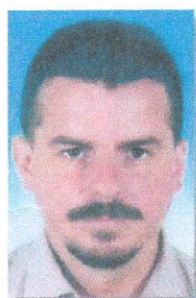




Ing. Martina  
Trčková, Ph.D.,  
odborná pracovnice  
výzkumu



MVDr. Alena  
Lorencová, Ph.D.,  
odborná pracovnice  
výzkumu



Dr. Ing. Pavel  
Kuráň, Ph.D.,  
proděkan  
pro vědu

# Huminové látky v profylaxi průjmových onemocnění odstavených selat

M. TRČKOVÁ,<sup>1</sup> A. LORENCOVÁ, P. KURÁŇ<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

<sup>2</sup>MikroChem LKT s. r. o., Třeboň

<sup>3</sup>Fakulta životního prostředí, Univerzita Jana Evangelisty Purkyně, Ústí nad Labem

## SOUHRN

Trčková M., Lorencová A., Kuráň P. **Huminové látky v profylaxi průjmových onemocnění odstavených selat.** Veterinářství 2016;66(10):768-772.

Při odstavu jsou selata vystavena mnoha stresovým faktorům, s čímž úzce souvisí vysoká incidence průjmů. V současnosti je snaha minimalizovat antibiotickou léčbu a vysoké farmakologické dávky ZnO používané k profylaxi poodstavových průjmů alespoň částečně nahradit alternativními látkami. Popsané vlastnosti a příznivé účinky huminových látek u zvířat naznačují, že by mohly být v profylaxi poodstavových průjmů účinné.

## SUMMARY

Trčková M., Lorencová A., Kuráň P. **Humic substances in the prophylaxis of diarrheal diseases in weaning pigs.** Veterinářství 2016;66(10):768-772.

Weaning piglets are exposed to many stressors, which closely coincides with high incidence of diarrhea. At present, the effort to minimize antibiotic treatment and high pharmacological doses of ZnO used for the prophylaxis of diarrhea in weaning piglets at least partially substitute by alternative substances. Described properties and the beneficial effects of humic substances in animals suggest that they could be in the prophylaxis of diarrhea weaning piglets effective.

## Úvod

V komerčních chovech prasat jsou selata odstavena ve velmi raném věku 21 až 28 dnů. Při odstavu jsou vystavena mnoha stresovým faktorům spojených s náhlým přerušением sociálních interakcí s prasnici a selaty stejného vrhu, s adaptací na nové prostředí, s náhlým ukončením příjmu mléka a s tím související laktogenní imunity, s adaptací na méně stravitelné rostlinné suché krmivo s obsahem antinutričních látek.<sup>1,2</sup> V důsledku toho dochází k morfologickým a funkčním alteracím tenkého střeva a střevní sliznice, ke změnám střevního ekosystému a celkovému oslabení imunitního systému selat.<sup>3</sup> Ztráta pasivní imunity, nedostatečně rozvinutá aktivní slizniční imunita a poškození střevní integrity zvyšují možnost adheze patogenních mikroorganismů na střevní sliznici. Období po odstavu je proto spojeno s vysokou incidencí střevních potíží a průjmů.

## Poodstavové průjmy selat

Poodstavové průjmy selat (post weaning diarrhoea, PWD), tj. stav charakterizovaný častým vylučováním tekutých výkalů v průběhu prvních 14 dnů po odstavu, je multifaktoriální onemocnění, jehož přesná patogenese není stále úplně jasná. V patogenesi PWD se nejčastěji uplatňují enterotoxigenní kmeny *Escherichia coli* (ETEC). Zatímco komenzální kmeny *E. coli* jsou přirozenou součástí střevní mikroflóry zdravých prasat, enterotoxigenní kmeny jsou vybaveny specifickými faktory virulence, díky kterým jsou ve střevě prasat patogenní. Jako virulenní faktory jsou označovány všechny proteiny, molekuly nebo struktury bakterie, které pomáhají překonat imunitní systém, kolonizovat prostředí a napadat buňky hostitele.

