



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0234

Vývoj probiotického prípravku na báze autochtónnych laktobacilov pre lososovité ryby určeného na zlepšenie zdravia rýb a produkciu kvalitných potravín

Zodpovedný riešiteľ **doc. MVDr. Dagmar Mudroňová, PhD.**

Príjemca

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav živočíšnej výroby
Nitra

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Faculty of Biosciences and Aquaculture Nord University, Bodo, Nórsko
Ústav farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty Masarykovy univerzity v Brne,
Česká republika
Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství Mendelovej univerzity v Brne, Česká
republika
Ústav ekologie a chorob zoonozvířat, zvěře, ryb a včel Veterinární univerzity v Brne, Česká
republika
Výzkumní ústav veterinárního lékařství v Brne, Česká republika

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

Podané patentové prihlášky:

1. Sorensen, M., Viswanath, K., Mudroňová, D., Fečkaninová, A. (patent inventors); Nord Innovasjon AS, on behalf of Nord University, Bodo, Norway (prihlasovateľ): Patent application no. 20210585: Fish feed comprising probiotics, the Norwegian Industrial Property Office, 2021.
2. Franc, A., Mudroňová, D., Chomová, N., Popelka, P., Koščová, J. (pôvodcovia); Masarykova univerzita, Brno, Česká republika a Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovensko (prihlasovatelia): Probiotická krmná kompozícia, určená zejména pro vodní živočichy, a způsob její přípravy (PV 2024-74), Úřad průmyslového vlastnictví, Antonína Čermáka 2a, 160 68 Praha 6

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

Vedecké články v karentových alebo impaktovaných vedeckých časopisoch:

1. CINGELOVÁ MARUŠČÁKOVÁ, Ivana, SCHUSTEROVÁ, Petra, POPELKA, Peter, GANCARČÍKOVÁ, Soňa, CSANK, Tomáš, FEČKANINOVÁ, Adriana, RATVAJ, Marek, MUDROŇOVÁ, Dagmar. Effect of autochthonous lactobacilli on immunologically important molecules of rainbow trout after bacterial infection studied on intestinal primoculture. In Fish & shellfish immunology. ISSN 1050-4648, 2021, vol. 119, no., p. 379-383.

2. NADANASABESAN, Nimalan, SØRENSEN, Solveig Lysfjord, FEČKANINOVÁ, Adriána, KOŠČOVÁ, Jana, MUDROŇOVÁ, Dagmar, GANCARČÍKOVÁ, Soňa, VATSOS, Ioannis, BISA, Saraswathy, KIRON, Viswanath, SØRENSEN, Mette. Mucosal barrier status in Atlantic salmon fed marine or plant-based diets supplemented with probiotics. In *Aquaculture*. ISSN 0044-8486, 2022, vol. 547, no., art. no. 737516, p. [1-19]. (2021: 5.135 - IF, 5.125 - IF 5y, 189 - H-index, 0.981 - SJR, Q1 - SJR Best Q, Q1 - JCR Best Q).
3. NADANASABESAN, N., SØRENSEN, S.L., FEČKANINOVÁ, A., KOŠČOVÁ, J., MUDROŇOVÁ, D., GANCARČÍKOVÁ, S., VATSOS, I., BISA, S., KIRON, V., SØRENSEN, M. Supplementation of lactic acid bacteria has positive effects on the mucosal health of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed soybean meal. *Aquaculture Reports*. 2023, 28, 101461, p. [1-15]. . (2022: 4.19 - IF, 3.08 - IF 5y, 34 - H-index, 0.805 - SJR, Q1 - SJR Best Q, Q1 - JCR Best Q)
4. RATVAJ, M., CINGELOVÁ MARUŠČÁKOVÁ, I., POPELKA, P., FEČKANINOVÁ, A., KOŠČOVÁ, J., CHOMOVÁ, N., MAREŠ, J., MALÝ, O., ŽITŇAN, R., FALDYNA, M., MUDROŇOVÁ, D. Feeding regime-dependent intestinal response of rainbow trout after administration of a novel probiotic feed. *Animals*. 2023, 13(12), p. [1-24]. . (2022: 3.0 - IF, 3.2 - IF 5y, 60 - H-index, 0.684 - SJR, Q1 - SJR Best Q, Q1 - JCR Best Q)
5. CHOMOVÁ, N., PAVLOKOVÁ, S., SONDOROVÁ, M., MUDROŇOVÁ, D., FEČKANINOVÁ, A., POPELKA, P., KOŠČOVÁ, J., ŽITŇAN, R., FRANC, A. Development and evaluation of a fish feed mixture containing the probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* prepared using an innovative pellet coating method. *Frontiers in veterinary science*. 2023, 10, p. [1-14]. . (2022: 3.14 - IF, 3.81 - IF 5y, 54 - H-index, 0.737 - SJR, Q1 - SJR Best Q, Q1 - JCR Best Q)
6. FEČKANINOVÁ, Adriána, KOŠČOVÁ, Jana, FRANC, Aleš, MUDROŇOVÁ, Dagmar, POPELKA, Peter. Prežítateľnosť produkčných probiotických kmeňov vo vybranej aplikačnej forme. In *Česká a slovenská farmacie*. ISSN 1210-7816, 2022, vol. 71, no. 1, p. 27-33. (2021: 17 - H-index, 0.150 - SJR, Q3 - SJR Best Q).
7. FÜLÖPOVÁ, N., CHOMOVÁ, N., ELBL, J., MUDROŇOVÁ, D., SIMULIČ, P., PAVLOKOVÁ, S., FRANC, A. Preparation and evaluation of a dosage form for individualized administration of lyophilized probiotics. In *Pharmaceutics*. ISSN 1999-4923, 2023, vol. 15, no. 3, art. no. 910, p. [1-19]. (2022: 5.400 - IF, 6.000 - IF 5y, 85 - H-index, 0.795 - SJR, Q1 - SJR Best Q, Q1 - JCR Best Q).

Pozvané prednášky:

1. MUDROŇOVÁ, D., POPELKA, P., CHOMOVÁ, N., RATVAJ, M., KOŠČOVÁ, J., SØRENSEN, M., CINGELOVÁ MARUŠČÁKOVÁ, I., MAREŠ, J., FALDYNA, M. Immunomodulatory and gut-protective effects of a new probiotic feed intended for salmonids. In *The 17th International Scientific Conference on Probiotics, Prebiotics, Gut Microbiota and Health: Proceedings of the 17th International Scientific Conference on Probiotics, Prebiotics, Gut Microbiota and Health*, 1. vyd. – Praha: CZECH-IN s.r.o, 2024. ISBN 978-80-908364-8-8, s. 34.
2. MUDROŇOVÁ, Dagmar, POPELKA, Peter, KOŠČOVÁ, Jana, FEČKANINOVÁ, Adriána, CINGELOVÁ MARUŠČÁKOVÁ, Ivana, RATVAJ, Marek, CHOMOVÁ, Natália, KIRON, Viswanath, SØRENSEN, Mette. Probiotický prípravok pre lososovité ryby – jeho vývoj a vplyv na zdravie rýb. In *HYGIENA ALIMENTORUM XLII. HYGIENA ALIMENTORUM XLII: Zdravotná bezpečnosť a kvalita produktov hydiny, rybolovu a zveriny – aktuálne problémy a trendy : Recenzovaný zborník abstraktov z medzinárodnej vedeckej konferencie*. 1. vyd. - Košice : UVLF, 2022. ISBN 978-80-8077-751-7, s. 56.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledkami riešenia projektu sú dve nové overené technológie prípravy a použitia probiotického krmiva pre lososovité ryby, ktoré môžu byť okamžite zavedené do praxe. Jedna technológia bola vyvinutá pre použitie v akvakultúre lososov atlantických a pri jej použití je predpoklad zlepšenia ekonomických výnosov vzhľadom na zlepšenie zdravia lososov, predovšetkým znížením incidencie enteritíd a moduláciou imunity rýb, čo prispieva aj k zlepšeniu produkčných ukazovateľov a welfare rýb. Druhá technológia vyvinutá pre akvakultúru pstruhov dúhových môže byť využívaná krátkodobo preventívne v stresových obdobiach (transport, manipulácia, tepelný stres a pod.) alebo dlhodobo pre úpravu zdravého mikrobiómu pstruhov, ale aj vodného prostredia, pričom je predpoklad zlepšenia ekonomických ukazovateľov vzhľadom na zníženie strát a chorobnosti rýb a zníženie

používania liečiv (najmä antibiotík), čo je uplatniteľné hlavne v ekologických chovoch. Pridanou hodnotou oboch technológií je zvýšenie zdravotnej bezpečnosti rybieho mäsa znížením potreby používania antibiotík, čím sa zníži riziko vzniku rezistencie na antibiotiká, ako aj záťaž životného prostredia. Vzhľadom na prebiehajúce jednania s firmami produkujúcimi krmivá a kŕmne doplnky v Nórsku aj v Českej republike je perspektíva komercializácie získaných výsledkov. Konečný odberateľ výsledkov - Rybárstvo Požehy s.r.o. takisto prejavil záujem o využívanie výsledkov projektu, pričom je vybavený technológiou pre prípravu probiotického krmiva priamo na farme po dodaní probiotických kultúr.

Významnými výsledkami projektu sú aj nové vedecké poznatky, predovšetkým z oblasti vplyvu probiotických baktérií na imunitu a mikrobióm lososovitých rýb, ktoré budú uplatnené pri príprave ďalších vedeckých publikácií a nadväzujúcich projektov.

