

WPLYW PREPARATU PROBIOTYCZNEGO NA PRZYROSTY MASY CIAŁA, STAN UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO I ZDROWIE CIELĄT

Iwona Radkowska¹, Agata Szewczyk²

Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, 32-083 Balice k. Krakowa

¹Zakład Hodowli Bydła,

E-mail: iwona.radkowska@iz.edu.pl, tel.: 666 081 249

ORCID: 0000-0002-8780-1585

²Zakład Systemów i Środowiska Produkcji

ORCID: 0000-0002-8013-8442

Abstrakt

*Celem prowadzonych badań było określenie wpływu preparatu zawierającego bakterie probiotyczne na przyrosty masy ciała oraz zdrowotność cieląt. Doświadczenie przeprowadzono na cielętach rasy polskiej holsztyno-fryzyskiej w wieku od 2. do 60. dnia życia. Badania przeprowadzono na 2 grupach cieląt: Grupa I (grupa kontrolna), Grupa II (doświadczalna, otrzymująca preparat probiotyczny). Czynnikiem doświadczalnym było podawanie cielętom dwa razy dziennie po 20 ml preparatu zawierającego bakterie probiotyczne. W celu wykonania analiz laboratoryjnych w trakcie doświadczenia pobierano krew oraz kał. Materiał pobierano w 7., 30. oraz 60. dniu od urodzenia (+/-2 dni). W pobranej krwi wykonano analizy morfologiczne krwi, oznaczono poziom immunoglobulin w klasach IgA, IgM i IgG, natomiast w kale wykonano badania mikrobiologiczne oraz parazytologiczne. W trakcie badań prowadzono systematyczną ocenę stanu zdrowia oraz przyrostów masy ciała. Na podstawie uzyskanych wyników u cieląt otrzymujących preparat probiotyczny (Grupa II) stwierdzono o około 12% większe dzienne przyrosty masy ciała oraz wyższą końcową wagę ciała. W okresie badawczym stwierdzono nieregularne wahania liczby leukocytów oraz hemoglobiny. Liczba erytrocytów oraz hematokryt dla obu grup wykazywały tendencje wzrostowe. Stężenia IgG, IgM, IgA w surowicy były nieco wyższe w grupie otrzymującej preparat probiotyczny, najwyższe wartości IgG stwierdzono w obydwu grupach w osoczu w 7. dniu życia. Badania mikrobiologiczne kału wykazały największą ogólną ilość bakterii, zarówno w grupie I jak i II w pierwszym pobraniu, czyli w 7. dniu życia, w kolejnych terminach odnotowano ich istotny ($p \leq 0,05$) spadek. Podobne zależności stwierdzono w przypadku *E. coli* oraz *Clostridium perfringens*. W badanym materiale stwierdzono jaja nicieni żołądkowo-jelitowych z rzędu Strongylida (średnia intensywność inwazji od 20 do 40 EPG) oraz kokcydia z rodzaju *Eimeria* sp. (10–30 OPG). Badania parazytologiczne kału nie wykazały w żadnej z badanych prób oocyst *Cryptosporidium* sp.. Uzyskane wyniki wskazują, iż podawanie preparatu probiotycznego korzystnie wpłynęło na przyrosty masy ciała cieląt oraz ich końcową wagę. Korzystnie wpłynęło także na parametry morfologiczne krwi, stężenie immunoglobulin oraz mikroflorę i parazytologię przewodu pokarmowego.*

Słowa kluczowe: cielęta, preparat probiotyczny, przyrosty masy ciała, parametry morfologiczne, przeciwciała odpornościowe

