavem hostitele. Bakterie patřící do tohoto rodu mají stabilizující účinek na střevní mikrobiotu, poskytují bariérové účinky proti kolonizaci patogenů, produkují inhibiční látky, stimulují imunitní systém a zlepšují kontrolu zánětlivé odpovědi.

Proto by bylo ideální přidávat je ve formě probiotik do krmné dávky. Další možností pozitivního ovlivnění střevní mikrobioty je podávání prebiotik, tedy nestravitelných složek krmiva, která prochází do tlustého střeva, kde pozitivně ovlivňují mikrobiotu trávicího traktu.

Pro ověření, zda může být mateřské mléko skotu zdrojem bifidobakterií pro kolonizaci trávicího traktu telat a zda délka společného ustájení telete s matkou ovlivní kolonizaci trávicího traktu bifidobakteriemi jsem provedli experiment, při kterém jsme kravám před otelením podávali mléko prokysané rifampicilinrezistentními bifidobakteriemi. Po porodu jsem matkám i telatům odebrala vzorky. Zpracování těchto vzorků bude předmětem mé diplomové práce.

**Klíčová slova:** Bifidobakterie; telata; mléko; kolonizace; střevní mikrobiota.

# Colonization of gastrointestinal tract of calves by bifidobacteria

## Summary

The gastrointestinal (GIT) microbiota is a complex community of microorganisms that live along the length of the digestive tube. According to the latest research, it is plausible, the microbiota begins its development by prenatal migration of gut bacteria to the mother's bloodstream. Through which they subsequently colonize the fetus. From the moment of birth, the microbiota develops rapidly. Calves are vertically colonized by their mother. Milk is also important source of bacteria. After reaching a stable gut microbiome the microbiota development stops and they remain relatively stable. The host is then protected from invasive pathogens by this stable microbiota. Unbalanced gut microbiota might lead to digestion disorders and risk of microbial infection diarrheas.

The dominant microbial group is formed by bacteria colonizing the whole length of the digestive tube. Four bacterial strains, Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes and Actinobacteria, represent almost 93% of all identified bacteria. The strain Actinobacteria includes the genus *Bifidobacterium* that has been proven to have probiotic effects. The presence of a high number of bifidobacteria in the GIT is linked with good host health. Bacteria from this genus have a stabilizing effect on the gut microbiota, provide pathogen colonization prevention barriers, produce inhibitors, stimulate the immune system and improve inflammatory modulation.

It would, therefore, be ideal to supplement them in the form of probiotics through feed. Another option to positively influence gut microbiota would be in the form of prebiotics – indigestible components of the feed that passes through to the colon and have a positive effect on the GIT microbiota.

We performed experiments and collected samples to verify if the cattle milk can be a source of *Bifidobacterium* and whether the duration of mother-calf co-habitation has effects on GIT colonization with *Bifidobacterium*. We fed cows with rifampicinresistant bifidobacteria and took different types of samples from mothers and their calves. Microbial analysis of these samples will be subject of my diploma thesis.

**Keywords:** Bifidobacteria; calves; milk; colonization; intestinal microbiota.

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>2</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>3</b>
<b>3.1 Vývoj a stavba trávicího traktu .....</b>	<b>3</b>
3.1.1 Embyonální vývoj trávicího traktu .....	3
3.1.2 Morfolgie trávicího traktu skotu.....	3
<b>3.2 Stádia výživy.....</b>	<b>4</b>
3.2.1 Mlezivové období.....	5
3.2.2 Mléčné období .....	5
3.2.3 Období rostlinné výživy .....	6
<b>3.3 Kolonizace trávicího traktu mikroorganismy .....</b>	<b>7</b>
3.3.1 Mikrobiota trávicího traktu.....	9
3.3.2 Rod Bifidobacterium .....	12
<b>3.4 Probiotika, prebiotika a synbiotika.....</b>	<b>14</b>
3.4.1 Probiotika.....	14
3.4.2 Prebiotika.....	16
3.4.3 Synbiotika.....	16
3.4.4 Vliv antibiotik na mikrobiotu trávicího traktu.....	16
<b>4 Materiál a metody .....</b>	<b>18</b>
<b>5 Výsledky a diskuse .....</b>	<b>23</b>
<b>6 Závěr .....</b>	<b>25</b>
<b>7 Literatura.....</b>	<b>26</b>
<b>8 Seznam použitých zkratk a symbolů .....</b>	<b>29</b>

# 1 Úvod

Gastrointestinální trakt je přirozeným stanovištěm pro rozsáhlý a různorodý mikrobiální ekosystém. Různé bakteriální druhy se přispůsobily životu po celé délce trávicího traktu, avšak největší míra mikrobiální kolonizace se nachází ve střevech, která osidlují 500 až 1000 různých bakteriálních druhů. Bakterie zde mimo jiné napomáhají trávení živin a podílí se na funkci imunitního systému. Mezi významné faktory ovlivňující střevní mikrobiotu telat se řadí způsob porodu a následně druh krmení a okolní prostředí.

## **2 Cíl práce**

Cílem této práce je popsat nejnovější poznatky o kolonizaci trávicího traktu mláďat přežvýkavců bifidobakteriemi. Dalším cílem bylo provést praktický experiment podávání bifidobakterií kravám před otelením a odebrání vzorků pro ověření, zda může být mateřské mléko skotu zdrojem bifidobakterií pro kolonizaci trávicího traktu telat a zda délka společného ustájení telete s matkou ovlivní kolonizaci trávicího traktu bifidobakteriemi.



## 3 Literární řešerše

### 3.1 Vývoj a stavba trávicího traktu

#### 3.1.1 Embryonální vývoj trávicího traktu

Gastrointestinální trakt (GIT) vzniká během gastrulace z endodermu, později se přidávají struktury ze všech zárodečných vrstev. Embryonálně je založen jako jednoduchá trubice, která se mezi 3-4 týdnem rozdělí na přední, střední a zadní střevo.

Z předního střeva vznikne jícen, žaludek, játra, žlučník se žlučovody, pankreas a proximální část *duodena*. Ze středního střeva distální část *duodena*, lačník, kyčelník, slepé střevo, apendix, vzestupný kolon tlustého střeva a část příčného kolonu. Ze zadního střeva je vytvořena část příčného kolonu, sestupného kolonu a análního kanálu (Carlson 2013).

#### 3.1.2 Morfologie trávicího traktu skotu

Trávicí soustava je fylogeneticky přizpůsobena druhu přijímané potravy. Základ tvoří trávicí trubice, která se dělí na dutinu ústní, hltan, jícen, žaludek a střevo. Dutina ústní (*cavum oris*) je ohraničena pysky, horní pysk spolu s hrotem nosu tvoří mulec (Marvan et al. 2003).

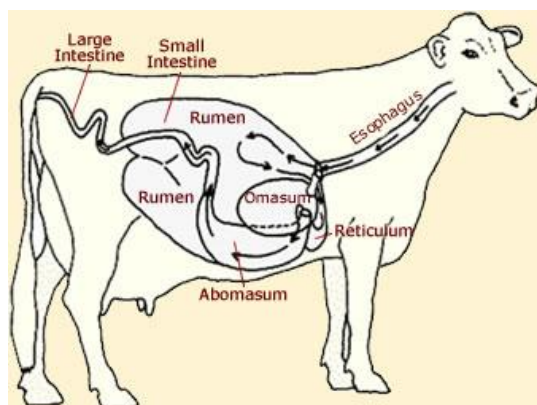
Pro skot je typická absence horních řezáků (*dentes incisivi*), které jsou nahrazeny skusnou deskou sloužící k rozměňování potravy. Zubní vzorec skotu je 0033/3133. Na ústní dutinu navazuje hltan (*pharynx*), ve kterém je uložen Waldeyerův lymfatický okruh, imunitní bariéra pro trávicí a dýchací soustavu.