Patogenní ETEC kolonizují sliznici jejunu a ilea pomocí specifických kolonizačních faktorů – fim-

bráňních adhesinů, u odstavených selat nejčastěji adhesinů F4 (K88) a F18. Ty umožňují bakteriím přichycení na receptory přítomné na mikroklicích enterocytů střevní sliznice a její kolonizaci. Následná proliferace bakterií v jejunu a ileu je velice rychlá a masivní, dosahující množství v řádu  $10^9$  CFU/g střevního obsahu.<sup>4,5</sup> Interakce adhesinů bakterií s mikrokly enterocytů je pevná, ale nedochází přitom k morfologické destrukci samotných enterocytů. Receptory vůči adhezínům jsou hojně přítomné na sliznici střeva novorozeneých selat a s věkem jejich počet mírně klesá, v období odstavu je poměrně stabilní. Zatímco receptory F4 jsou plně exprimovány od narození, receptory F18 se téměř nevyskytují u prasat mladších 20 dnů. Receptory pro adhezín F4 nejsou exprimovány u všech selat, a proto mohou být některá selata k infekcím ETEC F4 rezistentní.<sup>6</sup>

Patogenní ETEC produkují termostabilní (STa, STb) a/nebo termolabilní (LT) enterotoxiny, které narušují vodní a elektrolytovou rovnováhu v tenkém střevě.<sup>4</sup> LT toxiny zvyšují sekreci sodíkových, chloridových a hydrogenuhličitanových iontů, zatímco ST toxiny redukují absorpci tekutin a solí. STb poškozuje kly střeva a způsobuje jejich atrofii. Působením enterotoxinů dochází k hypersekreci vody a elektrolytů do obsahu tenkého střeva, která převyšuje absorpční kapacitu tlustého střeva. Tento proces může být příčinou průjmu, dehydratace, redukce stravitelnosti živin, deprese růstu až úhynu selat.<sup>1,2</sup>

Kromě ETEC se v etiologii průjmů v menší míře uplatňují i další bakteriální druhy jako např. *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella choleraesuis*, *S. typhimurium*, *Brachyspira pilosicoli* a *B. hyodysenteriae*. Z virových agens bývají nejčastěji diagnostikovány rotaviry, koronaviry, virus transmissivní gastroenteritidy, z parazitů *Trichuris suis*.

Odstavená selata mohou rovněž vykazovat neinfekční průjem označovaný jako malabsorbční syndrom způsobený poruchami trávení a vstřebávání živin při degenerativních změnách tenkého střeva a střevní sliznice. Ve většině případů však narušení střevní sliznice následně umožní uplatnění bakteriálních či dalších původců průjmů.

## Profylaxe PWD

PWD jsou považovány za jednu z nejčastějších příčin přímých a nepřímých ztrát v chovech prasat. V minulosti se k profylaxi PWD využívala téměř plošně antibiotika. Jejich používání jako doplňkových látek v krmivech pro hospodářská zvířata bylo v Evropské unii od roku 2006 zakázáno z důvodu narůstající antibiotické bakteriální rezistence a možné přítomnosti reziduí antibiotik v potravinovém řetězci. V současné době je nejčastějším a neúčinnějším způsobem profylaxe podávání farmakologických dávek zinku ve formě ZnO (2500 až 3000 mg/kg). Vysoké dávky ZnO však vedou k produkci kejdý s vysokým obsahem zinku a představují tak velkou zátěž pro životní prostředí. Do budoucna je očekáváno jejich zásadní omezení. Je proto nevyhnutné hledat nové,

alternativní látky s antibakteriálním účinkem, které by mohly nežádoucí antibiotickou léčbu a vysoké farmakologické dávky ZnO alespoň částečně nahradit.<sup>7</sup> Jednou z možností, která představuje řešení uvedené problematiky, je využití huminových látek (HS).

## Huminové látky

HS jsou nejrozšířenější přírodní organické látky, které tvoří základ organické hmoty půdy, vody a sedimentů. Vznikly v procesu humifikace, tj. chemickým a biologickým rozkladem organických látek převážně rostlinného, v menší míře živočišného původu. Podle rozpustnosti ve vodě se rozlišují hlavní frakce HS na huminové kyseliny (HA), fulvonové kyseliny (FA) a huminy. HA představují frakci, která není rozpustná v kyselých a neutrálních vodních roztocích, ale je rozpustná při vyšším pH. Typická barva HA je hnědá až hnědočerná. FA jsou rozpustné ve vodných roztocích nezávisle na pH. Jsou světlejší než HA, jejich barva je žlutá až žlutohnědá. Huminy jsou ve vodě zcela nerozpustné při jakémkoliv pH.

Obsah HS v přírodních matricích kolísá od stopových množství (písky, jíly) přes jednotky procent (běžné zeminy) až k desítkám procent (hnědé uhlí, lignit). Surovinami bohatými na HS jsou především kaustobiolity uhelné řady – humolity a liptobiolity (rašelina, lignit, oxyhumolit, leonardit). Oxyhumolity (leonardity) jsou mladá hnědá uhlí s nízkým stupněm prouhelnění. Řadí se k nejkvalitnějším zdrojům HS, podle lokality mohou obsahovat 80 až 95 % HS. Primární oxyhumolity jsou považovány za předstupeň hnědé uhlí, sekundární se tvoří jeho zvětřováním. Nejméně prouhelněný druh hnědé uhlí xylitického charakteru se zachovanými kmeny a úlomky dřeva – lignit má ve srovnání s oxyhumolitem nižší podíl HS.<sup>8,9</sup>

Proces vzniku HS – humifikace, je souborem mnoha biochemických reakcí. Je předmětem studia už desítky let a dosud bylo vypracováno několik teorií. Degradční (lignitová) teorie popisuje vznik HS mikrobiálním rozkladem odumřelého rostlinného materiálu, kdy z těžko rozložitelných látek, jako je lignin, kutin nebo melanin, vznikají vysokomolekulární huminy, které jsou oxidací postupně transformovány na HA a FA. V současnosti se hodně odborníků přiklání k syntetickým teoriím (např. polyfenolová nebo melanoidinová teorie). Podle nich jsou rostlinné biopolymery nejdříve rozloženy na menší molekuly a z nich se pak syntézou tvoří FA, HA a nakonec huminy. Je zřejmé, že mechanismus formování HS může být lehce odlišný v závislosti na geografických, klimatických, fyzikálních a biologických podmínkách. Není vyloučeno, že HS mohou vznikat různými způsoby nebo že se tyto způsoby mohou prolínat a že lignin hraje důležitou roli ve většině těchto procesů.<sup>10</sup>

Z hlediska chemické struktury se HS řadí do skupiny polyfenolů a polykarboxylových kyselin. Makromolekuly HS obsahují aromatické cykly bi- nebo trifenolických typů, na nichž, ale i v postranných řetězcích, jsou přítomny funkční skupiny karboxylové, hydroxylové, karbonylové a další.<sup>8,11</sup> Struktura HS je velmi složitá a doposud

nebyla zcela přesně identifikována. HA a FA jsou přiřazovány různé vzorce, které jsou pouze hypotézou. Původní teorie definovala HS jako stočené polymery. Od tohoto pohledu se postupně přešlo k teorii, která popisuje HS jako komplex menších molekul tvořící jejich strukturu stabilizovanou slabými interakcemi a vodíkovými vazbami. HS jsou tvořeny převážně uhlíkem, vodíkem, kyslíkem, dusíkem a sírou. K charakterizaci HS se kromě prvkového složení používají i obsahy funkčních skupin, které v podstatné míře určují chemické a strukturní vlastnosti HS. Bylo zjištěno, že FA obsahují více funkčních skupin kyselého povahy, zejména (COOH) a jejich celková acidita je výrazně vyšší než u HA.<sup>10</sup>

Díky své struktuře a značenému počtu nebo množství funkčních skupin se HS vyznačují vysokou chemickou aktivitou a jsou schopny výrazně ovlivňovat chemické a biochemické procesy a fyziologické děje v organismu. Působení HS na organismus je vysvětlováno zvýšením metabolické aktivity v buněčné stěně, zejména zrychlením biologických oxidací, což může při vyšším přísunu výživných látek do extracelulární tekutiny vést ke stimulaci životních procesů.<sup>12,13</sup>

## Účinky HS u zvířat

HA a jejich soli byly Evropskou lékovou agenturou EMEA povoleny pro orální podávání u koní, přežvýkavců, prasat a drůbeže k léčbě průjmů, dyspepsií a akutních intoxikací.<sup>14</sup> Byly u nich prokázány antibakteriální, anti-alergické, antitoxické, protiprůjmové, protizánětlivé a imunomodulační účinky.<sup>15-17</sup> Veterinární léčiva obsahující HA se s úspěchem používají zejména při léčbě zažívacích onemocnění psů a koček.<sup>18</sup> Informace o využití HS v profylaxi průjmových onemocnění odstavených selat zatím ale chybí. Přesto popsané vlastnosti a příznivé účinky HS u jiných druhů a kategorií zvířat naznačují, že by mohly být v profylaxi podstavových průjmů účinné.

Z tohoto pohledu lze za zásadní považovat protektivní účinek HS na sliznici trávicího traktu. HS vytváří ochranný povlak na sliznici, který zajišťuje ochranu před infekcemi a toxiny a příznivě působí na morfologii tenkého střeva.<sup>18-21</sup> Např. Yasar et al.<sup>20</sup> pozorovali po podávání HS v dietě krys nárůst výšky klků, hloubky krypt a celkové zesílení střevní stěny.<sup>21</sup> Makrokolidní struktura HS zajišťuje dobrou ochranu mucinózních buněk a periferních kapilár a částečně nebo zcela redukuje resorpci toxických metabolitů. Navíc HS pomáhají zabránit nepřiměřeným ztrátám vody ve střevě.<sup>22</sup>

Kromě mechanické ochrany sliznice mají HS díky své struktuře a vysokému obsahu funkčních skupin velkou sorpční schopnost, jsou schopny vázat různé sloučeniny a ionty ve formě chelátových komplexů. To jim umožňuje vytvářet nerozpustné komplexy s řadou toxických látek, např. s toxiny produkovanými bakteriemi a viry, mykotoxiny, mutageny, herbicidy, monoaromatickými a polycyklickými aromatickými sloučeninami, těžkými kovy a bránit tak jejich vstřebávání do organismu a akumulaci ve tkáních a orgánech.<sup>13,16,18,23</sup>

HS podávané v dietě selat by dále mohly příznivě ovlivňovat složení střevní mikroflóry, která je zejména v období po odstavu velice proměnlivá. Tento předpoklad vychází z výsledků experimentů u brojlerových kuřat, kde přírůstek HS v dietě vedl k nárůstu počtu prospěšných laktobacilů a bifidobakterií ve střevním obsahu a k poklesu *E. coli*.<sup>24-26</sup>

Kromě stabilizace mikroflóry a pH trávicího traktu zpomalují HS pasáž tráveniny trávicím traktem a podporují enzymatickou aktivitu pankreatu. Zajišťují tak lepší stravitelnost a využití živin z krmiva<sup>19,22,26-29</sup> a mají potenciál stimulovat růst a užitkovost zvířat.<sup>21,22,26,27,30</sup> Tyto účinky by mohly být významné právě u selat, která mají mimořádné nutriční a dietetické nároky. HS by mohly zvyšovat jejich růstové schopnosti prostřednictvím zlepšení morfologie střevní sliznice, stabilizace intestinální mikroflóry a následného zlepšení využití živin z krmiva, zejména stravitelnosti bílkovin a utilizaci stopových prvků.<sup>22,31</sup> Podle literatury HS zvyšují retenci dusíkatých látek v organismu, redukují aktivitu ureázy a díky tomu také snižují zatížení stájového prostředí emisemi amoniaku.<sup>27,30,32</sup> Kim et al.<sup>33</sup> poukazují na možnost využití HS u prasat také jako alternativního zdroje železa s vysokou biologickou dostupností.

Z pohledu zabezpečení dobrého zdravotního stavu odstavených selat by mohla být příznivá také schopnost HS stimulovat imunitní systém zvířat s následným snížením morbidity i mortality zvláště za stresových podmínek, např. při nutričním nebo teplotním stresu, či vysoké koncentrace zvířat.<sup>25,28,34</sup> HS stimulují imunitní odpověď organismu aktivací makrofágů, zvyšují rovněž produkci protilátek po očkování.<sup>25,35,36</sup>

V neposlední řadě mají HS potenciál jako antioxidanty. Weber et al.<sup>37</sup> uvádějí příznivý účinek podávání HS u odstavených a rostoucích selat na potlačení rozvoje oxidativního stresu a produkci volných radikálů v organismu, které vznikají při metabolických pochodech, ale i při stresu, zánětech a infekcích. Navíc bylo ověřeno, že přítomnost HS v dietě prasat může následně příznivě ovlivnit kvalitu a udržitelnost masa během skladování.<sup>29,38</sup>

