

PŘÍRODNÍ LÁTKY A STRUKTUROVANÉ BIOLOGICKÉ SYSTÉMY V PREVENCI A ADJUVANTNÍ TERAPII INFEKČNÍCH ONEMOCNĚNÍ U PRASAT

Opletal L¹., Rozkot M.², Šimerda, B³.

¹ Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hr. Králové, katedra farm. botaniky a ekologie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

² Výzkumný ústav živočišné výroby v.v.i., Oddělení chovu prasat, Komenského 1239, 517 41 Kostelec n. Orł.

³ Delacon-Biotechnik ČR spol. s r. o., Bohdíkova 7, 787 01 Šumperk

Abstract

This article is continuation from the Research of Pig Breeding Nr.1 Natural compounds and structured biological systems in prevention and adjuvant therapy of infectious diseases of pigs and makes review of current knowledge from this topic. Being a review the abstract can not describe content of the article.

Úvod

K 1. lednu 2006 se v EU uzavřela éra používání antibiotických stimulatorů růstu. Je nesporné, že tyto látky přinesly do chovů velký prospěch, zejména ekonomický, nicméně je nutno uvážit, jaké nebezpečí v budoucnosti by přineslo dosud skryté riziko jejich použití. Na úrovni současných znalostí se zdá reálné, že toto riziko by bylo velké a převážilo pozitiva. Mechanismus účinku řady těchto látek je sice znám, nicméně jejich aktivita je podstatně širší než to, co se o nich ví. Mechanismus účinku těchto látek je podstatně širší než jen antimikrobiální působení na určitou frakci střevní flóry (i když tato část účinku je určitě zásadní). Je nepochybné, že se látky podílejí také např. na fermentaci sacharidů a ovlivňují rozklad žlučových kyselin; tím se zvyšuje využitelnost krmné dávky a dostupnost energie a zároveň se snižuje účinek toxických metabolitů (amoniaku, aminů) v zažívacím ústrojí o kterých je známo, že za normálních podmínek nepříznivě ovlivňují metabolismus střevní mukózy [1,2]. Problém zkřížené rezistence je však příliš reálný, jak už bylo ukázáno [3-8].

Nelze pochybovat o tom, že rezistence vůči antibiotikům má genetický původ [9,10,11]. V podstatě lze říci, že některé bakteriální druhy jsou rezistentní primárně: například gramnegativní střevní tyčinky jsou rezistentní vůči penicilinu, makrolidům a linkosamidům, zástupci rodu *Klebsiella* k ampicilinu, *Pseudomonas aeruginosa* je rezistentní na klotrimoxazol, zástupci rodu *Streptococcus* na aminoglykosidová antibiotika, rod *Enterococcus* na cefalosporiny. V současné době je však na celém světě problém s bakteriální rezistencí získanou. Její vznik je možný realizací jedné ze tří cest: genovou mutací chromosomu, přenosem plazmidu obsahujícího gen rezistence při konjugaci bakterií a přenosem plazmidu pomocí bakteriofágu.

Pokud se budeme zajímat o rezistenci, resp. zkříženou rezistenci nízkomolekulárních látek, o jejichž použití jako náhrady antibiotik se v některých oblastech stále více uvažuje, zjistíme poměrně málo informací. Uvádí se však, že rezistence na tyto látky vzniká jiným mechanismem než na antibiotika (pravděpodobně se zde neuplatňuje přenos plazmidu) a důležité je to, že rezistence nebývá trvalá.

Z těchto důvodů nastupuje hledání nových, alternativních zdrojů (které však budou v prevenci zdroji primárními). Velkým zdrojem invence i reálného využití je studium především sekundárních (ale i primárních) metabolitů rostlin a použití některých mikroorganismů.

Charakter komplexního zásahu proti invazním agens

Představa, že přírodní látky aplikované do krmiva formou doplňků vykonají v plné míře totéž, co antibakteriální chemoterapeutika infekčních onemocnění (antibiotika, sulfonamidy, chinolony aj.) je velmi folklórní a nevhodná. Tyto látky nemohou navodit tak jednoznačný a rasantní účinek jako chemická léčiva. Kdyby tomu tak bylo, stáli bychom na stejném začátku jako v případě odmítnutí antibiotických stimulatorů růstu: krmivový a možná i potravní řetězec bychom zatížili řadou reziduí, které podle našeho názoru (a současných znalostí literatury) sice nejsou tak toxické jako rezidua antibiotik a řady syntetických chemoterapeutik, ovšem jejich nebezpečí by mohlo spočívat v ovlivnění ekosystémů. Velkou pobídkou pro studium přírodních látek použitelných v produkci hospodářských zvířat (které se teprve začíná etablovat) jsou proto dva fakty:

a) podstatně nižší rezistence mikroorganismů na tyto nízkomolekulární sloučeniny, jejich snazší degradovatelnost,

b) synergismus jednotlivých typů látek z hlediska biologického účinku umožňující v mnohých případech dosáhnout komplexnosti účinku při aplikaci nižších dávek, než kdybychom podávali látky jednotlivě.

Je nepochybné, že intervenčnímu přísunu těchto látek v krmivech se v blízké budoucnosti s největší pravděpodobností nevyhneme, pokud se budeme chtít ochránit před nežádoucím vývojem infekčních případů. Existuje názor, že se stanou běžnou součástí krmiv. Současně se začínají objevovat studie deklarující různé výživové režimy bez antibiotik: byly např. sumarizovány evropské zkušenosti s výkrmem prasat bez antibiotik (změny výkrmových strategií, alternující doplňkové látky, ekonomické parametry výkrmu ad.); ve výkrmu odstavených prasat se ukázalo jako příznivé snížení surového proteinu v krmivu, zahrnutí brambor s nízkým obsahem steroidních glykoalkaloidů a změny v použití některých cereálií (více ječmene a ovsu, méně pšenice a kukuřice) [12].

Prase domácí je svým metabolismem a do velké míry i enzymovou výbavou velmi blízké člověku, a proto je řada poznatků z humánní oblasti zkoušena i v zemědělském výzkumu. Rovněž se ukázalo, že některé studie, provedené na polygastrických živočiších nebo na ptácích, jsou do určité míry přenositelné na monogastrická zvířata – prasata; tato fakta budou v uvedeném přehledu zohledněna.

Je tedy zřejmé, že optimální doplňková směs fyto-genního původu (případně s přísadou živých forem mikroorganismů) by měla komplexně zahrnovat tyto skupiny látek:

- a) **adaptogeny** zvyšující nespecifickou odolnost organismu a působící proti negativním důsledkům obecného adaptačního syndromu (stájového stresu),
- b) **antioxidanty, zametače volných radikálů a reaktivních molekul (RNOS)**, které zvyšují antioxidantní potenciál tkání a jejich rychlejší regeneraci; tato skupina látek je velmi těsně spojena s účinkem dalších dvou jmenovaných skupin, protože velmi často je zvýšená hladina RNOS indikátorem probíhajícího nespecifického zánětu,
- c) **protizánětlivé látky** tlumící rozvoj kaskády arachidonové kyseliny, působící proti zánětu, otoku a negativním změnám v enzymové výbavě tkání a snižující bolestivost,
- d) **imunomodulátory** v oblastech střevní mukózy, abdominálních partií a genitálií,
- e) **antimikrobiální látky** tlumící rozvoj chorobných agens ve střevě a dalších tkáních,
- f) **synbiotika** ovlivňující hygienu střeva.

V tomto přehledu se zmiňujeme omezeně o použití běžných látek typu vitamínů a stopových prvků, protože je pokládáme za tak obvyklé, že to není potřebné.

Komplexnost těchto doplňkových směsí je jistou zárukou širšího zásahu do patofyziologických procesů především ve střevě a tím reálného účinku.

Adaptogeny

Existuje minimálně 10 rostlinných taxonů, jejichž obsahové látky disponují výbornými adaptogenními účinky. Převaha těchto zdrojů vychází z čeledi aralkovitých (*Araliaceae*), především z použití všehoje ženšenového (*Panax ginseng*). Ačkoliv byly prováděny pokusy s tímto taxonem i v oblasti zemědělského použití, nekloníme se k jejich obnově a rozšiřování, protože použití tohoto taxonu je v terénu nereálné z řady důvodů; za zásadní pokládáme to, že po aplikaci dochází k excitaci zvířat, zvýšené pohyblivosti a neklidu, může se objevit i určitá agresivita, což je v případě chovu prasat zcela nežádoucí. Taxonem, jehož využití stojí za úvahu je však parcha saflorová (*Leuzea carthamoides*, *Asteraceae*). Nadzemní část obsahuje do 0,3 % flavonoidů, především však ekdysteroidy (cca 20 sloučenin, obsah až do 0,25 %)[13] a seskviterpeny guajanolidového typu (cynaropikrin) [14]. 20-hydroxyekdyson je údajně hlavní obsahovou látkou, která zvyšuje odolnost zvířecího organismu vůči negativnímu vlivu stresových podmínek (jak bylo dokázáno řadou pokusů). V České republice byly prováděny stájové pokusy s úsuškem nati parchy [15] (přísada 2-10 % úsušku skotu a prasatům) pro snížení vlivu stájového stresu, ale i jiných příznivých účinků (stimulace růstu, zvýšení mléčné užitkovosti).

Antioxidanty a zametače volných radikálů a reaktivních molekul (RNOS)

Ačkoliv bylo v přírodě nalezeno několik velmi silných antioxidantů, je nutné říci, že ideálními antioxidanty jsou stále fyziologické vitaminy L-askorbová kyselina a D,L- α -tokoferol. Kombinace obou látek jako intra- a extracelulárního antioxidantu přináší velký prospěch a to nejen v oblasti zvýšení antioxidantní kapacity tkání, ale také v oblasti ovlivnění stresu: askorbová kyselina je zajímavým protistresovým faktorem. V současné době jsou komerčně dostupné různé deriváty obou sloučenin, které zvyšují jejich stabilitu především v krmivu (askorbová kyselina je snadno rozkládána prachem s obsahem kationtů přechodných prvků (Fe) a těžkými kovy), je však jen otázkou volby vhodného technologického postupu přípravy krmné směsi, jak tyto nežádoucí faktory do určité míry eliminovat.

Z přírodních látek, které jsou studovány a objevují se v publikacích je nutno jmenovat především látky fenolové povahy. Významné mohou být katechiny a jejich oligomerní deriváty z různých rostlinných zdrojů, které jsou už běžně komerčně dostupné (extrakty ze semen vinné révy *Vitis vinifera*, *Vitaceae*, čajového prachu z *Camellia sinensis*, *Theaceae* zbaveného kofeinu, jehlic borovice přímořské *Pinus maritima*, *Pinaceae* aj.). Jakkoliv jsou tyto flavanolové deriváty ve svém účinku povzbudivé (zejména u přežvýkavců), je nutné je ještě detailnějšími pokusy prověřit: látky fenolové povahy mají často antinutriční účinky.

Zajímavé jsou také kurkuminoidy; tento pojem zahrnuje skupinu substituovaných bis(hydroxycinnamoyl) methanových pigmentů, vyskytujících se v oddencích (3-6 %) různých druhů rodu kurkuma (*Curcuma domestica*, *C. zedoaria*, *C. xanthorrhiza*, ad., *Zingiberaceae*). Vykazují

zhášecí aktivitu pro superoxidový anion, peroxid vodíku, inhibují peroxidaci lipidů v různých tkáních, inhibují oxidaci LDL, mají antikancerogenní a antiHIV efekt (velmi úspěšný je tetrahydrokurkumin). U kurkuminu byla zjištěna jak *in vitro*, tak *in vivo* určitá aktivita vůči *Herpes simplex* viru typu 2 [16]. Neméně účinná je však také antimikrobiální aktivita těchto látek: např. ethanolový extrakt z oddenků *Curcuma longa* je signifikantně efektivní vůči mikromycetám *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *A. nidulans*, *Alternaria solani* a bakteriím, jako např. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas pyocyanea*. V některých případech jsou údajně na hranici srovnatelnosti s antibiotiky [17]. Je však potřebné vzít v úvahu, že se jednalo především o studie *in vitro* a také skutečnost, že zmíněné látky jsou vysoce lipofilní (v hydrofilním prostředí organismu velmi málo rozpustné), obtížně přecházejí do tělních tekutin a mohou fungovat pouze extracelulárně. Nicméně jedná se o látky velmi aktivní a atraktivní, jak o tom svědčí počet publikací emitovaných za posledních 10 let na toto téma a v případech potřeby nebude jistě významným problémem zabývat se jimi a vyřešit záležitost vhodných transportních forem těchto látek. U obsahových látek kurkumy, resp. analogů kurkuminu, byl prokázán inhibiční efekt na biotransformaci aflatoxinu B₁, což je velmi významné pro zvýšení bezpečnosti ne zcela čistých surovin přijímaných lidským i živočišným organismem [18].

Významnou roli mohou hrát také chemoprotektivní látky: jejich antioxidační a protektivní efekt zasahuje do funkčního stavu některých tkání, zejména jater a chrání je. Tento fakt je velmi významný např. při zkrmování obilovin (resp. píce) se zvýšenou hladinou toxinů z mikromycet (*Aspergillus* aj.). Použitelnou surovinou jsou nažky ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*, *Asteraceae*) s obsahem flavanolignanů (silymarinový komplex – silychristin, silydianin ad.). Silymarinový komplex vykazuje hepatoprotektivní aktivitu vůči chemickým, virovým, bakteriálním a fungálním toxinům, inhibuje peroxidaci lipidů a stabilizuje membrány buněk jaterního parenchymu. Jeho biologická účinnost je zvýšena současným podáním fosfatidylcholinu (resp. sójových výlisků). Snižuje projevy potíží v gastrointestinálním traktu, které jsou spojeny s onemocněním jater. ČR je monopolním producentem této užitkové rostliny v rámci EU.

Protizánětlivé látky

Už výše zmiňované kurkuminoidy mají kromě jiných účinků [19] také nepřehlédnutelné účinky protizánětlivé. Jsou získatelné z běžných, obnovitelných surovin a vhodné pro použití v živočišné výrobě.

Kyselina rozmarinová, tzv. tannin čeledi *Lamiaceae* je získávána z běžných surovin: listů rozmarýny lékařského (*Rosmarinus officinalis*), šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) nebo listů meduňky lékařské (*Melissa officinalis*); eliminuje superoxid (má zametačovou aktivitu), vykazuje antivirovou aktivitu, tlumí nespecifickou aktivitu komplementu, snižuje aktivitu LOX a leukotriensyntasy (protizánětlivá aktivita).

Samotná kyselina, případně její polosyntetické deriváty, mohou mít široké uplatnění v různých přípravcích (mimo jiné stabilizují kyselinu askorbovou a chrání ji před oxidačním rozkladem) a mohou být použity jako aditiva [20].

Laktoferrin (glykoprotein obsahující 703 aminokyseliny s molekulovou hmotností 80 kDa) je pokládán (stejně jako lysozym) za antibiotikum savců. Chrání organismus před mikrobiálními infekcemi, má imunomodulační efekt [21], vykázal však také antioxidační a protizánětlivou aktivitu. Aktivovaný laktoferrin má silný deterenční účinek na patogenní bakterie, zejména může-li být dislokován ve formě biofilmu; v současnosti už existují technologické postupy, které umožní komercializaci takových přípravků a jejich použití proti invazním agens [22]. Aktivovaný laktoferrin, který je z hlediska funkčnosti zlepšenou formou přírodního, izolovaného laktoferrinu, je velmi silným blokátorem patogenní mikroflóry na povrchu produktu (např. potraviny): brání např. adhezenci *Escherichia coli* O157:H7 na povrch hovězího masa, silně váže *Salmonella typhimurium* nebo *Campylobacter jejuni* na kůži brojlerových kuřat a brání proliferaci *Listeria monocytogenes* na hotových potravinách určených k bezprostřední konzumaci [23]. Aktivovaný laktoferrin je pokládán za látku velmi použitelnou zejména v potravinářství, je mu věnována řada přehledných prací, např. [24,25]. Není třeba zdůrazňovat, že stejně, jako se o této látce uvažuje (a začíná se používat) v potravinářství, lze ji aplikovat také v určitých případech v živočišné výrobě. Protože disponuje také imunomodulačními vlastnostmi (snižuje uvolňování IL-1, IL-2 a TNF- α), uvažuje se o něm jako o léčivu [26]; *de facto* „zametá“ neproteinově vázané železo v tělových tekutinách a zánětlivých ložiscích, tlumí poškození tkání RNOS a snižuje dostupnost kovu invazními bakteriemi, houbami a neoplastickými buňkami; lze jej použít v chovech ryb, přípravcích pro orální hygienu a v dětské mléčné výživě [27]. Dalším vhodným místem pro aplikaci je střevní mukóza a jeho účinky v tomto kompartmentu jsou více než zřejmé.

Imunomodulátory

Je jisté, že úroveň adaptivní imunity hraje významnou roli v reakci organismu na případný kontakt s patogenem. Je také nepopiratelné, že dochází k interakci přirozená imunita – imunita adaptivní; o této souvislosti bylo napsáno mnoho prací, které jsou dostatečně dobře známy [28]. Při posuzování vlivu přirozené imunity ve vztahu k průběhu různých infekcí je nutné zjistit všechny souvislosti týkající se konkrétního živočišného druhu, jen obtížně lze přenášet výsledky z různých druhů [29]. Je známo, že řada mikroorganismů hraje významnou roli v uplatňování přirozené imunity [30]. Produkci antimikrobiálních (resp. antiinvazních peptidů) – potenciálních substituentů antibiotik (a látek ovlivňujících přirozenou imunitu) – je věnována stále větší pozornost [31]. Zcela nakopec není možno opomenout zmínku o roli oxidu dusnatého v přirozené imunitní reakci a po napadení patogenem: tento mediátor hraje významnou roli v antimikrobiální/antitumorózní rezistenci a patobiochemických mechanismech autoimunitních reakcí [32].

V poslední době se stále intenzivněji rozvíjí výzkum v oblasti přírodních látek, které ovlivňují expresi genů zasahujících do metabolismu kaspas, resp. apoptózy a blízkých oblastí, které s tímto procesem souvisí, tj. i metabolismu oxidu dusnatého.

Skupina látek přírodního původu, které podporují imunitní reakci organismu, je poměrně široká. Je však otázná, zda výsledky pokusů *in vitro*, budou stejně úspěšné ve stájovém provozu. Některé z těchto studií ukazují, že se sice jedná o látky vysoce perspektivní (byly zahrnuty už do experimentálních studií nových léčiv), ale těžko budou uplatnitelné v živočišné výrobě z důvodů nákladů. V oblasti produkce zvířat je nutné přiklonit se k látkám, které jsou relativně běžně dostupné, je přijatelný poměr cena/účinek a v organismu jsou metabolizovány a nakonec exkretovány (ukázalo se např., že některé typy zcela netoxických polysacharidů mají tendenci se v organismu hromadit v oblasti jater a obtížně se degradují). Z tohoto důvodu byly vybrány zmlínky jen o dvou skupinách látek: karotenoidů a některých polysacharidech.

U karotenoidů byly pozorovány zajímavé účinky; tato skupina látek je dobře dostupná a mohla by být využívána v širším měřítku. Dva významné efekty karotenoidů spolu souvisí: antioxidační a zvýšení imunitní odpovědi. Jsou spolu úzce propojeny, protože likvidace reaktivních forem kyslíku je esenciálně důležitá pro správnou mezibuněčnou komunikaci a udržení mezibuněčné imunitní integrity [33].

Polysacharidy různého typu, především glukany typu $\beta(1\rightarrow3)$ a $1\rightarrow4$) jsou už řadu let známy jako látky modifikující imunitní odpověď. Jsou získávány z různých zdrojů, výhodné jsou však z dostupných surovin, jako jsou pivovarské kvasnice, oves a některé řasy nebo lišejníky.

Pivovarské kvasnice jsou v živočišné výrobě používány spíše jako aditivní zdroj vitaminů B-komplexu; dostupnost glukanu z této suroviny však není taková, jak by bylo potřeba: buňky kvasinek je nutné nejprve desintegrovat a potom z nich vhodnými fyzikálními procesy glukany získat. Při trávení však desintegrace buněk neprobíhá dokonale (po lýze buněk se sice uvolní většina vitaminů B, protože mají malou molekulu a jsou ve vodě rozpustné, glukany jsou však vázány v komplexu s proteiny v blízkosti buněčné stěny) a tak je vhodné podávat je ve formě koncentráту.

Polysacharidy řas a lišejníků jsou také delší dobu známy a používány, např. polysacharidy z řasy *Laminaria* (laminarin) mohou být použity jako adjuvans při humánní léčbě karcinomů prsu, plic, jícnu, žaludku, intestinálních nádorů, při léčbě virových, bakteriálních a fungálních onemocnění a pro zvýšení imunitní odezvy jak lidí, tak teplokrevných živočichů [34]. Islandský lišejník, *Lichen islandicus* (*Cetraria islandica*, *Parmeliaceae*), obsahuje kromě polysacharidu lichenanu (ze 70 % tvořen $\beta(1\rightarrow4)$ - a z 30 % $\beta(1\rightarrow3)$ -vazbami; $n = 60-200$) alifatické kyseliny depsidonového typu (protocetrarovou, fumarprotocetrarovou, cetrarovou kyselinu), usninovou kyselinu ad. Tato léčivá droga má slabě antimikrobiální účinky, zklidňuje tkáň při zánětu a má antitumorózní efekt: ten je navozen především účinkem polysacharidů, které zvyšují také imunitu [35].

Imunomodulační aktivitu vykazují ve významné míře glukany z vyšších rostlin; v poslední době patrně nejrozšířenějším glukánem tohoto typu je glukán ovesný (*Avena sativa*, *Poaceae*). Pro stimulaci imunity jsou velmi významné $\beta(1,3)$ -glukany (hydrolyzáty kurdlanu); významně zvyšují proliferaci B- a T-lymfocytů [36]. Ve výživě zvířat je těmto látkám věnována pozornost [37]. Jejich vliv se projevuje jak po podání intaktním zvířatům, tak po infekci patogenem, do jisté míry po aplikaci některých toxických látek, např. po podání aflatoxinu B₁. Přípravek Ascogen (fy Wireside Products), jehož základ tvoří tepelně zpracované pivovarské kvasnice (s obsahem β -glukanů), je doporučován pro chov drůbeže jako biogenní stimulant užitkovosti: kromě zvýšení produkční kapacity, růstu a líhně působí jako imunomodulátor [38]. Systémovou specifickou imunomodulaci (zvýšení titru IgA a IgM) navozuje u neodstavených prasat inulin [39].

V poslední době je stále větší zájem o neesenciální aminokyseliny glutamin a arginin. Obě aminokyseliny jsou zpravidla podávány spolu, specificky k posílení imunity střevní mukózy u geriatrických pacientů nebo pacientů léčených chemo- a radioterapeuticky po zhoubných nádorech. Tyto látky v postiženém organismu také zvyšují proteosyntézu. Směs imunostimulačních aminokyselin s vitaminy, lipidy, minerálními a dalšími látkami je doporučována k ovlivňování průběhu vrozených nebo získaných imunodeficitů [40].

Konjugovaná linolová kyselina (CLA) je směsí polohových a geometrických izomerů oktadekadienové kyseliny (hlavním izomerem ve směsi je izomer 9*E*,11*Z*). CLA zmiřňuje některé nežádoucí metabolické a fyziologické změny, vznikající u slepičích brojlerů po imunitní stimulaci lipopolysacharidem ze *Salmonella enteritis* [41]; ukazuje se však, že imunodulační efekt je možné prokázat i u jiných živočišných druhů. Přípravky s CLA jsou doporučovány také pro zvýšení imunitní odpovědi [42].

Antimikrobiální látky

Z patogenních invazních agens se významně uplatňují bakterie r. *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Escherichia*, často ve směsných kulturách. Účinek přírodních látek závisí na spektru a bývá nejednoznačný.

Velmi významně se mohou uplatnit některé živé mikroorganismy (které se také používají), např. *Bacillus subtilis* C-3102 (Calsporin), urychlující rozvoj, růst a stabilizaci mikrobiálního stavu v zaživacím ústrojí především u kuřecích brojlerů: snižuje počet aerobních mikrobů, koliformních tyčinek (non *Escherichia coli*) a *Campylobacter*. Tento neantibiotický přípravek může významně snížit diseminaci patogenních organizmů v chovech [43]. U přežvýkavců mohou sehrát podobnou roli mikroorganismy rodu *Corynebacterium* a *Brevibacterium*, které působí preventivně proti růstu prvoků a bakterií v rumen [44].

Produkce antibioticky působících látek – cerkopinu AD - byla identifikována v kmeni pivních kvasinek po vnesení genu z *Antherea pernyi*. Tato kvasinková masa může být použita v prevenci a léčbě diarrhoe u prasat nebo kuřat [45].

Významnou protektivní roli může hrát také aplikace některých řas (*Chlorella elipsoidea*, *Tetraselmis suecica*); extrakty mají antibakteriální aktivitu, např. *Ch. elipsoidea* inhibuje růst *Bacillus subtilis* z 96 % a extrakt z *T. suecica* má výbornou antimikrobiální aktivitu (z 81 %) vůči *Escherichia coli*. Extrakty získané horkou vodou tlumí růst *Staphylococcus aureus* (z 96 %) [46]. Algálních produktů lze také využít k ochraně ryb: upravené řasy rodů *Kjellmaniella*, *Ecklonia* a *Ascophyllum* přidané *in toto* nebo ve formě extraktů do krmiva působí efektivně preventivně i terapeuticky proti některým infekcím [47].

U živočišných produktů byla popsána antibakteriální aktivita buněčného regeneračního faktoru (CHF) z bovinního kolostra; látka aglutinuje *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Shigella flexneri*. Má stejnou aglutinační aktivitu jako g-globulin na *E. coli* a *Pseudomonas aeruginosa* a má také imunologický protektivní efekt [48]. Bovinní kolostrum, příp. frakce z něho získané (IGF-I) zvyšují tělesnou odolnost zvířat a zlepšují jejich odolnost vůči invazním agens [49].

K ovlivnění mikrobiálního spektra v gastrointestinálním traktu (GIT) hospodářských zvířat lze využít některých primárních metabolitů jako jsou polysacharidy buněčných stěn kvasinek, oligosacharidy, nižší mastné kyseliny a fyziologické deriváty guanidinu, jak o tom bylo hovořeno.

Hydrolyzát z pivovarských kvasnic obsahuje polysacharidové fragmenty buněčných stěn a různé oligosacharidy; snižuje adhezenci *Escherichia coli* k membráně mukózy v intestinu selat a tuto směs je možné použít jako preventivní prostředek proti diarhoe a k urychlení růstu [50]. Profylakticky působí v chovech hospodářských zvířat přípravek obsahující komplex chitosanových oligosacharidů s minerálními látkami (Ca, Fe, Zn). Má antibakteriální aktivitu a je možné přidávat ho do pitné vody. V poslední době se dostává do popředí stále více používání oligo- a polysacharidových komplexů vzniklých fragmentací buněčných stěn (mikrobiálního nebo rostlinného původu). Tyto komplexy mají schopnost preventivně bránit adhezii *Escherichia coli* na mukózní membránu střeva u prasat (ze 70-90 %) [51]. 1-O- α -D-glukopyranosyl-D-sorbitol, 6-O- α -D-glukopyranosylsorbitol, laktobionová a maltobionová kyselina, kondenzovaná palatinosa, difruktosadianhydrid, chitosanoligosacharidy, galaktomannanoligosacharidy a pektinové hydrolyzáty obsahující oligogalakturonáty, lze použít k účinnému ovlivňování bakteriálních intestinálních infekcí u monogastrických zvířat [52]. Pro snížení kolonizace zvířecího GIT mikroorganismy r. *Salmonella* a dalšími jinými patogeny je možné využít přísady polysacharidů obsahujících *cis*-hydroxysestavení v cukerných jednotkách nebo jejich derivátech, nebo monosacharidů ribosy a rhamnosy, případně jejich derivátů. Tyto polysacharidy jsou přidávány do krmiva ve formě různých gum nebo jiných biopolymerů [53]. Jako doplňkové látky jsou používány také xylooligosacharidy. Zvyšují růst žádoucí střevní flóry

(*Bifidobacterium*) a komprimují růst *Clostridium*, vykazují bakteriostatickou aktivitu vůči *Vibrio anguillarum* [54].

V posledním období probíhá velmi intenzivní výzkum v oblasti především antimikrobiálních peptidů – metabolických produktů řady známých bakterií (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* aj.), které jsou antimikrobiálně účinné a bylo by možné je použít jako alternativu vůči antibiotikům, protože se u nich neobjevuje rezistence. Tyto látky byly izolovány nejen z mikroorganismů, ale také z vyšších rostlin a živočichů a je velká naděje že budou (a zčásti už jsou) používány jako chemoterapeutické prostředky, ale rýsuje se také možnost jejich použití jako doplňkových látek při výživě hospodářských zvířat. Tato nová generace peptidů, označovaných jako AMPs (Anti Microbial Peptides) je nazývána také jako „přírodní antibiotika“, protože jsou aktivní vůči širokému spektru mikroorganismů zahrnujících bakterie a vláknité houby [55,56]; kromě toho jsou tyto látky efektem vrozené imunity [57]. Mohou být vysoce účinné na široké spektrum infekčních organismů [58]. Tyto antimikrobiální peptidy byly klasifikovány na základě jejich biochemických a strukturních vlastností do několika skupin [59,60]; hlavní roli však hrají: kationické peptidy, které se dělí do tří základních kategorií na:

- *lineární peptidy* vytvářející helikální strukturu,
- *cysteinem bohaté, koncově otevřené peptidy*, obsahující jeden nebo několik disulfidických můstků,
- *molekuly bohaté na specifické aminokyseliny* jako prolin, glycin, histidin a tryptofan

Látky mají různá označení např. baktolysiny [61], sakaciny [62], defensiny [63] ad.

Uvedené základní dělení zahrnuje řadu podskupin v závislosti na tom, z jakého zdroje jsou získávány [64], jsou probírány jejich fyzikálně-chemické vlastnosti, předpokládaný mechanismus účinku [65-67] a možný terapeutický potenciál (uvádí se, že mohou být účinné nejen proti gram pozitivním, gram negativním bakteriím, houbám, ale také vůči některým prvokům) [68]. Jsou použitelné nejen pro inhibici mikrobiálních infekcí a růstu, ale také pro snížení projevů endotoxémie, působí synergicky s terapeuticky podanými antibiotiky, případně s lysozymem. Tyto baktolysiny jsou použitelné rovněž jako antivirové, antifungální a antitumorózní agens [69], kromě svého základního antimikrobiálního účinku významně snižují hladinu lipopolysacharidem (LPS) indukovaného TNF a působí proti LPS indukované endotoxémii; jsou využitelné dohromady s antibiotiky nebo lysozymem [61]. Látky izolované z gram pozitivních bakterií jsou nazývány jako lantibiotika a je sledována jejich biologická aktivita o které se zdá, že by mohla být využitelná [70]. Některé z nich jsou v klinickém stadiu výzkumu (fáze III) pro humánní [71] i veterinární [72] použití, uvažuje se však o nich jako o antimikrobiální přísadě do potravin [73], ale také jako prostředku pro přípravu krmiva a siláže (s využitím např. *Lactobacillus buchneri*) [74]. Jsou vypracovány metody jejich laboratorní produkce, umožňující produkci průmyslovou [75].

Zásadní význam v této oblasti mají peptidy připravené z bakterií, dále peptidy živočišné a nakonec peptidy získané z rostlin. Existuje také skupina malých,

v kyselém prostředí rozpustných spórových proteinů, které mohou být použity k inhibici stěny bakteriálních buněk. Je známa také možnost tvorby bakteriofágového vektoru zahrnujících sspC geny pro tvorbu těchto malých proteinů [76].

Významnou roli doplňkových látek v prevenci před invazními agens hrají však nízkomolekulární sekundární metabolity rostlin. Růst nežádoucích patogenů v GIT ovlivňují obsahové látky česneku (*Allium sativum*, *Alliaceae*). Tyto látky jsou tvořeny zejména allicinem, ajoeny a diallyldisulfidem. U těchto složek, (hlavně allicinu) byla prokázána antimikrobiální a antimykotická aktivita např. vůči kmenům *Proteus vulgaris* a *Escherichia coli* [77]. Některé experimentální studie ukazují, že směs má v GIT delší inhibiční aktivitu na bakterie než tetracyklin [78]. Izolace látek a základní antimikrobiální aktivita je známa už dlouhou dobu [79]. Antimykotický účinek vykazuje předem sumární extrakt a to především na rody *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* a *Epidermophyton* [80], *Candida albicans*, *C. crusei*, *C. parapsilosis*, *Torulopsis glabrata* [81] a na další fungální patogeny [82,83]. Účinek látek česneku není vázán jen na patogeny uplatňující se na kůži, ale také v GIT. V současné době lze velmi výhodně používat jako aditivum jak česnekovou silici, tak sušené hlízy česneku, které jsou bez zápachu, protože k aliinasové aktivaci dochází až v zažívacím ústrojí.

Jednou z alternativ vůči antibiotickým krmným přísadám jsou silice, které patří do skupiny fyto-genických krmných přísad. Mají řadu využitelných vlastností a potenciál pro zlepšení trávení a zdraví zvířat. Zvyšují kvalitu a množství přijatého krmiva v důsledku zlepšených senzorických vlastností a do určité míry i ochrany krmiva. Vzhledem k tomu, že jsou přírodního původu a jejich vlivem se nevytváří rezistence vůči antibiotikům [84] a jsou to látky nízkomolekulární, je jejich aplikace v souladu s požadavky spotřebitelů. Jestliže se účinek silic osvědčí i v praktických podmínkách, bude možné ekonomickým a přijatelným způsobem zajistit bezpečnost krmiv, optimální trávení a zdraví zvířat i spotřebitelů. Příznivý vliv doplňkových směsí s obsahem přírodních látek byl prokázán např. prasnicích, při níž bylo ve tříleté studii v Leedsu prokázáno zvýšení užítkovosti a vrhů. Právním byly podávány např. karvakrol, cinnamaldehyd, oleoresina z pálivé papriky, extrakty z *Quillaja saponaria* a *Yucca schidigera*. Selata byla životaschopnější v důsledku zlepšení kvality a množství mléka, po odstavu se lépe vyvíjela než selata prasnic, které nedostaly do krmiva doplňkové látky [85].

Už delší dobu se ukazuje, že polohové izomery – fenoly thymol a karvakrol (hlavní součásti silice tymiánu *Thymus vulgaris*, *Lamiaceae*) – mají baktericidní vlastnosti využitelné v produkci hospodářských zvířat. Obě sloučeniny v určitém poměru (karvakrol:thymol 1:5 až 1:10) mají synergický baktericidní efekt proti *Treponema*, která způsobuje řadu muko-hemorhaických onemocnění (průjem prasnic), ale i některé choroby přežvýkavců [86]. Karvakrol je spolu s řepkovým olejem a Sepiolitem (jako nosičem) součástí přípravku, doporučeného jako promotor růstu (s největší pravděpodobností zásahem do mikrobiálního spektra v GIT) [87]. Antimikrobiální účinnost je pro fenolové látky běžná, jak bylo prokázáno v rámci

fytochemického výzkumu čeledi *Lamiaceae* (a zčásti také *Verbenaceae*); obsahové složky získaných silic působí antibakteriálně, antifungálně, antiprotozoálně a také proti kvasinkovým patogenům. Účinek se zvyšuje kombinací těchto silic s organickými kyselinami. V úvahu přicházejí především isopropyl-*o*-kresol, *p*-kresol. Bývají kombinovány s emulzifikačními látkami (polysorbat 80, polyethylenglykol). *In vitro* vykazují inhibici vůči *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* a *Staphylococcus aureus* [88].

Antibakteriálně působí také některé flavonoidy: z listů několika druhů rodu *Eucalyptus* (*E. grandis*, *E. botryoides*, *E. globulus* aj., *Myrtaceae*) byl izolován eukalyptin a jeho desmethylderivát. Ethanolový extrakt z listů ve směsi vykázal synergickou antibakteriální aktivitu vůči *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* a *Escherichia coli*. Tento extrakt ve směsi s chitosanem inhiboval také růst *Propionibacterium acnes*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus niger* a *Penicillium citrinum*. Uvedená směs je velmi vhodná pro desinfekci vajec, při zpracování hovězího masa a jako doplněk do krmiva [89]. Další, poměrně běžné doplňky jsou představovány především skupinou saponinů různé struktury izolovaných ze saponinových drog jako jsou zástupci rodu *Yucca* (*Liliaceae*), *Quillaja* (*Rosaceae*), *Azadirachta* (*Melia*) (*Meliaceae*), *Trigonella foenum-graecum* (*Fabaceae*), které bývají používány s antibakteriálně účinnými látkami izolovanými ze zástupců *Citrus* (*Rutaceae*) (z pomerančové a citronové kůry), *Rosa* (*Rosaceae*) (ze šípků), *Piper* (*Piperaceae*) (zelený pepř) a rostlinami z čeledi *Lamiaceae*. Přípravky obsahují zpravidla také oligosacharidy a jsou používány např. v plemenářství [90].

Terpenových látek s antimikrobiálními a antifungálními vlastnostmi (především z čeledi *Lamiaceae*) je poměrně velká skupina; často bývají přidávány do krmiva jen na základě historické zkušenosti, bez bližší znalosti biologického účinku obsahových látek. Tyto znalosti by však často mohly přispět k modifikaci složení přípravku a tím k jeho vyšší aktivitě.

Při aplikaci těchto látek musí být určitá opatrnost: některé sloučeniny jsou poměrně málo polární, mohou se deponovat do tukové tkáně a snižovat její kvalitu (cizí zápach). Proto je vždy nutné znát a dodržet ochrannou lhůtu.

Synbiotika

Synbiotika jako směs prebiotik a probiotik se začínají poměrně zajímavě uplatňovat.

Lineární polymer inulin, patří do skupiny fruktooligosacharidů, je látkou dostatečně známou. Komerčně se využívá tzv. Cichorium-inulin, získávaný extrakcí horkou vodou z kořenové čekanky *Cichorium intybus* var. *sativum*, *Cichoriaceae*. Látka má výrazný prebiotický efekt, podporuje růst specifických bakterií v tlustém střevě (*Bifidobacterium*). Fermentací dochází ke snížení fekálního pH a zvýšení fekálního objemu; produktem metabolismu jsou kyseliny s krátkým řetězcem, které jsou absorbovány a metabolizovány. Jeho využití je významné nejen pro regulaci metabolických procesů v živočišné výrobě, ale v poslední době se začíná také uplatňovat v prevenci

různých onemocnění jako je osteoporóza (elicitace absorpce vápníku a hořčiku), ke stimulaci imunitního systému a antikarcinogenní látka [91]. Výzkum v této oblasti sacharidů se stále rozvíjí, zejména do oblasti látek podobných inulinu: výsledkem je např. vypracování produkce inulinu, fruktooligosacharidů a difruktosa-dianhydridu pomocí rekombinantní *Escherichia coli* v níž došlo k expresi genů *ftf* ze *Streptococcus mutans* a fruktosyltransferasy [92].

Mikroorganismy stimulující digestivní flóru, jsou velmi žádoucí. Běžně i experimentálně jsou využívány druhy: *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. toyoi*, *B. cereus*); *Enterococcus* (*E. faecium*); *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *L. casei* ssp. *rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. farciminis*); *Lactococcus* (*L. lactis* ssp. *lactis*, *L. lactis* ssp. *cremoris*); *Pediococcus* (*P. acidilactici*, *P. pentosaceus*); *Propionibacterium* (*P. freudenreichii* ssp. *shermanii*) a *Streptococcus* (*S. infantarius*). Jedná se o přesně definované probiotické kultury ze sbírky průmyslových mikroorganismů, které jsou z hlediska svého metabolismu prověřené a nehrozí u nich žádné nebezpečí vedlejší reakcí.

Stimulace digestivní flóry je nejen velmi důležitým faktorem pro zvýšení energetického obrátu (zejména u přežvýkavců), ale zároveň osazení GIT vhodným spektrem mikroorganismů výrazně zlepšuje zdraví a odolnost jedinců. Probiotické organismy vycházejí především z kmenů rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Při aplikaci těchto mikroorganismů je velmi důležité zajistit jejich vhodné produkční prostředí. Už delší dobu je známo, že přísada fruktooligosacharidů (FOS) a jiných fruktanů (inulin) stimuluje růst intestinální mikroflóry [93] a zároveň dochází k supresi růstu některých jiných nežádoucích mikroorganismů v kolon, jako je *Clostridium perfringens*, tvoří se pochopitelně mléčná kyselina a mastné kyseliny s krátkým řetězcem [94]. Ačkoliv bylo na téma synbiotik využitelných v živočišné výrobě napsáno mnoho studií, stále ještě není jejich použití v takové míře, jak by si zasloužily. Jejich účinek je mnohostranný, příznivé působení na fyziologii abdominální oblasti a pohlavního ústrojí prasnic by si zasloužilo větší experimentální pozornost (zejména v kombinaci s dalšími látkami) a využitelnost.

Závěr

- výzkum antimikrobiálně-antiinvazně působících látek, využitelných pro oblast mimo terapii je široký, prakticky použitelných surovin (sumárních standardizovaných látek, frakcí nebo čistých sloučenin) z tohoto základního výzkumu je však maximálně 10 %,
- v oblasti farmaceutické mikrobiologie se rozšiřuje výzkum využitelných bakterií (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, aj.) z hlediska produkce peptidů, schopných nahradit „fyziologickým způsobem“ do určité míry klasická antibiotika,
- zdá se, že velký význam budou mít živočišné proteiny mléka a některé jejich degradační produkty,

- rostliny budou fungovat nejen jako zdroj využitelných metabolitů, ale také jako zdroj pro genovou manipulaci (vnesejí genů a jejich exprese vedoucí ke vzniku především živočišných peptidů),
- významný antimikrobiální-antiinvazní účinek vykazují monoterpeny, případně ve směsi se seskviterpeny (seskviterpenovými laktony); s výjimkou fenolových monoterpenů – polohových izomerů karvakrolu a thymolu – je výhodnější používání komplexních silic než čistých izolovaných látek; silice mají větší spektrum účinku a jejich obsahové látky se navzájem v účinku synergizují,
- protože nelze do krmivového řetězce aplikovat terapeutické množství nízkomolekulárních antiinvazních látek (small molecules), je nutné využít metody synergizace, tj. ovlivnění více fenoménů, které se podílejí na antiinvazním projevu organismu a to především antioxidantů a látek ovlivňujících imunitu,
- při volbě přírodních prostředků je potřebné vzít v úvahu druh z hlediska jeho metabolismu a tím umožnění aplikovat určité látky v určitých dávkách; velmi závažnou skutečností v tomto ohledu je přesné zjištění ve vztahu k využitelnosti krmné dávky: ačkoliv u některých z těchto látek nebyl prokázán antinutriční účinek (taniny, katechiny, procyanidiny), je nutné tento fakt detailně zjistit,
- bude potřebné důkladně zjistit také farmakokinetiku doplňkových látek, aby nebyl negativně ovlivněn potravní řetězec (vzhled, chuť a vůně konečných produktů).

Literatura

- 1 Corpet, D. E.: Mechanism of antimicrobial growth promoters used in animal feed. C. R. Acad. Agric. Fr. **85**, 197-205 (1999); Chem. Abstr. **133**, 251575.
- 2 Corpet, D. E.: Mechanism of antimicrobial growth promoters used in animal feed. Rev. Med. Vet. (Toulouse) **151**, 99-104 (2000); Chem. Abstr. **133**, 119062.
- 3 Andremont, A.: Impact of the use of antibiotics in animals on bacteria potentially pathogenic for humans. C. R. Acad. Agric. Fr. **85**, 207-213 (1999); Chem. Abstr. **133**, 249337.
- 4 Hillman, K.: Bacteriological aspects of the use of antibiotics and their alternatives in the feed of non-ruminant animals. Recent Advances in Animal Nutrition, Nottingham University Press, Nottingham 2001, 107-134; Chem. Abstr. **136**, 278560.
- 5 Kamphues, J.: Antibiotic growth promoters in animal nutrition. Berl. Muench. Tieraerztl. Wochenschr. **112**, 370-379 (1999).
- 6 Freitag, M.; Hensche, H.-U.; Schulte-Sienbeck, H.; Reichelt, B.: Negative aspects in the use of antibiotic performance enhancers. Kraftfutter, **1999**(3), 92,94-98.
- 7 Witte, W.; Klare, I.; Werner, G.: The use of antibiotics as growth promoters in animal husbandry and antibiotic resistance in bacterial pathogens of humans. Fleischwirtschaft, **79**(4), 90-94 (1999).

- 8 Schwarz, S.; Kehrenberg, C.; Walsh, T. R.: Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **17**, 431-437 (2001).
- 9 Bednář, M. : Lékařská mikrobiologie, Marvil, Praha 1996.
- 10 Simon, C.; Stille, W.: Antibiotika v současné lékařské praxi. Grada Publishing, Praha 1998.
- 11 Votava, M: Lékařská mikrobiologie obecná. Neptun, Praha 2001.
- 12 Stein, H. H.: Experinece of feeding pigs without antibiotics: a European perspective. *Anim. Biotechnol.* **13**(1), 85-95 (2002).
- 13 Opletal, L.: Kardiovaskulární onemocnění a stabilita organismu: obsahové látky vyšších rostlin a hub jako potenciální léčiva a potraviní aditiva. Habilitační práce, Farmaceutická fakulta University Karlovy, Hradec Králové 1995, 177.
- 14 Opletal, L.; Sovová, M.; Dittrich, M.; Solich, P.; Dvořák, J.; Krátký, F.; Čerovský, J.; Hofbauer, J.: Fytoterapeutické aspekty onemocnění oběhového systému. 6. *Leuzea carthamoides* (Willd.) DC: Stav výzkumu a možnosti využití taxonu. *Česk. Slov. Farmacie* **44**, 246-251 (1997).
- 15 Klimeš, J., Opletal, L., Sovová, M., Krásný, O., Mysliveček, M., Bajer, J., Dvořák, J., Zvoníček, J.: Suchá krmná směs pro hospodářská zvířata. *CZ Pat.* 279865 (1995).
- 16 Bourne, K. Z., Bourne, N., Reising, S. F., Stanberry, L. R.: Plant products as topical microbicide candidates: assessment of in vitro and in vivo activity against herpes simplex viru type 2. *Antiviral Res.* **42**(3), 219-226 (1999).
- 17 Chauhan, U. K., Soni, P., Shrivastava, R., Mathur, K. C., Khadikar, P. V.: Antimicrobial activities of the rhizome of *Curcuma longa* Linn. *Oxidation Communications* **26**(2), 266-270 (2003); *Chem. Abstr.* **139**, 242827.
- 18 Lee, S.-E., Campbell, B. C., Molyneux, R. J., Hasegawa, S., Lee, H.-S.: Inhibitory Effects of naturally occurring compounds on aflatoxin B1 biotransformation. *J. Agric. Food Chem.* **49**(11), 5171-5177 (2001).
- 19 Mazza, G.: Health aspects of natural colors. IFT Basic Symposium Series, 14(Natural Food Colorants), Marcel Dekker Inc. 2000, s. 289-314.
- 20 Reznik, R.: Method for protecting a substance liable to oxidative deterioration. *PCT Int. Appl. WO* 2000039248 (2000); *Chem. Abstr.* **133**, 88534.
- 21 Seyfert, H.-M.: Lactoferrin and Lysozyme – two mammalian antibiotics. *Arch. Tierz.* **42**(Sonderheft), 22-27 (1997).
- 22 Naidu, A. S., Nimmagudda, R.: Activated lactoferrin. Part 1: A novel antimicrobial formulation. *Agro Food Industry Hi-Tech* **14**(2), 47-50 (2003); *Chem. Abstr.* **139**, 97840.
- 23 Naidu, A. S., Tulpinski, J., Gustilo, K., Nimmagudda, R., Morgan J. B.: Activated latoferrin. Part 2: natural antimicrobial for food safety. *Agro Food Industry Hi-Tech* **14**(3), 27-31 (2003); *Chem. Abstr.* **139**, 380178.
- 24 Naidu, A. S., Bidlack, W. R.: Milk lactoferrin – natural microbial blocking agent (MBA) for food safety. *Environ. Nutr. Interact.* **2**(1-2), 35-50 (1998).
- 25 Naidu, A. S.: Activated lactoferrin – a new approach to meat safety. *Food Technol. (Chicago)* **56**(3), 40-45 (2002).
- 26 Caccavo, D., Pellegrino, N. M., Altamura, M., Rigon, A., Amati, L., Amoroso, A., Jirillo, E.: Antimicrobial and immunoregulatory functions of lactoferrin and its potential therapeutic application. *J. Endotoxin Res.* **8** (6), 403-417 (2002); **139**, 206774.
- 27 Weinberg, E. D.: The therapeutic potential of lactoferrin. *Expert Opin. Investig. Drugs.* **12**(5), 841-851 (2003).
- 28 Bercezi, I., Chow, D. A., Sabbadini, E. R.: Neuroimmunoregulation and natural immunity. *Domest. Anim. Endocrinol.* **15**(5), 273-281 (1998); *Chem. Abstr.* **130**, 79954.
- 29 Bonan, H. G.: Innate immunity and the normal microflora. *Immunol. Rev.* **173**, 5-16 (2000).
- 30 Morein, B., Hu, K.F.: Microorganisms exert bioactive and protective effects through the innate immune system. *Gut Environment of Pigs, [Papers presented at the Workshops „Feed Additives and Probiotics as an Alternative to Antibiotics as Growth Promoters“ and „Gut Environment: Influence of Luminar Factors“]*, Uppsala, June 18-19, 2000, 105-111; *Chem. Abstr.* **137**, 183948.
- 31 Ganz, T., Lehrer, R. I.: Antimicrobial peptides in innate immunity. *Development of Novel Antimicrobial Agents: Emerging Strategies*, 139-147. (Lohner, K., ed.), Horizon Scientific Press, Wymondham 2001; *Chem. Abstr.* **135**, 209395.
- 32 Zdzisinska, B., Kandefer-Szerszen, M.: The role of nitric oxide in natural and pathogenic immune reactions. *Postepy Hig. Med. Dosw.* **52**(6), 621-636 (1998); *Chem. Abstr.* **131**, 17511.
- 33 Krinsky, N. I., Mayne, S. T., Sies, H.(eds): Carotenoids in Health and disease. Marcel Dekker, New York 2004, 568 s.
- 34 Yvin, J.-C., Vetvicka, V.: Laminaria polysaccharides for therapeutical treatment. *PCT Int. Appl. WO* 2003045414 (2003); *Chem. Abstr.* **139**, 12302.
- 35 Safonova, M. J., Sakanjan, E. I., Lesijovskaja, E. E.: *Cetraria islandica* (L.) Ac.: chimičeskij sostav i perspektivy ispol'zovanija v medicině. *Rastit. Resur.* **35** (2), 106-115 (1999).
- 36 Kajikawa, Akihiro; Kamen, Masaki; Murosaki, Shinji; Kusaka, Hiroaki: Immunostimulants containing linear carbohydrates having b-1,3-glucoside linkage. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 10194977 (1998); *Chem. Abstr.* **129**, 104216 (1998).
- 37 Engstad, R.; Raa, J.: Immune-stimulation improving health and performance. *Krafftfutter*, **1999**, 261-266.
- 38 ---: All-natural bird claim. *Turkeys* **44**(1), 18 (1996).
- 39 Rossi, F.; Cox, E.; Goddeeris, B.; Portetelle, D.; Wavreille, J.; Thewis, A.: Inulin incorporation in the weaned pig diet: Intestinal coliform interaction and effect on specific systemic immunity. *Digestive Physiology of Pigs, Proceedings of the Symposium, 8th, Uppsala, Sweden, June 20-22, 2000, Meeting Date 2000*, Lindberg, J. E.; Ogle, B. (ed.), CABI Publishing, Wallingford 2001, 299-301; *Chem. Abstr.* **136**, 183091.

- 40 Caetano De Faria, A. M.; Da Silva Menezes, J.; Monteiro Vaz, N.: Preparation and administration of amino acid-containing dietary supplement for prevention of immunodeficiency disorders. PCT Int. Appl. WO 2002015723 (2002); Chem. Abstr. **136**, 183159.
- 41 Takahashi, K., Kawamata, K., Akiba, Y., Iwata, T., Kasai, M.: British Poultry Sci. **43**, 47-53 (2002).
- 42 Ghisalberti, C.: PCT Int. Appl. WO 2001017374 (2001); Chem. Abstr. **134**, 222060.
- 43 Fritts, C. A.; Kersey, J. H.; Motl, M. A.; Kroger, E. C.; Yan, F.; Si, J.; Jiang, Q.; Campos, M. M.; Waldroup, A. L.; Waldroup, P. W.: Bacillus subtilis C-3102 (Calsporin) improves live performance and microbiological status of broiler chickens. J. Appl. Poultry Res. **9**, 149-155 (2000).
- 44 Julien, W. E.: Corynebacteria and brevibacteria in antimicrobial composition for ruminant feed. U.S. Pat. Appl. Publ. US 2002176904 (2002); Chem. Abstr. **137**, 384191.
- 45 Huang, Ziran; Huang, Yadong; Zheng, Qing; Yao, Ruhua: Production of Antheraea pernyi cecropin AD in beer yeast and uses in animal feed. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1308124 (2001); Chem. Abstr. **136**, 274261.
- 46 Kim, Se-Kwon; Jeon, You-Jin; Kim, Won-Suk; Back, Ho-Cheol; Park, Pyo-Jam; Byun, Hee-Guk; Bai, Sungchul C.: Biochemical composition of marine microalgae and their potential antimicrobial activity. J. Fisher. Sci. Technol. **4**, 75-83 (2001); Chem. Abstr. **136**, 66684.
- 47 Yoshimoto, Takeshi; Omura, Hiroshi; Okumura, Takekazu; Nakao, Masumi; Ueyama, Sadao; Nagaoka, Masato; Hamasato, Kazuaki; Yamashita, Teturo; Kanemitsu, Akio; Kawano, Toshiro; Sasaki, Manabu: Algae or their exts. as preventives and/or remedies for fish infections. PCT Int. Appl. WO 2002092114 (2002); Chem. Abstr. **137**, 352185.
- 48 Yu, Jianghe; Yao, Wenbing; Lang, Xiaoyi; Song, Chunmei: Antibacterial activity of cell health factor from bovine colostrum. Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao, **28**, 372-374 (1997); Chem. Abstr. **129**, 79012.
- 49 Whyte, P. B. D.: A food composition and method of using same. PCT Int. Appl. WO 9956758 (1999); Chem. Abstr. **131**, 321961.
- 50 Vuorenmaa, J.; Virkki, M.; Jukola, E.; Lauraeus, M.; Jatila, H.; Apajalahti, J.; Nurminen, P.: Feed additive containing hydrolyzed brewers' yeast. U.S. US 6387420 (2002); Chem. Abstr. **136**, 39940.
- 51 Vuorenmaa, J.; Virkki, M.; Jukola, E.; Laureus, M.; Jatila, H.: Oligosaccharide- or polysaccharide-rich hydrolytically treated food or feed additive to prevent gastric disorders and intestinal diseases. PCT Int. Appl. WO 9827829 (1998); Chem. Abstr. **129**, 94714.
- 52 Klingeberg, M.; Kozianowski, G.; Kunz, M.; Munir, M.; Vogel, M.: Use of carbohydrates for eliminating intestinal infections in animals. PCT Int. Appl. WO 2002060452 (2002); Chem. Abstr. **137**, 135060.
- 53 Kross, R. D.: Composition and method for reducing the colonization of animal intestines by Salmonella and other bacterial pathogens. U.S. US 6126961 (2000); Chem. Abstr. **133**, 251556.
- 54 Izumi, Kaya; Azumi, Naoya: Xylooligosaccharide compositions useful as food and feed additives. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001226409 (2001); Chem. Abstr. **135**, 180065.
- 55 Liu, Y.; Luo, J.; Xu C.; Ren, F.; Peng, C.; Wu, G., Zhao, J. Purification, characterization, and molecular cloning of the gene of a seed-specific antimicrobial protein from pokeweed. Plant Physiol. **122**(4), 1015-1024 (2000).
- 56 Vizioli, J., Salzet, M.: Antimicrobial peptides from animals: focus on invertebrates. Trends in Pharmacol. Sci. **23**(11), 494-496 (2002).
- 57 Hancock, R. E. W.: Cationic peptides: effectos in innate immunity and novel antimicrobials. Lancet Infect. Dis. **1**(3), 156-164 (2001).
- 58 Hoffmann, J. A., Reichhart, J. M.: Drosophila innate immunity: an evolutionary perspective. Nat. Immunol. **3**(2), 121-126 (2002).
- 59 Tossi, A., Sandri, L.: Molecular diversity in gene-encoded, cationic antimicrobials polypeptides. Curr. Pharm. Design **8**(9), 743-761 (2002).
- 60 Zasloff, M.: Antimicrobial peptides of multicellular organisms. Nature **415**(6870), 389-395 (2002).
- 61 Hancock, R. E. W., Karunaratne, N.: Polynucleotides encoding antimicrobial cationic peptides, bactolysins. U.S. US 6040435 (2000); Chem. Abstr. **132**, 232737.
- 62 Leroy, F., De Vuyst, L.: Natural Food Antimicrobial Systems, (Naidu, A. S. ed.), CRC LLC Press, Boca Raton 2000, s. 589-610.
- 63 Ganz, T.: Defensis: antimicrobial peptides of innate immunity. Nature Rev. Immunol. **3**(9), 710-720 (2003); Chem. Abstr. **139**, 290671.
- 64 Jack, R. W., Jung, G.: Natural peptides with antimicrobial activity. Chimia **52**(1-2), 48-55 (1998); Chem. Abstr. **128**, 162487.
- 65 Dathe, M., Wieprecht, T.: Structural features of helical antimicrobial peptides: their potential to modulate activity on model membranes and biological cells. Biochem. Biophys. Acta **1462**(1-2), 71-87 (1999).
- 66 Mickowsak, B.: Antimicrobial peptides – structure and function. Postepy Biol. Komorki **28**(Suppl. 16), 245-259 (2001); Chem. Abstr. **136**, 165482.
- 67 Schroder, J.-M.: Antimicrobial peptides. Antibiotics of the future? Med. Monatsschr. Pharm. **22**(9), 270-276 (1999).
- 68 Sass, P. M.: Antimicrobial peptides: structure, function and therapeutic potential. Curr. Opin. Drug Discovery & Development **3**(5), 646-654 (2000).
- 69 Hancock, R. E. W., Karunartne, N.: Antimicrobial cationic peptides. PCT Int. Appl. WO 9638473 (1996); Chem. Abstr. **126**, 72511.
- 70 Sahl, H.-G., Bierbaum, G.: Lantibiotics: biosynthesis and biological activities of uniquely modified peptides from gram-positive bacteria. Annu. Rev. Microbiol. **52**, 41-79 (1998).

- 71 Hancock, R. E. W.: Cationic antimicrobial peptides: towards clinical applications. *Expert Opin. Invest. Drugs* **9**(8), 1723-1729 (2000).
- 72 Barra, D., Simmaco, M.: Antimicrobially active polypeptides. *PCT Int. Appl. WO 9825961* (1998); *Chem. Abstr.* **129**, 76482.
- 73 Liu, Yi; Ning, Zhengxiang: Natural food preservative-antimicrobial peptide. *Shipin Kexue (Beijing)* **20** (11), 18-21 (1999); *Chem. Abstr.* **132**, 321025.
- 74 Mann, S. P., Spoelstra, S. F.: Microorganisms and their use in treating animal feed and silage. *PCT Int. Appl. WO 9729644* (1997); *Chem. Abstr.* **127**, 204805.
- 75 Valore, E. V., Ganz, T.: Laboratory production of antimicrobial peptides in native conformation. *Methods Mol. Biol. (Totowa, N. J., ed.)*, 78 (Antibacterial Peptide Protocols), 115-131 (1997); *Chem. Abstr.* **127**, 200720.
- 76 Fairhead, H. M.: Small acid-soluble spore protein and uses in inhibiting bacterial cell growth. *PCT Int. Appl. WO 20022040678* (2002); *Chem. Abstr.* **136**, 398461.
- 77 Sharma, V. D.; Sethi, M. S.; Kumar, A.; Rarotra, J. R.: Antibacterial property of *Allium sativum* Linn.: in vitro & in vivo studies. *Indian J. Exp. Biol.* **15**, 466-468 (1977)
- 78 Shashikanth, K. N.; Basappa, S. C.; Murthy, V. S.: A comparative study of raw garlic extract and tetracycline on caecal microflora and serum protein of albino rats. *Food Microbiol.* **29**, 348-352 (1984)
- 79 Cavallito, C. J.; Bailey, J. H.: Allicin, the antimicrobial principle of *Allium sativum* L. Isolation, physical properties and antimicrobial action. *J. Am. Chem. Soc.* **66**, 1950-51 (1944).
- 80 Amer, M.; Taha, M.; Tosson, Z.: The effect of aqueous garlic extract on the growth of dermatophytes. *Int. J. Dermatol.* **19**, 285-287 (1980).
- 81 Moore, G. S., Atkins, R. D.: The fungicidal and fungistatic effects of an aqueous garlic extract on medically important yeast-like fungi. *Mycologia* **69**, 341-348 (1977).
- 82 Caporaso, N.; Smith, S. M.; Eng, R. H. K.: Antifungal activity in human urine and serum after ingestion of garlic (*Allium sativum*). *Antimicrob. Ag. Chemother.* **33**, 700-702 (1983).
- 83 Yamada, Y.; Azuma, K.: Evaluation of the in vitro antifungal activity of allicin. *Antimicrob. Ag. Chemother.* **11**, 743-49 (1977).
- 84 Opletal, L.: Možnosti náhrady antibiotických stimulatorů růstu ve výživě zvířat. *Zpráva Výboru pro výživu zvířat při MZ, Praha* 2003.
- 85 ---: *Feed Mix*, **12**(4), 24-27 (2004).
- 86 Losa, R.: A composition containing carvacrol and thymol as bactericides in animal diets. *PCT Int. Appl. WO 2000069277* (2000); *Chem. Abstr.* **133**, 366449.
- 87 Elgaard, T.: Natural, intestinally active feed additive. *Eur. Pat. Appl. EP 1132009* (2001); *Chem. Abstr.* **135**, 210339.
- 88 Ninkov, D.: Composition containing organic phenols for treatment of infections of humans and animals. *PCT Int. Appl. WO 2001015680* (2001); *Chem. Abstr.* **134**, 227364 (2001).
- 89 Takahashi, Tetsunari: Microbicides containing Eucalyptus leaf extracts and chitosan. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000154109* (2000); *Chem. Abstr.* **133**, 1748 (2000).
- 90 Jensen, J. M.; Elgaard, T.: Natural feed additive, a method of preparing said feed additive, a feed mixture containing the feed additive as well as a method of breeding farm animals. *Eur. Pat. Appl. EP 1129627* (2001); *Chem. Abstr.* **135**, 194833.
- 91 Frippiat, A.; Van, L. J.; Smits, G.: Inulin products with improved nutritional properties. *Eur. Pat. Appl. EP 1125507* (2001); *Chem. Abstr.* **135**, 152014.
- 92 Engels, D.; Haji B. A.; Kunz, M.; Mattes, R.; Munir, M.; Vogel, M.: Modified Streptococcus gene ftf and fructosyltransferase and their use in preparation of inulin, fructooligosaccharides, and difructose dianhydride for use in food and feed. *PCT Int. Appl. WO 2002050257* (2002); *Chem. Abstr.* **137**, 58646.
- 93 Hidaka, Hidemasa; Adachi, Takashi; Hirayama, Masao: Development and beneficial effects of fructooligosaccharides (Neosugar). In: *Advanced Dietary Fibre Technology*. McCleary, Barry V.; Prosky, L. (ed.), Blackwell Science Ltd., Oxford 2001, 471-479; *Chem. Abstr.* **136**, 231652.
- 94 Bornet, F. R. J. : Fructo-oligosaccharides and other fructans: Chemistry, structure and nutritional effects. In: *Advanced Dietary Fibre Technology*. McCleary, Barry V.; Prosky, L. (ed.), Blackwell Science Ltd., Oxford 2001, s. 480-493.

Tato práce vznikla za finanční podpory NAZV č. QH71284 (2007)