



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-0302-11

Probiotické mikroorganizmy a regulácia cytokínovej odpovede v prevencii imunopatologických zmien počas črevných bakteriálnych infekcií u hydiny

Zodpovedný riešiteľ **Prof. MVDr. Mikuláš Levkut, DrSc.**

Príjemca **Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Total IgA in spleen, bursa and intestine of chickens pretreated with E. faecium AL41 and challenged with Salmonella Enteritidis PT4.

Food and Agricultural Immunology, 2014, <http://dx.doi.org/10.1080/09540105.2014.918587>

Eva Husáková, Katarína Bobíková, Dominika Stašová

2. IgA gene expression and quantification of cecal IgA+, IgM+, and CD4+ cells in chickens treated with EFAL41 and infected with Salmonella Enteritidis.

Acta Histochemica, vol. 117, no. 7, 2015

Katarína Bobíková, Viera Revajová, Viera Karaffová, Mária Levkutová, Mikuláš Levkut
<http://dx.doi.org/10.1016/j.acthis.2015.06.004>
pp. 629-634

3. Expression of cytokines in chicken peripheral mononuclear blood cells (PMBCs) exposed to probiotic strains and *Salmonella Enteritidis*.

Acta Veterinaria Brno, vol. 84, 2015

Eva Husáková, Viera Spišáková, Róbert Herich, Martina Kolesárová, Dominika Stašová, Mária Levkutová, Mikuláš Levkut

doi:10.2754/avb201585010029

pp. 29-35

4. Expression of cytokines in chicken peripheral blood mononuclear cells after stimulation by probiotic bacteria and *Campylobacter jejuni* in vitro.

Food and Agricultural Immunology, vol. 26, no. 6, nov 2 2015

Stasova, Dominika; Husakova, Eva; Bobikova, Katarina, Karaffová, Viera, Levkutova, Maria, Levkut, Mikulas

doi: 10.1080/09540105.2015.1036356

pp. 813-820

5. Interaction of TGF- β 4 and IL-17 with IgA secretion in the intestine of chickens fed with *E. faecium* AL41 and challenged with *S. Enteritidis*.

Research in Veterinary Science, vol. 100, 2015

Viera Karaffova, Katarina Bobikova, Eva Husakova, Martin Levkut, Robert Herich, Viera Revajova, Maria Levkutova, Mikuláš Levkut

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.04.005>

pp. 75-79

6. Beneficial effect of enterocin M-producing, probiotic Strain *Enterococcus faecium* AL41 in model experiment with hens.

Global Journal of Animal Scientific Research, vol. 3, no. 1, 2015

Andrea Lauková, Viola Stropfová, Monika Pogány Simonová, Iveta Plachá, Klaudia Čobanová, Štefan Faix

pp. 206-213

7. Regulation of cytokine response by probiotic bacteria during salmonellosis in chickens.

3rd Annual International Conference Proceedings, 18-19 March 2013, Singapore, India

Advances in Biotechnology (BioTech 2013), p. 66-69. ISSN: 2251-2489. Copyright ©GSTF 2013 – BioTech. Website: www.advbiotech.orf:

Herich, R., Kolesarova, M., Spisakova, V., Levkut, M.

8. Tvorba a funkcia IgA v imunitnej odpovedi a niektoré metódy jeho stanovenia pri infekcii hydiny.

Veterinárství 4, 2014, s. 304-309

Bobíková K., Husáková E.

9. Caecal IEL, blood lymphocytes and intestinal mucin study in chickens after probiotic prevention and *S. Enteritidis* infection.

Farm animal proteomics 2013 Proceedings of the 4th Management Committee Meeting and

3rd Meeting of Working Groups 1,2 &3 of COST Action FA 1002. 25-26 April 2013, Košice, Slovakia, p. 155-158

ISBN: 978-90-8686-222-1, DOI: 10.3920/978-90-8686-776-9, Wageningen Academic Publishers The Netherlands, 2013

Viera Revajova, Martin Levkut, Maria Levkutova, Mikulas Levkut, R. Herich, Z. Ševčíková

10. Stability of bacteriocin-producing and probiotic strains *Enterococcus faecium* AL41 and EF55 in chicken infected with *Salmonella* Enteritidis.

Rowett-INRA 2014 Gut Microbiology: from sequence to function. 16-19 June 2014, Aberdeen Exhibition and Conference Centre, Scotland, UK. s. 131.

Laukova A., Strompfova V., Pogany Simonova M., Scerbova J., Kandricakova A., Revajova V., Spisakova V. Levkut M.