Účinnost různých huminových přípravků může být variabilní. Nehomogenní složení substrátů, ze kterých jsou HS extrahovány, odlišný podíl jednotlivých frakcí v různých substrátech i lokalitách může ovlivňovat výsledné vlastnosti a biologický účinek HS.<sup>19,27,39</sup>

## HS v profylaxi PWD

Na našem pracovišti (VÚVEL, Brno) byly uskutečněny pokusy zaměřené na ověření účinnosti HS v profylaxi PWD. Byly ověřovány HS na bázi lignitu, oxyhumolitu (leonarditu) a humátu sodného (HNa) ve dvou typech pokusných modelů – infekčních a neinfekčních. V infekčních pokusech byly HS testovány v podmínkách experimentální infekce vyvolané kmeny ETEC/O149/F4/LT+ a ETEC/O147/F18/LT+, kterými byla selata perorálně infikována 4. den po odstavu v infekční dávce 10<sup>11</sup> CFU. Kombinovaná infekce dvěma patogenními

kmeny ETEC byla použita z důvodu možné rezistence některých selat vůči kolonizačnímu faktoru F4. V neinfekčních pokusech nebyla u odstavených selat vyvolána žádná experimentální infekce a selata byla chována v běžných podmínkách komerčních chovů prasat s přirozeným infekčním tlakem.

Bylo zjištěno, že v modelových podmínkách silného infekčního tlaku (vysoké infekční dávky) ETEC, který vede k rozvoji závažné průjmové infekce s těžkými klinickými projevy (vodnaté průjmy, ztráta na váze, úhyny) je podávání HS dostatečně účinné pouze v kombinaci s určitou dávkou ZnO. Např. dávka 1700 mg ZnO v kombinaci s 20 g HS/kg krmné směsi byla stejně účinná v profylaxi průjmů jako vysoká farmakologická dávka ZnO (2500 mg). Při zachování stejného účinku na růstové schopnosti selat je tak příznivě redukováno množství zinku podávané selatům a následně vylučované ve výkalech.<sup>40</sup> Suplementace HS v kombinaci se ZnO také příznivě ovlivnila mikrobiální diverzitu střevního traktu, zejména počet prospěšných laktobacilů,<sup>41</sup> hladiny ukazatelů oxidativního stresu a poměr n-6 a n-3 polynenasycených mastných kyselin v krevním séru selat.<sup>42</sup>

V podmínkách s přirozeným infekčním tlakem byl prokázán dostatečně příznivý účinek HS na PWD bez kombinace se ZnO. Ve výkalech selat byly detekovány kmeny ETEC a *S. typhimurium*, jednalo se tedy o přirozenou infekci vyskytující se v komerčních chovech prasat. U HS suplementovaných selat byl pozorován významný

pokles incidence a závažnosti klinických projevů průjmů bez úhynů na rozdíl od kontrolní skupiny, kde v důsledku přetrvávajících vodnatých průjmů a následné dehydratace organismu uhynulo 13 % selat (2 z 15). Navíc byly v krevní séru suplementovaných selat zjištěny významně vyšší hladiny železa.

Popsané vlastnosti a experimentálně ověřené příznivé účinky HS u odstavených selat naznačují, že by tyto látky mohly být vhodnou alternativou ke stávajícím postupům profylaxe PWD. Pro jejich širší využití by byla vhodná jejich přesnější charakterizace, zavedení standardních metod stanovení složení a vlastností HS pocházejících z různých zdrojů ve vztahu k očekávaným účinkům, případně individuální přístup při jejich využití. Rovněž předpokládáme další experimentální ověřování účinků HS na organismus hospodářských zvířat.