Wstęp

Najtrudniejszym okresem w hodowli cieląt jest okres do końca 3. miesiąca życia (Stenzel i in., 2000). Pierwsze miesiące życia cieląt to intensywny wzrost tkanek i narządów, rozwijają się przedłożadki, a także kształtuje się odporność organizmu. Badania wykazują, że poziom zarządzania gospodarstwem ma duży wpływ na zachorowalność i śmiertelność cieląt. Pomimo znacznych postępów w hodowli i utrzymaniu cieląt mlecznych w Stanach Zjednoczonych, jedno na dziesięć cieląt umiera przed odsadzeniem (Hulbert i Moisa, 2016). Śmiertelność cieląt w Holandii przed pierwszym rokiem życia wynosi natomiast około 16,5%. Dzieląc pierwszy rok życia na trzy kategorie wiekowe, współczynnik umieralności w okresie poporodowym cielęta (≤ 14 dni) – wynosi 3,3%; u wcześniej odsadzonych (od 15 do 55 dni) – 4,5% a u odsadzonych >56 dni – 3,1% (Santman-Berends i in., 2019). Wynika to ze znacznych zmian środowiskowych w tym okresie, przy jednoczesnej niskiej odporności nowonarodzonych cieląt. W przebiegu prawidłowego wzrostu i rozwoju zwierząt istotną rolę odgrywa mikroflora przewodu pokarmowego. Flora bakteryjna jelit reguluje procesy trawienia, przemiany materii oraz aktywność układu odpornościowego. W przypadku zachwiania jej równowagi naturalna odporność ulega obniżeniu i łatwiej może dochodzić do zakażeń, zwłaszcza wirusowych (Guarner i Malagelada, 2003). W badaniach wykazano, że zarówno probiotyki, jak i prebiotyki mają ogromny potencjał w zakresie produktywności zwierząt gospodarskich (Uyeno i in., 2015). Probiotyki pełnią wiele funkcji, w tym chronią przed zaburzeniami enteropatycznymi (Timmerman i in., 2005), zwiększają wydajność stosowanej paszy i przyrosty masy ciała (Lesmeister i in., 2004), wpływają na skład mikroflory przewodu pokarmowego i utrzymanie zdrowia jelit, a poprzez stabilność metabolitów i modyfikację układu odpornościowego korzystnie oddziałują na zdrowie zwierząt. Mogą być zatem alternatywnym rozwiązaniem w stosunku do antybiotyków (Allen i in., 2013), których stosowanie budzi obawy ze względów bezpieczeństwa związanego z ryzykiem oporności na antybiotyki oraz z powodu uwalniania antybiotyków do środowiska i utrzymywania się ich pozostałości w produktach zwierzęcych (Martínez-Vaz i in., 2014; Mc Allister i in., 2018). Mechanizmy działania probiotyków nie zostały jasno określone, jednak uważa się, że bakterie poprzez produkcję kwasu mlekowego obniżają pH w jelicie grubym hamując w ten sposób wzrost bakterii patogenicznych (Riddell i in., 2010). Stosowanie dodatków probiotycznych jest szczególnie wskazane w początkowym okresie życia cieląt. Przyjmuje się, że jelito cieląt noworodków jest jałowe, a kolonizacja przewodu pokarmowego rozpoczyna się zaraz po urodzeniu, chociaż pojawiają się doniesienia o możliwości kolonizacji mikrobiologicznej jelit cieląt już na etapie płodowym. Badania mikrobiomu okołoporodowego nowonarodzonych cieląt wskazują na obecność niewielkiej ilości bakterii. W skład flory bakteryjnej wchodzi *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* i *Bacteroidetes*. W pierwszym dniu życia odbywa się kolonizacja przewodu pokarmowego przez bakterie bytujące w środowisku takie jak *Escherichia*, *Shigella* i *Clostridia*, a różnorodność mikrobiomu zaczyna się kształtować mniej więcej po pierwszym tygodniu życia (Alipour i in., 2018; Villot i in., 2020). W miarę dorastania w jelicie grubym powstaje złożony i dynamicznie zmieniający się ekosystem drobnoustrojów o dużym zagęszczeniu żywych bakterii. Monitorowanie molekularne zbiorowisk bakteryjnych jelit cieląt wykazało, iż ulegają one dynamicznym zmianom w ciągu pierwszych 12 tygodni życia (Uyeno i in., 2010).

Działanie i skuteczność probiotyków jest zależna od szczepów, które się wykorzystuje (Bhat i Kapila, 2017). *Lactobacillus casei* 1k 2 ATCC 7469 jest szczepem, który wytwarza białko transportujące foliany (Henderson i in., 1985), inne bakterie należące do rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* zdolne są do wytwarzania kwasu foliowego (Rossi i in., 2011) oraz regulują poziom pirogronianu (Benito de Cárdenas i in., 1987), którego poziom i

przemiany w mleczany w wyniku stresu związanego z porodem i odsadzeniem mogą być zaburzone. Stan taki u cieląt może powodować problemy z detoksykacją i niskim poziomem ATP w mitochondriach, a co za tym idzie osłabieniem ich organizmu i odporności. Szczep *Lactobacillus casei* 1k 2 ATCC 7469 szczególnie polecany jest dla cieląt ze względu na jego rolę w transporcie kwasu foliowego, który bierze udział w wielu przemianach w żywym organizmie np. metabolizowanie niektórych aminokwasów, synteza puryn i pirymidyn, synteza metioniny. Odpowiedni jego poziom utrzymuje w dobrej kondycji układ krwiotwórczy oraz nabłonek przewodu pokarmowego. Niedobory wynikające ze stanów większego zużycia takie jak biegunka i niedokrwistości, rzutują na stan zdrowia młodego organizmu. Badania prowadzone na młodych zwierzętach pokazują, że krańcowy niedobór kwasu foliowego może rozwinąć się u cieląt lub jagniąt w okresie po odsadzeniu, aż do osiągnięcia pełnej funkcji żywca (Dumoulin i in., 1991). Z kolei *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 jest odpowiedzialny między innymi za konwersję i metabolizm D-biotyny oraz transport i akumulację biotyny. Biotyna odgrywa ważną rolę w metabolizmie kwasów tłuszczowych i glukozy, jak również ma wpływ na zmiany w syntezie włókien keratynowych i różnicowanie tkanki naskórka, rogów i kopyt.

Nie do końca poznane są jeszcze mechanizmy molekularne interakcji między żywicielem – ssakiem a jego mikrobiomem. Najnowsze badania sugerują, że metabolity produkowane przez bakterie jelitowe mogą wpływać na ekspresję genów ssaków poprzez modyfikację epigenetyczną (Ye i in., 2017). Pomimo dużej ilości dostępnych preparatów zawierających mikroorganizmy probiotyczne, które są dostępne w sprzedaży, konieczne jest prowadzenie probiotykoterapii celowanej dostosowanej do potrzeb indywidualnego gospodarstwa i zwierzęcia (Raabis i in., 2019). Istnieją dowody, że mikrobiom jelitowy odgrywa istotną rolę w stymulacji układu odpornościowego, a brak równowagi bakterii w układzie pokarmowym może przyczynić się do rozwoju wielu chorób (Bouskra i in., 2008). Istnieje konieczność prowadzenia dalszych badań nad możliwością wykorzystania mikroorganizmów w odchowie cieląt. Stąd też podjęto badania oceny wpływu preparatu probiotycznego na zdrowotność oraz przyrosty masy ciała cieląt w pierwszych 60 dniach ich odchowu.

Material i metody

Doświadczenie przeprowadzono na fermie krów mlecznych w ZD Kobylany na 20 cielieczkach rasy polskiej holsztyno-fryzyjskiej w wieku od 2. do 60. dnia życia. Doboru cieląt do doświadczenia dokonywano po uprzednim określeniu ilości IgG w sianie, przy użyciu colostrometru. Do doświadczenia wybierane były cieliczki od krów, u których zawartość IgG w mleku oscylowała na poziomie 50–80 g·l⁻¹, co pozwoliło na uzyskanie ujednoczonego pod względem odporności i możliwości adaptacji materiału doświadczalnego. Cieliczki podzielono na dwie grupy: grupę I – kontrolną oraz grupę II – doświadczalną. Zwierzętom z grupy doświadczalnej podawano preparat zawierający bakterie probiotyczne, dwa razy dziennie po 20 ml preparatu. Preparat wg oznaczeń producenta zawierał: *Saccharomyces cerevisiae*: 3,0x10⁴ cfu/ml IFO 0203, mezofilne bakterie fermentacji mlekowej (*Lactobacillus casei* 1k 2 ATCC 7469, *Lactobacillus plantarum* 1 k 2 ATCC 8014) 5,0x10⁷ cfu/ml oraz melasę trzcinową. Podawanie preparatu rozpoczęto w 2. dobie i podawano do 60. dnia życia. Zgodnie z przyjętym na fermie sposobem zarządzania wszystkie cielęta po odłączeniu od matki w 3. dniu po wycieleniu trafiały do cielętnika i odpajane były preparatem mlekozastępczym w stacji odpajania do 60. dnia życia. W gospodarstwie prowadzona była indywidualna kontrola pobrania ilości preparatu mlekozastępczego przez cielęta. Cieliczki do 30. dnia pobierały 6 l preparatu/dzień (135 g preparatu na 1 l wody czyli 810 g na dzień), cieliczki starsze pobierały 8 l preparatu/dzień (1080 g preparatu na dzień). Od samego

początku zwierzęta miały stały dostęp do wody i przyuczane były do pobierania pasz – najpierw ze stacji, a następnie pasz treściwych. Zawartość białka w paszach dla cieląt (preparat mlekozastępczy, musli, mieszanka CJ) kształtowała się na poziomie 20–22%. Preparat mlekozastępczy zawierał: 20% białka surowego, 10% popiołu surowego, 18% stanowiły oleje i tłuszcze surowe, 1,9% lizyna, 0,9% wapń, 0,7% fosfor i 0,8% sód. Mieszanka paszowa uzupełniająca dla cieląt zawierała kukurydzę, susz z lucerny, jęczmień, poekstrakcyjną śrutę sojową z nasion bezłuskowych, poddaną obróbce cieplnej, melasę buraczaną, węglan wapnia, chlorek sodu, fosforan jednowapniowy oraz fosforan magnezu. Skład chemiczny mieszanki był następujący: 18,25% białko surowe, 8,40% popiół surowy, 2,50% tłuszcz surowy, 7,30% włókno surowe. W celu określenia przyrostów masy ciała ważono zwierzęta zaraz po urodzeniu oraz w 60. dniu życia. W trakcie trwania doświadczenia wykonywano codzienną ocenę statusu zdrowotnego cieląt. Harmonogram doświadczenia dostosowano do czynności wykonywanych na fermie. Do wykonania analiz laboratoryjnych wykorzystano materiał (krew oraz kał) pobierany na fermie rutynowo do przesiewowych badań weterynaryjnych oceniających stan zdrowia zwierząt. Materiał pobierany był zgodnie z procedurami. Krew pobierano z żyły jarzmowej, bezpośrednio po pobraniu przekazywano ją do laboratorium weterynaryjnego, gdzie wykonano analizę morfologiczną krwi z rozmazem. Część krwi odwirowywano, a w surowicy wykonywano oznaczenia poziomu immunoglobulin (klas IgG, IgA oraz IgM) metodą immunoenzymatyczną testem ELISA. Kał do badań pobierano z odbytu. Bezpośrednio po pobraniu przewożono w warunkach chłodniczych do laboratorium w celu wykonania oznaczeń mikrobiologicznych. Próbkę kału odważano po 10 g i mieszano z 90 cm³ płynu fizjologicznego w celu wykonania rozcieńczenia wyjściowego 0,1 cm³. W celu oznaczenia wybranych grup drobnoustrojów i określenia ich liczebności zastosowano podłoża mikrobiologiczne: Podłoże TSA do oznaczenia ogólnej liczby bakterii tlenowych mezofilnych – hodowla 24h, 37⁰C. Podłoże SS (różnicująco-wybiórcze podłoże agarowe) – *Salmonella* sp. i *Shigella*, hodowla 24h, 37⁰C. Podłoże Chapmana – *Staphylococcus* sp., hodowla 24h, 37⁰C, Agar Endo – *Escherichia coli*, hodowla 24h, 44⁰C, Podłoże Wilsona–Blaira – *Clostridium perfringens*, hodowla 24h, 37⁰C. Badania parazytologiczne kału zostały wykonane metodą McMastera z wirowaniem w celu wykrycia inwazji pasożytów układu pokarmowego (Roepstorff i Nansen, 1998) oraz zmodyfikowaną metodą Ziehla-Neelsena, w celu wykrycia inwazji *Cryptosporidium* sp. (Henriksen i Pohlenz, 1981). Oznaczenia mikrobiologiczne wykonano w Katedrze Mikrobiologii, a badania parazytologiczne w Zakładzie Zoologii Środowiskowej Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie zgodnie z przyjętą i opisaną metodyką badań. Badania hematologiczne krwi, mikrobiologiczne i parazytologiczne kału cieląt wykonywano w 7., 30. i 60. dniu ich odchowu. Otrzymane wyniki poddano analizie za pomocą testu ANOVA i testu Duncana przy użyciu programu Statistica 12 (StatSoft, Poland 2013).

Wyniki

W przeprowadzonym doświadczeniu, w trakcie 60 dni odchowu stwierdzono wyższe przyrosty masy ciała cieląt w grupie otrzymującej preparat probiotyczny, w grupie I średniodobowe przyrosty wynosiły 480 g, natomiast w grupie II były o około 12% wyższe w stosunku do grupy kontrolnej i wynosiły średnio 536 g·dz⁻¹ (tab. 1). Wyniki analizy wskaźników morfologicznych krwi cieliczek przedstawiono w tabeli 2. W okresie badawczym stwierdzono nieregularne wahania liczby leukocytów oraz hemoglobiny. Liczba erytrocytów oraz hematokryt dla obu grup wykazywały tendencje wzrostowe. Liczba białych krwinek w obydwu grupach utrzymywała się w górnych granicach uznawanych norm (Baumgartner, 2005). W grupie kontrolnej w 30. dniu zanotowano istotny ($p \leq 0,05$) wzrost liczby WBC do poziomu przekraczającego przyjęte normy, jednak w kolejnym badaniu były

one zgodne z normami referencyjnymi. Najwyższy procentowy udział limfocytów stwierdzono w krwi cieliczek grupy I (kontrolnej) w 60. dniu życia, natomiast najniższy w grupie II w pierwszym tygodniu życia.

Tabela 1. Wpływ preparatu probiotycznego na przyrosty masy ciała cieląt i występowanie biegunki
Table 1. Effect of probiotic preparation on body weight gain of calves and incidence of diarrhea

Wyszczególnienie Item	Grupa I Group I	Grupa II Group II
Waga urodzeniowa (kg) Birth weight (kg)	41,9a	42,2a
Waga w 60. dniu życia (kg) Weight at 60 days of age (kg)	70,6a	74,4b
Średnie dzienne przyrosty masy ciała (g/dzień) Average daily weight gain (g·day ⁻¹)	480a	536b
% cieląt z biegunką % of calves with diarrhea	18b	12a

a, b – różnice istotne ($p \leq 0,05$)

a, b – significant differences ($p \leq 0.05$)

Tabela 2. Parametry hematologiczne krwi cieląt
Table 2. Hematological blood parameters in calves

Parametry krwi Blood parameters	Grupa I Group I			Grupa II Group II		
	7*	30	60	7	30	60
WBC – Liczba białych krwinek White blood cells (G·l)	10,65ab	13,18c	9,57a	11,30b	10,43ab	11,40b
RBC – Liczba czerwonych krwinek Red blood cells (T·l ⁻¹)	7,04a	7,39ab	8,22c	7,59b	7,90b	8,52c
HGB – Poziom hemoglobiny Hemoglobin concentration (mmol·l ⁻¹)	5,98b	5,55a	6,15b	6,77c	6,00b	6,40bc
Hct – Hematokryt Hematocrit value (l·l ⁻¹)	0,28a	0,27a	0,29b	0,32c	0,29b	0,30b
MCV – Średnia objętość erycytytu Mean corpuscular volume (fl)	39,80b	36,55a	35,35a	42,10b	36,70a	35,20a
RDW – Rozpiętość rozkładu wielkości erycytów Red blood cell distribution width (%)	16,75c	16,25bc	15,33a	15,43a	15,83b	15,08a
PLT – Płytki krwi Blood platelets (G·l ⁻¹)	563c	525b	507b	587c	472a	509b
MPV – Średnia objętość płytek krwi Mean platelet volume (fl)	5,00	5,00	5,20	5,00	5,00	5,00

Rozmaz manualny wg Schillinga:

Manual blood smear according to Schilling:

Granulocyty kwasochłonne (%) Eosinophilic granulocytes (%)	1	1	2	1	2	2
Segmentowane neutrofile (%) Neutrophilic granulocytes (%)	40b	44b	16a	56c	34ab	32ab
Limfocyty (%) Lymphocytes (%)	56ab	52a	77c	40a	61b	63b
Monocyty (%) Monocytes (%)	2	2	1	2	2	2
Zasadochłonne bazofile (%) Basophilic granulocytes (%)	1	1	2	1	1	1

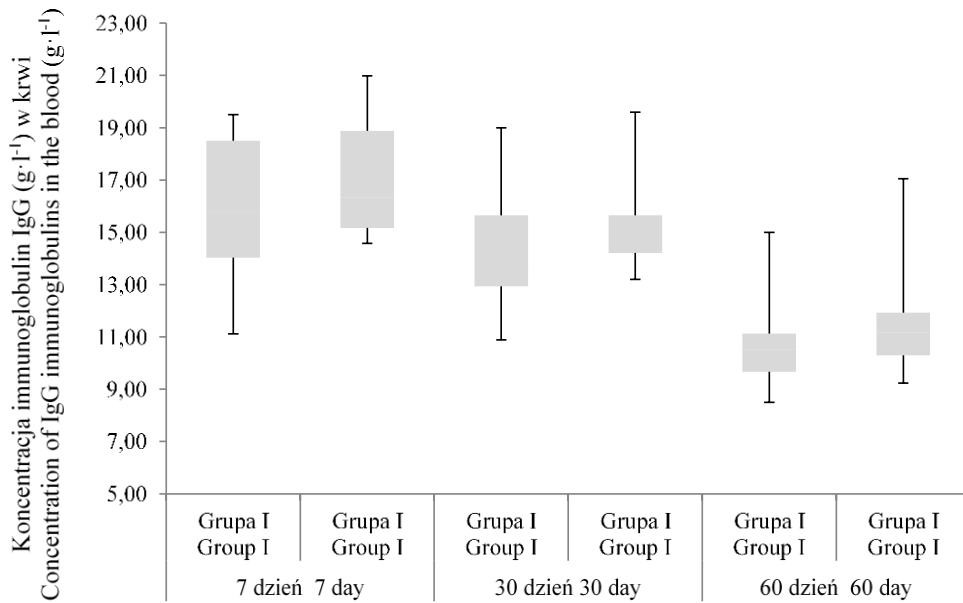
a, b, c – różnice istotne ($p \leq 0,05$)

a, b, c – significant differences ($p \leq 0.05$)

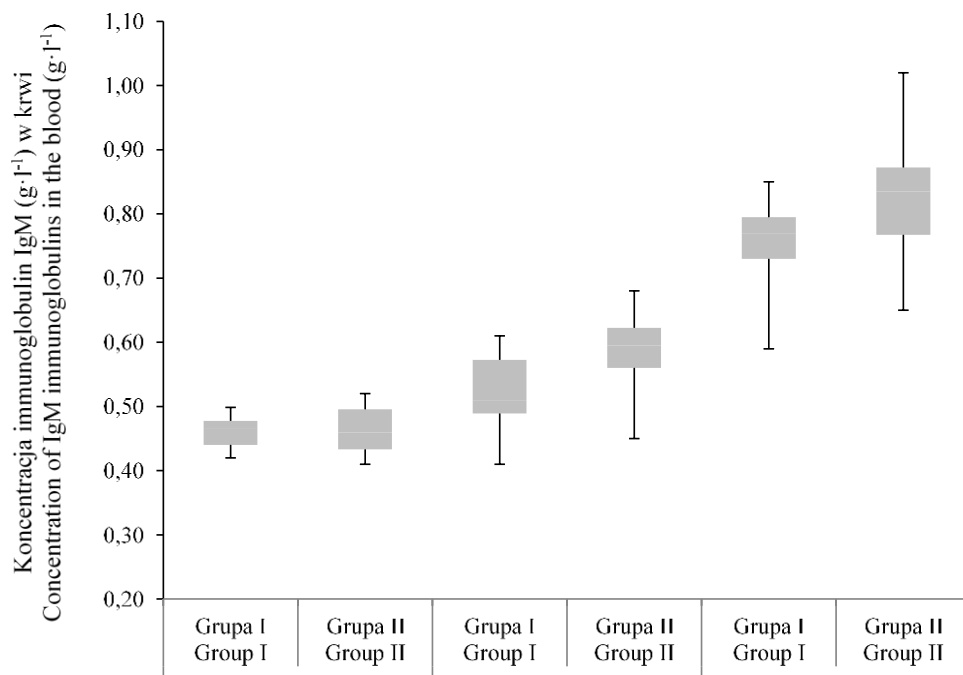
*7., 30. i 60. dzień po urodzeniu

*7, 30 and 60 days after birth

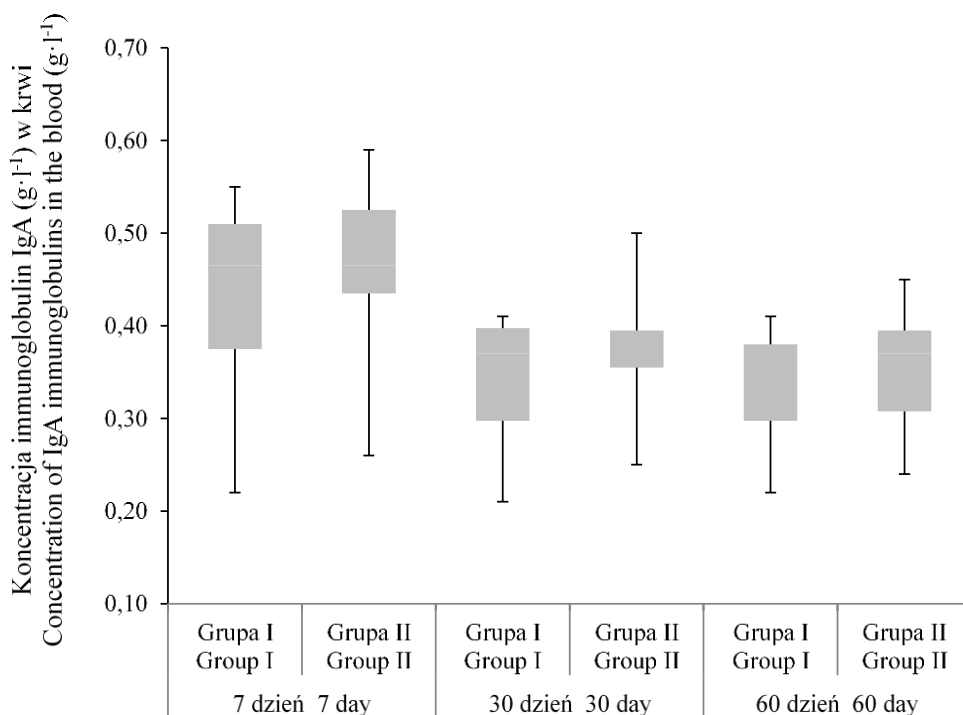
a)



b)



c)



Wykres 1. Koncentracja immunoglobulin w krwi cieląt (g·l⁻¹)

Figure 1. The immunoglobulin concentration in blood of calves (g·l⁻¹)

W zależności od wieku cieląt uzyskano zróżnicowany poziom erytrocytów. Najniższe wartości zaobserwowano w obydwu grupach na początku badań, natomiast najwyższe w 60. dniu życia. Najwyższe stężenie hemoglobiny (6,77 mmol·l⁻¹) i wartość hematokrytu (0,32 l·l⁻¹) stwierdzono w grupie otrzymującej preparat probiotyczny w 7. dniu życia, najniższe wartości stwierdzono w 30. dniu życia w grupie kontrolnej i wynosiły one odpowiednio 5,55 mmol·l⁻¹ i 0,27 l·l⁻¹. Pozostałe parametry czerwonokrwinkowe takie jak MCV, MCH i MCHC wraz z wiekiem cieliczek ulegały obniżeniu. Najwyższe ich wartości stwierdzono w 7. dniu życia, natomiast nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy 30. i 60. dniem.

Wyższe stężenia IgG, IgM, IgA stwierdzono w surowicy grupy otrzymującej preparat probiotyczny (wykres 1a, b, c). Najwyższy poziom IgG stwierdzono w obydwu grupach w 7. dniu życia, w kolejnych pobraniach wartości te ulegały obniżeniu. Podobne zależności stwierdzono w przypadku zawartości IgA, które najwyższe było w 7. dniu, natomiast w 30. i 60. było na zbliżonym poziomie. W przypadku koncentracji IgM stwierdzono wzrost w kolejnych dniach życia.

W przeprowadzonych badaniach mikrobiologicznych kału największą ilość ogólnej liczby bakterii tlenowych mezofilnych wykazano w 7. dniu życia cieląt, zarówno w grupie kontrolnej I, jak i doświadczalnej II (tab. 3). W 30. i 60. dniu życia cieląt odnotowano istotny ($p \leq 0,05$) spadek ogólnej liczby bakterii. Podobne zależności stwierdzono w przypadku *E. coli* oraz *Clostridium perfringens*. W pierwszym miesiącu życia cieląt stwierdzono istotny wzrost ilości bakterii *Staphylococcus sp.* w kale cieliczek. W kale cieląt w wieku do 7. dnia życia, w żadnej z próbek nie stwierdzono obecności *Samonelli sp.* (tab. 4). Natomiast w kale pobranym w 60. dniu życia stwierdzono obecność tych bakterii zarówno w grupie kontrolnej jak i grupie otrzymującej probiotyki, w grupie I kontrolnej ilość bakterii była kilkukrotnie wyższa niż w

doświadczalnej. W badanym materiale stwierdzono jaja nicieni żołądkowo-jelitowych z rzędu Strongylida (średnia intensywność inwazji od 20 do 40 EPG) oraz kokcydia z rodzaju *Eimeria* sp. (10- 30 OPG). Badania parazytologiczne kału nie wykazały w żadnej z badanych prób oocyst *Cryptosporidium* sp.

Tabela 3. Badania mikrobiologiczne kału (jtk·1 cm⁻³)Table 3. Fecal microbiological tests (cfu·1 cm⁻³)

Grupa Group	Czas pobrania Collection time	Ogólna liczba bakterii tlenowych mezofilnych Total no. of aerobic mesophilic bacteria	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>Clostridium perfringens</i>
Grupa I Group I	7	284344000d	nw.	624346d	239350e	81767c	134600b
	30	12556667a	17a	487608c	271020d	242661e	1525a
	60	8221667a	106b	183575a	28392b	81433c	1778a
Grupa II Group II	7	112900000c	nw.	585570d	219044e	43256b	212145c
	30	70250000b	0	337800b	188000c	115800d	1500a
	60	31135714b	14a	171944a	10193a	17486a	1427a

a, b, c, d, e – różnice istotne ($p \leq 0,05$); nw. – nie wykryto

a, b, c, d, e – significant differences ($p \leq 0.05$); nw. – not detected

Tabela 4. Badania parazytologiczne kału

Table 4. Fecal parasitological tests

Grupa Group	Czas pobrania Collection time	<i>Eimeria</i> sp. (OPG)	Strongylida (EPG)	<i>Cryptosporidium</i> sp. (+ / -)
Grupa I Group I	7	0	0	-
	30	0	0	-
	60	30c	40b	-
Grupa II Group II	7	30c	0	-
	30	20b	40b	-
	60	10a	20a	-

a, b, c – różnice istotne ($p \leq 0,05$)

a, b, c – significant differences ($p \leq 0.05$)

Omówienie wyników

W okresie odchowu cieląt wybrane kultury bakteryjne coraz częściej stosowane są jako probiotyki i prebiotyki (Schamberger i Diez-Gonzalez, 2002; Tkalcic i in., 2007). W badaniach wykazano, iż drobnoustroje zawarte w probiotykach szybko namnażają się w przewodzie pokarmowym, konkurując z enterotoksycznymi szczepami *E. coli* i innymi bakteriami patogennymi, ponadto stabilizują kwasowość przewodu pokarmowego oraz zmniejszają częstość występowania biegunek (Von Buenau i in., 2005; Timmerman i in., 2005). Wyniki badań dotyczące stosowania probiotyków u cieląt są jednak niejednoznaczne. Badania wykazują, iż probiotyki i prebiotyki mogą poprawiać strawność suchej masy, pobranie białka surowego i aminokwasów (Li i in., 2008; Kong i in., 2011) oraz zwiększać biodostępność minerałów w jelitach. Udowodniono, że zastosowanie probiotyków korzystnie wpływa na poprawę wyników odchowu, w tym przyrost masy ciała i konwersję paszy, a także średni dzienny przyrost w pierwszych dwóch tygodniach życia. U zwierząt stwierdzano

zmniejszoną częstotliwość występowania i czas trwania biegunki (Abe i in., 1995; Timmerman i in., 2005). Zmniejsza się procent upadków, jak również występowania przypadków chorób dróg oddechowych i biegunek, co przekłada się na poprawę zdrowotności i większe przyrosty masy ciała cieląt (Agarwal i in., 2002, Timmerman i in., 2005). Niektórzy autorzy nie wykazują żadnych korzyści stosowania probiotyków (Higgenbotham i Bath, 1993; Riddell i in., 2010). Różnice te mogą wynikać z zastosowanych szczepów probiotycznych, dawkowania probiotyków, rodzaju i składu stosowanej paszy czy też gatunku badanych zwierząt.

Stwierdzony w niniejszym doświadczeniu korzystny wpływ probiotyków na dzienne przyrosty masy ciała koresponduje z wynikami innych doświadczeń (Lesmeister i in., 2004; Timmerman i in., 2005; Roodposhti i Dabiri, 2012). Lesmeister i in. (2004) odnotowali poprawę średniodobowych przyrostów masy ciała po dodaniu 2% suplementacji probiotyku do diety cieląt. Podobnie Roodposhti i Dabiri (2012) stwierdzili istotnie większe ($p < 0,05$) średnie dzienne przyrosty u cieląt karmionych probiotykiem, prebiotykiem i synbiotykiem. W badaniach, które przeprowadzili Timmerman i in. (2005), podczas 8-tygodniowego doświadczenia wykazano, że podawanie probiotyków cielętom istotnie wpłynęło na średnie dzienne przyrosty masy ciała oraz efektywność karmienia. Stosowanie probiotyków zmniejszyło częstość występowania biegunki i średnią liczbę dni z biegunką, także śmiertelność była zwykle niższa po podaniu preparatu mlekozastępczego z probiotykami. Wyniki przeprowadzonego badania sugerują, iż działanie probiotyków jest silniejsze w sytuacjach stresowych, takich jak transport, nowe środowisko, zmiana diety czy presja infekcyjna (Timmerman i in., 2005). Potwierdzają to także badania Riddell i in. (2010), w których nie wykazano wpływu podawania probiotyku na spożycie suchej masy oraz średni dzienny przyrost masy ciała. Brak różnic w przyrostach oraz stanie zdrowia autorzy tłumaczą tym, iż cielęta utrzymywane w pomieszczeniach zamkniętych, w środowisku o kontrolowanej temperaturze z niewielkim dodatkowym stresem mogą nie wykazywać korzystnej reakcji na probiotyki.

Preparat wykorzystany w badaniach własnych zawierał szczep *Saccharomyces cerevisiae*, który wykazuje wyjątkowe właściwości probiotyczne. Jego odporność na kwaśne środowisko, żółć oraz temperaturę nawet do 60°C sprawia, że dociera do jelit i dynamicznie modeluje ich środowisko pomimo braku kolonizacji (Thorsteinsson i in., 2020; Pais i in., 2020). Przyczynia się on do zmniejszenia stanu zapalnego, hamując wytwarzanie cytokin prozapalnych. Ogranicza wzrost i przyleganie do błon śluzowych bakteriom chorobotwórczym takim jak *Escherichia coli* oraz *Salmonella* lub uszczelnia barierę jelitową w przypadku infekcji bakterią *Shigella flexneri* (Pothoulakis, 2009). W przypadku zakażeń *Clostridium difficile*, które wywołują stan zapalny jelit, produkując egzotoksyny A i B, *Saccharomyces cerevisiae* uwalnia specyficzną proteazę, która trawi toksyny, jak i miejsca wiązania ich z receptorami (Castagliuolo i in., 1996). W badaniach stwierdzono zróżnicowane efekty końcowe zastosowania tego szczepu. Villot i in. (2019) stwierdzili, że pomimo braku wzrostu dziennych przyrostów, końcowej masy ciała cieląt oraz zużycia paszy u cieląt suplementujących *Saccharomyces* ilość przypadków występowania biegunek była mniejsza w porównaniu do cieląt bez suplementacji. Odnotowano także korzystny wpływ tego mikroorganizmu na zwierzęta z biegunką. Autorzy nie stwierdzili obniżenia średnich dziennych przyrostów pomimo choroby cieląt, przy jednoczesnym zmniejszeniu zaburzeń mikrobiomu kałowego w porównaniu do cieląt niesuplementowanych (Villot i in., 2019).

Ważnym wskaźnikiem właściwej homeostazy organizmu są parametry morfologiczne krwi. W przeprowadzonym badaniu wartości parametrów hematologicznych mieściły w zakresie wartości referencyjnych dla cieląt klinicznie zdrowych, podawanych przez Baumgartnera (2005) oraz Knowlesa i in. (2000). Wzrost liczby czerwonych krwinek stwierdzony w kolejnych dniach odchowu koresponduje z wynikami badań Mohri i in. (2007)

oraz Kupczyńskiego i in. (2008), w których stwierdzono fizjologiczny wzrost liczby erytrocytów we krwi z wiekiem cieląt. Spadek poziomu hemoglobiny we krwi od urodzenia do pierwszych tygodni życia młodych cieląt można uznać za trend fizjologiczny (Mohri i in., 2007). Liczba leukocytów w 7. i 60. dniu życia cieląt w grupie otrzymującej probiotyki, przyjmująca górne wartości norm, koresponduje z wynikami innych badań. Agazzi i in. (2014) stwierdzili, że podczas podawania probiotyku profil hematologiczny cieląt odpowiadał fizjologicznemu trendowi ogólnie obserwowanemu w pierwszych fazach życia. Autorzy ci stwierdzili, że przez cały okres eksperymentu w grupie doświadczalnej i kontrolnej występowała nieznaczna limfopenia, związana z monocytózą i neutrofilią. Poziom hemoglobiny i odsetek eozynofili były istotnie wyższe w grupie otrzymującej probiotyk w 8. dniu życia, natomiast odsetek bazofili zmniejszył się pod koniec badania (Agazzi i in., 2014). Wyniki badań Qadis i in. (2014) sugerują, iż leukocyty krwi obwodowej u zdrowych cieląt mogą być stymulowane przez mikroflorę przewodu pokarmowego, której działanie dodatkowo potęguje podanie probiotyków. Podawanie probiotyku na bazie bakterii może u cieląt odsadzonych od matki wzmocnić funkcję odpornościową komórek. Constable i in. (2001) wykazali, iż u cieląt z objawami biegunki występuje wzrost wartości hematokrytu, a także poziomu hemoglobiny i MCHC, czemu towarzyszy zmniejszenie się MCV. Natomiast badania Roodposhti i Dabiri (2012) nie wykazały interakcji pomiędzy czasem podawania probiotyku a liczbą białych krwinek, stężeniem neutrofilii, limfocytów i monocytów. Podobnie Omran i in. (2020) stwierdzili, iż zastosowanie probiotyków nie miało znaczącego wpływu na parametry białych i czerwonych krwinek.