Jícen (*esophagus*) spojuje hltan s bachorem, peristaltickými vlnami zde dochází k posunu potravy směrem k bachoru a antiperistaltickými směrem k ústní dutině k regurgitaci. Žaludek je vícekomorový, složený ze tří předžaludků bachoru (*rumen*), čepce (*reticulum*) a knihy (*omasum*) a vlastního žaludku – slezu (*abomasum*). Tím se řadí mezi polygastrická zvířata (obrázek č. 1).

Bachor je největší předžaludek, jeho objem dosahuje 100–130 l (Skřivánek 2001) a dochází zde k fermentaci potravy pomocí mikroorganismů na zažítinu za vzniku těkavých mastných kyselin (SCFA), sloužících jako zdroj energie.

Ve stěnách předžaludků se nacházejí žlaby, které se při nasávání mléka uzavřou v trubici a vedou mléko přímo do slezu teleteM(König & Liebich 2002). Do skončení období mléčné

výživy se proto u mláďat přežvýkavců bachorové papily vyvíjejí minimálně a jejich trávení probíhá stejně jako u monogastrů.



**Obrázek č. 1** Schématické znázornění předžaludků a žaludku skotu (<http://vetstudentresearch.blogspot.com/2015/05/digestive-physiology-and-anatomy-of-cows.html>)

Mezi další rozdíly oproti monogastrickým zvířatům patří stavba a délka střev. U skotu je délka střeva až 20násobkem délky těla (Marvan et al. 2003), dochází zde k enzymatickému trávení již fermentované zažitiny a jsou jím stráveni i prvoci a bakterie (Geigerová et al. 2014) pocházející z jiných částí trávicího ústrojí. Ze slezu vychází dvanáctník (*duodenum*), na něj navazuje lačník (*jejunum*) a kyčelník (*ileum*), společně tvoří tenké střevo (*intestinum tenue*). Na ně navazuje střevo tlusté (*intestinum crassum*), složené ze vzestupného (*colon ascendens*), příčného (*colon transversus*) a sestupného kolonu (*colon descendens*), který přechází v rektum (*rectum*). Rektum končí trávicí trubice a ústí ven z těla.

### 3.2 Stádia výživy

V období od narození do odstavu je trávení mláďat přežvýkavců specifické a blíží se fyziologicky monogastrickým zvířatům. Tato období označujeme jako mlezivové a následně mléčné. Po odstavu přechází tele do období rostlinné výživy. Během těchto období se rozhoduje o budoucí užitkovosti, proto je třeba výživu mladého skotu nepodceňovat. U mléčných plemen skotu převládá intenzivní způsob odchovu. Telata jsou po porodu odebrána matkám a umístěna do venkovních individuálních boxů (VIB). Zde jsou krmena jednotlivě směsným pasterovaným mlékem nebo mléčnou náhražkou, což zajišťuje přehled o množství přijatého mléka a

nemožnost vzájemného olizování zabraňuje přenosu průjmových onemocnění. Po odstavu jsou přesunuta do skupinového ustájení, kde dochází k socializaci a vytvoření sociálních skupin (Sumner & von Keyserlingk 2018). Naproti tomu u masných plemen skotu je využíván zejm. extenzivní způsob odchovu, kdy tele zůstává s matkou na pastvině a saje její mléko až do odstavu.

### 3.2.1 Mlezivové období

Začíná okamžikem narození telete. Jedná se o napojení telete kolostrem, popř. mlezivovou náhražkou a následné napájení přechodným mlékem. Trvá přibližně prvních 7 dní života telete (Phillips 2002). V intenzivním chovu bývá zkráceno pouze na jedno nebo dvě napojení mlezivem, poté telata přecházejí rovnou do mléčného období. Skot má syndesmochoriální typ placenty, přes kterou nedochází k průchodu protilátek z krve matky na plod. Telata se proto rodí téměř bez imunoglobulinů – hypogamaglobulinemická (Beam et al. 2009). Proto je napojení mlezivem od matky nepostradatelným a nejdůležitějším krokem do života telete. Dochází při něm k pasivní imunizaci, resorbci kolostrálních imunoglobulinů sliznicí tenkého střeva. Absorbční schopnost střeva se postupem času snižuje. Dochází ke kolonizaci střev bakteriemi, vyloučení trávicích enzymů a po 6 hodinách od porodu je schopnost prostupu protilátek již pouze 50 % původní kapacity (Cortese 2009).

### 3.2.2 Mléčné období

Mléčné období navazuje na mlezivové období, tele je krmeno pasterovaným mlékem nebo mléčnou náhražkou a je ustájeno ve VIB (obrázek č. 2).



**Obrázek č. 2** Ustájení ve venkovních individuálních boxech (foto: Markéta Lašková)

Toto období trvá do odstavu, který se dnes standartně provádí ve 2 měsících věku. Telatům se v tomto období předkládá ad libitně voda a startér, což jsou peletované nebo strukturované směsi pro časný odstav telat (ČOT), díky jehož konzumaci dochází k rozvoji bachorových papil a aktivního povrchu bachoru a voda oboje ad libitně. Peletovaný startér je vhodnější, nedochází u něj k přebírání. Ke startéru je možné předkládat řezanou slámu ideálně ovesnou (Bach 2018).

Odstav telat je vhodné započít v individuálních boxech, po dokončení odstavu lze telata přemístit do venkovních skupinových boxů (VSB), které jsou vidět na Obrázku č. 3. Telata přemístěná ihned po odstavu přijímala více startéru a trpěla menším množstvím respiračních onemocnění (Bach et al. 2010)



**Obrázek č. 3** Venkovní skupinové boxy (foto: Markéta Lašková)

### 3.2.3 Období rostlinné výživy

V tomto období již přijímají telata objemné krmivo, zejm. siláž nebo senáž doplněné o strukturální složku. Tou může být řezaná sláma, seno nebo startér. Je proto důležité, aby bachorové papily a klky byly dostatečně rozvinuté a povrch bachorové sliznice co největší. Velikost povrchu bachorové sliznice je přímo úměrná množství vstřebaných SCFA (Bach et al. 2010).

### 3.3 Kolonizace trávicího traktu mikroorganismy

Podle dříve dostupných informací začíná kolonizace GIT okamžikem narození a trávicí trakt, v prenatálním období sterilní, začne být osidlován mikrobiotou matky a okolního prostředí (Leahy et al. 2005)

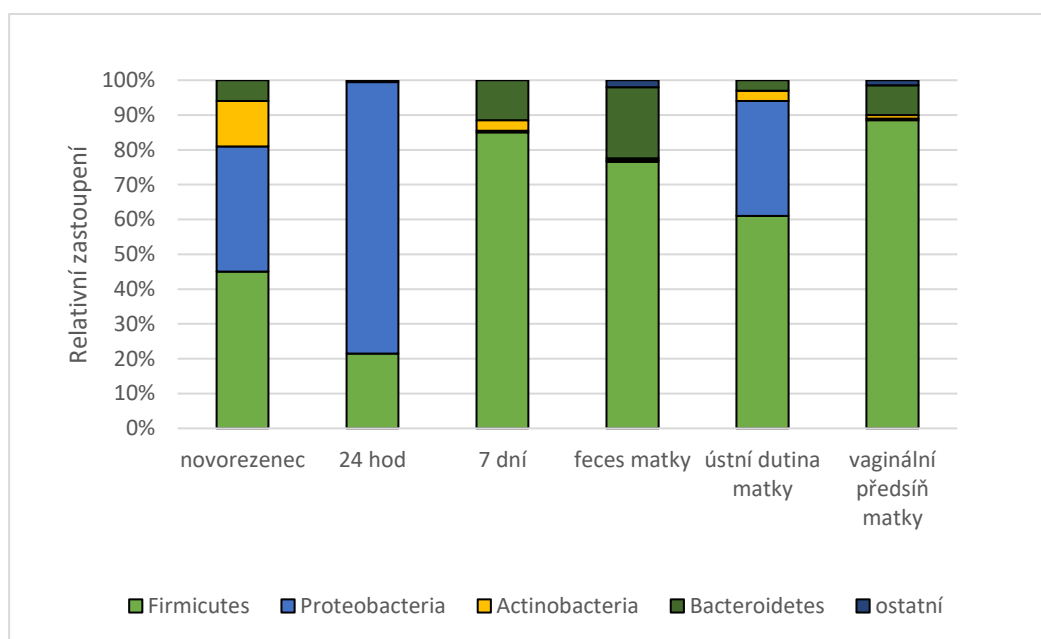
Naproti tomu podle nejnovějších poznatků kolonizace trávicího traktu začíná již v prenatálním období. Již dříve byla bakteriální DNA nalezena ve většině vzorků mekonie, což naznačovalo expozici bakteriemi *in utero* (Martin et al. 2016). Díky tomu můžeme předpokládat, že bakteriální složení mekonie odráží mikrobiální prostředí *in utero*. Není však zatím přesně známo, jakými mechanismy zde ke kolonizaci placenty, plodové vody a plodu dochází. Nejpravděpodobnější je přenos z matčiny střevní sliznice do krevního řečiště a odtud do orgánových soustav plodu. Tato hypotéza byla již potvrzena u myši (Wilczyńska et al. 2018). Bakteriální kolonizace fetálního střeva je zdrojem mikrobiální stimulace a může poskytnout primární signál pro zrání vyváženého postnatálního vrozeného i adaptabilního imunitního systému (Wilczyńska et al. 2019). Vystavování matky různorodé mikrobiotě během březosti se jeví jako prospěšné, zatímco antimikrobiální léčba během březosti může u potomků zvýšit riziko imunologických a metabolických poruch (Alipour et al. 2018).

Po porodu se bakteriální mikrobiota střev rychle rozvíjí. Telata se nejprve kolonizují vertikálně od matky, přicházejí do styku s jejími exkrementy, popř. dalších zvířat ve stádě a mikrobiotou okolního prostředí. K přenosu intestinálních bakterií dochází i při sání mateřského mléka olizováním vnějšího povrchu struku. Po dosažení stabilní střevní mikrobioty se růst zastavuje a mikrobiota zůstává relativně stálá. Stabilní kolonie chrání hostitele před invazivními patogeny (Alipour et al. 2018). Celý proces kolonizace GIT je ovlivněn délkou březosti, způsobem porodu, kmením a okolním prostředím (Dogra et al. 2015).

Rektální mikrobiota telat se skládá zejména z bakteriálních kmenů Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria a Bacteroidetes. Mikrobiální druhový profil se podle Alipour et al. (2018) podobá spíše orální, než fekální nebo vaginální vestibulární mikrobiotě, ale zahrnuje i typické střevní taxony. Trávicí trakt telete po porodu obsahuje kyslík, proto jsou prvními kolonizátory obvykle fakultativně anaerobní bakterie rodu *Staphylococcus*, *Enterococcus* a *Enterobacteriaceae*. Po zredukování množství kyslíku je následují obligátně anaerobní bakterie rodů *Bifidobacterium*, *Bacteroides* a *Clostridium* (Milani et al. 2015). Alipour et al. (2018) ve své studii uvádějí, že telata jsou po porodu osídlena různorodou mikrobiotou, ta se ale rychle mění v časném postnatálním životě. Během prvního postnatálního dne je rektum telat osídleno rody *Escherichia*, *Shigella* a *Clostridia*, přičemž diverzita mikrobiálních druhů je poměrně

malá. Do 7 dnů po narození se diverzita významně zvýší. Co se týče relativního množství, bakterie kmene Proteobacteria byly nahrazeny zejména zástupci Firmicutes, Bacteroidetes a Actinobacteria, včetně rodů *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Butyricoccus* a *Bifidobacterium*.

Po odstavu a ukončení období mléčné výživy se vyvine stabilní střevní mikrobiota odpovídající dospělému jedinci. U telat k tomu dochází kolem 6 měsíce věku. Běžně přítomné bakteriální rody v trávicím traktu jsou *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Lactobacillus* a *Proteus* (Salfinger 1980; Simon & Gorbach 1984; Vaughan et al. 2000). Výsledky jedné z nejnovějších studií (Alipour et al., 2018) týkající se zastoupení jednotlivých bakteriálních kmenů telat a jejich matek jsou vedeny na Grafu č. 1 a v Tabulce č. 1.



**Graf č. 1** Mikrobiotická kompozice trávicího traktu telat (n=21) a jejich matek (n=10) (Alipour et al. 2018)

**Tabulka č. 1** Procentické zastoupení bakteriálních kmenů osidlujících trávicí trakt telat (n=21) a jejich matek (n=10) v období po porodu (Alipour et al. 2018)

	Rektum po porodu	Rektum po 24 hod	Rektum po 7 dnech	Stěr z fekalií	Stěr z ústní dutiny	Stěr z vaginální předsíně
<b>jedinec</b>	tele	tele	tele	matka	matka	matka
<i>Actinobacteria</i> %	11	0	2,8	0,4	3,1	1
<i>Bacteroidetes</i> %	5,2	0	12	20	2,4	7,7
<i>Firmicutes</i> %	39	22	80	76	62	83
<i>Proteobacteria</i> %	30	78	0,38	0,42	33	0,7

### 3.3.1 Mikrobiota trávicího traktu

Trávicí trakt je kolonizován po celé délce, avšak prostředí se v různých částech GIT výrazně liší, proto je i bakteriální mikrobiota v různých částech GIT velice odlišná. Příjem potravy probíhá ústy, kde začíná enzymatické a chemické štěpení potravy. Typickými rody obývajícími ústní dutinu jsou rody *Streptococcus*, *Lactobacillus* a *Micrococcus*, u mláďat ještě *Bifidobacterium* (Valdez et al. 2016). Tyto druhy dohromady tvoří stabilní biofilm pokrývající vnitřek ústní dutiny.

Bakterie z dutiny ústní mohou společně s potravou migrovat do bachoru přežvýkavců. V bachoru jsou zastoupeny bakterie v množství až  $10^{10} \cdot \text{ml}^{-1}$  zejm. pak bakterie kmenů *Bacteroides* a *Firmicutes*. Bachor přežvýkavců obsahuje také velké množství prvoků a to řádově  $10^5 - 10^6$  na ml a malé množství anaerobních hub (Wallace & Newbold 1992). Podrobnější popis bachorové mikrobioty nebyl předmětem této bakalářské práce, ale lze ho nalézt ve studii Tuohy & Del Rio (2014).

Mikrobiota střev novorozenečtelat obsahuje bakterie, archea, houby, prvoky a viry od prvního dne života. Dominantní mikrobiální skupinu tvoří bakterie, které osidlují střeva po celé délce a lze zde najít zástupce až 21 kmenů, 46 čeledí a 510 rodů bakterií. Čtyři bakteriální kmény představují téměř 93 % všech identifikovaných bakterií, s podstatnou variabilitou mezi jednotlivými kmeny u různých jedinců a v různých částech trávicího traktu (*Firmicutes* 11 – 80 %; *Bacteroidetes* 0,5 – 75 %; *Proteobacteria* 0 – 35 %; *Actinobacteria* 1 – 85 %). Zastoupení jednotlivých kmenů a rodů v různých částech střeva podle studie Malmuthuge et al. (2019) lze nalézt v Tabulce č. 2.