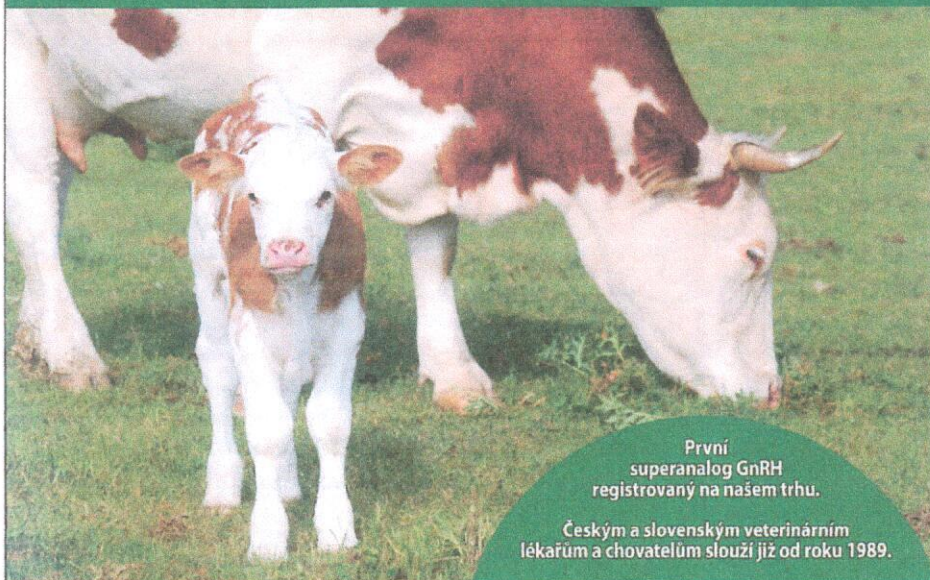
#### Poděkování

Práce vznikla za podpory projektů Ministerstva zemědělství (QJ1210112 a RO0516) a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (LO1218) v rámci programu NPU I.

#### Literatura:

1. HEO, J. M., OPAPEJU, F. O., PLUSKE, J. R., KIM, J. C., HAMPSON, D. J., NYACHOTI, C. M. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2013;97:207-237.
2. KIM, J. C., HANSEN, C. F., MULLAN, B. P., PLUSKE, J. R. Nutrition and pathology of weaned pigs: Nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. *Anim Feed Sci Technol* 2012;173:3-16.

## PRO EFEKTIVNÍ REPRODUKCI A LEPŠÍ RENTABILITU CHOVU



První  
superanalog GnRH  
registrovaný na našem trhu.

Českým a slovenským veterinárním  
lékařům a chovatelům slouží již od roku 1989.

Výrazný podíl expertů a.s. BIOPHARM-VÚBVL  
na projektu výzkumu a vývoje lecirelinu.

SUPERGESTRAN® je přípravek, jehož  
kvalitu a účinnost ověřily  
četné klinické studie  
i praxe.



Obsahuje lecirelin – superanalog GnRH s vysokou  
biologickou aktivitou a protrahovaným účinkem

KVALITA, NA KTEROU JSTE ZVYKLÍ,  
VE TŘECH NOVÝCH BALENÍCH

- 15 x 2 ml
- 1 x 10 ml
- 1 x 20 ml

• Registrován  
pro krávy a jalovice

• Jednodávkové i  
vicedávkové lahvičky  
s propichovací zátkou

• Uchovávání  
při teplotě do 25 °C

• Pro léčbu ovarálních cyst  
v kombinaci s prostaglandinem

Distributor pro ČR a SR:

**BIOPHARM**  
Výzkumný ústav biofarmacie a veterinárních léčiv, a.s.

Pohoří-Chotouň 90, 254 49 Jílové u Prahy, Česká republika  
tel./fax: +420 241 950 669 • www.bri.cz • e-mail: prodej@bri.cz

3. LORENCOVÁ, A., KAEVSKA, M., PŘIKRYLOVÁ, H., TRČKOVÁ, M. Střevní mikroflóra selat a vliv zinku na její složení v profylaxii poodstavových průjmů. *Veterinářství* 2014;64:381-384.
4. FRYDENDAHL, K. Prevalence of serogroups and virulence genes in *Escherichia coli* associated with postweaning diarrhoea and edemadisease in pigs and a comparison of diagnostic approaches. *Vet Microbiol* 2002;85:169-182.
5. FAIRBROTHER, J. M., NADEAU, E., GYLES, C. L. *Escherichia coli* in postweaning diarrhoea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim Health Res Rev* 2005;6:17-39.
6. ŠRÁMKOVÁ ZAJACOVÁ, Z., HÁZOVÁ, K., TRČKOVÁ, M., ALEXA, P. Stanovení rezistence a senzitivity ke kolonizaci střeva kmeny *Escherichia coli* s fimbriovými adheziny F4. *Veterinářství* 2014;64:386-390.
7. VONDRUSKOVA, H., SLAMOVA, R., TRCKOVA, M., ZRALY, Z., PAVLIK, I. Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: a review. *Vet Med (Praha)* 2010;55:199-224.
8. VESELÁ, L., KUBAL, L., KOZLER, J., INNEMANOVÁ, P. Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chem Listy* 2005;99:711-717.
9. JANOS, P., LESNÝ, J., ZÁVODSKÁ, L., KRÍŽENECKÁ, S., HERZOGOVÁ, L. Czech and Slovak brown coals in environmental applications. *Nova Biotechnologica* 2007;VII-1:85-91.
10. PEÑA-MÉNDEZ E. M., HAVEL, J., PATOČKA J. Humic substances—compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *J Appl Biomed* 2005;3:13-24.
11. PIVOKONSKÝ, M., PIVOKONSKÁ, L., BUBÁKOVÁ, P., JANDA, V. Úprava vody s obsahem huminových látek. *Chem Listy* 2010;104:1015-1022.
12. STEPCHENKO, L. M., ZHORINA, L. V., KRAVTSOVA, L. V. The effect of sodium humate on metabolism and resistance in highly productive poultry. *Nauchnye Doki Vyss Shkoly Biol Nauki* 1991;10:90-95.
13. HERZIG, I., NAVRATILOVA, M., SUCHY, P., VECEREK, V., TOTUSEK, J. Model trial investigating retention in ed tissues using broiler chicken fed cadmium and humic acid. *Vet Med (Praha)* 2007;52:162-168.
14. EMEA. Humic acids and their sodium salts, Summary Report. Committee for Veterinary Medicinal Products, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, February 1999, EMEA/MRL/554/99-Final.
15. JOONE, G. K., VAN RENSBURG C. E. J. An in vitro investigation of the anti-inflammatory properties of potassium humate. *Inflammation* 2004;28:169-174.
16. ZRALY, Z., PISARIKOVA, B., NAVRATILOVA, M. The effect of humic acid on mercury accumulation in chicken organs and muscle tissues. *Czech J Anim Sci* 2008;53:472-478.
17. VAN RENSBURG, C. E. J., NAUDE, P. J. Potassium humate inhibits complement activation and the production of inflammatory cytokines in vitro. *Inflammation* 2009;32:270-276.
18. KÜHNERT, M., BARTELS, K.P., KROLL, S., LANGE, N. Veterinary pharmaceuticals containing humic-acid for therapy and prophylaxis for gastrointestinal-diseases of dog and cat. *Monatsh Veterinarmed* 1991;46:4-8.
19. KOCABAGLI, N., ALP, M., ACAR, N., KAHRAMAN, R. The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. *Poultry Sci* 2002;81:227-230.
20. YASAR, S., GOKCIMEN, A., ALTUNTAS, I., YONDEN Z., PETEKKAYA E. Performance and ileal histomorphology of rats treated with humic acid preparations. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2002;86:257-264.
21. TAKLIMI S. M., GHAHRI H., ISAKAN M. A. Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. *Agric Sci* 2012;3:663-668.
22. ISLAM, K. M. S., SCHUHMACHER, A., GROPP, J. M. Humic acid substances in animal agriculture. *Pak J Nutr* 2005;4:126-134.
23. VAN RENSBURG, C. E. J., CASEY, H. N., ROTTINGHAUS, G. E. In Vitro and In Vivo Assessment of Humic Acid as an Aflatoxin Binder in Broiler Chickens. *Poultry Sci* 2006;85:1576-1583.
24. SHERMER, C. L., MACIOROWSKI, K. G., BAILEY, C. A., BYERS, F. M., RICKE, S. C. Caecal metabolites and microbial populations in chickens consuming diets containing a mined humate compound. *J Sci Food Agric* 1998;77:479-486.
25. AKSU, T., BOZKURT, A. S. Effect of dietary essential oils and/or humic acids on broiler performance, microbial population of intestinal content and antibody titres in the summer season. *Kafkas Uni Vet Fak Derg* 2009;15:185-190.
26. OZTURK, E., OCAK, N., TURAN, A., ERENER, G., ALTOP, A., CANKAYA, S. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. *J Sci Food Agric* 2012;92:59-65.
27. JI, F., MCGLONE, J. J., KIM, S. W. Effects of dietary humic substances on pig growth performance, carcass characteristics, and ammonia emission. *J Anim Sci* 2006;84:2482-2490.
28. KUNAVUE, N., LIEN, T. F. Effects of Fulvic Acid and Probiotic on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Parameters and Immunity of Pigs. *J Anim Sci Adv* 2012;2:711-721.
29. BAI, H. X., CHANG, Q. F., SHI, B. M., SHAN, A. S. Effects of fulvic acid on growth performance and meat quality in growing-finishing pigs. *Livest Sci* 2013;158:118-123.
30. Gomez-Rosales, S., de Angeles, L. Addition of a Worm Leachate as Source of Humic Substances in the Drinking Water of Broiler Chickens. *Asian Australas J Anim Sci* 2015;28:215-222.
31. WANG, Q., CHEN, Y. J., YOO, J. S., KIM, H. J., CHO, J. H., KIM, I. H. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *Livest Sci* 2008;117:270-274.
32. PÍSARIKOVÁ, B., ZRALÝ, Z., HERZIG, I. The effect of dietary sodium humate supplementation on nutrient digestibility in growing pigs. *Acta Vet Brno* 2010;79:349-353.
33. KIM, S. W., HULBERT, L. E., RACHUONYO, H. A., MCGLONE, J. J. Relative availability of iron in mined humic substances for weanling pigs. *Asian Australas J Anim Sci* 2004;17:1266-1270.
34. Edmonds, M. S., Johal, S., Moreland, S. Effect of supplemental humic and butyric acid on performance and mortality in broilers raised under various environmental conditions. *J Appl Poult Res* 2014;23:1-8.
35. CHONG-HUA, CH., JUN-JEN, L., FUNG-JOU, Y., MEI-LING, L., YASHANG, H., TIEN-SHANG, H. The effects of humic acid on the adhesibility of neutrophils. *Thromb Res* 2002;108:67-76.
36. Tohid, T., Hasan, G., Alireza, T. Efficacy of mannanoligosaccharides and humate on immune response to Avian Influenza (H9) disease vaccination in broiler chickens. *Vet Res Commun* 2010;34:709-717.
37. WEBER, T. E., VAN SAMBEEK, D. M., GABLER, N. K., KERR, B. J., MORELAND, S., JOHAL, S., EDMONDS, M. S. Effects of dietary humic and butyric acid on growth performance and response to lipopolysaccharide in young pigs. *J Anim Sci* 2014;92:4172-4179.
38. AKSU, M. I., KARAOGLU, M., KAYA, M., ESENBUGA, N., MACIT, M. Effect of dietary humate on the pH, TBARS and microbiological properties of vacuum- and aerobic-packed breast and drumstick meats of broilers. *J Sci Food Agric* 2005;85:1485-1491.
39. VUCSKITS, A. V., HULLÁR, I., BERSÉNYI, A., ANDRÁSOF SZKY, E., KULCSÁR, M., SZABÓ, J. Effect of fulvic and humic acids on performance, immune response and thyroid function in rats. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2010;94:721-728.
40. TRCKOVA, M., LORENCOVA, A., HAZOVA, K., SRAMKOVA ZAJACOVA, Z. Prophylaxis of post-weaning diarrhoea in piglets by zinc oxide and sodium humate. *Vet Med (Praha)* 2015;60:351-360.
41. KAEVSKA, M., LORENCOVA, A., VIDENSKA, P., SEDLAR, K., PROVAZNIK, I., TRCKOVA, M. Fecal microbiota in weaned piglets treated with zinc oxide and humates studied by 454-pyrosequencing. *Vet Med (Praha)* 2016;61:328-336.
42. TRCKOVA, M., LORENCOVA, A., BABAK, V., NECA, J., CIGANEK, M. Effect of sodium humate as a partial replacement for a pharmacological dose of zinc oxide on the health, oxidative stress status and fatty acid profile in weaned piglets. *Vet Med (Praha)* 2016; accepted.

**Adresa autorky:**

**Ing. Martina Trčková, Ph.D.**

**Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.**

**oddělení Bezpečnost potravin a krmiv**

**Hudcova 70**

**621 00 Brno**

**email: trckova@vri.cz**