Uplatnenie výsledkov projektu

Získané výsledky významne prispievajú k objasneniu mechanizmov účinku skúmaných probiotických baktérií na lokálnu a celkovú imunitnú odpoveď hydiny infikovanej črevnou bakteriálnou infekciou predovšetkým salmonelózou. V in vitro podmienkach na základe imunitných vlastností vyselektované a následne na kurčatách otestované probiotické baktérie sa ukazujú ako alternatívny prístup k prevencii črevných bakteriálnych infekcií. Na kvalitné výstupy poukazuje aj publikovanie výsledkov v karentovaných časopisoch a dobrá odozva našich prezentácií na zahraničných konferenciách.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Predložený projekt bol riešený za účelom selektovať probiotické mikroorganizmy z hľadiska ich ovplyvňovania imunologických ukazovateľov v črevnom trakte a periférnej krvi počas črevných bakteriálnych infekcií u hydiny. Pri in vitro testovaní vybraných kmeňov probiotických baktérií sa zistil najvýraznejší vplyv na zmeny v expresii cytokínov (IL-1 β , LITAF, K60, MIP 1 β a iNOS) u *Enterococcus faecium* AL41 a *Lactobacillus fermentum* AD1. *E. faecium* u kurčiat infikovaných so *Salmonella* Enteritidis výrazne ovplyvnil hrúbku črevného hlienu, čo predpokladá aj vyššiu resorpciu živín. Výsledky demonštrovali benefičný účinok *E. faecium* AL41 na génovú expresiu mRNA IgA a počet IgA+ buniek počas prvých dní infekcie so *S. Enteritidis*. Preukázal sa aj významný vplyv *E. faecium* na produkciu a sekréciu IgA do črevného obsahu a zároveň sa zistilo, že TGF- β 4 a IL-17 významne prispievajú k jeho produkcii. Pri in vitro kokultivácii probiotických baktérií a *Campylobacter jejuni* CCM 6191 na kuracích mononukleárných krvných bunkách sa najefektívnejšia účinnosť na expresiu cytokínov preukázala u *L. fermentum* AD1 a *E. faecium* AL41. Pri aplikácii probiotickej baktérie *E. faecium* AL41 kurčatám infikovaných s *Campylobacter jejuni* CCM 6191 sa zistilo, že tento kmeň dokáže modulovať expresiu TLRs, cytokínov MIF, IFN- β , MD-2, ako aj CD14 molekuly v céku kurčiat. Aplikácia *E. faecium* AL41 pri imunofenotypizácii IEL preukázala najskôr zvýšenie helperových a efektorových CD4 a CD8 T lymfocytov. Pri LPL imunofenotypizácii zvýšenie IgA+ poukázalo na účasť B lymfocytov prezentujúcich zastúpenie humorálnej imunity, avšak v kooperácii s T helperovými lymfocytmi. U kurčiat sme prvýkrát úspešne použili model hodnotenia Na⁺/K⁺-ATPázy v enterocytoch.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The project was designed for the purpose of selecting probiotic microorganisms in terms of their influence on immunological indicators in the intestinal tract and peripheral blood during intestinal bacterial infections in poultry. In vitro testing of selected probiotic bacteria showed the most significant influence on changes in the expression of cytokines (IL-1 β , LITAF, K60,

MIP 1 β and iNOS) in *Enterococcus faecium* AL41 and *Lactobacillus fermentum* AD1. *E. faecium* in chickens challenged with *Salmonella Enteritidis* markedly influenced the thickness of the intestinal mucus, which indicates also higher resorption of nutrients. The results demonstrated the beneficial effect of *E. faecium* AL41 on gene expression of mRNA of IgA and the number of IgA⁺ cells during the first days of infection with *S. Enteritidis*. It was demonstrated also important influence of *E. faecium* to IgA production and its secretion into intestine, and it was determined that TGF- β 4 and IL-17 markedly contributed to IgA production. In vitro co-culture of probiotic bacteria and *Campylobacter jejuni* CCM 6191 on chicken blood mononuclear cells demonstrated the most effective efficiency on the expression of cytokines by *L. fermentum* AD1 and *E. faecium* AL41. After application of *E. faecium* AL41 to chickens infected with *Campylobacter jejuni* CCM 6191 it was found that the strain modulates the expression of TLRs, cytokine MIF, IFN- β , MD-2 and CD14 molecules in the caecum of chickens. Application of *E. faecium* AL41, while monitoring the intestinal mucosal immunity by IEL immunofenotyping, showed at first increase of effector CD4 and CD8 T lymphocytes. At LPL immunofenotyping, the increase of IgA tends to the involvement of B lymphocytes presenting humoral immunity, but in cooperation with T helper lymphocytes. In chickens, we first successfully used the model evaluation Na⁺/K⁺ ATPase in enterocytes.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

Prof. MVDr. Mikuláš Levkut, DrSc.

V Košiciach, 26. 11. 2015

Štatutárny zástupca príjemcu

Prof. MVDr. Jana Mojžišová, PhD.

V Košiciach, 26. 11. 2015

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu