

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH  
ZDROJŮ

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky

## **Probiotika ve výživě zvířat**

Bakalářská práce

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

**Autor práce:** Jana Šelmátová

2009

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma “Probiotika ve výživě zvířat,, vypracovala samostatně a použila jsem jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne: .....

Podpis autora práce: .....

## **Poděkování**

Dovoluji si touto cestou poděkovat doc. Ing. Evě Vlkové, PhD. za užitečné a cenné rady, odborné vedení a pomoc při zpracování bakalářské práce, děkuji též za všechnu ochotu a přátelské jednání po celou dobu sepisování bakalářské práce.

## Autorský referát

Probiotika jsou mono- nebo směsné kultury živých mikroorganismů, které po aplikaci prospěšně ovlivňují hostitele zlepšením vlastností jeho vlastní mikroflóry. Jejich pozitivní účinky jsou vysvětlovány neutralizací mikrobiálních toxinů, antagonismem vůči jiným bakteriím, kompeticí o adherentní místa na epitelálním povrchu, stimulací imunity, produkcí enzymů a syntézou živin. K tomu, aby mohlo docházet k pozitivnímu působení na přirozenou mikroflóru střeva exogenními bakteriemi, je nutné, aby tyto mikroorganismy po požití hostitelem prošly celým trávicím traktem až do střeva v neporušeném stavu s vysokou vitalitou. Znamená to, že musí odolávat velice nízkým hodnotám pH v žaludku, účinkům žlučových kyselin a působení trávicích enzymů.

Používání probiotik pro hospodářská zvířata nabývá na významu, a to zejména po zákazu plošného zkrmování antibiotik od roku 2006. Cílem bakalářské práce je zpracovat přehled probiotik pro jednotlivé druhy a kategorie zvířat, která se uplatňují ve výživě hospodářských zvířat a shrnou jejich úlohu v trávicím traktu hostitele.

Mikroflóra trávicího traktu je ovlivněna především druhem zvířat, věkem, složením krmiva. Velký počet mikroorganismů je hostitelsky specifický.

Nejvhodnějšími probiotickými bakteriemi pro drůbež jsou laktobacily, nejlépe pocházející z trávicího traktu drůbeže *L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. fermentum*. Lepší kolonizace trávicího traktu je dosažena u jednodenních kuřat, u nosnic jsou výsledky horší. Účinky na zdravotní stav se dostávají u mladých kuřat a jsou největší u zvířat chovaných ve špatných hygienických podmínkách. Jako prevence je velmi účinná aplikace střevního obsahu zdravých dospělých jedinců kuřatům ("competitive exclusion"- CE). Účinky na užitkovost nejsou prokazatelné, konzistentní v některých případech snížení přírůstku.

V porovnání s drůbeží se u prasat, jako nejvhodnější probiotická bakterie jeví také laktobacily pocházející z trávicího traktu prasat, a to protože tyto bakterie jsou dominantní složkou přirozené mikroflóry. Mezi hlavní rody též patří enterokoky a nepatogenní *E. coli*. Použití bifidobakterií, které jsou v současné době pravděpodobně nejpopulárnějšími probiotickými bakteriemi není u prasat vhodné, protože bifidobakterie se podílí jen setinami procenta na celkové mikroflóře. Nejvhodnější kategorií zvířat pro aplikaci probiotik jsou selata a prasnice těsně před porodem. U selat nejsou účinky tak pronikavé jako u kuřat. Selata

mají poměrně těsný kontakt s matkou a ta je pro ně nejvýznamnějším zdrojem mikroorganismů. Účinek probiotik u prasat je v prokazatelném zlepšení zdravotního stavu (snížení výskytu průjmů). Probiotika jsou zkrmována prasatům ve formě fermentované zvlhčené směsi.

Použití probiotických bakterií u přežvýkavců je odlišné proti monogastrům, protože přežvýkavci mají značné rozdíly v anatomii a fyziologii trávicího traktu. U telat v období mléčné výživy není vyvinut bachor a rovněž složení potravy je jiné, proto se aplikují *Lactobacillus acidophilus*, další laktobacily, enterokoky, bifidobakterie a *Bacillus toyoi*. Problémem telat podobně jako u selat jsou průjmová onemocnění, která se podařilo eliminovat pomocí aplikace bakterií mléčného kvašení. Mikroflóra bacheru je podstatně hůře ovlivnitelná. Použití typických bacherových bakterií je problematické, neboť se jedná o kultivačně velice náročné striktní anaeroby. U skotu bylo dosaženo největších účinků pomocí kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, působí na vzrůst pH bacherové šťávy s následným rozvojem celulolytické mikroflóry, snižují aktivitu peptidáz a degradaci proteinů.

Klíčová slova: probiotika, výživa hospodářských zvířat, drůbež, prasata, skot

## Summary

Probiotics are mono- or mixed-cultures of live microorganisms the effect of which consists in positively influencing the host after application, improving the properties of the host's microflora. Positive effects of probiotics are explained with neutralization of microbial toxins, antagonism against other bacteria, competition for adherence sites on epithelial surface, stimulation of immunity, production of enzymes and nutrient synthesis. To enable positive action of exogenous bacteria on the natural intestinal microflora it is necessary that these exogenous microorganisms pass the whole digestive tract following ingestion by the host, and enter intestine intact and with high vitality. This means that they must resist rather low pH values obtaining in the stomach, as well as the action of bile acids and digestive enzymes.

Use of probiotics in farm animals is becoming ever more important, in particular after the widespread feeding of antibiotics has been banned in 2006. It is the objective of the present bachelor's dissertation to provide a review of probiotics for individual animal species and categories used in farm animal feeding, and to summarize their role in host digestive tract.

Most profound impact factors on digestive tract microflora include animal type, age, food or fodder composition. A large number of microorganisms are host-specific.

Most suitable probiotic bacteria for poultry are lactobacilli, preferably obtained from poultry digestive tract: *L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. fermentum*. Better-quality digestive tract colonization is obtained in one-day-old chickens, results obtained from layers being worse. Effects on the health are observable in young chickens, and are most pronounced in animals bred under poor hygienic conditions. Very effective prevention can be obtained through the application of intestinal contents from healthy adult individuals to chickens ("competitive exclusion" – CE). The effects in terms of utility are not demonstrable, there being some cases of reduced weight gain.

Compared to poultry, most suitable probiotic bacteria in hogs appear to be lactobacilli as well, obtained from hog digestive tract, and the reason for this most probably the fact that these bacteria are the dominant component in natural microflora. Major bacterial genera here also are enterococci and non-pathogenic *E. coli*. Use of bifidobacteria, very likely the most popular probiotic bacteria at present, is not suitable in hogs, as bifidobacteria constitute only a few hundredths of percentage points of the total microflora. The most suitable animal

category to benefit from probiotics application are piglings and sows closely before parturition. The effects in piglings are not as pronounced as in chickens. Piglings are known to have relatively close contacts with dams that is the most important source of microorganisms for them. The effect of probiotics in hogs consists in demonstrable improvement of health (reduces occurrence of diarrhea). Probiotics are fed to hogs in the form of fermented moisturized mixture.

Use of probiotic bacteria in ruminants differs from that in monogasters as a result of ruminants having markedly different digestive tract anatomy and physiology. Calves in the stage of milk nutrition have not yet developed paunch, and also the composition of their food is different, which is the reason for the application of *Lactobacillus acidophilus*, other lactobacilli, enterococci, bifidobacteria, and *Bacillus toyoi*. Problems encountered in calves are, similar to piglings, diarrheal diseases that have been successfully eliminated with the application of lactic fermentation bacteria. Paunch microflora is considerably more difficult to influence. Use of typical paunch bacteria appears problematic as these are strict anaerobes and rather demanding in terms of conditions for culture. In cattle, highest effects were obtained with the yeast *Saccharomyces cerevisiae* that acts in the sense of increasing the pH-value of paunch juice followed by the development of cellulolytic microflora, and reduce peptidase activity and protein degradation.

Key words: probiotic, farm animal feeding, poultry, pigs, cattle

## Obsah

|   |    |
|---|----|
| 1. Úvod.....  | 9  |
| 2. Cíl práce.....   | 10 |
| 3. Literární rešerše.....   | 11 |
| 3.1. Vývoj mikroflóry v trávicím traktu.....                          | 11 |
| 3.2. Probiotika .....   | 13 |
| 3.3. Probiotika pro zvířata.....                                      | 20 |
| 3.4. Probiotika u jednotlivých druhů zvířat.....                      | 21 |
| 3.4.1. Probiotika u drůbeže.....                                      | 22 |
| 3.4.1.1 Mikroflóra trávicího traktu drůbeže.....                      | 22 |
| 3.4.1.2 Faktory ovlivňující složení mikroflóry drůbeže.....           | 24 |
| 3.4.1.3 Využití probiotik v chovu drůbeže.....                        | 25 |
| 3.4.1.4 Bakterie mléčného kvašení jako probiotika.....                | 26 |
| 3.4.1.5 Účinky.....   | 28 |
| 3.4.2. Probiotika u prasat.....                                       | 30 |
| 3.4.2.1 Trávicí trakt prasat .....                                    | 30 |
| 3.4.2.2 Využití probiotik v chovu prasat.....                         | 31 |
| 3.4.2.3 Účinek.....   | 33 |
| 3.4.3. Probiotika u přežvýkavců .....                                 | 34 |
| 3.4.3.1 Probiotika pro mladá zvířata.....                             | 35 |
| 3.4.3.2 Využití probiotik v procesu rozvoje bachorové fermentace..... | 38 |
| 3.4.3.3 Krmná aditiva na bázi hub pro dospělé přežvýkavce.....        | 39 |
| 3.4.3.4 Probiotické výrobky pro přežvýkavce.....                      | 40 |
| 3.4.3.5 Odezva v produkci masa a mléka.....                           | 40 |
| 3.4.3.6 Vliv na trávení a příjem krmiva.....                          | 41 |
| 3.4.3.7 Účinky.....   | 42 |
| 3.5 Prebiotika.....   | 43 |
| 4. Závěry a doporučení.....   | 45 |
| 5. Seznam použité literatury.....                                     | 46 |



# 1 ÚVOD

Jednou z nejvýraznějších a nejzajímavějších charakteristik zažívací soustavy je symbiotický vztah mezi hostitelem (člověkem či zvířetem) a mikroorganismy, které obývají jeho trávicí trakt a napomáhají využívat látky obsažené v potravě, jež nejsou schopny rozložit trávicí enzymy.

Gastrointestinální trakt obratlovců je kolonizován bakteriemi krátce po narození nebo vylihnutí. Zastoupení jednotlivých druhů a jejich vzájemná rovnováha je ze zdravotního hlediska velmi důležitá. Složení mikroflóry trávicího traktu je ovlivněno mnoha faktory jako jsou například: druh hostitele, věk hostitele, pestrost výživy a adaptabilita jednotlivých druhů bakterií.

Na rozdíl od vnějšího povrchu těla zvířat nabízí zažívací trakt mnohá prostředí vysoce příznivé pro růst mikroorganismu. V říši zvířat se vyskytují četné rozdíly v anatomii gastrointestinálního traktu související z již zmíněnou stravou a jejich ekologickým postavením v biosféře ( Roberfroid, 1997).

Celkem bylo z trávicího traktu izolováno více než 500 různých druhů mikroorganismů (Timmerman, 2004; Garrity, 2005). Anaerobní mikroflóre dominují bakterie rodů *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* a *Clostridium*, z fakultativně aerobních jsou to enterobakterie, zejména *E. coli* a enterokoky (Orrhange a Nord, 2000). I když některé z těchto mikroorganismů mohou působit škodlivě, většina z nich škodlivá není. Naopak jsou zdraví prospěšná.

Ochranný účinek střevní flóry byl dlouho přehlížen a zájem se soustředoval pouze na rozpoznání škodlivých bakterií, případně jiných faktorů, které vedly k nemocím trávicí soustavy. Nyní již víme, že neporušená výstelka trávicího ústrojí s optimální mikroflórou představuje přirozenou bariéru proti nemocem, které způsobují patogenní mikroorganismy, ale také proti jedovatým a alergizujícím látkám. Kromě toho je střevní mikroflóra důležitou součástí imunitního systému trávicího ústrojí a umožňuje také normální funkci střeva.

Živé organismy, které mají vliv na zdraví a zlepšují kvalitu přirozené mikroflóry trávicího traktu hostitele jsou nazývány jako probiotika (Fuller, 1989). Probiotika mají celou řadu pozitivních účinků. Vyvažují střevní mikroflóru a udržují fyziologickou rovnováhu v zažívacím traktu, zmírňují obtíže způsobené změnou složení střevní mikroflóry.

## **2 Cíl práce**

Používání probiotik pro hospodářská zvířata nabývá na významu, a to zejména po zákazu plošného zkrmování antibiotik od roku 2006. Cílem bakalářské práce je zpracovat přehled hlavních rodů a druhů mikroorganismů, které se mohou používat jako probiotikum ve výživě pro jednotlivé druhy a kategorie hospodářských zvířat. Je popsána jejich úloha v trávicím traktu a možné ovlivnění celkového zdravotního stavu hostitele. Je zpracován přehled prokazatelných účinků probiotik na zvyšování kvality živočišné produkce.

## 3 LITERÁRNÍ REŠERŠE

### 3.1 Vývoj mikroflóry trávicího traktu

Trávicí trakt je před narozením jedince sterilní. Vývoj intestinální mikroflóry je zahájen během narození zvířete, kdy je asepticky trávicí trakt infikován přirozenou mikroflórou vagíny a trávicího traktu matky a mikroflórou prostředí. Na kolonizaci má podstatný vliv i průběh porodu, to znamená přirozený vaginální porod nebo porod císařským řezem. To vede k inokulaci různorodé mikroflóry bifidobakterií, enterobakterií, *Bacteroides*, klostridií a gram pozitivních koků (Stark a Lee, 1982; Sakata et al., 1985; Tannock, 2002). Pro srovnání děti narozené císařským řezem jsou kolonizovány jinými bakteriemi a to zejména z prostředí. Jsou to hlavně bakterie rodů *Clostridium* a *Bacteroides*, mají též nižší zastoupení *E. coli* v trávicím traktu, ale více bakterií rodu *Klebsiella* a enterobakterií (Hanson a Yolken, 1999).

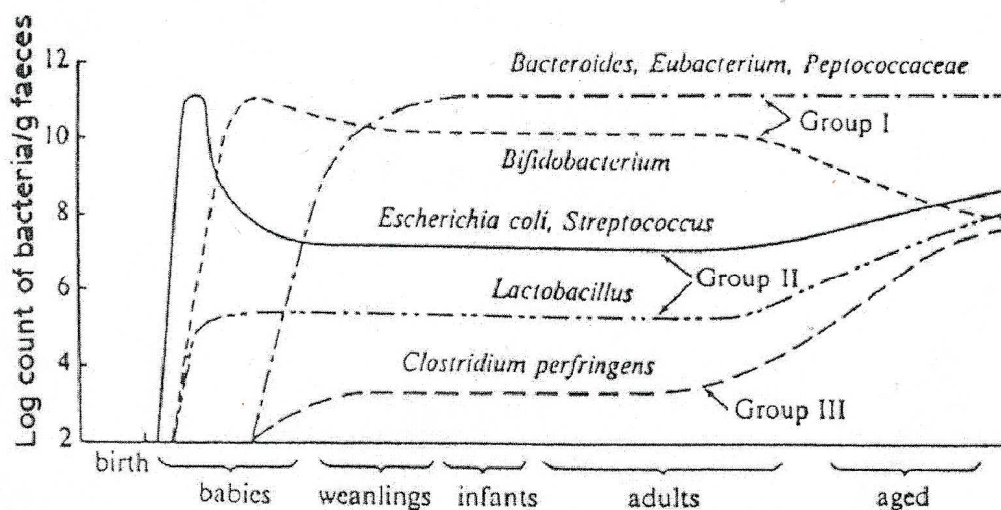
Podstatný vliv na další vývoj mikroflóry trávicího traktu u mláďat má způsob výživy (Fanaro et al., 2003). U mláďat zvířat je tím obdobím sání mateřského mléka, kdy mohou konzumovat značné množství výkalů při sání z vemene matky. Dalším významným zdrojem bakterií jsou zuby matky. Z těchto informací je zřejmé, že novorozenci všech savců jsou vystaveni možnosti infekce velmi rozmanitou mikroflórou. Důležité je, že ne všechny mikroorganismy mohou kolonizovat trávicí trakt každého hostitele. Specifické mikroorganismy se usadí v trávicím traktu konkrétního hostitele v konkrétní fázi jeho vývoje (Conway, 1997). Například nejpočetnější skupinou mikroorganismů trávicího traktu mláďat jsou bifidobakterie, které byly detekovány u králíků, prasat, telat, drůbeže, myší, krys a dalších (Scardovi, 1986). Jedná se většinou o druhy specifické pro svého hostitele. Pouze ve výkalech prasete byl nalezen druh *B. suis*, v trávicím traktu kura domácího *B. pullorum* a *B. gallinarum*, pouze u králíků *B. magnum* a *B. cuniculi*. Jiné druhy bifidobakterií můžeme nalézt i u více živočišných druhů, například *B. animalis*, který byl izolován z krys, kuřat, králíků, telat a prasat (Mitsuoka, 1984).

Složení střevní mikroflóry prochází v postnatálním vývoji dramatickými změnami. Zastoupení prvotní mikroflóry, která je detekovaná v trávicím traktu po porodu bývá velice

rozmanitá a odráží komplexnost mikrobiální populace matky a prostředí. Ve velmi krátkém čase se mikroflóra stává mnohem jednodušší a obsahuje jen málo druhů mikroorganismů. I když jsou novorozená zvířata vystavena mnohem vyššímu počtu fekálních bakterií a mikroorganismů z prostředí než novorozenci lidí, je vývoj intestinální mikroflóry dětí, selat (Moughan et al., 1992), kuřat (Barrow, 1992) a telat (Smith, 1965 a) velmi podobný. Během prvních dnů života tvoří mikroflóru lidí, kuřat, selat a telat téměř výhradně koliformní bakterie a bifidobakterie nebo laktobacily. U kojenců jsou dominantní skupinou bakterií bifidobakterie, ale u některých zvířat jsou to laktobacily (selata, kuřata). Většina zvířat má v tenkém střevě vyšší počet mikroorganismů než lidé, což pravděpodobně souvisí s odlišnostmi ve stravě a koprofágií. Po odstavení se u zvířat stává dominantní anaerobní mikroflóra a počet *E. coli* a enterokoků klesá. Zvýšení počtu obligátních anaerobů, jako jsou bakterie rodu *Bacteroides*, nastává častěji v tlustém střevě než tenkém střevě (Conway, 1986). Souhrnem tedy během prvních týdnů života se objevují v postupném pořadí (posloupnosti) různé mikrobiální populace a dospělé „vrcholné“ společenstvo se obvykle vytváří po odstavení (Fonty et al., 1987). Střevní mikroflóru hostitele ovlivňuje také genotyp (Conway, 1997, Vaughan et al., 2002).

Vývoj mikroflóry se v průběhu života mění, avšak nelze popsat vývoj mikroflóry obecně, protože každá bakterie se nachází v jiném množství v různém časovém horizontu. To nejlépe znázorňuje graf 1. Dle Mitsuka (1992) před narozením je intestinální trakt sterilní, po narození se střevní trakt kolonizuje značným množstvím mikroorganismů. Ihned po narození jsou detekovány ve fekální mikroflóře *Escherichia coli*, *Streptococcus*, které se vyskytují v největším množství po narození (asi 11 log CFU/g), pak jejich počty klesají a ustálí se v období odstavu (7,5 log CFU/g) a opět narůstají v období stáří (8,5 log CFU/g). Několik dní po narození se objevují bakterie rodu *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a později začínají dominovat *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptococcaceae*, *Clostridium perfringens*. Počet bakterií rodů *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptococcaceae* od narození stoupá a ustálí se v období odstavu v počtech okolo 11 log CFU/g a toto množství zůstává po celý život. Asi ve třetím dni po narození se stávají dominantní skupinou mikroorganismů trávicího traktu mláďat bifidobakterie, jejich počet se pohybuje okolo 11 log CFU/g, v období odstavu poklesnou na stálou hladinu 10 log CFU/g a ve stáří prudce klesají. Ve stáří stoupá počet *Lactobacillus* i *Clostridium perfringens*, jejich počty se ustalují též až v období odstavu.

Graf 1. Vývoj fekální mikroflóry v průběhu života (Mitsuoka, 1992)



### 3. 2 Probiotika

Laureát Nobelové ceny Elie Metchnikoff formuloval „Probiotický koncept“ přibližně před 100 lety. Navrhoval využívání jistých laktobakterií pro zlepšování zdraví. Dále uváděl, že jsou to zdraví prospěšné mikroorganismy aktivně působící na gastrointestinální mikroflóru a minimalizují její potenciálně patogenní účinky. Věnoval roky výzkumu objevováním specifických kmenů laktobacilů schopných vykonávat probiotické úlohy (Ouwehand et al., 2002).

Chmelničná (2002) uvádí, že termín „probiotický“ byl zavedený přibližně v roce 1960. Probiotika jsou biologické přípravky mikrobiálního charakteru, ovlivňující příznivě celkové složení střevní mikroflóry tak, že na jedné straně vytváří bariéry proti přemnožení patogenních mikroorganismů a na druhé straně jejich metabolity štěpením vytvářejí vhodné prostředí pro rozvoj mikroorganismů schopných štěpit těžko stravitelné živiny.

Probiotika jsou definovány jako živé mikroorganismy, které pozitivně působí na hostitele, zlepšením rovnováhy střevní mikroflóry. Jejich pozitivní účinek se vysvětluje neutralizací mikrobiálních toxinů, antagonismem vůči jiným bakteriím, kompeticí o adherentní místa na epitelialním povrchu, stimulací imunity, produkcí enzymů a syntézou živin (Fuller, 1989).

Polštejnová (1988) konstatuje, že na rozdíl od antibiotik probiotika nejsou metabolické produkty bakterií nebo plísní s bakteriostatickým či bakteriocidním účinkem, ale jsou to organismy samotné, či už živé nebo devitalizované, které stimulují užitek zvířat. Jejich účinek spočívá v úspoře krmiv, v zlepšení resorpce živin, ve zvýšení metabolické činnosti a v ovlivňování mikroflóry. Jejich antagonisticky působící produkty vůči patogenům zvyšují obranyschopnost organismu proti infekcím, čímž snižují i mortalitu zvířat. Probiotika jsou kultury skládající se z živých mikroorganismů, které jsou prospěšné lidem i zvířatům, protože se podílejí na zlepšování rovnováhy mikroorganismů v trávicí soustavě (Smith, 1991).

Označení probiotikum se stalo univerzálním pojmem zahrnující různé živé nebo mrtvé mikroorganismy anebo vedlejší produkty fermentace, které jsou podávány zvířatům (Parker, 1974).

Probiotické (z řeckého "pro život") živé mikroorganismy nacházejí se v potravinách, příznivě působící na střevní mikroflóru. Probiotika se rozdělují do tříd, druhů a kmenů. Například mléčné bakterie patří do tříd: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, potom do druhu (například *Lactobacillus casei*) a nakonec do kmenů. Bakterie se neklasifikují podle svojí struktury, ale podle svých účinků, teda podle aktivity (Pukanec, 1998).

Ouwehand et al. (2002) definovali probiotika jako živé mikrobiální potravní ingredience, které jsou prospěšné pro zdraví. V současné době je platná a používaná definice formulovaná světovou zdravotnickou organizací (WHO): Probiotika jsou mono- nebo směsné kultury živých mikroorganismů, které po aplikaci prospěšně ovlivňují hostitele zlepšením vlastností jeho vlastní mikroflóry (FAO/WHO, 2001).

Probiotika pomáhají stabilizovat střevní mukózní bariery, podílejí se na udržení normální střevní propustnosti a na zlepšení střevní imunity. To vše vede k prevenci přemnožení patogenických bakterií a virů (Yasuit et al., 1995; Brandtzaeg, 1989). Hlavní jsou sekreční IgA protilátky vylučované na mukóze. Funkcí těchto sekrečních protilátek ve spolupráci s neimunologickými obrannými mechanismy je zprostředkovat neutralizaci cizích antigenů. Protilátky jsou často odpovědné za neutralizaci toxinů a množení virů. Bakterie jsou antigeny, které vyprovokují specifické systémy a lokální imunitní odpověď. Mimo to výrazně

ovlivňují regulaci imunitní odpovědi prostřednictvím lymfatické tkáně střev (Picard et al., 2005).

Probiotika jsou podávána jako prevence vzniku průjmových onemocnění. Infekční průjem je hlavním světovým zdravotním problémem, který je odpovědný za několik milionů úmrtí ročně, hlavně u dětí na celém světě. V rozvinutých zemích je zaznamenán každoročně stejně velký podíl úmrtí způsobený mikroorganismy, které kontaminují potraviny (Anonym1., 2003). Akutní infekce střev jsou obvykle provázeny průjmy a často i zvracením. Hlavními patogeny způsobující průjmy jsou viry a bakterie. Nejběžnější původci akutních průjmů u dětí jsou rotaviry (Picard et al., 2005). Pozitivní účinek probiotik lze vysvětlit stabilizací střevní mikroflóry a kratším vylučováním rotavirů. Studie prokázaly, že podávání probiotik vede k významnému vzestupu IgA specifických protilátek proti rotavirům v séru pacientů, což naznačuje, že humorální imunita hraje důležitou roli v mechanismu účinku probiotik (Nevoral, 2005).

V současné době bylo prokázáno, že probiotika výrazně ovlivňují zdraví. Bylo například dosaženo přesvědčivého pokroku v oblasti zánětlivého onemocnění střev a prevence alergie u dětí (Marteau et al., 2001).

Hepner et al. (1979) našli vztah mezi konzumací mléčných kvašených výrobků a snížením hladiny sérového cholesterolu v krvi. Vysoké hladiny cholesterolu v krvi totiž zvětšují rizika vzniku kardiovaskulárních chorob (Taranto et al., 2004). Podle Delzenne a Kok (1999) se bifidobakterie podílejí na snížení hladiny cholesterolu v krvi více mechanismy a to:

- 1) produkcí hydroxylglutarátu, který inhibuje enzym hydroxymetylglutaryl-a-reduktázu, zúčastňujícího se syntézy cholesterolu

- 2) produkcí kyseliny orotové společně s hydroxymetylglutarátem

- 3) produkcí kyselin s krátkým řetězcem, které inhibují syntézu cholesterolu v játrech

- 4) mohou také napomáhat redistribuci cholesterolu z krve do jater. Leahy et al. (2005) prokázal schopnost některých druhů bifidobakterií produkovat enzym hydroláza žlučových solí, odpovídající za redukcí sérového cholesterolu. Ačkoliv takové nálezy jsou zajímavé, je potřeba ještě mnoha výzkumů a extenzivních studií, aby se mohl potvrdit závěr, že probiotické organismy mají vliv na správnou funkci kardiovaskulárního systému.

Existují nepřímé důkazy, že podávání probiotických bakterií působí preventivně při vzniku nádorových onemocnění. Tyto znalosti vycházejí ze změn ve střevní mikroflóře, například dieta bohatá na maso a tuk a chudá na vlákninu může vyvolat množení hnilobných mikrobů a úbytek počtu bifidobakterií. Taková změna ve složení střevní mikroflóry je doprovázena zvýšenou aktivitou enzymů jako je  $\beta$ -glukuronidáza, azoreduktáza, ureáza a

nitroreduktáza. Tyto enzymy přetvářejí prokarcinogeny na karcinogeny a můžou takto přispět ke zvýšení rizika rakoviny tlustého střeva a konečníku. Mnoho záznamů o efektivnosti probiotik proti rakovině střev je odvozeno ze zvířecích modelů (Rowland, 1998). Bifidobakterie jsou schopny produkovat konjugovanou kyselinu linolenovou, která je spojována s antikarcinogeními účinky (Coakley et al., 2003; Rosberg-Cody et al., 2004). Bifidobakterie svými metabolickými produkty snižují hodnotu pH střevního obsahu a tím brání rozšíření přirozeně se vyskytujících patogenních a hnilobných bakterií, mezi něž patří také klostridie (Rowland, 1992), které jsou zřejmě odpovědné za přeměnu lipidů a proteinů přijímaných potravou na kancerogeny (Morotomi et al., 1990). Potlačením nepříznivých bakterií se výrazně snižuje tvorba dalších kancerogenů jako jsou N-nitroso sloučeniny, metabolity steroidů, fenolové produkty z tyrozinu a tryptofanu (indol, skatol) (Benno a Mitsuoka, 1992).

Probiotika mají inhibiční schopnost vůči ostatním populacím mikroorganismů, což je zajímavým aspektem pro prevenci gastrointestinálního onemocnění. Podáváním probiotik je vyvolán bariérový efekt, který spočívá v soutěžení patogenních mikroorganismů s probiotickými mikroorganismy za účelem boje o místa na epiteliálních buňkách střev, dále se uplatňuje kompetice o živiny (Perdigon et al., 1995; Duffy et al., 1994 a, b). Dalším mechanismem, kterým probiotika chrání hostitele před škodlivými mikroorganismy je produkce inhibičních látek, které blokují adhezi ve střevech a stimulují imunitu (Lievin et al., 2000; Bomba, 1997). Fujiwara et al. (1997) nedávno popsal protein produkovaný *Bifidobacterium longum* SBT 2928, který inhibuje adhezi *Escherichia coli*.

Pro zařazení mezi probiotika musí jednotlivé bakteriální kmeny splňovat několik základních požadavků (Nevoral, 2005):

1. bakteriální kmeny musí mít prokazatelně pozitivní vliv na zdraví hostitele
2. schopnost kolonizace a adherence na střevní epitel
3. musí být zdravotně nezávadné
4. izolované ze stejného živočišného druhu, jako je předpokládáný příjemce
5. nesmí být toxické ani patogenní
6. podávaná forma probiotika musí obsahovat dostatečné množství životaschopných bakterií
7. bakterie musí mít schopnost přežívat v trávicím ústrojí a být metabolicky aktivní
8. životaschopnost bakterií během skladování
9. příznivé organoleptické vlastnosti probiotického preparátu



Výzkum pomocí *in vitro* a *in vivo* technik k testování přítomnosti a přežívání probiotik v hostitelském střevě společně se studii zaměřenými na interakce probiotik s hostitelskou mikroflórou a samotným hostitelem jsou rozhodující kroky k lepšímu porozumění fyziologie a ekologie probiotik (Biavati et al., 2000).

K tomu aby mohlo dojít k pozitivnímu působení na přirozenou mikroflóru střeva exogenními bakteriemi, je nutné aby tyto mikroorganismy po požití prošly celým trávicím traktem hostitele až do střeva v neporušeném stavu s vysokou vitalitou. To znamená, že musí odolávat velice nízkým hodnotám pH v žaludku, účinkům žlučových kyselin a působení trávicích enzymů. Použité probiotické mikroorganismy musí být všeobecně uznávané jako bezpečné a bez zdravotních rizik pro hostitele, měly by vykazovat antagonistickou aktivitu vůči patogenním a potenciálně patogenním mikroorganismům a měly by celkově pozitivně ovlivňovat zdraví hostitele. Probiotické bakterie musí splňovat také technologické kritéria, musí být tedy schopné ve vysokých počtech přežít procesy, kterými prochází při přípravě do podoby vhodné pro konzumenta a musí ve výrobku přežít do konce záruční lhůty. Měly by odolávat působení kyslíku, dlouhodobě přežít při nízkých hodnotách pH, dobře snášet lyofilizaci, musí mít dobré senzorké vlastnosti a musí být rezistentní k bakteriofágovým infekcím (Biavati et al., 2000, Sheil et al., 2007).

Avšak málo se ví o způsobu, kterým probiotika mohou ovlivnit střevní mikroflóru a je tedy třeba další výzkum pro zvýšení našeho pochopení toho, jak komenzální nebo exogenní mikroorganismy ovlivňují funkce střevních bakterií. Dalším obecným problémem v současné době je malý počet kmenů používaných probiotik, které jsou přidávány do funkčních potravin a krmiv. U těchto kultur, není jasný původ a navíc byly vybrány hlavně podle technologických vlastností. Tak například *Bifidobacterium animalis* má výbornou schopnost přežít v kysaných mléčných výrobcích, a to během celé záruční doby, ale schopnost kolonizovat trávicí trakt a prokazatelné probiotické účinky nebyly u těchto kultur jednoznačně prokázány. V budoucnu bude tedy nutné selektovat kmeny mikroorganismů s dobrými technologickými a zároveň probiotickými vlastnostmi (Rada et al., 2006). U výrobců probiotik je často kladen důraz na technologické vlastnosti, a fyziologické účinky, tedy možné *in vivo* účinky, jsou opomíjeny.

Význam probiotik pro hospodářská zvířata popisuje Chmelničná (1997) hlavně ve zlepšení zdravotního stavu zvířat, v lepším využití krmiva, ve vyšších růstových schopnostech a nižším úhynem. Hlavní význam pro správnou aplikaci představuje možnost vyloučení cizorodých látek antibiotického a chemobiotického charakteru.

Horník et al. (1998) uvádějí, že náhradou za škodlivé chemoterapeutické a antibiotické přípravky v chovu hospodářských zvířat mohou být probiotika, tedy přechod na nové biologické metody stimulace růstu a užitkovosti. Probiotika jsou pro organismus hostitele neškodné a podle současných vědeckých poznatků nemají negativní vliv na zdravotní stav zvířat ani konzumenta. Podávání probiotických preparátů ve výživě zvířat má výrazný vliv na změnu mikroflóry zvířat. Nejvýznamnější se projevuje zvýšením počtu *Enterococcus faecium*, laktobacilů a nárůstem enzymatické aktivity celuláz, což jsou pozitivní ukazatele po podání probiotických preparátů ve výživě zvířat. Dále probiotické preparáty výrazně působí na snížení počtu *Escherichia coli*, což se projevuje pozitivně v trávicí soustavě zvířat.

Úloha probiotik přidávaných do krmiva je velmi důležitá. Probiotika regulují mikroflóru střev a inhibují patogenní mikroorganismy v zažívacím traktu. Dále snižují zažívací problémy a zlepšují konverzi krmiva. Známé probiotika, jako jsou bakterie mléčného kvašení, jako *Lactobacillus acidophilus* a streptokoky se v současnosti nepoužívají v takovém rozsahu jako nové probiotika, například *Lactobacillus sporogenes*, který snáší i vysoké teploty po čas zpracování krmiva (Rincon a Perez, 2000).

Podle Tuckera et al. (2001) je ve výživě monogastrů často zanedbávaný dopad krmné dávky na rozvoj střevní mikroflóry a její následný vliv na zvířata. Mastné kyseliny produkované v mikrobiální fermentaci, jsou zdrojem energie pro řadu mikroorganismů. Účinnost trávení je považovaná za klíč rozvoje mikroflóry.

Ewing a Cole (1994) uvádějí, že probiotika se používají na zvýšení produkce zvířat, čímž se vlastně redukuje používání antibiotik na stejné účely.

Mechanismus účinku probiotik popisuje schéma 1 (Gedek, 2000), který přesně vysvětluje působení probiotik v jednotlivých částech trávicího traktu.

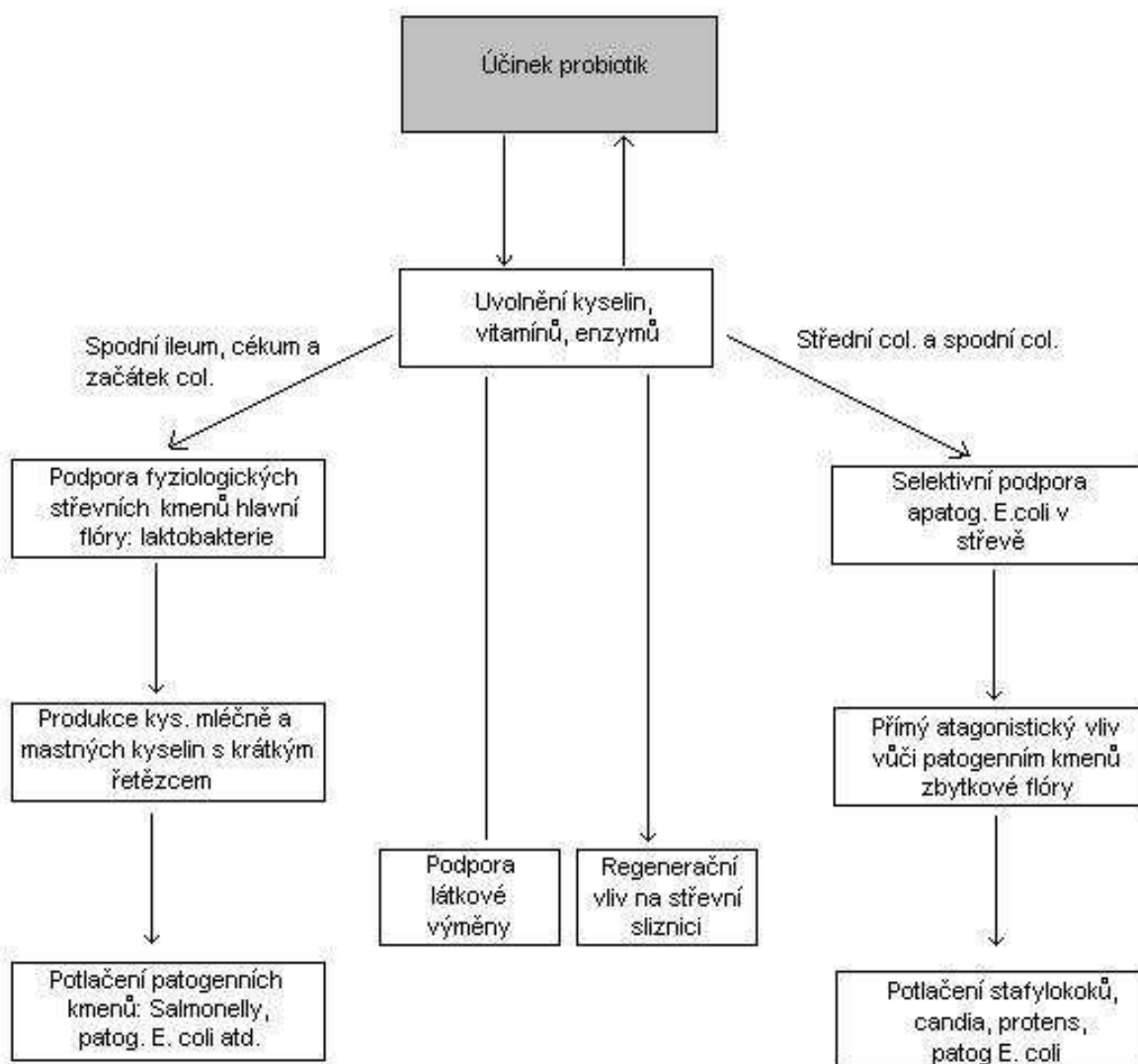


Schéma 1: Mechanismus účinku probiotik (Gedek, 2000)

### 3.3 Probiotika pro zvířata

Podávání probiotik zvířatům se začalo testovat v praxi v 60tých letech minulého století. V roce 1968 byla prokázána stimulace růstu prasat po přidání *L. acidophilus* do jejich krmiva. Podle výsledků Ishibashi a Shimamura (1995), kteří sledovali vliv podávání *B. pseudolongum* a *L. acidophilus* na mikroflóru trávicího traktu a zdravotní stav selat a telat bylo prokázáno snížení výskytu průjemových onemocnění a u selat i zvýšení přírůstku a snížení mortality. Proto je vysoký počet probiotických bakterií v trávicím traktu mláďat savců žádoucí.

Používání probiotik bylo podpořeno nálezy Swann komise v roce 1969, která doporučila omezování používání antibiotik v chovech zvířat, pokud nejsou podávána terapeuticky, ale pro zvyšování produkce. Omezení používání antibiotik bylo podpořeno také přáním zamezit vedlejším účinkům, jako jsou průjemová onemocnění často provázející tuto léčbu, a zvyšování rezistence bakterií k antibiotikům. Dále se objevily domněnky, že antibiotika mohou zvyšovat počty salmonel u drůbeže a tím způsobit obecná zdravotní rizika. Podpora přišla také ze strany odpůrců aditiv, kteří prohlásili antibiotika za cizorodé látky, které by se neměly dostávat do potravního řetězce. Zatímco užívání probiotik bylo podpořeno faktem, že jsou to mikroorganismy, které se přirozeně vyskytují v trávicím traktu a jsou součástí potravin po mnoho let bez jakýchkoliv negativních účinků. Úsilí eliminovat antibiotika v potravě zvířat vedlo k návrhu použití probiotických druhů jako aditiv do mléčných náhražek. Probiotika pro mladé přežvýkavce, které se obvykle používají jako prevence průjmů obsahují mimo jiné laktobacily a enterokoky, hlavně *Lactobacillus acidophilus* (Fuller, 1999).

U probiotik je tedy snaha dosahovat příznivého účinku na hostitele podáváním životaschopných mikroorganismů. Probiotika jsou aplikována zvířatům ve formě prášku, tekuté suspenze, v lyofilizované formě, v kapslích, v pitné vodě, ve formě pasty, v aerosolu, jako kysané mléko nebo sušená či mražená kultura. Probiotika by měla být vybírána s ohledem na stav, věk a druh zvířete, jelikož řada bakterií je hostitelsky specifická. Pro člověka a monogastriká zvířata jsou probiotika především bakterie produkující kyselinu mléčnou jako jsou laktobacily, streptokoky, laktokoky nebo bifidobakterie. Pro býložravce se používají hlavně kvasinky. Bakteriální probiotika vykazují příznivý efekt při podávání

kuřatům, prasatům a telatům, zatímco probiotika s obsahem kvasinek mají spíše vliv na dospělé přežvýkavce (Tannock, 2002).

Za hlavní podíl růstového stimulačního efektu probiotik považuje Chmelničná (2002) jejich antibakteriální působení v trávicí soustavě zvířat. Všeobecně platí, že při nízké bakteriální kontaminaci trávicí soustavy je růstová odezva na podanou látku malá. Naopak s rozvojem bakteriální kontaminace trávicí soustavy zvířat se růstová odezva zvyšuje.

V případě správného podávání mohou mít probiotika řadu příznivých vlivů na hospodářská zvířata: zvýšení rezistence k infekčním onemocněním, způsobeným *E. coli*, *Salmonella*, *Camphylobacter*, *Clostridium* a rotaviry, zvýšení přírůstku, absorpce živin, zlepšení konverze živin, obohacení o esenciální látky, zvýšení dojivosti, zlepšení kvality mléka, zlepšení snášky a kvality vajec, zlepšení kvality jatečného těla a snížení kontaminace masa při porážce (Fuller, 1999).

### 3.4 Probiotika u jednotlivých druhů zvířat

Bakteriální mikroflóra střevního traktu savců je početný komplex mikroorganismů, který společně ovlivňuje zdraví hostitele. Kolonizace gastrointestinálního traktu u nově narozených mláďat probíhá již při porodu a je ovlivňována způsobem a podmínkami při narození, potravou, užíváním antibiotik, genetickou výbavou a individuálním vývojem (Vlková et al., 2006).

Vlivem nejen anatomických odlišností nelze použití probiotik popsat u zvířat souhrnně, ale je nutno je popsat u jednotlivých druhů zvlášť. Vývoj intestinální mikroflóry a kolonizace trávicího traktu je u některých zvířat podobný či stejný, ale existují i podstatné rozdíly. Celkové počty bakterií v trávicím traktu se pohybují kolem  $10^3$ /g v žaludku, od  $10^4$  do  $10^7$ /g v tenkém střevě a nejvíce mikroorganismů se vyskytuje v tlustém střevě, kde se jejich počty pohybují od  $10^{10}$  do  $10^{12}$ /g (Holzapfel et al., 1998).

Kumprecht et al. (1995) uvádějí, že pro výrobu probiotik pro zvířata jsou využívány tyto rody a druhy mikroorganismů:

I. Bakterie:

- *Lactobacillus acidophilus*, *L. brevis*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. cellobiosis*,  
*L. curvatus*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *L. fermentum*, *L. lactis*,  
*L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius*.

- *Bifidobacterium adolescentis*, *B. animalis ssp.lactis*, *B. bifidum*, *B. infantis*,  
*B. longum*, *B. breve*, *B. pseudolongum*, *B. thermophilum*.
- *Bacillus cereus*, *B. coagulans*, *B. lentus*, *B. licheniformis*, *B. natto*, *B. pumilus*,  
*B. subtilis*, *B. toyoi*.
- *Bacteroides amilophilus*, *B. capillois*, *B. rumincola*, *B. suis*
- *Pediococcus acidolactisii*, *P. cerevisiae*, *P. pentosaceus*
- *Streptococcus cremoris*, *S. diacetyllactis*, *S. intermedius*, *S. lactis*, *S. thermophilus*
- *Enterococcus faecium*.
- *Leuconostoc mesenterioides*.
- *Propionibacterium freudenreichii*, *P. shermanii*
- *Escherichia coli*
- *Clostridium butyricum*

## II. Kvasinky:

- *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis sp.*, *Candida sp.*, *Candida pintolopesii*

## III. Mikromycety:

- *Aspergillus niger*, *A. oryzae*

Pro hospodářská zvířata jsou nejdůležitější probiotika, která působí na: zlepšení přírůstku, zlepšení konverze krmiva, zlepšující zdravotní stav jako prevence střevních problémů u mláďat. Probiotické bakterie jsou schopny rozkládat složky krmiv, jako jsou inhibitory tripsinu, glukosinoláty a jiné.

### 3.4.1 Probiotika u drůbeže

#### 3.4.1.1 Mikroflóra trávicího traktu drůbeže

Mikroflóra střeva drůbeže je poměrně dobře zmapovaná a komplexní a interakce mezi mikroorganismy jsou velmi komplikované. Vědomosti o mikroflóře trávicího traktu kuřat se neustále rozšiřují, avšak mikroflóra střeva ostatních druhů drůbeže je méně přezkoumaná. Mikroflóra a její aktivity musí být studované ve vztahu k anatomii a fyziologii hostitele a také podmínkám v různých částech trávicího traktu. Trávicí trakt ptáků má tři zvláštnosti oproti

ostatním živočichům. Je to vakovité vychlípení hltanu – vole, dále dva žaludky – žláznatý a svalnatý a dvě slepá střeva.

Potrava je zhltnutá v celku a dočasně zůstává ve voleti, který slouží k uchování potravy, zvlhčování potravy slinami a vodou. Ve voleti nejsou přítomny žádné exogenní enzymy. Ve voleti probíhá převážně mléčná fermentace. Celkové počty bakterií ve voleti se blíží hodnotě 9 log CFU/g. Převládajícími mikroorganismy jsou laktobacily produkující převážně kyselinu mléčnou a octovou, v důsledku čeho je pH obsahu volete zdravého zvířete 4 až 5. Fuller (1973) z volete drůbeže izoloval a popsal různé druhy laktobacilů: *Lactobacillus salivarius*, *L. fermentum* a *L. acidophilus*. Eyssen et.al. (1965) a Fuller a Turvey (1971) objevili velké množství laktobacilů přilnutých k epitelu volete. Fuller (1973) zjistil, že početnost této konjugované mikroflóry ustálené v průběhu dne líhnutí, je stejná jako početnost zjištěná ve výstelce střev. Laktobacily zachycené na buňky epitelu byly přítomné i u ostatních druhů drůbeže, ne však u savců. Dominují již zmíněné laktobacily v počtech 8-9 log CFU/g (Mead, 1997). Početnost mikroflóry ve voleti s hladověním klesá, ale zůstává dostatečně početná k inokulaci čerstvé potravy. *E. coli* je přítomná v poměrně malé počtu, do volete se dostává požitím výkalů. *Enterococcus faecalis subsp. liquefaciens* a *subsp. zymogenes*, *Ent. faecium*, *Ent. avium*, a *Ent. gallinarium* jsou přítomné v menších počtech než laktobacily Barrow et al., 1988).

Hodnota pH žláznatého a svalnatého žaludku je velmi nízká (pH 1-2), přežití mikroorganismů tedy závisí na toleranci vůči kyselému prostředí. V žaludcích počet mikroorganismů klesá, dominují stále laktobacily, které se hojně vyskytují i v tenkém střevě, kde postupně počet bakterií stoupá kaudálním směrem, někdy se objevují tzv. segmentované filamentosní bakterie (Pearson et al., 1992). Počet mikroorganismů se zvyšuje ve dvanáctníku v důsledku relativně vysokého přísunu tekuté potravy. Kolonizace klků dvanáctníku *Ent. hirae* může mít za následek depresi růstu zvířete. Mimo mikroorganismů přítomných v tenkém střevě můžeme pozorovat vláknité mikroorganismy podobné *Arthromitis* vnořené do povrchu epiteliálních buněk, kteří narušují hlenovitý lem. Bakterii *Clostridium perfringens* je možné místy izolovat z tenkého střeva, kde štěpí mastné kyseliny. V dolní části tenkého střeva se objevují striktně anaerobní bakterie rodů *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Clostridium*, *Gemmiger* a *Fusobacterium* (Mead, 1997; Reddy, 1997).

Slepá střeva jsou vyplněná hustou viskózní tekutinou. V těchto orgánech je přítomná komplexnější a početnější (počet bakterií: 11 log CFU/g) živá mikroflóra. Smith (1965 a) tuto skutečnost připisuje nízké intenzitě toku obsahu a kinetice růstu bakterií. Většina přítomných mikroorganismů je obligátně anaerobní. U kuřat starších čtyřech týdnů bylo zaznamenanych

víc než 200 druhů mikroorganismů. Podíl gram-pozitivních, anaerobních koků, včetně peptostreptokoků tvoří 30 % z celkového počtu živých organismů. Ostatní většinové mikroorganismy představují gram-negativně nesporulující tyčinky (20 % z celkového počtu), jako například *Bacteriodaceae* zahrnující rody *Bacteroides* a *Megamonas*. Tato důležitá skupina zahrnuje *Bacteroides hypermegas*, v současnosti známé jako *Megamonas*, *Bact. microfus* a různé další druhy odlišující se morfologií, biochemickou aktivitou a fermentačními produkty. Gram-pozitivní, nesporulující tyčinky, včetně různých rodu *Eubacterium* představují 16 % z celkového počtu mikroorganismů. Bakterie rozmnožující se pučením, *Gemmiger formicalis* a koky rozmnožující se pučením tvoří 10 % z celkového počtu, přítomné v množstvích 9 log CFU/g až 10 log CFU/ g. *Clostridium sp.* a *Bifidobacterium* včetně *Bifid. gallinarium* jsou přítomné v podobných počtech. Fakultativní anaerobní mikroorganismy jsou reprezentované *Enterobacteriaceae*, jako jsou *E. coli*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Proteus* a *Klebsiella* (Barrow, 1992). Ve slepých střevech dospělé drůbeže se vyskytují i metanové bakterie (Miller et al., 1986). Normální složení bakterií ve slepých střevech se ustálí za zhruba 4-6 týdnů (Mead, 1989), metanové bakterie se však objevují až za tři měsíce (Marounek a Rada, 1998).

Nutriční funkce střevní flóry byla zkoumaná i přes její diskutabilní úlohu v moderní komerční obohacené výživě drůbeže. Mikroflóra volete a slepého střeva může mít nutriční význam u jednotlivých druhů drůbeže v jejich přirozeném prostředí s chudou výživou.

Převážně fermentativní mikroflóra volete produkuje mnohé organické kyseliny využitelné pro hostitele. Ovlivněním pH střeva může být také ovlivněna aktivita trávicích enzymů (Ford, 1974). Také je známé využití nukleotidů syntetizovaných laktobacily (Eyssen et al., 1965). Vitamíny skupiny B jsou syntetizované, ale pravděpodobně pokrývají, jen malou část potřeby hostitele (Coastes et al., 1968). Podobně je syntetizovaný i vitamín A a může kompenzovat potřeby zvířat v případě, že je ho nedostatek ve výživě (Pivnyak a Konyakhin, 1973).

#### **3.4.1.2 Faktory ovlivňující složení mikroflóry drůbeže**

Složení střevní mikroflóry může ovlivnit velký počet přirozeně se vyskytujících, anebo umělých faktorů. Mezi tyto faktory patří věk zvířete, imunitní odezva, výživa, složení krmiva a orálně přijatá antibiotika.



Sterilně trávicí trakt nově vylíhnutého kuřete je intenzivně kolonizovaný fakultativně anaerobními mikroorganismy, včetně koliformních bakterií a streptokoků, mohou být též přítomné klostridie. Uvedené druhy jsou skoro vytlačeny laktobacily, které se stávají dominantními mikroorganismy volec a tenkého střeva. Obligátní anaeroby nejsou přítomné přibližně týden po vylíhnutí, dokud podmínky ve slepém střevě nejsou vyhovující pro jejich usídlení. Mikroflóra slepého střeva se stabilizuje po 4 až 6 týdnech po vylíhnutí (Smith 1965 b; Mead, 1989).

Význam imunitní odezvy v kontrole složení mikroflóry trávicího traktu drůbeže není přesně známý, přitom humorální odezva je pravděpodobně efektivnější než buněčně specifická.

Nejnápadnější změny ve složení mikroflóry vyvolané změnou složení krmiva se objevují v předních úsecích traktu, nejmenší změny se pravděpodobně objevují ve slepém střevě (Smith, 1965 b). Složení krmiva ovlivňuje hlavně proximální části trávicího traktu. Zvýšený obsah snadno zkvasitelných cukrů stimuluje ve volec růst sacharolityckých laktobacilů, přičemž výživa uměle obohacená o bílkoviny potlačuje laktobacily, na druhé straně počet koliformních bakterií, klostridií a streptokoků se zvyšuje. Vitamíny produkující bakterie se množí v případě příjmu krmiva chudé na vitamíny (Barrow, 1992).

Antibiotika mohou být aplikována prostřednictvím krmiva, anebo pitné vody za účelem chemoterapie, chemoprophylaxe, anebo stimulace růstu, přičemž jsou schopné ovlivnit velké skupiny mikroorganismů. Použití antibiotik v krátké době simultánně s podáváním probiotických organismů rezistentních proti antibiotikům může napomoci jejich kolonizaci a umožnit jednodušší manipulaci s mikroflórou (Barrow, 1987).

Stabilizovaná mikroflóra trávicího traktu je velmi těžko ovlivnitelná, proto je neefektivnější podání probiotik brzo po vylíhnutí, před kolonizací trávicího traktu ostatními mikroorganismy (Linton et al., 1978).

### **3.4.1.3 Využití probiotik v chovu drůbeže**

Probiotika pro kuřata jsou určena buď k nahrazení mikroorganismů, které nejsou přítomné v trávicím traktu, anebo k ochraně zdraví kuřat prostřednictvím vlivů účinku probiotických bakterií. Uvedené mikroorganismy absentují pravděpodobně v důsledku současných technologií chovu, které zabraňují v kontaktu nově vylíhnutého kuřete s rodiči. Existují dvě hlavní skupiny probiotických preparátů: probiotika prvotně určená k funkci

ve voleti a v počátečních úsecích trávicího traktu a probiotika, jejichž vliv je prvotně orientovaný do slepého střeva. Avšak je pravděpodobné, že preparáty obou typů, až na některé výjimky, jsou účinné v celé délce trávicího traktu.

První skupinu probiotik tvoří různé kultury laktobacilů a preparáty kolonizující vole a tenké střevo. Uvedené preparáty vyvíjejí antibakteriální účinky proti potencionálním patogenům a mají pozitivní vliv na užitkovost zvířat (Fuller 1974, 1978).

Přesto, že mnohá empirická pozorování naznačovala, že některé preparáty obsahující mrtvé mikroorganismy mohou efektivně ovlivňovat mikroflóru trávicího traktu, použití živých mikroorganismů potvrdilo, že kolonizace trávicího traktu je esenciální pro dosažení požadovaného účinku. Schopnost kolonizace střeva těmito mikroorganismy je otázkou naplnění mnohých kritérií (Morishita et al., 1971; Fuller, 1978; 1986). Mezi tato kritéria patří schopnost adheze k epitelu volete, schopnost množit se v podmínkách trávicího traktu a schopnost odolávat vrozeným, anebo mikrobiálním inhibičním mechanismům. Schopnost adheze ke stěně volete je důležitá hlavně pro mikroorganismy, které mají sníženou schopnost množení se v materiálu přítomném ve voleti. Z práce Morishita et al. (1971) je zřejmé, že pokud aviární formy *L. acidophilus*, *L. salivarius* a *L. fermentum* kolonizovaly vole velmi dobře, humánně formy *L. acidophilus*, *L. helveticus* a *L. brevis* byly z trávicího traktu eliminovány. Tato skutečnost poukazuje na důležitost volby správného druhu ale i formy mikroorganismů. Tolerance vůči nízkému pH je také důležitým faktorem umožňujícím kolonizaci tenkého střeva (Fuller, 1978). Ostatní faktory jako je optimální teplota pro růst (Morishita et al., 1971) a rezistence vůči nenasyceným mastným kyselinám (Niemen, 1954; Fuller a Moore, 1967) mohou hrát významnou úlohu v determinaci kolonizace. Při selekci vhodných kmenů se osvědčily in vitro testy na přežívání v kyselém pH, růst ve zvlhčeném krmivu a adherence na střevní epitel (Fuller, 1992; Rada et al., 1995).

#### **3.4.1.4 Bakterie mléčného kvašení jako probiotika**

Aplikace bakterií mléčného kvašení jako probiotik je závislá na vlivu výživy, na parametrech užitkovosti brojlerů, nosnic a ostatních druhů drůbeže a na vlivu potencionálních patogenů trávicího traktu.

Existuje mnoho publikací poukazujících na významný a reprodukovatelný vliv orálního podání probiotik brojlerům na jejich přírůstek, konverzi krmiva a hladinu vitamínů v krvi. Tortuero (1973) publikoval výsledky mnohých experimentů v rámci kterých byl

v pitné vodě zvířatům podávaný *L. acidophilus* v množství  $10^9$ .ml<sup>-1</sup>. Při aplikaci v průběhu 11 dní po vylíhnutí zaznamenal vyšší průměrný denní přírůstek, ale zároveň i vyšší spotřebu krmiva a mírně sníženou konverzi krmiva. Podobné výsledky publikovali i Jernigan et al. (1985).

Couch (1978) při podávání *L. acidophilus* brojlerům stresovaným abnormálně studenou pitnou vodou zaznamenal zvýšení živé váhy u samců o 7-10 %, u samic o 5-6 % oproti kontrolní skupině. Podobně u zvířat kmených krmivem s redukováným obsahem aminokyselin, podáním *L. acidophilus* dosáhl zvýšenou intenzitu růstu. V dalším pokusu při podání neživých kultur *Lactobacillus* brojlerům zaznamenal zvýšenou průměrnou hmotnost, sníženou mortalitu a zlepšenou konverzi krmiva.

Na rozdíl od uvedených publikací potvrzujících pozitivní vliv, existují i takové, které poukazují na proměnlivý, velmi malý, anebo žádný vliv. Krueger et al. (1977) podávali mladým kuřatům tzv. laktobacilový komplex, přičemž zaznamenali zlepšení v produkci vajec a ve využití krmiva. Vliv na plodnost a líhnutí byl považovaný též za příznivý. Na rozdíl od uvedených autorů Cerniglia et al. (1983) nezaznamenali signifikantní vliv na produkci vajec, spotřebu krmiva a mortalitu při podávání probiotik na bázi laktobacilů.

V ojedinělých případech se u některých kmenů laktobacilů projeví negativní účinky. Obecně se nepříznivé účinky projeví při vysokých dávkách specifických kultur. Watkins a Kratzer (1983) uvádějí, že dávky 7 log CFU buněk *Lactobacillus sp.* na kuře a den mohou působit depresi růstu. Negativní účinky byly pozorovány hlavně u laktobacilů a jsou přičítány nadměrné tvorbě kyseliny popřípadě tvorbě D- kyseliny mléčné (Szyliet a Nugon-Baudon, 1985).

Probiotické kultury byly podávány i krůtám a jiným druhům drůbeže. Francis et al. (1978) u krůt, kterým podával probiotika zaznamenal zvýšenou živou hmotnost a snížený počet koliformních bakterií v žaludku, tenkém střevě a slepém střevě. Podobné výsledky publikovali i Crawford (1979) a Potter et al. (1979). Na rozdíl od uvedených autorů Damron et al. (1981) a Miles et al. (1981) nezaznamenali pozitivní vliv na přírůstek, produkci vajec, líhivost, anebo mortalitu.

### 3.4.1.5 Účinky

Přidávání probiotik se zlepšuje růst a efektivita využívání krmiv u brojlerů, množství vajec, hmotnost vajec a velikost nosnic. Probiotika se podílejí u drůbeže na udržování přirozené střevní mikroflóry kompeticí o místo a živiny a antagonizmem vůči patogenním bakteriím. Probiotika zlepšují látkovou výměnu vzrůstající aktivitou trávicích enzymů, snižují bakteriální enzymatickou aktivitu související s produkcí amoniaku, zlepšují příjem krmiva, trávení, neutralizují enterotoxiny a stimulují imunitní systém (Hinton et al., 1991).

Při testování účinku kmene *Enterococcus faecium* M - 74 v krmných směsích BR 1 a BR 2 Kumprecht et al. (1983) zjistili, že v trávicím traktu byl zaznamenán nejen nižší počet *Escherichia coli*, ale i nižší *Enterococcus faecalis*.

Kmeť et al. (1992) ve svojí práci popisují, že kmen *Enterococcus faecium* CCM 4231 inhibuje klostridie izolované z trávicího traktu kuřat s nekrotickou enteritidou. Naznačuje dva možné způsoby prevence této choroby, kterými jsou aplikace antibiotik nebo aplikace probiotik.

Mezi laktobacily existuje variabilita ve schopnosti přežít v trávicím traktu a proto je účelné provádět selekci probiotických bakterií. Pro výběr optimálních variant podle fyziologických parametrů je nutné hledat kultury, které zároveň splňují i určité technologické požadavky. Pro probiotické bakterie je to hlavně přežívání po lyofilizaci, rychle ožít z dormantního stavu, schopnost růstu v různých médiích a dobrá skladovatelnost finálního produktu (Rada, 1992).

Ve snaze snížit používání syntetických stimulačních látek ve výživě hospodářských zvířat se pozornost obrátila na aktivní využití poznatků o mikroflóře trávicího traktu (Chmelničná, 1993). Jednou z nejpoužívanějších probiotických bakterií je *Enterococcus faecium* M - 74, která je účinnou složkou u nás vyráběného přípravku Lactiferm. Na základě uskutečněných pokusů, převážně při výkrmu brojlerových kuřat, autorka uvádí následovné poznatky:

- Optimální účinný počet bakterií *Enterococcus faecium* M - 74 na 1 g krmiva pro předvýkrm a výkrm brojlerů je  $1,3 - 1,7 \cdot 10^6$
- bakterie *E. faecium* M-74 jsou citlivé na nitrofuránové sloučeniny a některé specifické antibiotika, proto se nesmí podávat současně
- bakterie *E. faecium* M-74 jsou citlivé na teplotu vyšší než 60 °C a vyšší tlak, nedají se proto aplikovat do granulovaných krmných směsí,
- ve výživě brojlerových kuřat je potřebná kontinuální aplikace, nárazová je neúčinná,

- bakterie potlačují rozvoj *Escherichia coli*,
- ekonomický efekt aplikace kmene *E. faecium M-74* se projevuje ve snížení úhynu kuřat, mírným stimulačním účinkem na růst a v příznivém ovlivnění konverze krmiva.

Častým problémem při produkci drůbežího masa a vajec jsou salmonelózy. Jako prevence se ukázala být účinná metoda „competitive exclusion“ (CE). Při CE je využito toho, že jednodenní kuřata jsou daleko více citlivá na střevní infekce, než dospělá drůbež a to vzhledem k absenci komplexní mikrobioty hlavně ve slepých střevech. Tato metoda byla poprvé použita ve Finsku (Nurmi a Rantala, 1973) a spočívala v aplikaci střevního obsahu zdravých dospělých jedinců jednodenním kuřatům. Výsledky jsou velice slibné a účinek daleko prokazatelnější v porovnání s aplikací čistých kultur bakterií mléčného kvašení. Určitým nedostatkem je nemožnost zajištění rovnoměrné kvality podávaného materiálu a jeho praktická nedefinovatelnost. Přesto zájem o „Nurmiho koncepci“, později přejmenovanou na CE dále vzrůstal a na přelomu osmdesátých a devadesátých let minulého století se na trhu objevily i komerční preparáty. Preparát Broilak nezlepšil růstové vlastnosti kuřecích brojlerů, ale evidentně urychloval eliminaci salmonel ze slepých střev (Scheitz et al., 1991). Zvláště účinná se jeví kombinace CE s přidavkem laktosy (Hinton et al., 1991). Předpokládaný mechanismus účinku je snižování pH střevního obsahu s následnou tvorbou nedisociovaných forem kyseliny mléčné a těkavých mastných kyselin, uvažuje se i o inhibici adheze salmonel na střevní stěnu (Ziprin et al., 1991; Leffler et al., 1989).

Zásady pro podávání probiotik při prevenci a tlumení salmonelových infekcí kuřat formulovali Hejlíček et al. (1996). Podávat probiotika počátečně v dolíhni, kde nalézáme největší efektivnost. V odchovu je nutné podávat probiotika od prvního dne života a používat probiotika v dostatečném množství. Je vhodné podávat probiotika ve vodě po celé období odchovu. Vlivy, které určují efekt podávání probiotik při prevenci a tlumení salmonelových infekcí kuřat jsou: dodržení zásad podávání probiotik, intenzita počáteční infekce salmonelami, v případě léčby antibiotiky podávat probiotika už při jejím ukončení. Při slabé počáteční infekci a dodržení zásad podávání probiotik je možnost utlumení salmonelové infekce. Po léčbě antibiotiky zabrání případně omezí reinfekci salmonelami a ochrání před infekcí v odchovech kuřat, ohrožených z okolí kontaminovaného salmonelami.

## 3.4.2 Probiotika u prasat

### 3.4.2.1 Trávicí trakt prasat

Prase je monogastrické zvíře s relativně bohatou mikroflórou žaludku a tenkého střeva. Tato mikroflóra v porovnání s přežvýkavci, kteří mají v předžaludcích obsažený složitý fermentační systém, není natolik bohatá, ale přesto natrávenina žaludku obsahuje přibližně 7 log Cfu/g až 8 log CFU/g bakterií mléčného kvašení na jeden gram obsahu (Reddy, 1997). Laktobacily se nalézají hlavně na nesecernující části žaludku, kde tvoří souvislý povlak (Fuller et al., 1978). V případě, že redukce nízkým pH není příliš velká, počet bakterií v tenkém střevě je zpravidla též vysoký. Rozvoj BMK usnadňuje relativně vyšší pH v žaludku odkud inokulují tenké střevo, kde počty bakterií dosahují až 9 log CFU/g (Jonsson a Conway, 1992). Největší počty bakterií jsou v tlustém a slepém střevu – až 11 log CFU/g. Dominantními mikroorganismy žaludku a tenkého střeva jsou bakterie mléčného kvašení, především *Lactobacillus* a *Streptococcus spp.*, které se nacházejí jak volně v natrávenině tak i vázané na epitel. Mezi hlavní rody patří též *Clostridium* a *Bacteroides* (Jonsson a Conway, 1992). Bifidobakterie se vyskytují pravidelně, ale v poměrně nízkých počtech (Mikkelsen et al., 2003). Nesekreční část žaludku – *pars aesophagea* je bohatě kolonizovaná vrstvami laktobacilů (Fuller et al., 1978). Kolonizace epiteliálních buněk byla dokázána i v tenkém střevě (McAllister et al., 1979). Ve složení mikroflóry slepého a tlustého střeva jsou značné rozdíly. Ve slepém střevě převládají Gram-negativní (Robinson et al., 1981) v tlustém střevě Gram-pozitivní bakterie (Salanitro et al., 1977).

Dominanci bakterií mléčného kvašení v trávicím traktu prasat umožňuje mnoho faktorů. Mezi ně patří fakt, že mléčná fermentace v žaludku je podporovaná relativně vysokou hodnotou pH. Mimo to, krmivo postupující do žaludku je inokulované endogenními bakteriemi mléčného kvašení a probíhá kontinuální inokulace zabezpečená odlupujícími se epiteliálními buňkami z *pars aesophagea* kolonizovanými bakteriemi.

Trávicí trakt selat je bohatě kolonizován bakteriemi mléčného kvašení. Důležitost bakterií mléčného kvašení spočívá v jejich fyziologické, mikrobiologické a trávicí funkci. U mladých sajících selat napomáhají snížit pH v trávicím traktu produkcí kyseliny mléčné i dalších organických kyselin tvořených převážně z laktózy (Cranwell et al., 1976; Barrow et al., 1977). Nízká hodnota pH v pylorické oblasti žaludku napomáhá snižování počtu bakterií postupujících do tenkého střeva (Smith, 1965 a; Schulze, 1978). Mimo to, že bakterie

mléčného kvašení snižují pH v trávicím traktu konkurují ostatním bakteriím v boji o místo a živiny a touto cestou redukuje kontaminaci v ostatních částech trávicího traktu (Barrow et al., 1980).

Nejčastější se v trávicím traktu vyskytují *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. salivarius* (Fewins et al., 1957; Fuller et al., 1978; Mäyrä-Mäkinen et al. 1983; Axelsson and Lindgren, 1987) a *Enterococcus bovis*, *Ent. durans*, *Ent. faecalis*, *Ent. faecium*, *Streptococcus intestinalis*, *S. porcinus*, a *S. salivarius* (Raibaud et al., 1961; Barrow et al., 1977; Fuller et al., 1978; Collins et al., 1984; Robinson et al., 1988).

Přesto že McGillivery (1984) a Cain (1989) publikovali, že laktobacily jsou dominantní skupinou bakterií asociovaných s mukózou dvanáctníku a McAllister et al., (1979) uvádí, že převládající mikroflóru tenkého střeva tvoří společně s laktobacily také bakterie rodů *Bacteriodes* a *Clostridium*.

### 3.4.2.2 Využití probiotik v chovu prasat

Pokud probiotické preparáty mají v trávicím traktu přežít a mají být aktivní, musí být vhodné pro dané prostředí a musí odolávat obranným mechanismům hostitele.

V současnosti jsou probiotika na trhu dostupná buď jako samostatná probiotická aditiva, anebo smíchané s různými látkami. Doporučované dávkování se pohybuje od 9 log CFU/g do 12 log CFU/g mikroorganismů na zvíře a den. Pro prasata jsou jako probiotika používané mnohé mikroorganismy, další jsou zkoumané jako potencionální probiotika. Jako probiotika pro prasata se nejčastěji užívají laktobacily a další bakterie mléčného kvašení. Laktobacily jsou silnými producenty kyselin, přičemž málokdy jsou patogenní (Sharpe et al., 1973; Sharpe et al., 1981). Některé kmeny *Ent. faecalis* a *Ent. faecium* mohou být i patogenní (Hardie, 1986; Mundt, 1986). Enterokoky jsou ovšem tolerantnější vůči nepříznivým podmínkám a proto představují stabilnější preparáty než ty, které obsahují laktobacily. Bylo testováno také použití bifidobakterií (Kimura et al., 1983; Ervolder et al., 1984). Jejich použití a efektivita je diskutabilní, protože tyto bakterie nemají v trávicím traktu prasat dominantní úlohu. Dále se ve větší míře používaly sporující bakterie *Bacillus subtilis* a *B. toyoi* a dále *Clostridium butyricum*. Bacily ve formě spor jsou snadno skladovatelné, ale jejich účinnost *in vivo* je sporná. Zajímavé by mohlo naopak být použití klostridií, které patří k indigenní mikroflóře prasat a produkují butyrát nezbytný pro výživu enterocytů. Problém je však patogenita klostridií a nedostatek konzistentních, experimenty potvrzených pozitivních účinků.

Bakterie používané jako probiotika pro prasata mohou být rozdělené do dvou skupin: bakterie, které pochází z endogenní mikroflóry trávicího traktu a bakterie jiného původu. Mezi druhy indigenní vyskytující se za normálních okolností v mikroflóře trávicího traktu prasat patří: *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *Ent. faecium* a *Ent. faecalis*. Jako startovací kultury při konzervaci krmiva se používají druhy pro prasata neindigenní *L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, jedná se o bakterie neindigenní, ale probiotický efekt se může uplatnit (Jonsson a Conway, 1992). V porovnání s drůbeží je výčet použitých monokultur pestřejší a rozličné jsou i způsoby aplikace.

Tradice využívání bifidobakterií se vyvinula v Japonsku, kde preparáty bifidobakterií, jmenovitě *Bif. bifidum*, *Bif. pseudolongum* a *Bif. thermophilum* byly používané pro zvířata od roku 1968 (Kurman, 1983). Mezi další druhy bakterií používané jako probiotika patří *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. toyoi* a *Clostridium butyricum* (Han et al., 1984; Tournut, 1989).

Ve výživě prasat byly používány sporulující bakterie rodu *Bacillus*, tyto bakterie zřejmě nejsou součástí endogenní mikroflóry, ale v trávicím traktu jsou jen kontaminující organismy z prostředí (Savage, 1977). Bylo dokázáno, že spory *Bacillus* spp. v počátečních úsecích trávicího traktu mohou vyklíčit a tím konkurovat enterotoxickému *E. coli* (Ozawa et al., 1981). Také mohou podpořit rozvoj laktobacilů, anebo stimulovat imunitní systém proti *E. coli* (Pollman, 1986).

Při podávání probiotik se využívá mechanismu kompetitivní kolonizace, kdy probiotické druhy jsou použité za účelem prevence proti následující kolonizaci patogenními druhy. Dalším mechanismem zlepšení zdravotního stavu zvířat, kterou zkoumal Smith a Huggins (1983) je, využití bakteriofágů, ale jejich nevýhodou je přílišná specifita. Fuller (1986) předpokládal, že probiotika využívající mechanismus bakteriofágů jsou účinné jediné v případě, že jsou schopné vázat se na receptory patogenů.

Probiotické preparáty mohou být podané hned po narození, kdy je největší předpoklad výskytu chorob (preventivně, anebo léčebně), anebo zamíchané do krmiva za účelem kontinuálního podávání. Probiotika mohou být podána orálně v pitné vodě, anebo v krmivu, v podobě vlhkých, zmražených a následně sušených preparátů jako pasty (Tournut, 1989). Pozitivně na trávicí trakt mohou působit fermentační produkty některých mikroorganismů (Pollman et al., 1984).



### 3.4.2.3 Účinek

Hodnocení použití probiotik *in vivo* zahrnuje studie:

- 1) Vlivu na mikroflóru trávicího traktu, včetně patogenních bakterií
- 2) Vlivu na trávicí trakt, jeho funkci a morfologii
- 3) Užitečnosti a zdraví zvířat
- 4) Různých vlivů, kde zvířata slouží jako modelové organismy

Jeden z významů použití bakterií mléčného kvašení jako probiotik je, že stabilizují mikroflóru trávicího traktu a konkurují patogenním mikroorganismům. Tato tvrzení vyplývají ze skutečnosti, že uvedené bakterie jsou silnými producenti kyseliny mléčné, přispívají ke snížení pH v žaludku a napomáhají k redukci počtu bakterií vstupujících do tenkého střeva u narozených prasat (Cranwell et al., 1976; Barrow et al., 1977).

U dospělých zvířat je vývoj komplexní endogenní mikroflóry trávicího traktu ukončený a tato mikroflóra je relativně stabilní. Přísun dalších mikroorganismů do tohoto stabilního systému není příliš efektivní (Hungate, 1984). Avšak přes to, že je uvedená mikroflóra stabilní, je zároveň i dynamická, v rámci které se jednotlivé druhy mikroorganismů mohou navzájem nahradit a metabolicky se adaptovat na dostupný substrát.

Podání některých probiotik pro dospělá zvířata je vhodné v případě, že dojde k narušení mikroflóry například po antibiotické léčbě.

Mollgaard (1946, 1947) zaznamenal zlepšený vývoje kostry u prasat, kterým byly podávány kultury laktobacilů. Předpokládal, že je to důsledek zlepšení absorpce vápníku, zvýšenou produkcí laktátu a sníženou hodnotou pH v tenkém střevě. Rozdílné výsledky byly zaznamenány z podání *Bacillus* spp. nebyla ovlivněna hodnota pH, koncentrace bakteriálních metabolitů, ani stravitelnost bílkovin a organické hmoty (Spriet et al., 1987).

Pollman et al. (1984) u prasat infikovaných *E. coli*, krmených fermentačními produkty laktobacilů nezaznamenali zlepšení v morfologii tenkého střeva. Na rozdíl od uvedených autorů Jonsson a Henningsson (1991) u kontrolní skupiny prasat, kterým bylo aplikováno krmivo s *L. reuteri*, zaznamenali nižší poškození mikrokloků.

Hlavní význam použití probiotik spočívá ve zlepšení užitečnosti a zdravotního stavu zvířat.

U sajících prasat s chronickými průjmovými problémy bylo zaznamenáno zlepšení po podání *L. acidophilus* (Redmond a Moore, 1965; Jensen 1974; Premi a Bottazzi, 1974). Podobně Olsson (1966) dosáhl zlepšení zdravotního stavu prasat při odstavení podáním *L. acidophilus*. Naproti tomu Kornegay (1985) nezaznamenal zlepšení intenzity růstu prasat.

Uvedené skutečnosti poukazují na fakt, že se mohou vyskytnout situace, kdy prasata v důsledku náchylnosti na choroby trávicího traktu mohou čerpat z obohacení laktobacily. Většina publikací, které se zabírají použitím *Ent. faecium M 74* jako probiotika poukazují na pozitivní vliv na zdravotní stav a intenzitu růstu nově narozených prasat (Roth a Kirchgessner, 1986; Maeng et al., 1989). Na rozdíl od uvedených autorů Kluber et al. (1985) uvedené efekty nezaznamenali, opačně zaznamenali vyšší mortalitu u skupiny které podával *Ent. faecium M 74*. V případě podání kmene *Ent. faecium C 68* byl závislý jeho vliv na podmínkách, ve kterých zvířata byla chovaná (Jorgensen, 1988). Za podprůměrných podmínek bylo zaznamenáno zlepšení užitkovosti a zdravotního stavu, za dobrých hygienických podmínek uvedené změny zaznamenané nebyly. Zvýšený průměrný denní přírůstek, zlepšenou konverzi krmiva a snížený úhyn zaznamenal Maeng et al., (1989) při podávání *Ent. faecium C 68* prasatům do věku 4 měsíců. Roth a Kirchgessner (1988) a Ogle a Inborr (1987) zaznamenali zvýšení průměrného denního přírůstku, zlepšení konverze krmiva a snížení mortality po podání *Bacillus toyoi* prasatům.

### 3.4.3 Probiotika u přežvýkavců

Anatomie a fyziologie trávicího traktu přežvýkavců se značně liší od trávicího traktu monogastrů. Tyto rozdíly se týkají především přední části trávicího traktu. Jde o bachor, který u krav může dosáhnout objem 80 až 100 l (vyjímečně až 200 l), přičemž funguje jako fermentační komora, obsahující 10 – 11 log CFU/g bakterií a 5 až 6 log CFU/g nálevníků a protozoí na ml obsahu, spolu s malým množstvím anaerobních hub. Přítomna je široká škála prokaryotických a eukariotických organismů (Wallace a Newbold, 1992). Kvasinky se v bachoru přirozeně vyskytují, ale pravděpodobně jen jako transienti v nízké koncentraci okolo 3 log CFU/g (Lund, 1974). Nejvýznamnějšími mikroorganismy jsou fibroblastické bakterie mezi hlavní patří celulólytické gramnegativní bakterie *Fibrobacter succinogenes* a dva druhy grampozitivní bakterií *Ruminococcus albus* a *Ruminococcus flavefaciens*. Na rozkladu vlákniny se podílejí i xylanolytické bakterie *Prevotella sp.* a *Butyrivibrio fibrisolvens*. Mezi méně prozkoumané celulólytické bakterie patří například *Eubacterium cellulosolvens* (Krause et al., 2003). Podle posledních prací mají při rozkladu vlákniny velký význam i anaerobní houby, hlavními rody jsou *Neocallimastix* a *Piromyces* (Krause et al., 2003). Xylanolytická aktivita byla identifikována i u prvoků (Devillar et al., 2003). Fybrololytické bakterie mají většinou i pektinolytickou aktivitu. Zásobní polysacharidy jako je

škrob rozkládá například *Streptococcus bovis*. V bacheru se pravidelně vyskytují i metanové bakterie (*Methanomicrobium*, *Methanobrevibacter*, *Methanobacterium*), které z CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub> tvoří metan (Hespell et al., 1997). Částečně fermentovaná potrava spolu s mikroorganismy se posouvá do čepce, jehož funkce spočívá především v absorpci vody a rozpustných živin.

Zaživací trakt nabízí mnohá prostředí příznivá k růstu mikroorganismu. U monogastričních všežravců a masožravců (například člověk, kočka, pes) jsou oblasti stálé kolonizace, které jsou nejvýznamnější, vymezeny na tlusté střevo, u monogastričních býložravců (kůň, králík, krys) byla nejvyšší hustota mikrobů zjištěna v tlustém střevě přesněji v slepém střevě a tračníku. U přežvýkavců (skot, ovce, jeleni) se nejvyšší počet mikroorganismů vyskytuje v bacheru a v tlustém střevě. U živočichů živících se zrním (drůbež, krůta) je mikrobiální fermentace převážně lokalizována ve voleti a slepém střevě. V každé oblasti střeva lze nalézt alespoň tři hlavní součinné populace mikroorganismů: volně se vyskytující ve vodní složce dutiny střev, ty, které jsou přichycené k částicím potravy a mikroorganismy přichycené v střevním epitelu. V některých oblastech trávicího traktu jako je abomasum u dobytka, ileum myši nebo tlusté střevo u člověka, prochází po povrchu epitelu nepřetržitý proud vazkého hlenu mukózy a tento vazký hlen mukóza vytváří další přirozené prostředí pro mikroorganismy. V bacheru skotu jsou asi tři čtvrtiny mikrobiálního společenstva těsně přichyceny na částicích potravy (rostlinná vlákna a škrobová zrna) nebo se nalézají v biovrstvách (Dierick et al., 2002).

Trávení v bacheru spočívá v kombinaci mikrobiální fermentace a fyzické destrukce potravy, bez přítomnosti trávicích enzymů. Trávicí trakt přežvýkavců je uzpůsobený na využití těkavých mastných kyselin pocházejících z mikrobiální fermentace jako hlavních substrátů pro růst a produkci. Mezi tyto kyseliny patří především kyselina octová, propionová a máselná. Výhoda fermentace v přední části trávicího traktu v porovnání se zadní částí spočívá v tom, že mikrobiální buňky vytvořené v procesu fermentačního procesu jsou dostupné pro organizmus hostitele jako zdroj aminokyselin.

Potencionální užitek z probiotik pro přežvýkavce je proto pravděpodobně větší než pro monogastriční zvířata. U přežvýkavců však užitek může být docílený i zvýšením stupně rozvoje bacherové mikroflóry stimulací fermentace u dospělých zvířat.

### 3.4.3.1 Probiotika pro mladá zvířata

Funkční mikrobiální populace v trávicím traktu nově narozených přežvýkavců pomáhá chránit trávicí trakt před infekcí patologickými mikroorganismy. Přežvýkavci se rodí se

sterilním trávicím traktem (Cushnie et al., 1981), avšak kolonizace je velmi rychlá a 8 hodin po narození jsou v celém trávicím traktu detekovatelné *Escherichia coli* a 24 hodin po narození též laktobacily a streptokoky. U zdravých zvířat jsou koliformní bakterie postupně nahrazovány laktobacily, přičemž týden po narození dosahují počtu 7 - 9 log CFU/g (Smith, 1965 a; Karney Et al., 1986). Mikroflóra trávicího traktu mláďat přežvýkavců na mléčné výživě se podobá mikroflóře trávicího traktu mláďat monogastrů. U mladých zvířat v období mléčné výživy není vyvinut bachor a rovněž složení potravy je jiné, tzn. méně vlákniny, více proteinů a snadno zkvasitelných sacharidů. S příjmem pevných krmiv je zahájeno druhé stádium rozvoje mikroflóry trávicího traktu mladých přežvýkavců, kdy dochází k rozvoji fermentace v bachoru. Mikrobiální kolonizace bachoru probíhá intenzivně těsně po narození, populací striktně anaerobních bakterií (Fonty Et al., 1987). S počátkem konzumace pevné stravy dochází k rozrůstání mikroflóry a začíná se podobat mikroflóře dospělého zvířete (Dehority a Orpin, 1988). Finální produkty fermentace podporují rozvoj a růst bachoru (Warner at al., 1955), takže v období odstavu je bachor plně vyvinutý jako trávicí a absorpční orgán (Thivend et al., 1979).

Vlková et al. (2006) sledovali vývoj mikroflóry trávicího traktu telat od narození do věku 7 týdnů (Tabulka 1). Tři dny po narození dominují coliformní bakterie a laktobacily. Bifidobacterie byly stanoveny jako dominantní skupina bakterií po sedmém dnu věku, dále jejich počty klesají. Celková koncentrace anaerobních bakterií byla stabilní po celou dobu studie. Rod *Enterococcus* byl nejméně početnou skupinou sledovaných mikroorganismů a jejich počty se pohybovaly od 6,38 do 7,29 log CFU/g. Množství bakterií rodu *Lactobacillus* poklesla z 8,35 ve třetím dni věku na 6,67 log CFU/g po pěti týdnech. Největší množství koliformních bakterií bylo nalezeno ve třech dnech života. Během druhého až sedmého týdne byly počty koliformních bakterií vyšší než počty bifidobakterií.

Tabulka 1. Množství bakterií (log CFU/g  $\pm$  SD, stanoveno kultivačně na selektivních médiích) ve výkalech telat (n=38) ve věku 3 – 49 dnů (Vlková et al., 2006)

| Bakterie            | Věk,dny         |                 |                 |                 |                 |                 |
|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                     | 3               | 7 $\pm$ 1       | 14 $\pm$ 2      | 21 $\pm$ 2      | 35 $\pm$ 2      | 49 $\pm$ 2      |
| Anaerobní bakterie  | 10,3 $\pm$ 0,22 | 9,86 $\pm$ 0,60 | 9,97 $\pm$ 0,78 | 9,81 $\pm$ 0,32 | 9,87 $\pm$ 0,36 | 9,58 $\pm$ 0,13 |
| Bifidobakterie      | 7,67 $\pm$ 0,94 | 8,86 $\pm$ 0,89 | 8,16 $\pm$ 1,25 | 7,76 $\pm$ 1,22 | 7,40 $\pm$ 1,16 | 6,82 $\pm$ 0,66 |
| Laktobacilli        | 8,35 $\pm$ 1,12 | 7,48 $\pm$ 0,52 | 7,27 $\pm$ 0,98 | 7,66 $\pm$ 1,17 | 6,67 $\pm$ 0,76 | 6,89 $\pm$ 1,25 |
| Koliformní bakterie | 8,96 $\pm$ 1,05 | 8,04 $\pm$ 0,77 | 8,41 $\pm$ 1,13 | 8,17 $\pm$ 0,93 | 7,88 $\pm$ 0,82 | 7,17 $\pm$ 0,58 |
| Enterokoky          | 7,29 $\pm$ 0,59 | 6,92 $\pm$ 1,03 | 6,41 $\pm$ 0,92 | 7,17 $\pm$ 0,90 | 7,06 $\pm$ 0,66 | 6,38 $\pm$ 0,45 |

Zvláštní pozornost je věnovaná mladým přežvýkavcům pro ranější zahájení celulolytické činnosti v batoru. Jedním z klíčových kroků při chovu mladých přežvýkavců je přechod od mléčné výživy k pevnému objemnému krmivu, pro které by měl začít rozvoj účinné ruminální mikroflóry pro trávení počátečního krmiva a píce co nejdříve, mění se i poměr mikroorganismů v jednotlivých částech trávicího traktu. O určitých kmenech živých kvasinek je známo, že napomáhají ruminální fibrolytické činnosti u mladých přežvýkavců (Chaucheyras-Durand et al., 2005).

Jak již bylo zmíněno množství bakterií je v různých částech trávicího traktu různé. Největší bakteriální koncentrace byla nalezena u telat na mléčné výživě Vlkovou et al. (2006) v batoru, v slepém střevě, v tlustém střevě a nejnižší v dvanáctníku a v knize (Tabulka 2). Rody *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* vykazovaly nejlepší životaschopnost během průchodu žaludkem a byly převládající ve všech částech trávicího traktu. Koliformní bakterie byly zjištěny jako menší skupina v celé části trávicího traktu, obzvláště v batoru. Nebyly detekovány v abomasum a duodenum. Rod *Enterococcus* ukázal dobrou životaschopnost během průchodu žaludkem, jejich počet nikdy neklesl pod 3 log CFU/g.

Tabulka 2. Počty bakterií (log CFU/g, stanoveno kultivačně na selektivních médiích) v trávicím traktu telat (n=14) (Vlková et al., 2006)

| Bakterie            | Bachor    | Sléz      | Dvanáctník | Lačník    | Slepé střevo | Tlusté střevo |
|---------------------|-----------|-----------|------------|-----------|--------------|---------------|
| Anaerobní bakterie  | 8,84±0,36 | 6,10±0,70 | 6,25±1,08  | 6,31±0,56 | 8,93±0,34    | 8,66±0,43     |
| Bifidobakterie      | 7,88±0,62 | 5,38±1,04 | 4,04±1,02  | 5,08±0,90 | 6,42±0,37    | 6,40±0,54     |
| Lactobacilli        | 7,37±0,51 | 5,74±0,72 | 5,28±0,73  | 6,27±0,95 | 7,78±0,27    | 7,19±0,61     |
| Koliformní bakterie | 3,63±0,54 | 0         | 0          | 2,71±0,55 | 4,79±1,16    | 4,68±4,68     |
| Enterokoky          | 7,02±1,00 | 3,41±1,07 | 3,80±0,70  | 3,39±1,13 | 5,79±0,80    | 5,53±1,17     |

Problémem u telat jsou podobně jako u selat průjmová onemocnění, která se v četných pokusech podařilo eliminovat pomocí aplikace bakterií mléčného kvašení, hlavně *Lactobacillus acidophilus*, další laktobacily a enterokoky z ostatních bakterií potom *Bacillus toyoi* (Wallace a Newbold, 1992). Z telat byly také izolovány bifidobakterie (Scardovi, 1986), avšak existuje jedna starší práce o aplikaci bifidobakterií telatům (Abe et al., 1995).

### 3.4.3.2 Využití probiotik v procesu rozvoje bachorové fermentace

Mikroflóra bachoru je podstatně hůře ovlivnitelná. Při manipulaci bachorové fermentace se používaly především různé chemické látky, antibiotika a úprava krmné dávky. Cílem těchto manipulací bylo zlepšení trávení vlákniny, snížení degradace proteinu a detoxifikace komponentů krmiv (Weimer, 1998). Probiotická aplikace typických bachorových bakterií je problematická, protože se jedná o kultivačně velice náročné striktní anaeroby. Byly činy pokusy s geneticky modifikovanými bakteriemi rodů *Fibrobacter* a *Ruminococcus* s cílem vložit do těchto kultur gen pro produkci exoceluláz, ale bez úspěchu, zatímco částečného úspěchu bylo dosaženo u *B. fibrisolvens* (Kraus et al., 2003). Z probiotických mikroorganismů bylo u skotu dosaženo největších účinků pomocí kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, kdy některé kmeny, působily vzrůst pH bachorové šťávy s následným rozvojem

celulolytické mikroflóry (Dawson et al., 1990; Williams, 1991) a podle posledních údajů také snižují aktivitu peptidáz a degradaci proteinů (Chaucheyras – Durand et al., 2005)

Byla použita bakteriální a houbová probiotika za účelem podpory rozvoje a udržení stabilní bachorové fermentace. Lee a Botts (1988) zjistili, že laktobacily i *Ent. faecium* zlepšují příjem krmiva a přírůstek hmotnosti u mladého dobytka. Na rozdíl od uvedených autorů Kay a Poole (1988) zaznamenali, že podání *L. acidophilus* mělo za následek snížený příjem krmiva po odstavu. Ozawa et al., (1983) zaznamenali, že *Ent. faecalis* stabilizoval střevní flóru a stimuloval přírůstky u telat léčených antibiotiky.

Theodorou (1990) zaznamenali, že probiotika založená na bázi anaerobních bachorových hub (*Neocallimastix sp.*) zvýšili příjem krmiva a přírůstek živé váhy u telat po odstavu Zirolecka et al. (1984) a Zirolecki et al. (1984) zaznamenali, že stabilizovaný bachorový extrakt zlepšil průměrný denní přírůstek a rozvoj bachoru u telat v době odstavu.

Výrobky založené na kvasinkách a aerobních houbách mohou být použité jak u mladých tak i dospělých přežvýkavců. *Saccharomyces cerevisiae* zvýšil příjem krmiva i průměrný denní přírůstek u odstavených telat (Hughes, 1988) a jehňat (Jordan a Johnston, 1990). Phillips a von Tungeln (1985) zaznamenali zlepšený příjem krmiva a průměrný denní přírůstek u telat kterým podali *Sac. cerevisiae* po překonání stresu z transportu.

### 3.4.3.3 Krmná aditiva na bázi hub pro dospělé přežvýkavce

Kvasinky a vedlejší produkty obsahující kvasinky jsou ve výživě přežvýkavců využívány mnoho let jako zdroj bílkovin a energie (Carter a Phillips, 1944). Avšak od konce 80. let rapidně stoupl zájem o produkty obsahující kvasinky, anebo vláknité houby, jako analogů probiotik, zlepšujících činnost trávicího traktu. Produkty založené na kvasinkách a houbách jsou zkrmovány dospělým přežvýkavcem za účelem dosažení odezvy v produkci a nesouvisející s prevencí průjmu. Uvedené produkty přesto zlepšují výživu rostoucích a dospělých přežvýkavců mnohem intenzivněji než se předpokládalo. Produkty používané v současné době obsahují buď kvasinku *Sac. cerevisiae* anebo aerobní houbu *A. oryzae*, anebo v některých případech i oboje.

