

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **LPP-0219-09**

Nové probiotické preparáty pre hydinu selektované na základe imunologických účinkov probiotických mikroorganizmov

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

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

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav patologickej anatómie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73
- 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. Kolesárová M., Spišáková V., Matulová M., Crhánová M., Šišák F., Rychlík I.: Characterisation of basal expression of selected cytokines in the liver, spleen, and respiratory, reproductive and intestinal tract of hens. In Veterinarni Medicina, 2011, 56, 7, 325–332, ISSN: 0375-8427
2. Revajová V., Mikuláš Levkut M., Lauková A., Herich R., Ševčíková Z., Kolesárová M.: Immunoreactivity to salmonella infection in chicks protected with enterococcus administration. In Immunology. 137, 628. 2012. ISSN: 0019-2805.
3. K- Kolesárová M., Herich, R., Levkut, M.jr., Levkut, M.: Suitability of different tissue

fixatives for subsequent PCR analysis of *Cysticercus ovis*. In *Helmithologia*, 49: 67-70. 2012. ISSN: 1336-9083.

4. Kolesárová M., Spišáková V., Herich R., Revajová V., Levkut M.: Relative expression of chemokines in caecum of chickens infected with *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis SE147 after administration of *E. faecium* EF55. In *Veterinary Pathology in Research and Practice*, 2012, ISBN: 978-80-8077-280-2.

5. Herich R., Kolesárová M., Spišáková V., Levkut M.: Regulation of cytokine response by probiotic bacteria during salmonellosis in chickens. In *3rd Annual International Conference on Advances in Biotechnology*. 2013, ISSN: 2251-2489.

Uplatnenie výsledkov projektu

Získané výsledky významne prispievajú k objasneniu mechanizmov účinku novoselektovaných kmeňov probiotických baktérií na molekulovej úrovni, ktorá je v súčasnosti málo vysvetlená, najmä u hydiny. Probiotické kmene baktérií sa na základe nami získaných výsledkov javia ako efektívny prístup liečby a prevencie salmonelózy v chovoch hydiny čo má významný prínos aj pre prax.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Predložený projekt bol vypracovaný za účelom vyselektovať nové probiotické kmene u hydiny pomocou štúdia ich imunomodulačných účinkov na hostiteľský organizmus. V úvode práce bol určitý čas venovaný oboznámeniu sa s metódami molekulovej biológie - PCR a RT-PCR. Pre tieto účely bol uskutočnený pokus, v ktorom sme sledovali vplyv fixačných činidiel na integritu DNA. V pokusoch vykonaných na in vivo úrovni boli stanovené kvantitatívne zmeny cytokínov a imunokompetentných buniek z krvi, črevného systému a sleziny po preventívnej aplikácii probiotického kmeňa *E. faecium* EF55. Aplikáciou kmeňa *E. faecium* EF55 došlo k zníženiu zápalovej odpovedi na lokálnej úrovni v céku prostredníctvom zmeny produkcie IL-1 β , IL-15, IL-17, IL-18, IL-22; zároveň došlo k zvýšeniu expresie LITAF-u, chemokínov LyTact, MIP1 β a protizápalového cytokínu IL-10. Rovnako na in vivo úrovni boli stanovené bazálne hladiny cytokínov vo vybraných orgánoch hydiny a sledovaná reakcia hostiteľského organizmu v závislosti od vstupu salmonelovej infekcie do tela. Pľúca a úseky čreva (ileum, cékum, hrubé črevo) predstavovali orgány, v ktorých došlo k zvýšenej expresii cytokínov aj bez prítomnosti infekcie v organizme. Rovnako bola zaznamenaná zvýšená expresia cytokínov v pečeni, slezine, céku a pľúcach u nosníc, ktorým bol kmeň *S. Enteritidis* SE147 aplikovaný perorálne. Na in vitro úrovni bola na kultúre izolovaných mononukleárných krvných buniek (PMBC) testovaná interakcia bunka - baktéria. Na tomto modeli boli testované ďalšie baktériálne kmene s potencionálnym probiotickým účinkom - *E. faecium* EF55, *E. faecium* AL41, *E. faecium* H31 a *L. fermentum* AD1, u ktorých bola stanovená zvýšená relatívna expresia prozápalových cytokínov IL-1 β , LITAF a chemokínov MIP1 β , K60, LyTact.

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

Proposed project has been developed with aim to sort out new probiotic strains in the poultry with study of immunomodulatory effects on the host organism. At the beginning, the time was devoted to knowledge about the methods of molecular biology - PCR and RT-PCR. For this purpose, the experiment was conducted for testing effect of fixative solutions on DNA integrity. In the in vivo experiments quantitative changes of cytokines and immunocompetent cells from the blood, spleen, and the intestinal tract were determined, after preventive administration of a probiotic strain *E. faecium* EF55. Application of probiotic strain resulted in decrease of inflammatory reaction in caecum what revealed changes of IL-1 β , IL-15, IL-17, IL-18, IL-22, increased expression of LITAF, chemokines of LyTact, MIP1 β and

antiinflammatory cytokine IL-10. Similarly, in vivo trials the basale cytokine levels were determined in liver, spleen, caecum and lungs of hens after application of *S. Enteritidis* SE147. Lung and segments of intestine (ileum, caecum, and large intestine) with increased expression of cytokines without infection of organism. On the level of the in vitro culture the isolated blood mononuclear cells (PBMC) were tested for the interaction of cell - bacteria. In this model more bacterial strains with potential probiotic effect as - *E faecium* EF55, *E. faecium* AL41, H31 *E.faecium* and *L.fermentum* AD1 were tested This activity was determined by relative expression of proinflammatory cytokines IL-1 β , LITAF and chemokines MIP1 β , K60, LyTact.

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, 25.09.2013

Štatutárny zástupca príjemcu

Prof. MVDr. Emil Pilipčinec, PhD.,
V Košiciach, 25.09.2013

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu