

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0165**

Štúdium imunitných mechanizmov pri znižovaní výskytu Campylobacter jejuni v čreve hydiny aplikáciou probiotík

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

Príjemca **Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav patologickej anatómie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Institute of Muscle Biology and Growth, Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Dummerstorf, Germany

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

Nie sú.

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

- 1) Letnícka, A., Karaffová, V., Levkut, M., Revajová, V., Herich, R.: Influence of oral application of Enterococcus faecium AL41 on TGF- β 4 and IL-17 expression and immunocompetent cell distribution in chickens challenged with Campylobacter jejuni. In: Acta Veterinaria Hungarica, 2017, vol. 65, pp. 317-326. (0.871-IF 2015). (2017-Current Contents). ISSN 0236-6290.
- 2) Revajová, V., Herich, R., Seman, V., Levkut, M. Jr., Levkutová, M., Karaffová, V., Levkut, M. Sr.: An unusual outbreak of inclusion body hepatitis on a broiler chicken farm: a case report. In: Veterinárni Medicina, 2017, vol. 62, pp. 631-635. (0,489-IF 2016). (2017-Current Contents). ISSN 0375-8427.
- 3) Karaffová, V., Marcinková, E., Bobíková, K., Herich, R.: Revajová, V., Stašová, D., Kavul'ová, A., Levkutová, M., Levkut, M. Jr., Lauková, A., Ševčíková, Z., Levkut, M., Sr.: TLR4 and TLR21 expression, MIF, IFN- β , MID-2, CD14 activation, and sIgA production in chickens administered with EFAL41 strain challenged with Campylobacter jejuni. In: Folia Microbiologica, 2017, vol. 62, pp. 89-97. (1,521-IF 2016). (2017-Current Contents). ISSN 0015-5632.
- 4) Herich, R.: Is the role of IgA in local immunity completely known? In: Food And Agricultural Immunology, 2017, vol. 28, pp. 223-237. (1,392-IF 2016). (2017-Current Contents). ISSN 0954-0105.
- 5) Martin Levkut, Viera Revajová, Katarína Bobíková, Mária Levkutová, Zuzana Ševčíková and Mikuláš Levkut . Detection of Campylobacter spp in Cloacal Swab of Hens Reared in Different Breeding Conditions in Slovakia. Approaches In Poultry, Dairy & Veterinary

Sciences, 2018, Vol. 5, No. 2, p. 1-3 (0,573 IF-2017). (2018 -Impactated) ISSN: 2576-9162
6) Viera Revajová, Róbert Herich, Martin Levkut1 Rudolf Žitňan, Elke Albrecht, Monika Röntgen, Mária Levkutová, Viera Karaffová, Zuzana Ševčíková, Ema Paulovičová, Mikuláš Levkut. Immunolocalization of Na⁺/K⁺-ATPase and proliferative activity of enterocytes after administration of glucan in chickens fed T-2 toxin. Acta Vet. Brno 2018, Vol., 87: 371-377; <https://doi.org/10.2754/avb201887040000> (0,422 IF-2017) (2018 Current content) ISSN: 0001-7213

7) Karaffová, V., Bobíková, K., Levkut, M., Revajová, V., Ševčíková, Z., Levkut, M. The influence of Farmatan® and Flimabend® on the mucosal immunity of broiler chicken. Poultry Science, 98, 2019, 1161-1166.

8) Ševcová, M., Levkut, M., Bobíková, K., Karaffová, V., Revajová, V., Cingelová, J., Levkutová, M., Ševčíková, Z., Herich, R., Levkut, M. Cytokine response after stimulation of culture cells by zinc and probiotic strain. In Vitro Cellular & Developmental Biology- Animal, 2019, 1-8, doi: 10.1007/s11626-019-00401

9) Levkut, M. jr., Revajová, V., Levkutová, M., Selecká, E., Ševčíková, Z., Karaffová, V., Levkut, M. sr. The influence of chestnut wood and flubendazole on morphology of small intestine and lymphocytes of peripheral blood, spleen and jejunum in broiler chickens. Helminthologia, 56, 2019, 273-281.

10) Žitňan, R., Albrecht, E., Kalbe, C., Miersch, C., Revajová, V., Levkut, M., Röntgen, M. Muscle characteristics in chicks challenged with Salmonella Enteritidis and the effect of preventive application of the probiotic Enterococcus faecium. Poultry Science, 98, 2019, 2014-2025.

Uplatnenie výsledkov projektu

Naše získané výsledky v spolupráci s vedeckými pracovníkmi z Nemecka (Institute of Muscle Biology and Growth, Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Dummerstorf, Germany) významne prispievajú k objasneniu mechanizmov účinku skúmaných probiotických baktérií na lokálnu a celkovú imunitnú odpoveď hydiny infikovanej črevnou bakteriálnou infekciou predovšetkým kampylobakteriózou. 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. Účinok preventívnej aplikácie naznačuje aj pozitívny vplyv na svalovú hmotu kurčiat. Vhodné doplnenie k imunomodulácií črevného traktu sa ukazuje aj pridávanie organického zinku k probiotickým baktériám.

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

Predložený projekt skúmal imunitné mechanizmy v črevnom trakte a v periférnej krvi hydiny za účelom znižovania výskytu *Campylobacter* spp. resp. jejuni po aplikácii probiotických baktérií. Pri detegovaní *Campylobacter* spp. u sliepok bol zaznamenaný najnižší výskyt v chovoch, ktoré mali výbeh. Možný vplyv na nižšiu frekvenciu výskytu zohral aj rôznorodý príjem krmiva počas vegetačného obdobia. Pri testovaní vybraných probiotických kmeňov baktérií najvyšší imunostimulačný efekt bol zaznamenaný u *E. faecium* AL41. Dokumentovala to zvýšená expresia IL-1 β , LITAF a chemokínu MIP1 β na in vitro úrovni. Podávanie *E. faecium* AL41 v In vivo pokuse demonštrovalo aj zvýšenie hmotnosti kurčiat. Naše predbežné výsledky naznačujú mechanizmus pôsobenia probiotickej baktérie na kmeňové myogénne bunky prsného svalstva. V rastúcom svalstve niektoré z kmeňových buniek proliferujú a prispievajú k zväčšeniu myofibríl a zvýšeniu svalovej hmoty. Pozitívny vplyv na expresiu IgA a MUC-2 vykazoval aj *Lactobacillus fermentum* 7514. Z testovaných izolátov probiotických kmeňov v In vitro podmienkach (*Lactobacillus reuteri* B1/1, B2/1, B6/1) prejavil najvýraznejšie imunostimulačné schopnosti *Lactobacillus reuteri* B1/1. Pozitívny vplyv sme sledovali aj pri in vitro podávaní *Lactobacillus reuteri* B1/1 a organickej resp. anorganickej forme zinku. Nižšia dávka organického zinku bola efektívnejšia pre expresiu IL-8 a Nf- κ B génu než anorganická forma zinku. Niekoľko dňové podávanie antihelmintik môže znížiť črevnú imunitu hydiny a následne organizmus hydiny je vnímavejší k infekčným chorobám. Ako model sme využili kombináciu flubendazolu a extraktu dreva gaššana jedlého. Samotné 7-dňové podávanie flubendazolu zvyšovalo produkciu prozápalových cytokínov a znížilo génovú expresiu IgA, mucínu a výšku jejunálnych klkov. Podávanie extraktu dreva gaššana jedlého pôsobilo antizápalovo, zvýšilo expresiu IgA a

MUC-2 ako aj koncentráciu MUC-2 a sIgA v čreve. Pre udržiavanie rovnováhy črevnej imunity podávanie tejto imunomodulačnej látky sa ukazuje ako vhodná voľba.

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

The goal of the project was to study immune mechanisms in the intestinal tract and peripheral blood of poultry in order to decrease the occurrence of *Campylobacter* spp. in jejuni after application of probiotic bacteria. At the detection of *Campylobacter* spp. in poultry the lowest values of *Campylobacter* spp. were recorded in free range poultry farms. Obtained results also indicate a self-limitation nature of the infection in majority of birds. At the testing of selected probiotic strains of bacteria the highest immunostimulation effect was found in *E. faecium* AL41. It was documented by increased expression of IL-1 β , LITAF a chemokine MIP1 β in *In vitro* conditions. Administration of *E. faecium* AL41 in *in vivo* experiment showed increased body weight in chickens. Our preliminary results suggest possible mechanism of probiotic bacteria on myogenic stem cells of breast muscle. In growing muscle some of stem cells proliferate and increased size of myofibriles and finally muscle weight. Positive influence on IgA and MUC-2 expression showed *Lactobacillus fermentum* 7514. From the tested isolates of probiotic bacteria in *in vitro* conditions (*Lactobacillus reuteri* B1/1, B2/1, B6/1) the highest immunomodulation features showed *Lactobacillus reuteri* B1/1. Positive influence was followed also after administration of *Lactobacillus reuteri* B1/1 and organic or inorganic form of zinc. The lower dose of organic zinc was more effective for expression of IL-8 a Nf- κ B gen than inorganic form of zinc. Several days administration of antihelminthic can decrease intestinal immunity and later organism is more sensitive to infectious disease. Combination of flubendazole and extract from selected chesnut wood was used as a model. Seven days administration of flubendazole resulted in upregulation of pro-inflammatory cytokines and decrease in IgA and MUC-2 gene expression. On the other hand, chesnut wood was affecting as antiinflammatory substance and can be used for maintenance of mucosal immunity.