**Tabulka č. 2** Procentuální zastoupení kmenů a rodů bakterií v různých oddílech střeva telat

	<b>mikrobiom</b>	<b>proximální jejunum</b>			<b>distální jejunum</b>			<b>ileum</b>		
	<b>týdny věku</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>6</b>
<b>kmeny</b>	Actinobacteria	6,1	22,7	32,1	2,3	18,7	10,1	2,7	2,8	28,8
	Bacteroidetes	18,4	14,3	25,0	26,7	5,8	9,8	35,4	7,3	9,2
	Firmicutes	53,9	50,6	31,8	43,2	48,0	59,5	47,4	63,8	36,7
	Proteobacteria	19,4	7,6	6,9	26,6	20,6	12,7	11,2	23,3	16,6
<b>rody</b>	<i>Bifidobacterium</i>	4,3	6,0	23,5	1,1	8,1	3,6	1,4	1,1	2,2
	<i>Streptococcus</i>	3,0	5,7	2,9	1,6	13,4	7,2	1,0	4,8	2,3
	<i>Prevotella</i>	7,9	8,0	20,7	10,6	2,3	3,8	5,4	61,7	6,2
	<i>Clostridium</i>	5,4	7,1	3,6	3,7	2,8	9,5	9,8	2,7	6,6
	<i>Lactobacillus</i>	23,6	3,9	7,4	24,9	5,4	9,3	17,1	44,4	11,5
	<i>Ruminococcus</i>	0,7	3,6	3,4	0,6	1,0	1,9	1,2	0,7	1,8
	<i>Eubacterium</i>	4,0	4,0	1,7	2,1	2,1	4,0	2,0	2,7	0,9
	<i>Bacteroidetes</i>	9,0	4,3	3,3	15,1	2,6	4,9	27,9	4,7	2,2

Do kmene Actinobacteria patří i rod *Bifidobacterium*, u nějž byly prokázány probiotické účinky. Bifidobakterie byly dominantní skupinou fekální flóry telat po 7 dni života, kdy tvořili až 10 % celkového počtu bakterií. Nejvyšší koncentrace bakterií byly pozorovány v bachoru, slepém střevě a tlustém střevě, nejnižší ve slezu a dvanáctníku. Bifidobakterie a laktobacily vykazovaly nejvyšší schopnost přežití během průchodu žaludkem a dominovaly ve všech částech trávicího traktu (Vlková et al. 2006).

Přítomnost bifidobakterií v GIT ve vysokém počtu je spojována s dobrým zdravotním stavem hostitele. Podle studie Vlkové et al. (2006) je nejvyšší počet bifidobakterií v trávicím traktu telat přítomen od 7 dne věku, potom jejich množství pomalu klesá až do 7 týdnů věku. Nejvyšší zastoupení mají bifidobakterie v bachoru ( $7,88 \pm 0,62$  log KTJ/g), dále ve slepém ( $6,42 \pm 0,37$  log KTJ/g) a tlustém střevě ( $6,40 \pm 0,54$  log KTJ/g) (Tabulka č. 3).

Bunešová et al. (2015) ve své studii porovnávala schopnost bifidobakterií kolonizovat GIT telat z různých typů výživy a ustájení. Telata plemene Charolais v extenzivním chovu krmená výhradně mateřským mlékem dosahovala po podání probiotických kultur výrazně vyššího množství bifidobakterií, než tomu bylo u telat Holštýnského plemene v intenzivním chovu krmených kombinovanou dietou, jak je vidět na Tabulce č. 4.



**Tabulka č. 3** A. Koncentrace bifidobakterií (log KTJ/g ± SD)\* ve vzorcích výkalů telat (n=38) v různém věku (3 dny až 7 týdnů); B. Rozložení bifidobakterií (log KTJ/g ± SD) v GIT telat (n=14)

A.	věk (dny)					
	3	7 ± 1	14 ± 2	21 ± 2	35 ± 2	49 ± 2
<i>Bifidobacterium</i>	7,67 ± 0,94	8,86 ± 0,89	8,16 ± 1,25	7,76 ± 1,22	7,40 ± 1,16	6,82 ± 0,66
B.	část trávicího traktu					
	bachor	slez	dvanáctník	kyčelník	slepé střevo	tlusté střevo
<i>Bifidobacterium</i>	7,88 ± 0,62	5,38 ± 1,04	4,04 ± 1,02	5,08 ± 0,90	6,42 ± 0,37	6,40 ± 0,54

\*SD – směrodatná odchylka, KTJ – kolonie tvořící jednotka

**Tabulka č. 4** Počty bakterií (log KTJ/g ± SD)\* ve výkalech telat (n=8) odchovávaných extenzivně (Charolais) a intenzivně (Holštýn).

Věk (dny)	Skupina	Počet bifidobakterií	Celkový počet anaerobních bakterií
2	Charolais	7,18 ± 1,6	10,22 ± 0,70
	Holštýn	6,81 ± 2,09	9,85 ± 0,41
5	Charolais	9,81 ± 0,69	10,53 ± 0,51
	Holštýn	8,35 ± 1,21	9,90 ± 0,19
9	Charolais	9,71 ± 0,43	10,36 ± 0,25
	Holštýn	8,80 ± 0,61	9,97 ± 0,54
14	Charolais	9,48 ± 0,22	10,27 ± 0,23
	Holštýn	9,02 ± 0,83	10,11 ± 0,23
21	Charolais	9,08 ± 0,68	10,26 ± 0,30
	Holštýn	9,01 ± 1,23	10,02 ± 0,27
28	Charolais	7,96 ± 0,56	10,27 ± 0,35
	Holštýn	7,53 ± 0,93	9,68 ± 0,14

\*SD – směrodatná odchylka, KTJ – kolonie tvořící jednotka

### 3.3.2 Rod *Bifidobacterium*

Rod *Bifidobacterium* je taxonomicky zařazen do kmene *Actinobacteria* (Tabulka č. 5) zahrnuje 70 druhů a 10 poddruhů. Bifidobakterie jsou nepohyblivé, nesporulující, striktně anaerobní, grampozitivní nepravidelné tyčinky.

Typicky jsou tvarované do písmene V nebo Y, vyskytují se buď jednotlivě nebo tvoří řetězky či shluky (Leahy et al. 2005). Optimální teplota pro růst humáních bifidobakterií je 36 – 38 °C, naproti tomu pro zvířecí druhy je teplota vyšší 41 – 43 °C, což může souviset s fyziologicky vyšší teplotou u většiny zvířecích druhů, než je teplota lidského těla. Například fyziologická teplota skotu se pohybuje od 38,5 – 39,5 °C (König & Liebich 2002).

Výjmečně mohou některé druhy tolerovat kyslík, ale pouze za přítomnosti oxidu uhličitého. S výjimkou *B. asteroides* a *B. indicum* jsou kataláza negativní. Doposud popsané druhy lze rozřadit podle výskytu do 4 skupin na bakterie obývající 1. lidské střevo, vagínu a dutinu ústní, 2. střeva zvířat, 3. střeva hmyzu a 4. odpadní vody.

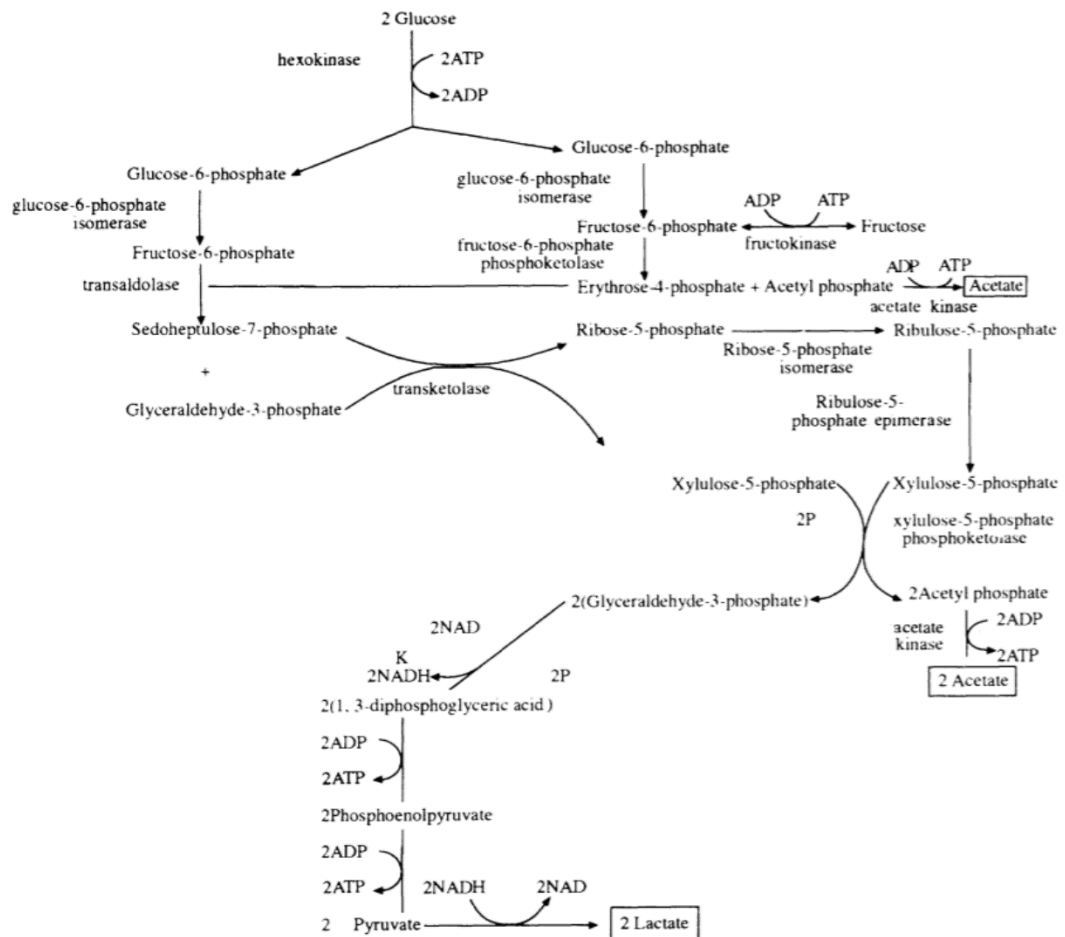
**Tabulka č. 5** Taxonomické zařazení rodu *Bifidobacterium*

(<http://www.bacterio.net/bifidobacterium.html>)

Taxonomická jednotka	Název
<b>Kmen</b>	<i>Actinobacteria</i>
<b>Třída</b>	<i>Actinobacteria</i>
<b>Řád</b>	<i>Bifidobacteriales</i>
<b>Čeleď</b>	<i>Bifidobacteriaceae</i>
<b>Rod</b>	<i>Bifidobacterium</i>
<b>Druh</b>	<i>Bifidobacterium</i> spp.

Jako jediný negativně působící druh rodu *Bifidobacterium* byl zatím označen *B. dentis*, jež je původcem zubního kazu. Ostatní druhy jsou považovány za prospěšné a jsou díky tomu využívány ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu, kde jsou přidávány do mléka a fermentovaných mléčných výrobků. Při kvašení produkují metabolity kyselinu mléčnou a kyselinu octovou v molárním poměru 2 mol : 3 mol (Biavati et al. 2012). To ovlivňuje jejich využití jako mlékařských kultur, protože musí být přidávány až do hotových produktů, aby kys. octová neovlivnila výslednou chuť.

Specifická pro celou čeleď *Bifidobacteriaceae* je přítomnost enzymu fruktóza-6-fosfátfosfoketoláza (F6PPK) sloužícímu pro degradaci fruktózy-6-fosfátu (Biavati et al. 2012) (Obrázek č. 4). Některé druhy mohou syntetizovat vitamíny skupiny B (thiamin B1, niacin B3, Pyridoxin B6, Kyselina listová B11) a alespoň 19 aminokyselin (Cronin et al. 2011).



**Obrázek č. 4** Schéma metabolické dráhy štěpení fruktózy-6-fosfát fruktózou-6-fosfátfosfoketolázou (Biavati et al. 2012).

Vysoká hladina bifidobakterií ve střevě je žádoucí, protože bakterie patřící do tohoto rodu mají stabilizující účinek na střevní mikrobiotu, poskytují bariérové účinky proti kolonizaci patogenů, produkují inhibiční látky, stimulují imunitní systém a zlepšují kontrolu zánětlivé odpovědi. Nerovnováha ve složení střevní mikroflóry by mohla vést k poruchám trávení a riziku průjmů způsobených mikrobiálními infekcemi, které jsou převažujícími zdroji ekonomických ztrát a úmrtnosti u hospodářských zvířat.

Tyto prospěšné bakterie dokáží prospívat zdraví řadou pozitivních vlivů po dobu měsíců, let nebo dokonce až po celý život (Musilová et al. 2015). Proto by bylo ideální přidávat je ve

formě probiotik do krmné dávky. Další možností pozitivního ovlivnění střevní mikrobioty je podávání prebiotik, tedy nestravitelných složek krmiva, která prochází do tlustého střeva, kde pozitivně ovlivňují mikrobiotu trávicího traktu (Qiang et al. 2009).

Výskyt bifidobakterií ve stolici je vysoce závislý na složení potravy. Fekální bakteriální mikrobiota telat krmených výhradně mateřským mlékem je bohatá na bifidobakterie, naproti tomu u telat krmených mléčnou náhražkou kombinovanou se startérem dominovaly koliformní bakterie. Telata s nízkým počtem bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií mohou být náchylnější ke kolonizaci patogeny (Vlková et al. 2008).

### 3.4 Probiotika, prebiotika a synbiotika

#### 3.4.1 Probiotika

Probiotiky můžeme podle WHO (World health organization) a FAO (Food and Agriculture Organization OSN) nazvat živé mikroorganismy, které, když jsou podávány v odpovídajícím množství, poskytují hostiteli zdravotní přínos (WHO & FAO 2001). Probiotika pozitivně ovlivňují střevní mikrobiotu. Mezi nejvíce prostudovaná a nejčastěji využívaná probiotika patří bakterie rodů *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*, popř. *Enterococcus* (Tabulka č. 6). Probiotika u mláďat přežvýkavců obecně cílí na střeva, protože bachor ještě není vyvinut. Inkorporace probiotik do stravy pro mladé tele zabraňuje vzniku možných nerovnováh v normální mikrobiotě ve střevním traktu a zlepšuje růst mladých telat prevencí průjmu (Bunešová et al. 2011).

**Tabulka č. 6** Druhy prostudované k využití jako probiotika u přežvýkavců (Gaggia et al. 2010)

<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>B. longum ssp. longum</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>E. faecalis</i>
<i>B. animalis ssp. animalis</i>	<i>L. casei ssp. casei</i>	<i>E. faecium</i>
<i>B. lactis ssp. lactis</i>	<i>L. fermentum</i>	
<i>B. thermophilum</i>	<i>L. brevis</i>	
<i>B. pseudolongum ssp. pseudolongum</i>	<i>L. plantarum</i>	
	<i>L. rhamosus</i>	
	<i>L. salivarius</i>	

Vlastnosti probiotik mohou být druhově či dokonce rodově specifické, existuje však řada probiotických efektů, které jsou striktně kmenově specifické a účinek se vztahuje pouze na jeden konkrétní kmen. To je i případ produkce specifických bioaktivních látek, endokrinologických, imunologických nebo neurologických vlastností. Mezi druhově specifické vlastnosti patří syntéza vitamínů, enzymatická aktivita, posílení střevní bariéry, neutralizace karcinogenních látek aj.

Jako běžné, rodově specifické, probiotické vlastnosti označujeme produkci mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA), vliv na ustálení střevní mikrobioty, konkurenční vyloučení patogenů, regulaci střevního tranzitu nebo zvýšenou tvorbu enterocytů. Tyto vlastnosti můžeme nalézt téměř u všech probiotických druhů (Hill et al. 2014; Tabulka č. 7).