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

Projekt APVV-19-0234 bol zameraný na vývoj a štúdium probiotického prípravku na báze autochtónnych probiotických laktobacilov, ktorý by mal zvyšovať odolnosť lososovitých rýb voči chorobám a stresu bez použitia antibiotík. Počas riešenia projektu boli vyvinuté a overené dve nové technológie prípravy a použitia probiotického krmiva pre lososovité ryby, jedna určená pre lososy atlantické a druhá pre pstruhy. V súlade so stanovenými cieľmi boli v prvej fáze vyvinuté a otestované dve nové metódy prípravy probiotického krmiva s využitím komerčne vyrábaného peletovaného krmiva zohľadňujúce špecifiká výživy lososov a pstruhov. Následne boli krmivá otestované v neinfekčných experimentoch na lososoch atlantických aj na pstruhoch dúhových, kde bol optimalizovaný spôsob ich aplikácie a overený ich účinok na zdravie rýb. Výsledky potvrdili pozitívny vplyv na zloženie a diverzitu črevnej mikrobioty a morfológiu čreva, silný protizápalový účinok krmiva s redukciou príznakov enteritídy u lososov. V infekčnom experimente na pstruhoch dúhových bolo zistené, že probiotické krmivo nie je schopné zabrániť čiastočnému úhynu rýb po masívnej infekcii baktériou *Aeromonas salmonicida*, avšak urýchljuje rekonvalescenciu preživších jedincov. Pri testovaní probiotického krmiva vo farmových podmienkach boli potvrdené výsledky z neinfekčného experimentu, kde bol zaznamenaný pozitívny vplyv na črevný mikrobióm pstruhov a imunitnú odpoveď, pričom produkčné parametre boli zlepšené iba počas podávania krmiva. Viac ako mesiac po ukončení podávania probiotík sa hmotnosti pstruhov nelíšili od kontrolných. Zo získaných výsledkov boli pripravené dve patentové prihlášky, jedna v spolupráci s Nord University v Bodo so zameraním na krmivo pre lososy bola podaná v Nórsku a druhá pripravená v spolupráci s Farmaceutickou fakultou Masarykovej univerzity v Brne bola podaná v Českej republike. Vzhľadom na prebiehajúce jednania s komerčnými firmami produkujúcimi krmivá a kŕmne doplnky v Nórsku aj v Českej republike je perspektíva komercializácie získaných výsledkov. Výsledky projektu bude využívať aj konečný odberateľ - Rybárstvo Požehy s.r.o., ktorý disponuje technológiou na prípravu probiotického krmiva. Získané vedecké výsledky boli publikované v 7 vedeckých článkoch v karentovaných a impaktovaných časopisoch, na ktoré je doposiaľ 32 SCI ohlasov. Taktiež boli úspešne obhájené 2 dizertačné práce a 1 je pred obhajobou, obhájené boli aj 3 diplomové práce a ďalšie sú rozpracované. Bola zorganizovaná medzinárodná konferencia a projekt bol každoročne popularizovaný. Významným prínosom projektu je rozvoj medzinárodnej spolupráce a partnermi z Nórska a Českej republiky a realizované výmenné pobyty. Vzhľadom na množstvo získaných výsledkov sú v príprave ďalšie spoločné vedecké výstupy ako aj nadväzujúci projekt.

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

The APVV-19-0234 project was focused on the development and study of a probiotic preparation based on autochthonous probiotic lactobacilli, which should increase the resistance of salmonids to diseases and stress without the use of antibiotics. During the implementation of the project, two new technologies for the preparation and use of probiotic feed for salmonid fish were developed and verified, one intended for Atlantic salmon and the other for trout. In accordance with the set goals, in the first phase, two new methods of preparing probiotic feed were developed and tested using commercially produced pelleted feed, taking into account the specifics of salmon and trout nutrition. Subsequently, the feeds

were tested in non-infectious experiments on Atlantic salmon and rainbow trout, where the method of their application was optimized and their effect on the health of the fish was verified. The results confirmed a positive effect on the composition and diversity of the intestinal microbiota and the morphology of the intestine, a strong anti-inflammatory effect of the feed with a reduction of enteritis symptoms in salmon. In an infection experiment on rainbow trout, it was found that probiotic feed is not able to prevent the partial death of fish after a massive infection with the bacterium *Aeromonas salmonicida*, but it accelerates the recovery of surviving individuals. When the probiotic feed was tested in farm conditions, the results from a non-infectious experiment were confirmed, where a positive effect on the intestinal microbiome of trout and the immune response was noted, while the production parameters were improved only during the feeding of the feed. More than a month after the end of the administration of probiotics, the weights of the trout did not differ from the control ones. Two patent applications were prepared from the obtained results, one in cooperation with Nord University in Bodo focusing on salmon feed was filed in Norway and the other prepared in cooperation with the Faculty of Pharmacy of Masaryk University in Brno was filed in the Czech Republic. Due to ongoing negotiations with commercial companies producing feed and feed supplements in Norway and the Czech Republic, there is a perspective of commercialization of the obtained results. The results of the project will also be used by the final customer - Rybárstvo Požehy s.r.o., which has technology for the preparation of probiotic feed. The obtained scientific results were published in 7 scientific articles in CC and impacted journals, for which there are 32 SCI citations so far. Moreover, 2 dissertation works were successfully defended and 1 is about to be defended, 3 diploma theses were also defended and others are in progress. An international conference was organized and the project was popularized every year. A significant contribution of the project is the development of international cooperation with partners from Norway and the Czech Republic and the implemented exchange stays. Due to the number of obtained results, other joint scientific outputs as well as a follow-up project are being prepared.