

Skład mikroflory kału prosiąt i tuczników otrzymujących dodatek preparatu probiotycznego i/lub kwasu benzooesowego

Julitta Gajewska¹, Maria Masznicz¹, Anna Rekiel², Martyna Batorska²,
Ewelina Pawlicka¹, Justyna Więcek²

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Rolnictwa i Biologii, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów,

ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

²Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Nauk o Zwierzętach, Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt,

ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Celem pracy była ocena efektywności oddziaływania na mikroflorę przewodu pokarmowego świń preparatów bakteryjnych zawierających szczepy o potencjalnym oddziaływaniu probiotycznym oraz preparatu zawierającego kwas organiczny. Wykonano dwa doświadczenia. W doświadczeniu I prosięta (16 szt.) żywione standardową mieszanką podzielono na cztery grupy. Prosiętom z grupy KN nie podawano dodatków, prosięta K otrzymały antybiotyk paszowy – flawomycynę, Lactiferm[®] podano prosiętom z grupy D1, a Biogen[®] – prosiętom z grupy D2. Probiotyki podano po urodzeniu i w 12. dniu życia. Kał do badań pobrano dwukrotnie, tydzień przed i 3 dni po odsadzeniu prosiąt od loch. W II doświadczeniu 12 tuczników żywionych systemem dwufazowym podzielono na cztery grupy. Grupa KN nie otrzymała dodatku, tuczniom D3 podano z paszą Cylactin[®], zwierzętom z grupy D4 podano z mieszanką kwas benzooesowy, a tuczni z grupy D5 otrzymywały Cylactin[®] i kwas benzooesowy. Kał do badań pobrano od zwierząt w I i II fazie tuczu, przy masie ciała około 40 i 70 kg. Wykorzystując różne podłoża mikrobiologiczne wykonano ilościowe oznaczenia mikroflory i morfologiczne drobnoustrojów oraz biochemiczną identyfikację wybranych mikroorganizmów (testy API). Uzyskane wyniki wskazują na korzystne, prozdrowotne i determinujące osiągnięcie niskiego współczynnika coli/lacto oddziaływanie zastosowanych preparatów na mikroflorę przewodu pokarmowego prosiąt i tuczników. Potwierdza to ich przydatność do praktycznego stosowania w chowie świń.

SŁOWA KLUCZOWE: świnię / preparaty bakteryjne / zakwaszacz / mikroflora jelit

Korzystając z odkrycia pożytecznej roli niektórych mikroorganizmów firmy biotechnologiczne wytworzyły różne dodatki paszowe, które następnie znalazły zastosowanie w praktycznym chowie zwierząt. Wdrożenie do praktyki poprzedziły badania

wykonane na modelach zwierzęcych. Wykazano w nich, że probiotyki wpływają korzystnie na stan mikrobiologiczny treści jelit [9]. Po ich podaniu liczebność korzystnych dla organizmu gospodarza bakterii, wykazujących zdolność do adherencji i czasowej kolonizacji w przewodzie pokarmowym, się zwiększa. Działają one antagonistycznie w stosunku do bakterii patogennych, wykazując jednocześnie duże zdolności do przetrwania w środowisku przewodu pokarmowego. Zwiększają wykorzystanie paszy dzięki produkcji i wydzielaniu enzymów hydrolitycznych. Produkują substancje antybakteryjne, tj. kwasy organiczne, bakteriocyny i nadtlenek wodoru [15], konkurują z patogenami o składniki odżywcze, wykazują adhezję kompetencyjną [5, 15]. Działają na różnych poziomach i za pośrednictwem wielu mechanizmów; najczęściej jest to oddziaływanie pozytywne [1, 2, 3, 7, 8].

Zamiennie za antybiotyki paszowe wprowadzono w żywieniu trzody chlewnej dodatki zawierające potencjalnie probiotyczne szczepy bakterii, jak również kwasy organiczne. Ich stosowanie okazało się produkcyjnie korzystne [9, 10, 11, 12, 14].

Celem pracy była ocena efektywności oddziaływania na mikroflorę przewodu pokarmowego świń preparatów bakteryjnych zawierających szczepy o potencjalnym oddziaływaniu probiotycznym i/lub kwasu organicznego.

Materiał i metody

Wykonano dwa doświadczenia. W I doświadczeniu 16 prosiąt podzielono na cztery grupy (po 4 sztuki w grupie, płeć 1:1). Prosiętom z grupy KN (kontrolne negatywne) nie podano żadnych dodatków. Prosięta z grupy K (kontrolne) otrzymały antybiotyk flawomycynę, w ilości 8 mg/1 kg mieszanki. Prosiętom doświadczalnym podano Lactferm[®] (grupa D1), który zawierał szczep *Enterococcus faecium* M-74 (NCIB 11181) – w 1 dawce aplikacyjnej 5×10^9 CFU oraz wit. AD₃E i Fe (40 g), lub Biogen[®] – $11,7 \times 10^{12}/1$ g (grupa D2), który zawierał szczepy: *Bifidobacterium bifidum* BB-241, *B. bifidum* BB-108, *B. bifidum* BB-94, *B. bifidum* BB-77, a także *Enterococcus faecium* EF-42, *Lactobacillus acidophilus* LA-31, *Pediococcus acidilactici* PAL-34 – jednorazowa dawka 0,3 g/szt. zawierała $2,88 \times 10^{10}$. Wymienione preparaty podawano prosiętom dwukrotnie, tj. po urodzeniu i w 12. dniu życia. Kał do badań pobierano na tydzień przed odsadzeniem i po 3 dniach od odsadzenia prosiąt od loch.

W II doświadczeniu 12 tuczników obu płci tuczono systemem dwufazowym (25-55 kg, 55-100 kg). Zwierzęta podzielono na cztery grupy. Tuczniaki z grupy kontrolnej negatywnej (KN) nie otrzymywały do mieszanki paszowej żadnego dodatku. W grupach doświadczalnych zastosowano: grupa D3 – Cylactin[®] w ilości 70 g/tonę mieszanki, zawierający szczep *Enterococcus faecium* NCIB 10415; grupa D4 – kwas benzoesowy w ilości 5 kg/tonę mieszanki, grupa D5 – Cylactin[®] i kwas benzoesowy (1:1). Kał do badań pobierano dwukrotnie, tj. w I i II fazie tuczcu, przy masie ciała około 40 i 70 kg.

W badaniach mikrobiologicznych wykonano ilościowe oznaczenia mikroflory i morfologiczne drobnoustrojów oraz biochemiczną identyfikację wybranych mikroorganizmów (testy API).

W celu ilościowego oznaczenia badanej mikroflory wykonano posiewy metodą płytek lanych i metodą probówkową. Przygotowano rozcieńczenia materiału badawczego od 10^{-1} do 10^{-7} , naniesiono po 1 cm^3 zawiesiny na jałowe, puste szalki Petriego i zalewano je wystudzonymi do temperatury 50°C odpowiednimi podłożami mikrobiologicznymi. Dla każdego podłoża użyto 2 różnych rozcieńczeń materiału biologicznego, wykonano 3 powtórzenia dla każdego rozcieńczenia.

Spośród kolonii wyrosłych na różnych podłożach mikrobiologicznych wyodrębniło różne grupy mikroorganizmów – bakterii i grzybów. W celu oczyszczenia kolonii wykonano posiewy redukcyjne. Podstawą do identyfikacji drobnoustrojów i określenia ich przynależności systematycznej było zbadanie charakterystycznych cech dla danej grupy, rodzaju i gatunku, a następnie zanalizowanie informacji i określenie przynależności systematycznej, zgodnie z systematyką według Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Do identyfikacji mikroorganizmów posłużyły: obserwacja morfologii kolonii, ocena kształtu komórki i reakcji na barwniki, cechy wzrostu, testy biochemiczne.

W badaniach mikrobiologicznych używano następujących podłoży: agar odżywczy – AG (firma BTL Sp. z o.o. Zakład Enzymów i Peptonów), agar odżywczy z dodatkiem 10% odwłóknionej krwi baraniej (firma Gramer Sp. z o.o.), podłoże agarowe wg Sabouraud'a – S, wg Eijkmana – E, wg Mc Conkey'a – MC, agar – APT (firmy Merck®), podłoże wg Mana, Rogosa i Sharpe'a – MRS, podłoże wg Burzyńskiej z azydkiem sodu – AZ, wg Martina z dodatkiem streptomycyny – M. Użyto API-testy firmy BioMerieux Sp. z o.o. (API 50CH, API20A, API STREP), płynne podłoża do API-testów (API 50CHL, API 20A, API 20 Strep., Suspension medium 2 ml i 5 ml), odczynniki do API Strep: ZYM A, ZYM B, NIT 1, NIT 2, NIN.

Temperatura inkubacji dla każdej grupy badanych mikroorganizmów wynosiła 30°C . Dla większości mikroorganizmów inkubacja trwała 48 godzin, dla promieniowców *Bifidobacterium spp.* czas hodowli zwiększano do 72 godzin. Hodowle prowadzono w warunkach tlenowych, z wyjątkiem hodowli *Bifidobacterium spp.* Płytki z podłożem Sabouraud'a umieszczano w anaerostatach i doprowadzano do beztlenowych warunków za pomocą generatora Anaerocult®.

Do zliczania kolonii bakterii użyto licznika firmy Stuart Scientific oraz mikroskopu świetlnego firmy Zeiss i mikroskopu Nikon Eclipse C 600 z kamerą Nikon do cyfrowej analizy obrazu. Zliczone kolonie bakteryjne, po uwzględnieniu stosowanego rozcieńczenia, wyrażono w JTK w 1 g świeżego kału, a następnie przeliczono na ilość JTK w 1 g suchej masy (JTK g^{-1}) po uprzednim godzinnym suszeniu w temp. 105°C .

W celu oznaczenia proporcji ilościowej między bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae* a probiotycznymi bakteriami mlekowymi obliczono współczynnik coli/lacto.

Wyniki i dyskusja

Doświadczenie I

W kale prosiąt przed odsadzeniem, otrzymujących po urodzeniu i w 12. dniu życia dodatek preparatu probiotycznego ze szczepem *Enterococcus faecium* lub szczepów *Bifidobacterium*, stwierdzono wyższą liczbę bakterii kwaszających, w porównaniu z pro-

siętami, którym podano flawomycynę. Tendencji tej nie potwierdzono po odsadzeniu prosiąt. W grupie KN liczebność bakterii kwaszących utrzymywała się na w miarę stabilnym poziomie, natomiast w pozostałych grupach, tj. K, D1 i D2, nastąpiło zmniejszenie ich liczebności (tab. 1).

Wysoka liczebność bifidobakterii w grupie K przed odsadzeniem może wynikać z oporności tych probiotycznych szczepów na flawomycynę. Mogły się one mnożyć, zajmując nisze ekologiczne bakterii wrażliwych na antybiotyki. Wysoki poziom promieniowców *Bifidobacterium spp.* w grupie D2 wynikał z obecności tych drobnoustrojów w mieszance probiotycznej w postaci aż 4 różnych szczepów *Bifidobacterium bifidum*. Po odsadzeniu liczba bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* znacząco się obniżyła we wszystkich grupach, co było zjawiskiem niepożądanym. Może to wskazywać na krótkotrwałe oddziaływanie zastosowanych preparatów, a nie na zaburzenia homeostazy środowiska bakteryjnego w przewodzie pokarmowym, bowiem nie obserwowano u prosiąt zwiększonego uwodnienia kału.

Wysoki poziom bakterii *Enterococcus spp.* przed odsadzeniem i jeszcze wyższy po odsadzeniu (podłoże AZ) w grupie D1, wskazuje na doskonałą przeżywalność bakterii z rodzaju *Enterococcus* w przewodzie pokarmowym. Wzrost liczby enterokoków w grupie K wynikał prawdopodobnie z oporności tych bakterii na użyte antybiotyki paszowy.

W porównywanych grupach KN, K, D1 i D2 liczebność bakterii *Lactobacillus spp.* i *Pediococcus spp.* (podłoże APT) przed i po odsadzeniu była zmienna (tab. 1). Wzrost liczby laktobacilli i pediokoków w grupie K po odsadzeniu mógł być spowodowany ich opornością na antybiotyki. Spadek liczby tych bakterii w grupie D2 wynikał prawdopodobnie z ich niskiej przeżywalności w warunkach wzmożonego stresu prosiąt w okresie okołoodsadzeniowym. Uzyskane rozbieżne wyniki dla bakterii kwaszących wyrosłych na podłożu Eijkmana i bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Pediococcus* wyrosłych na podłożu APT, wynikają zapewne ze specyfiki tych drugich. Potrzebują one do wzrostu bogatszego w składniki pokarmowe podłoża. Warunki te spełnia podłoże APT. Podłoże Eijkmana może nie wystarczać do optymalnego wzrostu tych bakterii. W badaniach na podłożu Eijkmana obserwowano doskonały wzrost enterokoków, laktokoków i w niewielkim stopniu laktobacilli i pediokoków, a tylko sporadycznie – wymagających warunków beztlenowych bifidobakterii.

W porównywanych czterech grupach stwierdzono przed odsadzeniem niewielkie różnice w ogólnej liczbie bakterii kałowych wyrosłych na agarze odżywcym (tab. 1). Po odsadzeniu dobry wzrost enterokoków wystąpił w grupie D1.

Liczebność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (podłoże MC) była w grupie KN, w porównaniu do trzech pozostałych, zarówno przed jak i po odsadzeniu najwyższa (tab. 1). Flawomycyna w mieszance dla prosiąt z grupy K przyczyniła się do spadku liczebności bakterii z tej rodziny (w tym bakterii *Proteus spp.* i *Escherichia coli*) przed odsadzeniem. Dwukrotny wzrost ich liczebności po odsadzeniu wskazuje na szybkie i skuteczne, ale też krótkotrwałe działanie antybiotyku, szczególnie w sytuacji stresowej, jaką bez wątpienia jest odsadzenie od matki. Po odsadzeniu, w grupach, w których zastosowano probiotyki (D1 i D2) liczebność potencjalnie patogennych drobnoustrojów

Tabela 1 – Table 1
Ogólna liczebność drobnoustrojów w poszczególnych grupach w doświadczeniu I
Total number of microorganisms in selected groups of experiment I

Grupa Group	Termin Term	Ogólna liczebność bakterii Total number of bacteria (AG)	Liczebność – Number of									
			bakterii z rodziny <i>Enterobacteriaceae</i> bacteria from <i>Enterobacteriaceae</i> family (MC)	bakterii kwaszących acidifying bacteria (E)	bakterii z rodzaju <i>Bifidobacterium</i> bacteria from <i>Bifidobacterium</i> genus (S)	grzybów strzępkowych i drożdży hypial fungi and yeasts (M)	bakterii z rodzaju <i>Lactobacillus</i> i <i>Pediococcus</i> bacteria from <i>Lactobacillus</i> and <i>Pediococcus</i> genus (APT)	kałowych enterokoków faecal enterococci (AZ)				
KN	I	25,46 x 10 ⁷	1990,98 x 10 ⁵	42,52 x 10 ⁷	27,57 x 10 ⁷	10,36 x 10 ²	1,75 x 10 ⁸	9,55 x 10 ⁷				
	II	13,45 x 10 ⁷	1368,80 x 10 ⁵	28,78 x 10 ⁷	4,36 x 10 ⁷	15,12 x 10 ²	1,85 x 10 ⁸	3,61 x 10 ⁷				
K	I	25,40 x 10 ⁷	148,80 x 10 ⁵	21,82 x 10 ⁷	143,85 x 10 ⁷	2,73 x 10 ²	3,92 x 10 ⁸	16,10 x 10 ⁷				
	II	19,81 x 10 ⁷	290,75 x 10 ⁵	4,45 x 10 ⁷	3,95 x 10 ⁷	25,79 x 10 ²	12,09 x 10 ⁸	37,33 x 10 ⁷				
D1	I	7,72 x 10 ⁷	1579,05 x 10 ⁵	70,46 x 10 ⁷	30,76 x 10 ⁷	23,27 x 10 ²	5,97 x 10 ⁸	42,96 x 10 ⁷				
	II	53,38 x 10 ⁷	8,68 x 10 ⁵	3,20 x 10 ⁷	1,75 x 10 ⁷	11,67 x 10 ²	8,48 x 10 ⁸	66,13 x 10 ⁷				
D2	I	16,83 x 10 ⁷	1210,92 x 10 ⁵	87,16 x 10 ⁷	105,49 x 10 ⁷	32,26 x 10 ²	13,42 x 10 ⁸	2,59 x 10 ⁷				
	II	20,01 x 10 ⁷	78,25 x 10 ⁵	7,40 x 10 ⁷	2,10 x 10 ⁷	33,37 x 10 ²	7,30 x 10 ⁸	18,75 x 10 ⁷				

Podłoża mikrobiologiczne: AG – agar odżywczy 2%, MC – wg Mc Conkey'a, E – wg Eijkmana, S – wg Sabouraud'a, M – wg Martina, APT – Agar APT, AZ – wg Burzyńskiej

Grupy: KN – brak dodatku, K – antybiotyki flawomycyna, D1 – Lactiferm[®], D2 – Biogen[®]

Termin: I – materiał do badań pobrany od prosiąt przed ich odsadzeniem od lochy ok. 21. dnia życia; II – po odsadzeniu od lochy ok. 30. dnia życia

Microbiological media: AG – nutrient agar, 2%, MC – by Mc Conkey, E – by Eijkman, S – by Sabouraud, M – by Martin, APT – Agar APT, AZ – by Burzyńska

Groups: KN – without additives, K – antibiotic flavomycin, D1 – Lactiferm[®], D2 – Biogen[®]

Term: I – material for investigation, taken from piglets before weaning from mother, about 21th day of life, II – after weaning, about 30th days of life

spadła nawet 1500-krotnie. To pozytywne zjawisko, świadczące o korzystniejszym ilościowym składzie mikroflory w ww. grupach, potwierdzają wyniki uzyskane przez innych autorów [5, 6, 9, 13, 15].

Podawanie prosiętom z paszą bakterii probiotycznych skutkuje obniżeniem pH treści przewodu pokarmowego, gdyż produkują one kwasy organiczne [4]. Kwaśny odczyn sprzyja mnożeniu grzybów; taki wzrost stwierdzono w grupie D1 i D2 (tab. 1). Właściwości antagonistyczne szczepów bakterii kwasu mlekowego w stosunku do nich okazały się niewystarczające i nie zahamowały ich rozwoju. Spadek liczebności grzybów strzępkowych i drożdży obserwowany po odsadzeniu w grupie D1, mógł wynikać z dłuższego działania antagonistycznego użytego w tej grupie probiotyku niż antybiotyku (grupa K) i probiotyku podawanego prosiętom w grupie D2.

Tabela 2 – Table 2
Współczynniki coli/lacto w doświadczeniu I
The coli/lacto indicators in experiment I

Grupa Group	Współczynnik coli/lacto – Indicator coli/lacto	
	przed odsadzeniem before weaning	po odsadzeniu after weaning
KN	0,46	0,47
K	0,06	0,65
D1	0,22	0,02
D2	0,13	0,10

KN – brak dodatku – without additives; K – antybiotyk flawomycyna – antibiotic flavomycin; D1 – Lactiferm; D2 – Biogen

Współczynnik coli/lacto (tab. 2), informujący o proporcji ilościowej między bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae* a probiotycznymi bakteriami mlekowymi (najniższa liczba pałeczek okrężnicy w stosunku do bakterii mlekowych), był najkorzystniejszy dla grupy K przed odsadzeniem i grupy D1 po odsadzeniu. W grupach otrzymujących probiotyki wystąpiły wyraźnie lepsze proporcje ilościowe ww. bakterii w okresie poodsadzeniowym, co wskazuje, że mimo spadku liczby bakterii mlekowych po odsadzeniu stan mikroflory nie został drastycznie zmieniony na korzyść bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*.

Doświadczenie II

Liczba bakterii kwaszących była największa w grupie D5 zarówno w I, jak i II fazie tuczu (podłoże E) – tabela 3. Wskazuje to na korzystny stan mikroflory u świń rosących otrzymujących łącznie probiotyk i zakwaszacz, w porównaniu do pozostałych grup. W II fazie tuczu we wszystkich czterech porównywanych grupach nastąpiło zmniejszenie liczby bakterii kwaszących.

Liczebność beztlenowych promieniowców z rodzaju *Bifidobacterium* (podłoże S) była największa w grupie D3 w I fazie tuczu i wysoka w grupie D5 w I i II fazie tuczu (tab. 3). W II fazie tuczu, w porównaniu z fazą I, nastąpił spadek ich liczebności w grupach KN, D3 i D4.

Tabela 3 – Table 3
Ogólna liczebność drobnoustrojów w poszczególnych grupach w doświadczeniu II
Total number of microorganisms in selected groups of experiment II

Grupa Group	Termin Term	Ogólna liczebność bakterii Total number of bacteria (AG)	Liczebność – Number of									
			bakterii z rodziny <i>Erirobacteriaceae</i> bacteria from <i>Erirobacteriaceae</i> family (MC)	bakterii kwaszących acidifying bacteria (E)	bakterii z rodzaju <i>Bifidobacterium</i> bacteria from <i>Bifidobacterium</i> genus (S)	grzybów sitrzpkowych i drożdży hyphal fungi and yeasts (M)	bakterii z rodzaju <i>Lactobacillus</i> i <i>Pediococcus</i> bacteria from <i>Lactobacillus</i> and <i>Pediococcus</i> genus (MRS)	kałowych enterokoków faecal enterococi (AZ)				
KN	I	10,05 x 10 ⁹	117,80 x 10 ⁶	1,83 x 10 ⁹	2,12 x 10 ⁹	19,33 x 10 ²	20,71 x 10 ⁸	2,83 x 10 ⁹				
	II	4,38 x 10 ⁹	141,94 x 10 ⁶	1,67 x 10 ⁹	1,61 x 10 ⁹	9,70 x 10 ²	5,89 x 10 ⁸	2,04 x 10 ⁹				
D3	I	2,60 x 10 ⁹	1,24 x 10 ⁶	2,12 x 10 ⁹	2,53 x 10 ⁹	9,54 x 10 ²	37,69 x 10 ⁸	2,98 x 10 ⁹				
	II	2,98 x 10 ⁹	9,30 x 10 ⁶	1,61 x 10 ⁹	1,24 x 10 ⁹	9,09 x 10 ²	9,72 x 10 ⁸	2,41 x 10 ⁹				
D4	I	2,60 x 10 ⁹	2,68 x 10 ⁶	2,00 x 10 ⁹	1,97 x 10 ⁹	8,56 x 10 ²	35,84 x 10 ⁸	3,60 x 10 ⁹				
	II	2,76 x 10 ⁹	11,06 x 10 ⁶	1,59 x 10 ⁹	1,63 x 10 ⁹	14,16 x 10 ²	5,12 x 10 ⁸	2,26 x 10 ⁹				
D5	I	6,79 x 10 ⁹	2,00 x 10 ⁶	2,80 x 10 ⁹	2,43 x 10 ⁹	12,83 x 10 ²	37,06 x 10 ⁸	2,36 x 10 ⁹				
	II	4,32 x 10 ⁹	1,97 x 10 ⁶	2,65 x 10 ⁹	2,65 x 10 ⁹	6,80 x 10 ²	8,77 x 10 ⁸	3,18 x 10 ⁹				

Podłoża mikrobiologiczne: AG – agar odżywczy 2%; MC – wg Mc Conkey'a; E – wg Eijkmana; S – wg Sabouraud'a; M – wg Martina; MRS – wg Mana, Rogosa i Sharp'a; AZ – wg Burzyńskiej

Grupy: KN – brak dodatku, D3 – Cylactin®, D4 – kwas benzoesowy, D5 – Cylactin® + kwas benzoesowy

Termin: I – materiał do badań pobrany od tuczników w I fazie tuczu; II – w II fazie tuczu

Microbiological media: AG – nutrient agar 2%; MC – by Mc Conkey; E – by Eijkman; S – by Sabouraud; M – by Martin; MRS – by Man, Rogosa and Sharp; AZ – by Burzyńska

Groups: KN – without additives, D3 – Cylactin®, D4 – benzoic acid, D5 – Cylactin® + benzoic acid

Term: I – material for investigation, taken from fatteners in I phase of fattening, II – in II phase of fattening

Z danych zawartych w tabeli 3 wynika, że liczba bakterii z rodzaju *Enterococcus* (podłoże AZ) była największa w I fazie tuczu w grupie D4 i w II fazie tuczu w grupie D5. Obserwowany wzrost liczby bakterii w grupie D5 w II fazie tuczu, w porównaniu z fazą I, potwierdza korzystne współdziałanie obu zastosowanych dodatków; podanie kwasu organicznego sprzyjało rozwojowi bakterii mlekowych.

Liczba bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Pediococcus* (podłoże MRS) była w grupach doświadczalnych znacząco większa w porównaniu z grupą KN (I faza tuczu). Może to świadczyć o synergicznym oddziaływaniu szczepów probiotycznych *Enterococcus faecium* NCIB 10415 i bakterii *Lactobacillus spp.* oraz *Pediococcus spp.* Niekorzystny spadek ich liczebności w II fazie tuczu wiązał się ze zmniejszeniem produkcji kwasu mlekowego i bakteriocyn, a uzyskany wynik wskazuje na ograniczoną przeżywalność szczepów *Lactobacillus* i *Pediococcus*.

Z agaru odżywczego najczęściej izolowano bakterie z rodzajów: *Proteus*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Staphylococcus*. Są one bakteriami potencjalnie patogennymi. Ich najwyższą liczebność notowano w grupie KN, natomiast w grupach doświadczalnych było ich nawet 5-krotnie mniej (tab. 3). Przewaga pałeczek Gram-ujemnych i gronkowców spowodowała zahamowanie wzrostu innych bakterii, w tym probiotycznych szczepów z rodzaju *Enterococcus*. Zadowalający wynik zaobserwowano w przypadku identyfikacji bakterii należących do rodziny *Enterobacteriaceae* (podłoże MC) – tabela 3. Liczebność tych potencjalnie patogennych drobnoustrojów (w skład których wchodzi m.in. rodzaje *Escherichia* i *Proteus*) była wielokrotnie mniejsza w grupach doświadczalnych niż w grupie KN. Uzyskane wyniki mogą też sugerować silniejsze działanie dodatku podawanego tucznikom z grupy D3 na inhibicję wzrostu bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* niż kwasu organicznego podawanego tucznikom w grupie D4. Jak podaje literatura tematu [5, 15], spadek ilości Gram-ujemnych bakterii kałowych jest związany z obniżeniem zakwaszenia treści, dzięki obecności kwasu mlekowego produkowanego przez bakterie probiotyczne i inne bakterie fermentacji mlekowej.

W I fazie tuczu największą liczebność grzybów strzępkowych (podłoże M) stwierdzono w grupie KN, a najmniejszą w grupie D4 (tab. 3). W II fazie tuczu wystąpił w grupie D4 znaczący wzrost liczebności grzybów strzępkowych i drożdży. Świniom z tej grupy podawano z paszą kwas benzoesowy, a kwasy organiczne – jak podają różni autorzy [5, 11] – mogą wpływać korzystnie na odczyn treści przewodu pokarmowego, i uzyskiwane wyniki chowu. Obniżone pH treści sprzyja rozwojowi grzybów i drożdży. W treści przewodu pokarmowego świń otrzymujących preparat probiotyczny (grupa D3) stwierdzono mniejszą ilość grzybów, gdyż zastosowany dodatek hamował ich wzrost.

Wartości współczynników coli/lacto zarówno w I, jak i II fazie tuczu były niskie, co wskazuje na stabilizację ilościową mikroflory jelitowej tuczników (tab. 4). Liczba bakterii coli w stosunku do bakterii kwasu mlekowego była mniejsza w grupach doświadczalnych w porównaniu z grupą KN. Najniższa wartość współczynnika coli/lacto u tuczników otrzymujących probiotyk i kwas organiczny wskazuje na sumujące, korzystne oddziaływanie zastosowanych dodatków na mikroflorę jelit.

10. REKIEL A., GAJEWSKA J., WIĘCEK J., MISZCZYK A., 2005 – Effect of the addition of feed antibiotic, probiotic or prebiotic on production results and intestinal microflora composition in fatteners. *Electronic Journal of Polish Agricultural University, Animal Husbandry* 8, I, 4, #32.
11. REKIEL A., KULISIEWICZ J., 1996 – Zastosowanie dodatków zakwaszających i probiotycznych w produkcji prosiąt. *Medycyna Weterynaryjna* 52, 266-269.
12. REKIEL A., WIĘCEK J., 1996 – Wpływ preparatu Biogen i Microferm-fer na wyniki chowu prosiąt. *Medycyna Weterynaryjna* 52, 187-190.
13. ROLFE R.D., 2000 – The role of probiotics cultures in the control of gastrointestinal health. Symposium: Probiotic bacteria: Implications for human health. *The American Society for Nutritional Sciences*, 396-402.
14. SIUTA A., MIGDAŁ W., 1999 – Efektywność stosowania niektórych krajowych dodatków probiotycznych w odchowie prosiąt. *Medycyna Weterynaryjna* 55, 247-250.
15. ŚLIŻEWSKA K., BIERNASIAK J., LIBUDZISZ Z., 2006 – Probiotyki jako alternatywa dla antybiotyków. *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej – Chemia Spożywcza i Biotechnologia* 70, 79-91.

Julitta Gajewska, Maria Masznicz, Anna Rekiel,
Martyna Batorska, Ewelina Pawlicka, Justyna Więcek

Composition of intestinal microflora in faeces of piglets and fatteners, receiving the addition of probiotic preparation and/or benzoic acid

S u m m a r y

The aim of the work was to evaluate the effectiveness of impact of bacterial preparation, containing strains with potential probiotic effect and of preparation, containing organic acid, on microflora of alimentary tract of pigs. Two experiments were carried out. In experiment I, 16 piglets, fed the standard mixture, were divided into four groups. Piglets from group KN did not receive any additives whereas piglets from K group received feed antibiotic – flavomycin. Lacti-ferm[®] was added to feed for the piglets from group D1 and Biogen[®] – for the piglets of D2 group. The probiotics were administrated after birth and on the 12th day of life. Faeces for the experiment were collected twice, one week before and 3 days after weaning of the piglets. In experiment II, 12 fatteners, fed by two-phase system, were divided into four groups. KN group did not receive any additive while D3 fatteners received Cylactin[®] with their feed; the animals from group D4 were fed the mixture with the addition of benzoic acid and fatteners of group D5 received Cylactin[®] and benzoic acid in their feed. Faeces for tests were collected from animals in 1st and 2nd stage of fattening when body weights were equal to 40 and 70 kg. Quantitative biochemical and morphological determinations of microorganisms, using different microbiological media, were carried out (API tests). The obtained results indicate the favourable and health-promoting effect of the employed preparations on intestinal microflora of piglets and fatteners, decisive in reaching a low coli/lacto coefficient. It confirms their suitability for practical application in pig management.