**Tabulka č. 7** Rozdělení specifických vlastností probiotik (Hill et al. 2014)

<b>1. Vzácné kmenově specifické vlastnosti</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neurologické vlastnosti</li> <li>• Imunologické vlastnosti</li> <li>• Endokrinologické vlastnosti</li> <li>• Produkce specifických bioaktivních molekul</li> </ul>
<b>2. Druhově specifické vlastnosti</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Syntéza vitamínů</li> <li>• Přímý antagonismus proti patogenním nebo podmíněně patogenním mikroorganismům</li> <li>• Posílení střevní bariéry</li> <li>• Hydrolýza nebo dehydrogenace žlučových kyselin</li> <li>• Enzymatická aktivita</li> <li>• Neutralizace karcinogenních látek</li> </ul>
<b>3. Běžně se vyskytující vlastnosti</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tvorba SCFA</li> <li>• Regulace střevního tranzitu</li> <li>• Ustálení střevní mikrobioty</li> <li>• Konkurenční vyloučení patogenů</li> <li>• Zvýšená tvorba enterocytů</li> </ul>

### 3.4.2 Prebiotika

Prebiotika jsou látky, které nejsou stravitelné, ale jsou selektivně metabolizovány střevními bakteriemi. Tím podporují rozvoj pozitivně působících bakterií a mají tedy pozitivní vliv na zdraví hostitele. K tomu je zapotřebí, aby látka prošla v nezměněném stavu až do tlustého střeva, kde bude metabolizována probiotickými bakteriemi rodů *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* a nebyla hydrolyzována v žaludku ani absorbována v tenkém střevě (Manning et al. 2004). Toho lze dosáhnout především u mláďat přežvýkavců, která nedisponují funkčním bachorem, protože u dospělých jedinců je většina látek degradována bachorovou mikrobiotou (Gaggia et al. 2010).

Mezi látky s prokázaným prebiotickým účinkem můžeme zařadit fruktooligosacharidy (FOS), inulin, galaktooligosacharidy (GOS), sojové oligosacharidy (SOS), mannanoligosacharidy (MOS), xylooligosacharidy, glukooligosacharidy, laktulosa a isomaltooligosacharidy (Qiang et al. 2009)

### 3.4.3 Synbiotika

Synbiotiky nazýváme směs probiotik a k nim selektivně vhodných prebiotik. Využíváme u nich synergického účinku obou složek, který přináší pozitivní efekt na dobu přežití probiotických bakterií a jejich lepší průchod trávicím traktem (De Preter et al. 2011).

### 3.4.4 Vliv antibiotik na mikrobiotu trávicího traktu

Bylo prokázáno, že podání léčiv, zejm. antibiotik má vliv na složení a aktivitu střevní mikrobioty. Kromě zneškodnění zamýšleného patogenu dochází i k narušení rovnováhy střevních bakterií, což může vést až k nežádoucím vedlejším účinkům (Venema & de Carmo 2015). Dochází k poklesu původních druhů obývajících habitat, což umožní kolonizaci patogenními druhy a jejich následné přemnožení.

Řešení se nabízí v podání probiotik během antibiotické léčby nebo následně po ní. Po podání probiotik následuje nárůst probiotických rodů bakterií *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*, které stabilizují rovnováhu střevní mikrobioty a chrání před přemnožením patogenních druhů způsobujících např. průjemová onemocnění (Hofírek et al. 2009). Probiotika mohou být použita buď přímo pro vytěsnění enterotoxigenní *E. coli* ze střevní stěny obsazením jejího habitatu nebo jako podpora růstu zdravé bakteriální populace, která následně vyloučí koliformy ze střev.

*L. acidophilus* redukuje množství koliformních bakterií ve střevech telat, tím redukuje příznaky průjmu a zastavuje hubnutí a zvyšuje přírůstek živé hmotnosti. Kmen *L. acidophilus*

původně izolovaný z trávicího traktu telat je účinnější než stejný kmen izolovaný z GIT prasat. Směs *L. acidophilus* a *E. faecium* snížil výskyt průjmů o téměř 70 % a úmrtnost o 99 % při podávání telatů od narození do 5 dní věku (Wallace & Newbold 1992).

V současné době se k preventivnímu podávání probiotik u telat nepřistupuje zejména z ekonomických důvodů, časté je ale podávání prebiotik jako krmných aditiv, která nabízí celá řada výrobců. V případě propuknutí průjmového onemocnění u telete je podání probiotika vhodným doplňkem k léčbě.

## 4 Materiál a metody

Experiment probíhal na Mléčné farmě v Uhelné Příbrami, patřící ZS Vilémov a.s., kde je ustájeno 1200 krav holštýnského plemene (Obrázek č. 5). Pokus probíhal na porodně, kde jsou ustájeny krávy 14 dní před plánovaným otelením v koticích na hluboké podestýlce. Kravám bylo podáváno 250 ml kysaného mléka jednou denně od 4. dne před plánovaným otelením do porodu. Mléko bylo prokysáno kmenem rifampicinrezistentních bifidobakterií (RRB) *B. animalis* ssp. *animalis* 23II. Mléko bylo kravám podáno přímo do krku. Během porodu, či vzápětí po porodu byl proveden stěr z vagíny, stěr zubního plaku a slin z ústní dutiny a odběr výkalů z rekta. Tyto vzorky v množství 1 g byly odebírány na směs Wilkins-Chalgren bujónu a glycerinu v poměru 6 ml bujónu a 3 ml glycerinu (Tabulka č. 8) a paralelně do zkumavek Ependorf v množství 0,5 g k izolace DNA a její následné analýze.



**Obrázek č. 5** Mléčná farma Uhelná Příbram, ZS Vilémov, a.s. (foto: Markéta Lašková)

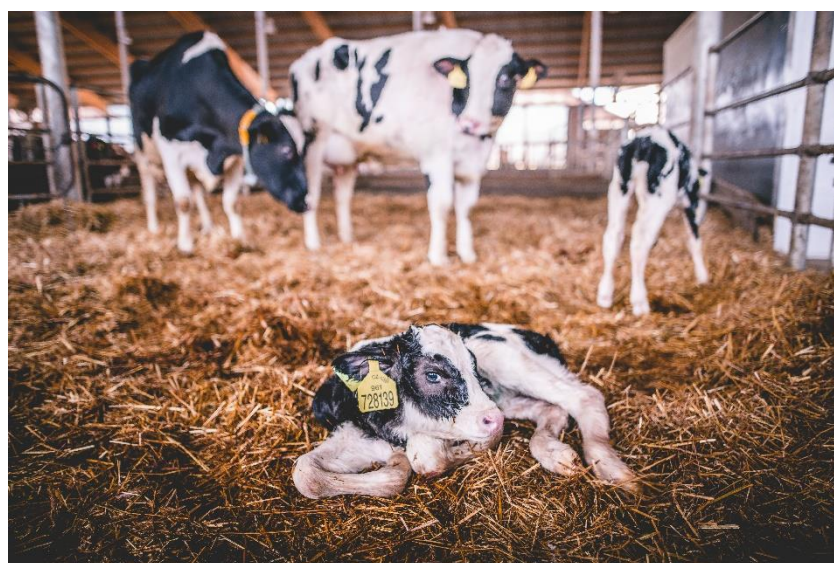
Krávy byly rozděleny na dvě skupiny. První skupině (n=3) bylo tele okamžitě po porodu odebráno a nakrmeno mlezivem jiné krávy, které nebyly bifidobakterie podávány. Druhé skupině (n=3) byla telata ponechána po dobu 24 hod. a bylo jim umožněno sát mlezivo přímo od matky, nechat se olizovat a interagovat s prostředím (Obrázek č. 6).



**Tabulka č. 8** – Složení Wilkins-Chalgren bujónu a agaru

<b>Wilkins-Chalgren bujón</b>	
<b>Trypton</b>	10 g
<b>Pepton</b>	10 g
<b>Glukosa</b>	1 g
<b>Kvasničný extrakt</b>	5 g
<b>NaCl</b>	5 g
<b>L – arginin</b>	1 g
<b>Na – pyruvát</b>	1 g
<b>Menadion</b>	0,5 mg
<b>Hemin</b>	5 mg
<b>Agar*</b>	10 g

\* pouze u Wilkins-Chalgren agaru



**Obrázek č. 6** Telata ponechána s matkami na porodně (foto: Markéta Lašková)

Dva dny po porodu bylo oběma skupinám krav odebráno mléko a telatům stěry zubního plaku a slin a odběr výkalů z rekta stejným způsobem jako je popsáno výše. Tytéž odběry byly provedeny 5. den po porodu (Tabulka č. 9). Vzorky byly ihned po odběru zamraženy a uchovány k dalšímu zkoumání.

**Tabulka č. 9** Schéma odebírání vzorků

Vzorek č.	Zvíře	Čas	Typ vzorku
1	kráva 1	den porodu	stěr ze zubů, sliny
2			stěr z vaginy
3			výkaly z rekta
4	tele 1 oddělené od matky	2. den po porodu	stěr ze zubů, sliny
5			výkaly z rekta
6	kráva 1	2. den po porodu	mléko
7	tele 1 oddělené od matky	5. den po porodu	stěr ze zubů, sliny
8			výkaly z rekta
9	kráva 1	5. den po porodu	mléko
10	kráva 2	den porodu	stěr ze zubů, sliny
11			stěr z vaginy
12			výkaly z rekta
13	tele 2 zůstalo s matkou	2. den po porodu	stěr ze zubů, sliny
14			výkaly z rekta
15	kráva 2	2. den po porodu	mléko
16	tele 2 zůstalo s matkou	5. den po porodu	stěr ze zubů, sliny
17			výkaly z rekta
18	kráva 2	5. den po porodu	mléko

Na porodně byly krávy krmeny krmnou dávkou pro suchostojné krávy (Tabulka č. 10), po otelení se přesunuly do jiné části stáje, kde přešly na krmnou dávku pro krávy v rozdoji (Tabulka č. 11).

**Tabulka č. 10** Krmná dávka suchostojných krav a krav na porodně

<b>Komponenta</b>	<b>Množství v [kg]</b>
<b>Sláma</b>	3
<b>Seno</b>	0,5
<b>Jetelotravní senáž</b>	2
<b>Travní senáž</b>	6
<b>Směs DPP (dojnice příprava porod)</b>	3
<b>Siláž</b>	11
<b>Kukuřice CCM</b>	1

**Tabulka č. 11** Krmná dávka pro krávy v rozdoji

<b>Komponenta</b>	<b>Množství v [kg]</b>
<b>Sláma</b>	0,3
<b>Seno</b>	1
<b>Jetelotravní senáž</b>	2
<b>Travní senáž</b>	6
<b>Směs DOVP (dojnice vysokoprodukční)</b>	7
<b>Siláž</b>	22
<b>Kukuřice CCM</b>	2
<b>Melasa</b>	0,7
<b>Kukuřičný šrot</b>	3

Telata od krav z první skupiny byla po napojení mlezivem z cucáku umístěna do venkovního individuálního boxu (VIB) a následně krmena pasterovaným netrzním mlékem, ze kterého přešla ve věku 5. dnů na mléčnou náhražku. Telata od krav z druhé skupiny byla do VIB umístěna až den po porodu, poté byla rovněž krmena pasterovaným netrzním mlékem a od 5. dne mléčnou náhražkou (Tabulka č. 12) složenou ze sušeného odstředěného mléka, sušené syrovátky, sušené syrovátky částečně delaktosované, syrovátkového permeátu sušeného, rostlinného tuku, vepřového sádla, L-lyzin monohydrochloridu, butylhydroxytoluenu, oxidu

zinečnatého, betainu hydrochloridu, uhličitanu železnatého, vit. E, *Enterococcus faecium*, selenomethionin ze *Saccharomyces cerevisiae*, síran měďnatý pentahydrát, vit. C, vit. B1, B2, K3, B6, D3 a jodid draselný. Oběma skupinám byl 5. den věku předložen startér ČOT S Premium od značky Cerea a.s., (Tabulka č. 13).

**Tabulka č. 12** Složení mléčné náhražky

Analytické složky	Množství v [%]
<b>Hrubý protein</b>	23,5
<b>Hrubá vláknina</b>	0
<b>Hrubé oleje a tuky</b>	20
<b>Hrubý popel</b>	8,2
<b>Sodík</b>	0,6
<b>Vápník</b>	1
<b>Fosfor</b>	0,65

Složení telecího startéru je pšenice, kukuřice, sojový extrahovaný šrot loupaný, sojový extrahovaný šrot toustovaný, ječmen, slunečnicový extrahovaný šrot, řepkový extrahovaný šrot, len extrudovaný, cukr řepný, CaCO<sub>3</sub>, NaCl, monokalciium fosfát, MgO, Vitamín A, Vitamín D3, síran železnatý monohydrát, jodid draselný, síran měďnatý pentahydrát, síran zinečnatý monohydrát, seleničitan sodný.

**Tabulka č. 13** Analytické složky startéru ČOT S Premium

Analytické složky	Množství v [%]
<b>Hrubý protein</b>	18,5
<b>Hrubá vláknina</b>	4,2
<b>Hrubé oleje a tuky</b>	3,1
<b>Hrubý popel</b>	6,1
<b>Sodík</b>	0,29
<b>Vápník</b>	0,74
<b>Fosfor</b>	0,55
<b>Hořčík</b>	0,4

## 5 Výsledky a diskuse

Starší studie uvádějí, že ke kolonizaci trávicího traktu telat dochází až po porodu. (Leahy et al. 2005). V současné době naproti tomu vycházejí studie, které tvrdí, že kolonizace GIT začíná již *in utero* a dochází k ní vertikálním přenosem od matky přes krevní řečiště, a že zdrojem bifidobakterií může být i mléko matky (Wilczyńska et al. 2018). Provedla jsem experiment pro zjištění, zda může být mateřské mléko skotu zdrojem bifidobakterií pro kolonizaci trávicího traktu telat a zda délka společného ustájení telete s matkou ovlivní kolonizaci trávicího traktu bifidobakteriemi.

Dle plánu (Tabulka č. 9) bylo kravám před otelením podáváno fermentované mléko. Původně byl experiment navržen tak, že krávy mléko vypijí rozmíchané ve vlažné vodě, ochucené přidáním Nápoje Porod Plus od výrobce Mikrop Čebín, a.s., který je standartně podáván po otelení všem dojnícím pro prevenci poporodních problémů a bachorových dysfunkcí u dojníc, popřípadě přijmou po nalití na krmnou dávku. První dojnice, na které byl pokus prováděn naředěné mléko ochotně vypila, naproti tomu dojnice z druhé skupiny odmítla nápoj vypít. Nepřijala fermentované mléko ani nalité na krmné dávce, roto musel být experiment upraven a mléko dále podáváno dojnícím přímo do krku. Ačkoli byly krávy ustájeny v kotci, který obsahoval systém samopoutací zábrany, nebylo snadné krávu každý den fixovat a mléko jí podat.

Po otelení jsem podobným způsobem získávala vzorky. Se stěrem z vagíny ani z rektu nebyl problém, provést sterilní odběr slin a stěr ze zubů se mi podařilo až s asistencí dalšího ošetřovatele. Největší objem slin jsem odebrala z jazykových papil, naproti tomu množství zubního plaku bylo minimální, vzhledem k absenci horních předních zubů a aktivní obraně dojnice.

Provedla jsem pokus s ponecháním telete matkám z druhé skupiny po dobu 24 hod. po porodu. Po uplynutí této doby byla telata matkám z druhé skupiny odebrána. Oproti kontrolní první skupině jsem po odebrání pozorovala zvýšenou stresovou zátěž, aktivitu i vokální projevy a samotný odběr byl velmi náročný, protože matky si svá telata bránily, ošetřovatele nechtěly pustit do kotce a útočily na ně. U kontrolní první skupiny, kde byla telata odebrána okamžitě po porodu jsem žádný z uvedených problémů nezaznamenala. V intenzivním chovu není možné ponechávat z výše uvedených důvodů telata s jejich matkami.

Prvních 5 dní se dle platné legislativy mléko nesmí používat jako tržní, proto na většině farem běžně funguje napájení telat mlezivem od vlastní matky a kontrola kvality mleziva

refraktometrem. Výhodou je, že u člověkem řízeného napájení máme přehled o kvalitě a množství přijatého mleziva.

Další odběry vzorků již probíhaly bez problémů. Odběr fekálií jsem provedla sterilní rukavicí přímo z recta, ústní a vaginální stěry lékařskými lopatkami. Mléko bylo odstříknuto přímo do zkumavek.

Vzorky byly uloženy do mrazáku k dalšímu zpracování, které bude předmětem mé diplomové práce.

## **6 Závěr**

V teoretické části byly shrnuty nejnovější poznatky o způsobech kolonizace trávicího traktu telat bifidobakteriemi. Podařilo se provést experiment, podat kravám před otelením mléko prokysané bifidobakteriemi a po porodu odebrat vzorky kravám i telatům. Zpracování těchto vzorků a ověření, zda může být mateřské mléko skotu zdrojem bifidobakterií pro kolonizaci trávicího traktu telat a zda délka společného ustájení telete s matkou ovlivní kolonizaci trávicího traktu bifidobakteriemi bude cílem mé diplomové práce.

## 7 Literatura

- Alipour MJ, Jalanka J, Pessa-Morikawa T, Kokkonen T, Satokari R, Hynönen U, Iivanainen A, Niku M. 2018. The composition of the perinatal intestinal microbiota in cattle. *Scientific Reports* **8**(1):10437
- Bach AA, Ahedo J, Ferrer A. 2010. Optimizing weaning strategies of dairy replacement calves. *Journal of Dairy Science* **93**(1):413-419
- Bach AA. 2018. Výživa a dobré podmínky v chovu skotu. Tradiční odborné setkání chovatelů skotu. 13. února 2018. Větrný Jeníkov
- Beam AL, Lombard JE, Koprál CA, Garber LP, Winter AL, Hicks JA, Chlater JL. 2009. Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *Journal of Dairy Science* **92**:3973-3980
- Biavati B, Mattarelli P. 2012. Genus *Bifidobacterium*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume Five The Actinobacteria, Part A, 2nd Edition*. Springer. London
- Bunešová V, Domig KJ, Killer J, Vlková E, Kopečný J, Mrázek J, Ročková Š, Rada V. 2012. Characterization of bifidobacteria suitable for probiotic use in calves. *Anaerobe* **18**(1):166-168
- Bunešová V, Vlková E, Geigerová M, Rada V. 2015. Effect of rearing systems and diets composition on the survival of probiotic bifidobacteria in the digestive tract of calves. *Livestock Science* **178**: 317–321.
- Carlson BM. 2013. *Human Embryology and Developmental Biology 5th Ed.* Elsevier Books. Philadelphia
- Cortese VS. 2009. Neonatal immunology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practise* **25**(1):221-227
- Cronin M, Ventura M, Fitzgerald GF, van Sinderen D. 2011. Progress in genomics, metabolism and biotechnology of bifidobacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **149**:4-18
- De Preter V, Hamer HM, Windey K, Verbeke K. 2011. The impact of pre- and/or probiotics on human colonic metabolism: Does it affect human health? *Mol. Nutr. Food Res.* **55**:46-57
- Dogra S, Sakwinska O, Soh SE, Ngom-Bru C, Brück WM, Berger B, Brüssow H, Lee YS, Yap F, Chong YS, Godfrey MK, Holbrook JD. 2015. Dynamics of infant gut microbiota are



- influenced by delivery mode and gestational duration and are associated with subsequent adiposity. *mBio* **6**(1):6
- Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feedeng for safe food production. *Int. J. Food Micobiol.* **141**:S15-S28
- Geigerová M, Vlková E, Skřivanová E, Bunešová V. 2014. Odlišnosti v mikrobiotě trávicího traktu různých druhů savců. *Veterinářství* **64**:522–526
- Guzzardi MA, Ait Ali L, D'Aurizio R, Rizzo F, Saggés P, Sanguinetti E, Weisz A, Pellegrini M, Iozzo P. 2019. Fetal cardiac growth is associated with in utero gut colonization. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* **29**(2):170-176
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. 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
- Hofírek B, Dvořák R, Němeček L, Doležal R, Pospíšil Z, et al. 2009. *Nemoci skotu*. Česká buriatrická společnost. Noviko a.s.. Brno
- König HE, Liebich HG. 2002. *Anatomie domácích savců 2*. Hajko a Hajková. Bratislava
- Leahy SC, Higgings DG, Fitzgerald GF, Sinderen D. 2005. Getting better with bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology* **98**(6):1303-1315
- Malmuthuge N, Liang G, Griebel PJ, Guan LL. 2019. Taxonomic and functional composition of the small intestinal microbiome in neonatal calves provide a framework for understanding early life gut health. *Applied and Environmental Microbiology* **85**(6). DOI: 10.1128/AEM.02534-18
- Manning TS, Gibson GR, Link-Amster H. 2004. Prebiotics. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* **18**:287-298
- Marvan F, et al. 2003. *Morfologie hospodářských zvířat*. Česká zemědělská univerzita. Praha
- Musilová S, Rada V, Vlková E, Bunešová V, Nevoral J. 2015. Colonisation of the gut by bifidobacteria is much more common in vaginal deliveries than Caesarean sections. *Acta Paediatrica* **104**(4):184–186.
- Phillips C. 2002. *Cattle behavior and welfare*. 2<sup>nd</sup> edition. Blackwell Science Ltd. Oxford

- Qiang X, YongLie C, QianBing W. 2009. Health benefit application of functional oligosaccharides. *Csrbohydr. Polym.* **77**:435-441
- Salfinger M. 1980. Moglichkeiten und Grenzen des kulturellen Nachweises eines bakteriellen Darminfekttest. *Theraput Umschau* **37**:181-186
- Sánchez B, Ruiz L, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P, Margolles A. 2012. Toward improving technological and functional properties of probiotics in foods. *Trends in Food Science* **26**(1):56-63
- Simon GL, Gorbach SL. 1984. Intestinal Flora in Health and Disease. *Gastroenterology* **86**:174-193
- Skřivánek M, 2001. Procesy trávení v předžaludcích – morfologické a fyziologické aspekty. *Farmář* **10**:56–57
- Sumner CL, von Keyserlingk MAG. 2018. Canadian dairy cattle veterinarian perspectives on calf welfare. *Journal of Dairy Science* **101**(11):10303-10316
- Valdez RMA, dos Santos VR, Caiaffa KS, Danelon M, Arthur RA, de Cássia Negrini T, Delbem ACB, Duque C. 2016. Comparative in vitro investigation of the cariogenic potential of bifidobacteria. *Archives of Oral Biology* **71**:97-103
- Venema K, do Carmo AP. 2015. Probiotics and Prebiotics: Current research a future trends. *Beneficial Microbes Consultancy*. Wageningen
- Vlková E, Trojanová I, Rada V. 2006. Distribution of bifidobacteria in the gastrointestinal tract of calves. *Folia Microbiologica* **51**(4):325–328
- Vlková E, Rada V, Trojanová I, Killer J, Šmehilová M, Molatová Z. 2008. Occurrence of bifidobacteria in faeces of calves fed milk or a combined diet. *Archives of Animal Nutrition* **62**(5):359-365
- Wallace RJ & Newbold CJ. 1992. Probiotics for ruminants. *Probiotics The scientific basis*. Chapman & Hall. London. 317–353
- Wilczyńska P, Skarzyńska E, Lisowska-Myjak B. 2018. Meconium microbiome as a new source of information about long-term health and disease: questions and answers. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* **32**(4):681-686

## 8 Seznam použitých zkratek a symbolů

- GIT – gastrointestinální trakt
- SCFA – short chain fat acid – těkavé mastné kyseliny
- VIB – venkovní individuální boxy
- VSB – venkovní skupinové boxy
- KTJ – kolonie tvořící jednotka
- ČOT – časný odstav telat
- WHO – World Health Organization – Světová zdravotnická organizace
- FAO – Food and Agriculture Organization – Organizace pro výživu a zemědělství
- F6PPK – fruktóza-6-fosfátfosfoketoláza
- FOS – fruktooligosacharidy
- GOS – galaktooligosacharidy
- SOS – sojové oligosacharidy
- MOS – mannanoligosacharidy
- RRB – rifampicilinrezistentní bifidobakterie