#### 3.4.3.4 Probiotické výrobky pro přežvýkavce

Počet mezinárodně dostupných preparátů se v současnosti intenzivně zvyšuje. Výrobky obsahující kvasinky se dodávají jako směs živých a usmrcených buněk spolu s médiiem ve kterém kvasinky byly množeny. Fermentační extrakt *A. oryzae* se skládá ze spór a mycelia houby sušené na bázi pšeničných otrub. Doba trvanlivosti jednotlivých preparátů je značně rozdílná. Preparáty na bázi kvasinek mají početnostnost 9 – 10 log CFU/g živých buněk (Dawson et al., 1990) anebo 7 log CFU/g živých buněk v závislosti na výrobku. Fermentační extrakt *A. oryzae* obsahuje 3 log CFU/g živých buněk g<sup>-1</sup> (Newbold et al., 1991).

#### 3.4.3.5 Odezva v produkci masa a mléka

Všeobecný efekt podávání krmných aditiv na bázi hub je zlepšená mléčná i masná užitkovost. Williams a Newbold (1990) v osmy pokusech s *A. oryzae* zaznamenali v průměru 4,3 % zlepšení v produkci mléka. Podobné pokusy s kvasinkami měly za výsledek zlepšení v průměru o 5,1 %.

Méně informací je dostupných o vlivu probiotik na rostoucí zvířata. V některých pokusech byl zaznamenaný zlepšený průměrný denní přírůstek, v některých případech ovšem ne. Adams et al. (1981) zaznamenal u býčků, kterým podávali kvasinky zvýšený průměrný denní přírůstek 1,39 kg v porovnání s kontrolní skupinou 1,34 kg. Edwards et al. (1990) nezaznamenal signifikantní zlepšení přírůstku živé hmotnosti u býčků krmených kvasinkami od hmotnosti 135 kg do porážky. U krav a telat masného typu na pastvě podřadné kvality se po podání *A. oryzae* zlepšil průměrný denní přírůstek z 0,57 na 0,8 kg den<sup>-1</sup> (Wiedmeier, 1989). Odezva na krmná aditiva na základě hub je závislá na požadavcích zvířat (Chase, 1989). Odezva na podání kvasinek u krav na začátku laktace je větší než u krav na konci laktace (Günther, 1989). Podobně i v případě *A. oryzae* byla odezva na začátku laktace větší v porovnání s koncem laktace (Kellems et al., 1987).



### 3.4.3.6 Vliv na trávení a příjem krmiva

Mnoho studií poukazuje na skutečnost, že krmná aditiva na bázi hub podporují příjem krmiva ve větší míře než konverzi krmiva (Williams et al., 1991). Konverze krmiva je zlepšená jen v ojedinělých případech. Williams a Newbold (1990) zjistili, že zlepšení příjmu krmiva u krav koresponduje se zvýšením užítkovosti. Hlavní účinek uvedených aditiv na užítkovost tedy spočívá ve vlivu na příjem krmiva. Jejich mechanismus zlepšení příjmu krmiva u přežvýkavců je založená na zlepšení chutnosti, stupni stravitelnosti vlákniny a pohybu natráveniny ve střevě. Změna celkové stravitelnosti může spočívat ve vážných změnách v místě i stupni degradace vlákniny v trávicím traktu. Pokud je stravitelnost vlákniny v batoru stimulovaná, redukuje se množství reziduálního materiálu, které je za normálních okolností odbourávané v tlustém střevě. Gomez-Alarcon (1988) zaznamenali, že kvasinky a *A. oryzae* stimulovaly rozklad vlákniny v batoru, efektivně přesouvajíc trávení z koncové části trávicího traktu do batoru.

Kvasinkové kultury a *A. oryzae* mají odlišný vliv na koncentraci těkavých mastných kyselin v batoru (Oellermann et al., 1990). Bylo zjištěno, že kvasinky mají vliv především na podíl kyseliny propionové, zatímco *A. oryzae* ovlivňuje množství kyseliny octové (Newbold et al., 1990). Na druhé straně Gomez-Alarcon et al. (1990) zaznamenali nižší podíl kyseliny octové u krav při podání *A. oryzae*, ale Edwards et al. (1990) zaznamenali vyšší koncentraci kyseliny octové při podání kvasinkových kultur.

Arambel et al. (1987) naznačili, že *A. oryzae* může stimulovat proteolýzu. Jako výsledek podání *A. oryzae* a kvasinkových kultur uvádějí Wiedmeier et al. (1987) zvýšenou stravitelnost hrubých proteinů.

Krmná aditiva na bázi hub mohou nepatrně zvýšit pH batoru (Oellermann et al., 1990), ale není to pravidlem. V jiných pokusech kvasinky způsobily pokles pH batoru (Edwards et al., 1990). Zvýšení pH bylo zaznamenáno i v *in vitro* fermentačních systémech (Dawson et al., 1990).

Značné zvýšení celkového počtu živých anaerobních bakterií v batoru přežvýkavců krmnými aditivy na bázi hub, v případě *A. oryzae* (o 14 % celkového počtu) a kvasinkových kultur (o 30 % celkového počtu) po prvé zaznamenali Wiedmeier et al. (1987). Harrison et al. (1988) následně publikoval 58 % zvýšení, Dawson et al. (1990) konstatoval zvýšení celkového počtu živých bakterií o 52 % v batoru při podání kvasinkových kultur býčkům.

### 3.4.3.7 Účinky

Po nedávném zákazu zkrmování antibiotik na podporu růstu hospodářských zvířat, jsou hledány nové alternativy jak pozitivně ovlivnit užitečnost, jednou z možností je použití probiotik. Mezi těmito živými mikrobiálními doplňky krmiva, která příznivě ovlivňují hostitele tak, že optimalizují jeho intestinální mikrobiální rovnováhu (Fuller, 1989), jsou ve výživě přežvýkavců nyní běžně užívány živé kvasinky (*Saccharomyces cerevisiae*) s cílem optimalizace ruminální funkce, a to především s potravou bohatou na rychle fermentující lehce stravitelné sacharidy.

U přežvýkavců bylo jasně dokázáno, že kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* příznivě ovlivňují mikrobiální aktivitu v batoru. Kvasinky napomáhají snížit výskyt laktické acidózy u zvířat krměných stravou s vysokým obsahem škrobu, zlepšují rozklad celulózy a urychlují zrání mikrobiálního ekosystému batoru u novorozenech zvířat. (Chaucheyras-Durand et al., 2005). Živé kvasinky jsou velkou pomocí při omezování škodlivých účinků acidogenní výživy, přičemž u dospělých přežvýkavců působí 3 různými způsoby na zlepšení stability ruminálního pH. Protože mládě se rodí v podstatě se sterilním obsahem trávicího traktu, až po narození přijímá z okolí nejrůznější mikroorganismy, které se množí a kolonizují střevo v další fázi nastupuje selektivní proces, během kterého se mikrobiální populace upraví na složení typické pro daného hostitele. Nejúčinnější je aplikace probiotik do 3-4 hodin po narození, po přijetí prvního mleziva. Ekonomicky efektivní je také aplikace probiotických preparátů pro rekolonizaci trávicího traktu během léčby a po léčbě zvířat antibiotiky.

Ačkoli živé kvasinky nerostou v batoru, mají schopnost spotřebovat stopy kyslíku, které se dostanou do trávicího traktu s částicemi potravy. Tím přispívají k vytvoření anaerobního prostředí v batoru, a tak stimulují růst celulólytických bakterií, které jsou striktně anaerobní (Chaucheyras – Durand et al., 2005).

Kvasinky mohou být zdrojem živin pro některé bakterie batoru. Poskytují vitamíny B, určité dikarboxylové kyseliny (malát) nebo peptidy. Díky lepšímu růstu populací například *Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium* bakterií spotřebovávající laktát, přispívají k zabránění hromadění laktátu v batoru a omezují pokles ruminálního pH při zkrmování acidogenního krmiva. Tyto živiny mají rovněž příznivý vliv na vývoj dalších bakterií nebo hub, které jsou zajímavé vzhledem k ruminálnímu trávení (Offer, 1990).

Určité kmeny živých kvasinek soutěží s bakterií *Streptococcus bovis*, jednou z hlavních bakterií produkujících laktát, o využití některých rozpustných sacharidů (glukóza), a tak přispívají ke stabilitě pH batoru. Tento konkurenční boj je specifický pro živé buňky a

nelze jej nalézt v deaktivovaných kvasinkových produktech. Tyto účinky přispívají k lepší kontrole ruminálního pH v situacích, kdy je zvířatům podávána acidogenní potrava. A tato vyšší stabilita podmínek ruminálního fermentace umožňuje zvýšení stravitelnosti anorganické hmoty o 0,6 až 1,4 %, z čehož vyplývá vyšší zhodnocení potravy (Krause et al., 2003).

### 3.5 Prebiotika

Další možností, jak zvýšit počty pozitivně působících mikroorganismů ve střevním traktu, je podávání uhlíkatých a energetických zdrojů v potravě, které umožní jejich kompetitivní výhodu před ostatními bakteriemi v ekosystému. Tyto komponenty stravy se nazývají prebiotika. Byla tak nazvána Gibsonem a Roberfroidem (1995), kteří je definovali jako „Nestravitelné složky potravy, které selektivně stimulují rozvoj a aktivitu pozitivně působících bakterií v tlustém střevě“. Prebiotika musí být látky, které jsou minimálně částečně nestravitelné a neabsorbovatelné v tenkém střevě makroorganismu, musí selektivně podporovat metabolickou aktivitu a růst pozitivně působících bakterií a nesmí podporovat rozvoj škodlivých mikroorganismů.

Nejčastěji se jako prebiotika používají různé oligosacharidy a peptidy. Oligosacharidy jsou obsaženy zejména v rostlinné stravě například v cibuli, česneku, pórků, čekance, luštěninách a v menší míře v obilovinách (Crittenden, 1999). Prebiotika testované zejména u časně odstavených selat jsou přirozenou složkou některých rostlin (například leguminóz), lze je však též vyrobit enzymatickou hydrolýzou polysacharidů. Mimořádně bohaté na nestravitelné oligosacharidy je mateřské mléko (Gnoth et al., 2000). Jako potenciálně účinné látky byly testovány fruktooligosacharidy (FOS), galaktooligosacharidy (GOS), laktulóza, xylooligosacharidy (XOS), manooligosacharidy (MOS), izomaltooligosacharidy, transgalaktooligosacharidy, fruktany, například inulin a další. Tyto sacharidy jsou u nepřežvýkavých zvířat nestravitelné, podporují absorpci kationtů vápníku a železa z mléka, stimulují imunitní systém, slouží jako zdroj energie pro určité skupiny střevních mikroorganismů (např. bifidobakterie a laktobacily). Vychází se z předpokladu, že tímto způsobem by bylo možné selektivně regulovat střevní mikroflóru. Prebiotika se zkrmují v koncentraci 0,1 až 0,5 % krmné směsi.

FOS jsou polymery D-fruktózy, molekuly se stupněm polymerace větším než 20 bývají označovány jako inulin. FOS a inulin jsou přítomny v řadě potravin rostlinného

původu jako je čekanka, cibule, chřest, rajčata a banány (Crittenden a Playne, 1996). FOS se také vyrábějí enzymatickou hydrolýzou inulinu (většinou z kořene čekanky), pak se jedná o oligofruktózu, možný je však i opačný postup, to je syntéza ze sacharózy (Tuohy et al., 2005).

Laktulóza je disacharid, který vzniká izomerací laktózy například tepelným ošetřením mléka. Je to látka původně používaná jako projímadlo ve veterinární a humánní medicíně (Crittenden, 1999; Rastall et al., 2002).

GOS jsou složeny z molekul glukózy a galaktózy. Jsou přítomny hlavně v lidském a kravském mléce. Velké zastoupení galaktózy je také v sojových oligosacharidech, ty se vyskytují i v dalších luštěninách a někdy bývají souhrnně označovány jako oligosacharidy rafinózové řady (RSO). Patří sem hlavně rafinóza, stachyóza a verbaskóza. RSO byly dříve považovány za antinutriční látky, které způsobují flatulenci. Pozitivní účinky na růst bakterií v tlustém střevě byly podrobně studovány v Japonsku (Mitsuoka, 1992).

XOS obsahují hlavně molekuly xylózy. Podle některých studií dobře stimulují růst bifidobakterií, ale bylo prokázáno, že stimulují i rozvoj bakterií rodu *Bacteroides* (Rycroft et al., 2001), na které mají FOS a GOS účinky opačné (Tuohy et al., 2005). U MOS je základní složka manóza, s úspěchem jsou používány v krmném průmyslu jako růstové promotory (Kumprecht et al., 1997).

Prebiotika mohou být podávána společně s probiotiky, pak jsou tyto preparáty nazývány symbiotika (Picard et al., 2005). Symbiotikum je definováno jako směs probiotik a prebiotik, která prospěšně ovlivňuje hostitele tím, že zlepšuje přežití a usídlení živých dietetických doplňků v gastrointestinálním traktu a to tak, že selektivně stimuluje růst nebo aktivuje metabolismus jedné bakterie nebo omezeného počtu bakterií podporujících zdraví, čímž pozitivně působí na hostitele (Meile, 1998).

## 4 Závěry

Jako probiotika určená pro zvířata se používá řada mikroorganismů. Jsou to zejména bakterie mléčného kvašení rodů *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, kvasinky a vláknité houby. Bakteriální probiotika vykazují příznivý efekt při podávání kuřatům, selatům, telatům, zatímco probiotika s obsahem kvasinek mají vliv spíše na dospělé přežvýkavce.

V případě správného používání mají probiotika řadu příznivých vlivů na hospodářská zvířata. Probiotika zvyšují rezistenci k infekčním onemocněním, způsobeným *E. coli*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium* a rotaviry. Prokazatelně se zlepšuje zdravotní stav (eliminace či snížení průjmových onemocnění) především u mláďat. Vlivem probiotických bakterií se zlepšuje kverze a absorpce živin, dochází také k obohacení o esenciální látky. Probiotika mají kladný vztah i k užitkovosti zvířat. Dochází k zvýšení přírůstku, u krav k zlepšení kvality mléka a zvýšení dojivosti, u drůbeže k zlepšení snášky a kvality vajec, u jatečných zvířat k zlepšení kvality jatečného těla a snížení kontaminace masa při porážce.

## 5 Seznam použité literatury

- Abe, F., Ishibashi, N., Shimamura, S. 1995. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *J. Dairy Sci.* 78: pp. 2838-2846.
- Adams, D. C., Galyean, M. L., Kiesling, H. E., Eallace, J. D. and Finker, M. D. 1981. Influence of viable yeast culture, sodium bicarbonate and monensin on liquid dilution rate, rumen fermentation and feedlot performance of growing lambs and digestibility in lambs. *J. Anim. Sci.*, 53, pp. 780-9.
- Anonym 1. World Health Organization 2003. The World Health Report 2003 – shaping the future. [Http://www.who.int/whr/2003/en/](http://www.who.int/whr/2003/en/), last accessed 1 March 2005.
- Arambel, M. J. and Tung, R. S. 1987. Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* growth in the rumen ecosystem. 19th Biennial Conf. On Rumen Function, Chicago, Illinois., p. 29.
- Axelsson, L. and Lindgren, S. 1987. Characterization and DNA homology of *Lactobacillus* strains isolated from pig intestine. *J Appl. Bacteriol.*, 62, pp. 433-40.
- Barrow, P. A. 1987. Microbial antibiotic resistance in animals, in *Combating Resistance to Xenobiotics* (eds M.G Ford et al.), Ellis Horwood, Chichester, UK.
- Barrow, P. A., Brooker, B. E., Fuller, R. and Newport, M. J. 1980. The attachment of bacteria to the gastric epithelium of the pig and its importance in the microecology of the intestine. *J. Appl. Bacteriol.*, 48, pp. 147-54.
- Barrow, P. A., Fuller, R. and Newport, M. J. 1977. Changes in the microflora and physiology of the anterior intestinal tract of pigs weaned at 2 days, with special reference to the pathogenesis of diarrhea. *Infect. Immun.*, 18, pp. 586-95.
- Barrow, P. A. 1992. Probiotics for chickens. In: Fuller R., eds. *Probiotics: The Scientific Approach*, London: Chapman and Hall, pp. 225-259.
- Barrow, P. A., Simpson, J. M. and Lovell, M. A. 1988. Intestinal colonization on the chicken by food-poisoning *Salmonella* serotypes, microbial characteristics associated with faecal excretion. *Avian Pathol.*, 17, pp. 571-88.
- Benno, Y., Mitsuoka, T. 1992. Impact of *Bifidobacterium longum* on human fecal microflora. *Microbiol. Immunol.* 36, pp. 683-694.
- Biavati, B., Vescoco, M., Torriani, S., Bottazi, V. 2000. bifidobakteri: history, ekology, physiology and applications. *Annals of Mikrobiology.* 50, pp. 117-131.
- Bomba, A. 1997. Využitie probiotík vo výžive a v prevencii ochorení mláďat hospodárskych zvierat. In : Slovenský chov - príloha, roč. 2, 1997, č. 11, s. 9.

- Brandtzaeg, P., Halstensen, T. S., Kett, K. et al. 1989. Immunology and immunopathology of human gut mucosa: humoral immunity and intraepithelial lymphocytes. *Gastroenterology*. 97, pp. 1562-1584.
- Cain, C. J. 1989. Observations on indigenous and non-indigenous lactic acid bacteria as potential probiotic organisms in the pig. M. Agr. Sc. Thesis, La Trobe University, Australia.
- Carter, H. E. and Phillips, G. E. 1944. The nutritive value of yeast proteins. *Fed. Proc.*, 3, pp. 123 – 8.
- Cerniglia, G. J., Goodling, A. C. and Herbert, J. A. 1983. The response of layers to feeding lactobacillus fermentation products. *Poultry Sci.*, 62, p. 1399.
- Coakley, M., Ross, R. P., Nordgren, M., Fitzgerald, G., Devery, R., Stanton, C. 2003. Conjugated linoleic acid biosynthesis by human – derived *Bifidobacterium* species. *J Appl Microbiol.* 94, pp. 138-145.
- Coates, M. E., Ford, J. E. and Harrison, G. F. 1968. Intestinal synthesis of vitamins of the B complex in chicks. *Brit. J. Nutr.*, 22, pp. 493-500.
- Collins, M. D., Farrow, J. A. E., Katic, V. and Kandler, O. 1984. Taxonomic studies on streptococci of serological groups E, P, U and V: Description of *Streptococcus porcinus* sp. Nov. *Systém. Appl. Microbiol.*, 5, pp. 402-13.
- Conway, P. 1997. Development of intestinal microbiota, pp. 3-38 in R.I. Mackie, B. A. White, R. E. Isaacson (Eds): *Gastrointestinal Microbiology*. Chapman & Hall, New York.
- Conway, P. L., Maki, J., Mitchell, R. and Kjelleberg, S. 1986. Starvation of marine flounder, squid and laboratory mice and its effect on the intestinal microbiota. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 38, pp. 187-95.
- Couch, J. R. 1978. Poultry researchers outline benefits of bacteria, fungistatic compounds, other feed additives. *Feedstuffs* 50, p. 6.
- Cranwell, P. D., Noakes, D. E. and Hill, K. J. 1976. Fastric secretion and fermentation in the suckling pig. *Brit. J. Nutr.*, 36, pp. 71-86.
- Crawford, J. S. 1979. Probiotics in animal nutrition. *Proc. 1979. Arkansas Nutrition Conf.*, pp. 45-55.
- Crittenden, R. G. 1999. Prebiotics,. *In* G. W. Tannock (ed.), *Probiotics: a critical review*. Horizon Scientific Press, Wymondham, United Kingdom. p. 141–156.
- Crittenden, R. G., Playne M.J. 1996. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends Food Sri Technol* 7, pp. 353-361.

- Cushnie, G. H., Richardson, A. J. and Sharman, G. A. M. 1981. Procedures and equipment for the production and rearing of gnotobiotic lambs. *Lab. Anim.*, 15, pp. 199-204.
- Damron, B. L., Wilson, H. R., Voitle, R. A. and Harms, R. H. 1981. A mixed lactobacillus culture in the diet of Broad Breasted Large White turkey hens. *Poultry Sci.*, 60, pp.1350-1.
- Dawson K. A., Newman K. E., Boling J. A. 1990. Effects of microbial supplements containing yeast on lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities, *J. Anim. Sci.* 68: pp. 3392-3398.
- Dawson, K. A. 1990. Designing the yeast culture of tomorrow: mode of action of yeast culture for ruminants and non-ruminants, in *Biotechnology in the Feed Industry* (ed. T. P. Lyons) Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky, pp. 59-78.
- Dehority, B. A. and Orpin, C. G. 1988. Development of, and natural fluctuations in, rumen microbial populations, in *The Rumen Microbial Ecosystem* (ed. P. N. Hobson), Elsevier, London, pp. 151-83.
- Delzenne, N. M., Kok, N. N. 1999. Biochemical basis of oligofruktose-induced hypolipidaemia in animal models. *J Nutr.* 129, pp. 1467-1470.
- Devillard E., Bera-Maillet C., Flint H. J., Scott K. P., Newbold C. J., Wallace R. J., Jouany J. P., Forano E. 2003. Characterization of XYN10B, a modular xylanase from the ruminal protozoan *Polyplastron multivesiculatum*, with a family 22 carbohydratebinding module that binds to cellulose. *Biochem. J.* 373: pp. 495-503.
- Dierick N. A., Decuyper J. A., Molly K., Van Beek E., Vanderbeke E. 2002. The combined use of triacylglycerols (TAGs) containing medium-chain fatty acids (MCFAs) and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to nutritional antibiotics in piglet nutrition II. In vivo release of MCFAs in gastric cannulated and slaughtered piglets by endogenous and exogenous lipases, effects on the luminal gut flora and growth performance. *Livestock Production Science*, 76, pp. 1-16.
- Duffy, L.C., Zielezny, M. A., Riepenhoff, – Talty, M. et al. 1994 a. Effectiveness of *Bifidobacterium bifidum* in mediating the clinical course of murine rotavirus diarrhea. *Pediatr Res.* 35, pp. 690-695.
- Duffy, L. C., Zielezny, M. A., Riepenhoff, – Talty, M. et al. 1994 b. Reduction of virus shedding by *B.bifidum* in experimentally induced MRV infection. Statistical application for ELISA. *Dig Dis Sci.* 39, pp. 2334 – 2340.



- Edwards, I. E., Mutsvangwa, T., Topps, J. H. and Paterson, G. F. M. 1990. The effect of supplemental yeast culture (Yeastacc) on patterns of rumen fermentation and performance of intensively fed bulls. *Anim. Prod.*, 51, p. 579.
- Ervolder, T. M., Gudov, A. V., Gudov, S. A. 1984. Use of bifidobacteria in control of gastrointestinal disorders in piglets and broiler chicks. *Moloč. Prom.* 8. pp. 18-20.
- Ewing, W. N., Cole, D. J. A. 1994. probiotics Chalcombe publication, West Yorkshire, U.K., p.125.
- Eyssen, H., Swaelen, E., Kowszyk-Gindifer, Z. and Parmenteer, G. 1965. Nucleotide requirements of *Lactobacillus acidophilus* variants isolated from the crops of chicks. *Antonie van Leeuwenhoek*, 31, p. 241.
- Fanaro, S., Chierici, R., Guerrini, P., Vigi, V. 2003. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr.*, 441, p. 48– 55.
- Fewins, B. G., Newland, L. G. M. and Briggs, C. A. E. 1957. The normal intestinal flora of the pig. III. Qualitative studies of lactobacilli and streptococci. *J. Appl. Bacteriol.*, 20, pp. 234-42.
- Fonty, G., Gouet, P., Jouany, J.P., Senaud, J. 1987. Establishment of the microflora and anaerobic fungi in rumen of lambs. *J Gen Microbiol* 133, pp. 1835-1843.
- Ford, D. J. 1974. The effect of the microflora on gastrointestinal pH in the chick. *Brit. Poultry Sci.*, 15, pp. 131-40.
- Francis, C., Janky, D. M., Arafa, A. S. and Harms, R. H. 1978. Interrelationship of lactobacillus and zinc bacitracin in the diets of turkey poults. *Poultry Sci.*, 57, pp.1687-9.
- Fujiwara, S., Hashiba, H., Hirota, T., Forstner, J. F. 1997. Proteinaceous factor(s) in culture supernatant fluids of bifidobacteria which prevents the binding of enterotoxigenic *Escherichia coli* to ganglioside GM1. *Appl Environ Microbiol.* 63, pp. 506-512.
- Fuller, R. 1973. Ecological studies on the lactobacillus flora associated with the crop epithelium of the fowl. *J. Appl. Bacteriol.*, 36, pp.131-9.
- Fuller, R. 1978. Epithelial attachment and other factors controlling the colonization of the intestine of the gnotobiotic chicken by lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.*, 45, pp. 389-95.
- Fuller, R. 1986. Probiotics. *J. Appl. Bacteriol. Symp.*, No. 15, pp. 1-7.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animal. *J. Appl. Bacteriol.* 66, pp. 35-378.

- Fuller, R. 1992. The effect of probiotics on the gut micro-ecology. In: B. J. B. Wood (Ed.): The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. Elsevier Applied Sci., London pp. 69-114.
- Fuller, R. 1999. Probiotics for farm animals. In: Tannock G. W. (Ed.): Probiotics – A Critical Review. 15-22, Horizon scientific press, Wymondham.
- Fuller, R. and Moore, J. H. 1967. The inhibition of the growth of *Clostridium welchii* by lipids isolated from the content of the small intestine of the pig. *J. Gen. Microbiol.*, 46, pp. 23-41.
- Fuller, R. and Turvey, A. 1971. Bacteria associated with the intestinal wall of the fowl (*Gallus domesticus*). *J. Appl. Bacteriol.*, 34, pp. 617-22.
- Fuller, R., Barrow, P. A. and Brooker, B. E. 1978. Bacteria associated with the gastric epithelium of neonatal pigs. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, pp. 582-91.
- Garrity, G. M. 2005. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Second edition, Springer, New York, USA, pp. 1054 – 1520.
- Gedek, B. 2000. Mechanismus účinku probiotik. In: *Probiotika ve výživě zvířat*. Brno: VFU, s. 1- 16.
- Gibson, G. R., Roberfroid, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125, pp. 1410-1412.
- Gnoth, M. J., Kunz, C., Kinne-Saffran, E., Rudloff, S. 2000. Human milk oligosaccharides are minimally digested *in vitro*. *J. Nutr.* 130, pp. 3014-3020.
- Gomez-Alarcon, R., Dudas, C. and Huber, J. T. 1990. Influence of cultures of *Aspergillus oryzae* on rumen and total tract digestibility of dietary components. *J. Dairy Sci.*, 73, pp. 703-10.
- Gomez-Alarcon, R., Oliveirs, J. and Huber, J. T. 1988. Effect of *Aspergillus oryzae* on *in vitro* and *in situ* rumen fermentation. *J. Anim. Sci.*, 66, (Suppl.1), p. 638.
- Günther, K. D. 1989. Yeast cultures success under German dairy conditions, in *Biotechnology in the Feed Industry* (ed T. P. Lyons), Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky, pp. 39-46.
- Han, I. K., Kim, J. D., Lee, J. H., et al. 1984. Studies on the growth promoting effects of probiotics. III. The effects of *Clostridium butyricum* ID on the performance and the changes in the microbial flora of the feces of growing pigs. *Korean J. Anim. Sci.*, 26, pp. 166-71.
- Hanson, L.A., Yolken, R.H. (Ed.) 1999. *Probiotics, other nutritional factors, and intestinal microflora*. Lippincott Raven, Philadelphia.

- Hardie, J. M 1986. Genus *Streptococcus*, in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2. (ed P.H.A. Sneath), Williams & Wilkins, London, pp. 1043-7.
- Harrison, G. A., Hemken, R. W., Dawson, K. A. et al. 1988. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J. Dairy Sci.*, 71, pp. 2967-75.
- Hejlíček, K., Moltašová, M. 1996. Efektivní probiotika?: Salmonelové infekce jednodenních kuřat působené sérovarem *Salmonella enteritidis*. In: *Veterinářství*, roč. 44, č. 4, s. 154 – 157.
- Hepner, G., Fried, R., Jeor, S., Fusseti, L., Morin, R. 1979. Hypocholesterolemic effect of jogurt and milk. *AmJ clin Nutr.* 251, s. 19-24.
- Hespell, R. B., Akin, D. E., Dehority, B. A. 1997. Bacteria, fungi, and protozoa of the rumen. In: *Gastrointestinal Microbiology* Mackie, I. R., White, B. A., Isaacson, R. E. (eds.), Chapman & Hall, London, pp. 216-240.
- Hinton, A., Corrier, D. E., Ziprin, R. L., Spates, G. E., De Loach, J. R. 1991. Comparison of the efficacy of cultures of cecal anaerobes as inocula to reduce *Salmonella typhimurium* colonization in chicks with or without dietary lactose. *Poultry Sci.* 70. pp. 67-73.
- Holzapfel, W. H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger U., Huis in't Veld J.H.J. 1998. Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol.* 41, pp. 85-101.
- Horník, A., Kačániová, M., Tančinová, D. 1998. Účinnok rôznych spôsobov aplikácie probiotika Lactiferm na mikroflóru slepých čriev hydiny. In : 1. Probiotický kongres. Galanta : Mediapharm, s. 30 – 35.
- Hughes, J. 1988. The effect of a high strength yeast culture in the diet of early weaned calves. *Anim. Prod.*, 46, p. 526.
- Hungate, R. E. 1984. Microbes of nutritional importance in the alimentary tract. *Proc. Nutr. Soc.*, 43, pp. 1-11.
- Chase, L. E. 1989. Yeast in dairy cattle feeding programs. *Georgia Feed Conf.*, pp. 121-6.
- Chaucheyras-Durant, F., Masseglia, S., Fonty, G. 2005. Effect of the microbial feed additive *Sacharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 on protein and peptide degrading activities of rumen bacteria grown in vitro. *Current Microbiol.* 50: pp. 96-101.
- Chmelničná, L. 1993. Overenie účinku mikrobiotického preparátu lactiferm ako náhrady za rastový stimulátor nitrovin vo výkrme moriek. In : *Acta zootechnica*, roč. 48, s. 97-105.

- Chmelničná, L. 1997. Nahradia probiotiká rastové stimulatory antibiotického charakteru a chemoterapeutiká v chove hydiny? In : Slovenský chov, roč. 2, 1997, č. 12, s. 18.
- Chmelničná, L. 2002. Účinok prídavku probiotika do pitnej vody na základné ukazovatele jatočnej kvality moriek. In: Chov hydiny a malých hospodárskych zvierat v 3. tisícročí. Nitra : SPU, s. 55-58.
- Ishibahi, N., Shimamura, S. 1993. Bifidobacteria: Research and development in japan. Food Technol.6, pp. 126-135.
- Jensen, H. 1974. Biological effects of feeding pigs with *Lactobacillus acidophilus*. Proc. XIX Intern. Dairy Congr., 1974, India. 1E, p. 579.
- Jernigan, M. A., Miles, R. D. and Arafa, A.S. 1985. Probiotics in poultry nutrition – a review. *Worlds Poultry Sci. J.*, 41, pp. 99-107.
- Jonsson, E. and Henningsson, S. 1991. Establishment in the piglet gut of lactobacilli capable of degrading mixed-linked  $\beta$ -D-glucans. *J. Appl. Bacteriol.* 70, pp. 512-6.
- Jonsson, E., Conway, P. 1992. Probiotics for pigs. In: R Fuller (ed) *Probiotics – The Scientific Basis*, Chapman & Hall, London, pp. 59-141.
- Jordan, R. M. and Johnston, L. 1990. Yeast culture supplemented lamb diets. *J. Anim. Sci.*, 68, (Suppl. 1), p. 493.
- Jorgensen, J. H. 1988. Probiotika till svin. En litteraturoversigt og en afprovnung at 2 probiotikas effekt under forskellige produktionsformer. *Dansk Vet. Tidsskr.*, 71, pp.1211 – 21.
- Karney, T. L., Johnson, M. C. and Ray, B. 1986. Changes in the lactobacilli and coliform populations in the intestinal tract of calves from birth to weaning. *J. Anim. Sci.*, 63 (Suppl. 1), pp. 446-7.
- Kay, R. M. and Poole, P. 1988. *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic in the rearing of purchased calves. *Snim. Prod.*, 46, p. 525.
- Kellems, R. O., Johnston, N. P., Wallentine, M. V. et al., 1987. Effect of feeding *Aspergillus oryzae* on performance of cows during early lactation. *J. Dairy Sci.*, 70 (Suppl. 1), pp. 186 – 190.
- Kimura, N., Yoshikane, M., Kabayashi, A., Mitsuoka, T. 1983. An application of dried bifidobacteria preparation to scouring animals. *Bifidobacter. Microflora* 2: pp. 41-55.
- Kluber, E. T., Pollman, D. S. and Blecha, F. 1985. Effect of feeding *Streptococcus faecium* to artificially reared pigs on growth, haematology, and cell-mediated immunity. *Nutr. Rep. Intern.*, 32, pp. 57-66.

- Kmeť, V., Balašček, J., Dravecký, T., Koniarová, I., Nemcová, R. 1992. Možnosti využiti probiotik v prevenci nekrotické enteritidy u kuřat. In: Veterinářství, roč. 42, č. 8,
- Kornegay, E. T. 1985 -86. Effect of dosing or feeding *Lactobacillus acidophilus* on blood cholesterol levels and growth rate of weanling and growing pigs. Virginia Polytechnic Institute and State University, Animal Science Research Report, No. 5, Blacksburg, Virginia, USA, pp. 14-19.
- Krause, D. O., Ddenman, S. E., Mackie, R. I., Morrison, M., Rae, A. L., Attwood, G. T., McSweeney, C. S. 2003. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS Microbiol. Rev.* 27: pp. 663-693.
- Krueger, W. F., Bradley, J. W. and Patterson, R. H. 1977. The interaction of gentian violet and lactobacillus organisms in the diet of Laghorn hens. *Poultry Sci.* 56, p. 1729.
- Kumprecht, I., Gasnárek, Z., Daněk, P., Kouželová, K., Mičan, P. 1983. Vplyv aplikácie zárodokov *Streptococcus Faecium* M - 74 na niektoré ukazovatele úžitkovosti a zmeny mikrofóry tráviaceho ústrojenstva u brojlerových kurčiat. In: Živočišna výroba, roč. 28, 4. 8, s. 629 – 636.
- Kumprecht, I., Zobač, P. 1997. The effect of mannan-oligosaccharides in feed mixtures on the performance of chicken broilers. *Živoč. Výr.*, (3), pp. 117 – 124.
- Kumprecht, I., Zobač, P., Párová, J. 1995. Uplatnení probiotik ve výživě monogastričných zvířat. In: Najnovšie biotechnologické a technické hľadiská na výrobu a využitie krmív, krmných zmesí a krmných aditív vo výžive zvierat, s. 153 – 157.
- Kumprecht, I., Zobač, P., Šičke, V. – Seftons, A. E. 1997. Effect of Dietary Mannan-oligosaccharide Level on Liveweight and Feed Efficiency of Broilers. *Feeding Times*, Vol. 2, ( 1 ) , p. 33.
- Kurman, J. A. 1983. The development and significance of new cultures with bifidobacteria as an example. *North Eur. Dairy J.*, 3, pp. 65-74.
- Leahy, S. C., Higgins, D. G., Fitzgerald, G. F., van Sinderen, D. 2005. Getting better with bifidobacteria. *J Appl Microbiol.* 98, pp. 1303-1315.
- Lee, R. W. and Botts, R. L. 1988. Evaluation of single oral dosing and continuous feeding of *Streptococcus faecium* M74 (Syntabac) on performance of incoming feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, 66 (Suppl. 1), p. 460.
- Leffler, H., Masiarz, F. R., Baronds, S. H., 1989. Soluble lactose bindings vertebrate lectins: a growing family *Biochemistry* 28: pp. 9222-9229.
- Lievin, V., Peiffer, I., Huddault, S. et al. 2000. Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut.* 47, pp. 646-652.

- Linton, A. H., Howe, K., Richmond, M. H. et al. 1978. Attempts to displace the indigenous antibiotic resistant gut flora of chickens by feeding sensitive strains of *Escherichia coli* prior to slaughter. *J. Appl. Bacteriol.*, 45, pp. 239-47.
- Lund, A. 1974. Yeast and moulds in the bovine rumen. *J. Gen. Microbiol.* 81: pp. 453-462.
- Maeng, W. J. , Kim, C. W. and Shin, H. T. 1989. Effects of feeding lactic acid bacteria concentrate (LBC, *Streptococcus faecium* Cernelle 68) on the growth rate and prevention in piglets. *Korea J. Anim. Sci.*, 31, pp. 318-23.
- Marounek, M., Rada, V. 1998. Age effect on in vitro fermentation pattern and methane production in the caeca of chickens. *Physiol. Res.* 47: pp. 259-263.
- Marteau, P. R., de Vrese, M., Cellier, C. J., Schrezenmeir, J. 2001. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr*, 73, pp. 430-6.
- Mäyrä-Mäkinen, A., Manninen, M. and Gyllenberg, H. 1983. The adherence of lactic bacteria to the columnar epithelial cells of pigs and calves. *J. Appl. Bacteriol.*, 55, pp. 241-4.
- McAllister, J. S., Kurtz, H. J. and Short, E. C. 1979. Changes in the intestinal flora of young pigs with postweaning diarrhea or edema. *J. Anim. Sci.*, 49, pp. 868-79.
- McGillivray, D. J., Cranwell, P. D., Cain, C. J. and Chandler K. D. 1984. The microbiology of the paps oesophagea of sucking and weaned pigs. *Int. Pig Vet. Soc. Proc.*, 8, p. 235.
- Mead, G. C. 1989. Microbes of the avian caecum, types present and substrates utilized. *J. Exp. Zool. Supp.*, 3, pp. 48-54.
- Mead, G. C. 1989. Microbes of the avian caecum, types present and substrates utilized. *J. Exp. Zool. Suppl.* 3: pp. 48-54.
- Mead, G. C. 1997. Bacteria in the gastrointestinal tract of birds. In: *Gastrointestinal Microbiology*. Mackie, I. R., White, B. A., Isaacson, R. E. (eds.), Chapman & Hall, London, pp. 216-240.
- Meile, 1998. Mikroorganismen in Lebensmitteln: Umsetzung des probiotischen Konzepts, *Lebensmittel-Technologie*. 31, pp. 68-72.
- Metchnikoff, E. 1907. *The prolongation of life. Optimistic studies*. London: Butterworth – Heinemann.
- Mikkelsen, L. L., Bendixen, C., Jakobsen, M., Jensen, B. B. 2003. Enumeration of bifidobacteria in gastrointestinal samples from piglets. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: pp. 654-658.
- Miles, R. D., Arafa, A. S., Harms, R. H. et al. 1981. Effects a living non-freeze dried *Lactobacillus acidophilus* culture on performance, egg quality and gut microflora in commercial layers. *Poultry Sci.*, 60, pp. 993-1004.

- Miller, T. L., Wolin, M. J., Kusel, E. A. 1986. Isolation, and characterization of methanogens from animal faeces. *Syst. Appl. Microbiol.* 8: pp. 234-238.
- Mitsuoka, T. 1984. Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora.* 3, pp. 11-28.
- Mitsuoka, T. 1992. The human gastrointestinal tract, 69-114 in B.J.B. Wood (Ed.): *The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*, Elsevier Applied Science, London, pp. 148 – 186.
- Mollgaard, H. 1946. On Phytic acid, its importance in metabolism and its enzymic cleavage in bread supplemented with calcium *Biochem. J.*, 40, pp. 589-603.
- Mollgaard, H. 1947. Resorptionen af kalcium og fosforsyre. *Bere tning fra forsogslab.*, 228, pp. 1-55.
- Morishita, Y., Mitsuoka, T., Kaneuchi, C. et al. 1971. Specific establishment of lactobacilli in the digestive tract of germfree chickens. *Jap. J. Microbiol.*, 15, pp. 531-8.
- Morotomi, M., Guillem, J. G., LoGerfo, P., Weinsten, I. B. 1990. Production of diacylglycerol, an activation of protein kinase C by human intestinal microflora. *Cancer Research.* 50, pp. 3595-3599.
- Moughan, P. J., Birtles, M. J., Cranwell, P. D., Smith, W. C., Pedraza, M. 1992. The piglet as a model animal for studying aspects of digestion and absorption in milk-fed human infants. In: Simopoulos AP, eds. *Nutritional Triggers for Health and in Disease.* World Rev Nutr Diet. pp., Basal: Karger, pp. 40-113.
- Mundt, J. O. 1986. Enterococci, in *Bergey s Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2, (ed P. H. A. Sneath), Williams & Wilkins, London, pp. 1063-5.
- Nevoral, J.: Prebiotika, probiotika a symbiotika (on-line).2/2005, pp. 59-65. Dostupné z <<http://pediatriepropraxi.cz>>
- Newbold, C. J., Williams, P. E. V., McKain, N. et al. 1991, 1990. The effects of yeast culture on yeast numbers and fermentation in the rumen of sheep. *Proc. Nutr. Soc.*, 49, p. 47.
- Niemen, C. 1954. Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganisms. *Bacteriol. Rev.*, 18, pp. 147-63.
- Nurmi, E. and Rantala, M. 1973. New aspects of Salmonella infection in broiler production. *Nature*, London, 241, pp. 210 – 11.
- Oellermann, S. O., Arambel, M. J., Kent, B. A. and Walters, J. L. 1990. Effect of grader amounts of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle. *J. Dairy Sci.*, 73, pp. 2412-16.

- Offer, N. W. 1990. Maximising fiber digestion in the rumen: the role of yeast culture, in *iotechnology in the Feed Industry* (ed. T. P. Lyons), Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky, pp. 79-96.
- Ogle, R. B. and Inborr, J. 1987. Alternatives to low dose antibiotics in piglet feeds in Sweden. 38th Meeting of the European Association for Animal Production, Portugal, Commission on Pig Production, Session 4, pp. 1-6.
- Olsson, T. 1966. Tarmrubbingar på svin – profylax och terapi med *Lactobacillus acidophilus*. *Svensk Vet. Tidn.*, 18, pp. 355-63.
- Orrhange, K., Nord, C. E. 2000. Bifidobacteria and Lactobacilli in human health. *Drugs Exptl Clin Res.* 26, pp. 95-111.
- Ouwehand, A. C., Salminen, S., Isolauri, E. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek* 82: pp. 279-289.
- Ozawa, K., Yabu-uchi, K., Yamanaka, K., et al. 1983. Effect of *Streptococcus faecalis* BIO-4R on intestinal flora of Weanling piglets and calves. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, pp. 1513-18.
- Ozawa, K., Yokota, H., Kimura, M. and Mitsuoka, T. 1981. Effects of administration of *Bacillus subtilis* strain BN on intestinal flora of weanling piglets. *Japan. J. Vet. Sci.*, 43, pp. 771-5.
- Parker, R. B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr. Hlth* 29: pp. 4-8.
- Pearson, G. R., McNulty, M. S., McCracken, R. M., Curran, W. 1992. Scanning electron microscope observation of segmented filamentous bacteria in the small intestine of domestic fowl. *Vet. Rec.* 111: pp. 365-366.
- Perdigon, G., Alvarez, S., Rachid, M., Agüero, G., Gobbato, N. 1995. Immune system stimulation by probiotics. *J Dairy Sci.* 78, pp. 1597-1606.
- Phillips, W. A. and von Tungeln, D. L. 1985. The effect of yeast culture on the poststress performance of feeder calves. *Nutr. Rep. Int.*, 32, pp. 287-94.
- Picard, C., Fioramonti, J., Francois, A., Robinson, T., Neant, F., Matuchansky, C. 2005. Bifidobacteria as probiotic agent – physiological effects and clinical benefits. *Aliment Pharmacol Ther.* 22, pp. 495-512.
- Pivnyak, I. G. and Konyakhin, A. N. 1973. Biologicheskaya effektivnost preparatov iz zhivikh karotinoov brazuyushchikh kultur dlya tsplyat. Cited in *Nutritional Abstracts and Reviews* 43, pp. 330.



- Pollman, D. S. 1986. Probiotics in pig diets, in *Recent Advances in Animal Nutrition* (eds W. Haresign and D. J. A. Cole), Butterworth, London, pp. 193-205.
- Pollman, D. S. and Bandyk, C. A. 1984. Stability of *Lactobacillus* products. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 11, pp. 261-7.
- Polšteinová, J. 1988. Růstové-stimulační látky ve váživě hospodářských zvířat. Praha : UVTL, s. 71.
- Potter, L. M., Newbern, L. A., Parsons, C. M., et al. 1979. Effects of protein, poultry by-product meal and dry *Lactobacillus acidophilus* culture additions to diets of growing turkeys. *Poultry Sci.*, 58, p. 1095.
- Premi, L. and Bottazzi, V. 1974. Use of lactobacilli in the control of intestinal disturbances of pigs. *Proc. XIX Int. Dairy Congr., 1974 India*. 1E, p. 89.
- Pukanec, M. 1998. Sú probiotiká perspektívne? In : *Slovenský chov - příloha*, roč. 3, č. 7,
- Rada, V., Janesová, J., Marounek, M., et al. 1992. Susceptibility of chicken intestinal lactobacilli to antimicrobial compounds. *Acta Veterinaria Brno*, Volume: 60, Issue: 4, pp. 339-343.
- Rada, V., Marounek, M., Rychlý, I., Šantrůčková, D., Voříšek, K. 1995. Effect of *Lactobacillus salivarius* administration on microflora in the crop and caeca of broiler chickens. *J. Anim. Feed Sci.* 4: pp. 161-170.
- Rada, V., Vlková, E., Nevoral, J., Trojanová, I. 2006. Comparison of bacterial flora and enzymatic activity in faeces of infants and calves. *FEMS Microbiol. Lett.* 258, pp. 25-28.
- Raibaud, P., Caulet, M., Galpin, J. V. and Mocquot, G. 1961. Studies on the bacterial flora of the alimentary tract of pigs. II. Streptococci: selective enumeration and differentiation of the dominant group. *J. Appl. Bacteriol.*, 24, pp. 285-306.
- Rastall, R. A., Gibson, G. R. 2002. Prebiotic oligosaccharides: Evaluation of biological activities and potential future developments. In: Tannock GW (ed) *Probiotics and Prebiotics, Where Are We Going*. Caister Acad. Press Norfolk, England, pp. 107-148.
- Reddy C. A. 1997. *Gastrointestinal microbiology*. Chapman and Hall, London, England.
- Redmond, H. E. and Moore, R. W. 1965. Biologic effect of introducing *Lactobacillus acidophilus* into a large swine herd experiencing enteritis. *Southw. Vet.*, 18, pp. 287-8.
- Rincon, R. H. S., Perez, M. C. 2000. Effect of the application of lactic acid bacteria and lactic acid on weight gain and mortality in broilers. In : *Revista Científica*, pp. 310 – 314.
- Roberfroid, M. 1997. Health benefits of non-digestible oligosaccharides. *Adv. Exp. Med. Biol.* 427: pp. 211-219.

- Robinson, I. M., Allison, M. J. and Bucklin, J. A. 1981. Characterization of the cecal bacteria of normal pigs. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, pp. 950-5.
- Robinson, I. M., Stromley, J. M., Varel, V. H. and Cato, E. P. 1988. *Streptococcus intestinalis*, a new species from the colons and feres of pigs. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 38, pp. 245-8.
- Rosberg-Cody, E., Ross, R. P., Hussey, S., Ryan, C. A., Murphy, B. P., Fitzgerald, G. F., Devery, R., Stanton, C. 2004. Mining the mickrobiota of the neonatal gastrointestinal tract for conjugated linoleic acid-producing bifidobacteria. *Appl Environ Microbiol.* 70, pp. 4635- 4641.
- Roth, F. X. and Kirchgessner, M. 1986. Zur nutritiver Wirksamkeit von *Streptococcus faecium* (Stamm M74) in der Ferkelaufzucht. *Landwirtsch. Forsch.*, 39, pp. 198-205.
- Roth, F. X. and Kirchgessner, M. 1988. Nutritive Wirksamkeit von Toyocerin. 1. Mitteilung: Ferkelaufzucht. *Landwirtsch. Forsch.*, 41, pp.58-62.
- Rowland, I. R. (Ed. ) 1998. Role of the Gut Mikroflóra in Toxicity and Cancer. Academic Press, London, p. 345.
- Rowland, I. R. 1992. Metabolic interactions in the gut. In: Fuller R. (Ed. ):Probiotics, the scientific basis. Cahpman and Hall, London, pp. 28-53.
- Rycroft, C. E., Jones, M. R., Gibson, G. R., Rastall, R. A. 2001. A comparative *in vitro* evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. *J Appl Microbiol.* 91, pp. 878-887.
- Sakata, H., Yoskioka, H., Fujita, K. 1985. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *Eur J Pediatr.* 144, pp. 495 -561.
- Salanitro, J. P., Blake, I. G. and Muirhead, P. A. 1977. Isolation and identification of fecal bacteria from adult swine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, pp. 79-84.
- Savage, D. C. 1977. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann. Rev. Microbiol.*, 31, pp. 107-33.
- Scardovi, V. 1986. Genus *Bifidobacterium*. In: Bergey's »Manual of Determinative Bacteriology« Williams and Wilkins MD, Baltimore, pp. 1418-1434.
- Scardovi, V., Trovatelli, L.D., Crociani, F., Sgorbati, B. 1969. New species of the genus *Bifidobacterium*: *B. globosum* n. sp. and *B. ruminle* n. sp. *Arch Mikrobiol.*68, pp. 278-294.

- Sharpe, M. E. 1981. The genus *Lactobacillus*, in *The Prokaryotes, a Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria* (eds M. P. Starr et al. ), vol. 2, Springer-Verlag, Berlin, pp. 1653-79.
- Sharpe, M. E., Hill, L. R. and Lapage, S. P. 1973. Pathogenic lactobacilli. *J. Med. Microbiol.*, 6, pp. 281-6.
- Sheil, B., Shanahan, F., O'Mahony, L. 2007. Probiotic effects on inflammatory bowel disease. *J Nutr.* 137, pp. 819-824.
- Schneitz, C., Nuotio, L., Kiiskinen, T., Nurmin, E. 1991. Pilot scale testing of the competitive exclusion method in chickens. *Br. Poultry Sci.* 32: pp. 881-884.
- Schulze, F. 1978. Zur quantitativen Zusammensetzung der Magen-Darm-Flora bei Ferkeln in den ersten zwei Lebenswochen. 1. Mitteilung: Zur Entwicklung der Magen-Darm-Flora bei natürlich aufgezogenen Ferkeln. *Arch. Exp. Vet. Med., Leipzig*, 32, pp. 155-70.
- Smith, H. W. 1965 b. Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. *J. Pathol. Bacteriol.*, 89, pp. 95-122.
- Smith, H. W. and Huggins, M. B. 1983. Effectiveness of phages in treating experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves, piglets and lambs. *J. Gen. Microbiol.*, 129, pp. 2659- 75.
- Smith, H.W. 1965 a. Development of the flora of alimentary tract in young animals. *J Pathol Bacteriol* 90, pp. 495-513.
- Smith, J. 1991. Probiotics - fact or fiction? In : *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, roč. 51, č. 4, pp. 539 – 570.
- Spriet, S. M., Decuyper, J. A., Henderickx, H. K. 1987. Effect of *Bacillus toyoi* (Toyocerin) on the gastrointestinal microflora, concentration of some bacterial metabolites, digestibility of the nutrients and the small intestinal mean retention time in pigs. *Med Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, 52, pp. 1673 – 83.
- Stark, P.L., Lee, A. 1982. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula fed infants during the first year of life. *J Med Microbiol.* 21, pp. 149-151.
- Szylił, O., Nugon Baudon, L. 1985. *Lactobacillus* contribution to the nutritional physiology of the host. *Sci. Alim.* 5: pp. 257-262.
- Tannock, G.W. 2002. Probiotics and prebiotics – where are we going? *IBT Global*, Norflok, England, p. 333.
- Tannock, G.W.: A fresh look at the intestinal microflora, pp.5-14, in G.W. Tannock (Ed.) 1999. *Probiotics – A critical Review*, horizon scientific press, Wymondham.

- Taranto, M. P., Perdigon, G., Medici, M., De Valdez, G. F. 2004. Animal model for in vivo evaluation of cholesterol reductio by lactic acid bacteria. *Methods Mol Biol.* 268, pp. 417-422.
- Theodorou, M. K., Beever, D. E., Haines, M. J. and Brooks, A. 1990. The effect of a fungal probiotic on intare and prformance of early weaned calves. *Anim. Prod.*, 53, p. 577.
- Thivend, P., Toullec, R. and Guillotea, P. 1979. Digestive adaptation in the preruminant, in *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants* (eds Y. Ruckebusch and P. Thivend), MTP Press, London, pp. 561-85.
- Timmerman, H. M., Koning, C. J. M., Mulder, L., Rombouts, F. M., Beynen, A. C. 2004. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics- A comparison of functionality and efficacy. *Int. J. Food Microbiol.* 96: pp. 219-233.
- Tortuero, F. 1973. Influence of implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. *Poultry Sci.*, 52, pp. 197-203.
- Tournut, J. 1989. Applicatoons of probiotics to anunal husbandry. *Rev. Sco. Tech. Off. Int. Epiz.*, 8, pp. 551-66.
- Tucker, L., Wyatt, M., Bedford, M. 2001. Kýmne enzýmy a betaín v krmivách pre hydinu - aj bez antibiotických stimulátorov rastu. In : *Slovenský chov*, roč. 6, č. 3, s. 48 – 49.
- Tuohy, K., Rouzaud, G., Bruck, W., Gibson, G. 2005. Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics—assessment of efficacy. *Curr Pharm Des.* 11, pp.75-90.
- Vaughan, E. E., De Vries, M. C., Zoetendal, E. G., Ben – Amor, K., Akkermans, A. D. L., De Vos, W. M. 2002. The intestinal LABs. *Antonie van Leeuwenhoek* 82, pp. 341-352.
- Vlková, E., Trojanová, I., Rada, V. 2006. Distribution of *Bifidobacteria* in the Gastrointestinal Tract of Calves. *Folia Microbiol.* 51 (4), pp. 325-328.
- Wallace, R. J., Newbold, C. J. 1992. Probiotics for ruminants. In: R Fuller (ed) *Probiotics – The Scientific Basis*, Chapman & Hall, London, pp. 317-353.
- Warner, R. G., Grippen, C. H., Flatt, W. P. and Loosli, J. K. 1955. Further studies on the influence of diet on the development of the ruminant stomach. *J. Dairy Scu.*, 38, p. 605.
- Watkins, B. A., Kratzer, F. H. 1983. Effect of oral dosing of lactobacillus strains on gut colonization and liver biotin in broiler chicks. *Poultry Sci.* 62: pp. 2088-2094.
- Weimer, P. J. 1998. Manipulating ruminal fermentation: A microbial ecological perspective. *J. Anim. Sci.* 76: pp. 3114-3122.

- Wiedmeier, R. D. 1989. Optimizing the utilization of low quality forages through supplementation and chemical treatment. Utah Beef Cattle Field Day, 9, pp. 17-21.
- Wiedmeier, R. D., Arambel, M. J. and Walters, J. L. 1987. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. *J. Dairy Sci.*, 70, pp. 2063-8.
- Williams, P. E. V. 1991. The effect of fungal cultures on rumen fermentation and ruminant productivity. *J. Chem. Biotech.* 51: pp. 562-567.
- Williams, P. E. V. and Newbold, C. J. 1990. Rumen probiosis: The effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity, in *Recent Advances in Animal Nutrition 1990* (eds W. Haresign and D. J. A. Cole), Butterworth, London, pp. 211-27.
- Williams, P. E. V., Tait, C. A. G., Innes, G. M. and Newbold, C. J. 1991. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of sheep and steers. *J. Anim. Sci.* 69, pp. 3016-26.
- Yasuit, H., Kiyoshima, J., Ushijima, H. 1995. Passive protection against rotavirus-induced YIT4064. *J Infect Dis.* 172, pp. 403-409.
- Ziolecka, A., Osinska, Z. and Ziolecki, A. 1984. The effect of stabilized rumen extract on growth and development of calves. 1. Liveweight gain and efficiency of feed utilization. *Z. Tierphysiol. Tierernahrtg. Futtermit.*, 51, pp.13-20.
- Ziolecki, A., Kwiatkowska, E. and Laskowska, H. 1984. The effect of stabilized rumen extract on growth and development of calves. 2. Digestive activity in the rumen and development of microflora in the rumen and faeces. *Z. Tierphysion. Tierernahrtg. Futtermit.*, 51, pp. 20-31.
- Ziprin, R. L., Elissalde, M. H., Hinton, A., Beier, R. C., Spates, G. E., Corrier, D. E., Benoit, T. G., De Loach, J. R. 1991. Colonization control of lactose-fermenting *Salmonella typhimurium* in young broiler chickens by use of dietary lactose. *Am. J. Vet. Res.* 52: pp. 833-837.