Bierne przenoszenie odporności z siary jest ważne dla zdrowia cieląt; niepowodzenie pasywnego przenoszenia odporności (FPT) wiąże się ze zwiększoną zachorowalnością i śmiertelnością cieląt (Vogels i in., 2013; Boccardo i in., 2016), niższą produktywnością i zwiększonym ryzykiem uboju w późniejszym okresie życia (Faber i in., 2005). Stężenie IgG w surowicy cieląt stopniowo wzrasta po wchłonięciu przez przewód pokarmowy IgG z siary, przy czym maksymalne stężenie obserwuje się po około 24–36 godzinach po karmieniu. Natomiast endogenna produkcja immunoglobulin klas G i M rozpoczyna się pomiędzy 1. a 2. tygodniem życia, powodując wtórny wzrost stężenia IgG (Hassig i in., 2007). Przyjmuje się, że u prawidłowo zaopatrzonych w siarę cieląt stężenie immunoglobuliny G w surowicy w drugiej dobie życia powinno przekraczać $15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, chociaż już stężenie powyżej $10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ uznaje się za wystarczające (Skrzypczak i in., 2011). Stwierdzenie niższego poziomu immunoglobulin ($<10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) wskazuje na niedobór transferu odporności biernej (FTP). W takiej sytuacji dwukrotnie wzrasta ryzyko zachorowania, a 4-krotnie – ryzyko śmierci cieląt (McGee i in., 2005, 2006). Uzyskane w badaniach własnych wysokie stężenie immunoglobulin u cieląt obu badanych grup świadczy o dobrej transferze odporności siarowej. Wyższe zawartości immunoglobulin badanych klas wykazane w grupie otrzymującej preparat probiotyczny są zbieżne z wynikami badań Roodposhti i Dabiri (2012), którzy wykazali wyższe stężenie IgG1 w osoczu w przypadku stosowania preparatów synbiotycznych i prebiotycznych, ale różnice te nie były znaczące. Natomiast Morrill i in. (1995) i Riddell i in. (2010) wykazali, że suplementacja probiotykami nie miała istotnego wpływu na stężenie immunoglobuliny u cieląt. Stwierdzone najwyższe stężenie przeciwciał IgG w 7. dniu życia jest wynikiem biernego transferu przeciwciał z siary, który sprawia iż poziom IgG w osoczu u cieląt jest najwyższy po urodzeniu, a następnie spada aż do momentu, gdy zwierzę jest w stanie wytworzyć własne przeciwciała (Riddell i in., 2010).

Stosowanie bakterii kwasu mlekowego (LAB) zostało zidentyfikowane jako narzędzie do utrzymania równowagi mikrobiologicznej jelit i zapobiegania tworzeniu się oportunistycznych patogennych populacji bakterii. Uważa się, że bakterie kwasu mlekowego wykazują działanie przeciwko *Escherichia coli* i *Salmonella* sp., które można uznać za mikrobiologiczne wskaźniki zdrowia jelit. Stwierdzona mniejsza liczba bakterii *E. coli* w kale

cieląt otrzymujących preparat probiotyczny koresponduje z wynikami innych doświadczeń (Elam i in., 2003; Roodposhti i Dabiri, 2012; Agazzi i in., 2014). Roodposhti i Dabiri (2012) wykazali, iż liczba bakterii *E. coli* jest mniejsza w grupie otrzymującej probiotyki. Działanie to dodatkowo zwiększa się, gdy jednocześnie podawane są probiotyki, prebiotyki i synbiotyki. Prawdopodobnie wynika to z tego, iż mikroorganizmy probiotyczne wytwarzają substancje (kwasy organiczne, nadtlenek wodoru i bakteriocyny), które wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe, dlatego mogą działać hamująco na niektóre patogeny (Roodposhti i Dabiri, 2012). Korzystne działanie wynika także ze współzawodnictwa pomiędzy bakteriami probiotycznymi a bakteriami szkodliwymi o kolonizację powierzchni nabłonka jelita. Badania, które przeprowadzili Elam i in. (2003), wykazały zmniejszenie bakterii *E. coli* w kale wołów, w wyniku zastosowania *Lactobacillus acidophilus*. Agazzi i in. (2014) wykazali większą liczebność bakterii z grupy *Lactobacillus* w stosunku do *E. coli* w grupie otrzymującej probiotyk, co sugeruje korzystną równowagę w mikroflorze jelitowej. Natomiast badania Abneya (2001) nie wykazały znaczącej różnicy w ilości *E. coli* w kale cieląt otrzymujących probiotyki i prebiotyki w stosunku do grupy kontrolnej.

Przed odsadzeniem cielęta są podatne na wiele patogenów, które mogą wpływać na ich późniejszą wydajność. Kokcydioza jest wskazana jako ważna przyczyna biegunk u cieląt. Infekcja rozwija się przez spożycie sporulowanych oocyst z zanieczyszczonej paszy, wody czy w wyniku lizania skażonych powierzchni. Pojawia się często w obiektach z obniżoną higieną, wyższym zagęszczeniem zwierząt oraz stanami stresowymi, takimi jak np. odsadzanie (Verma i in., 2018). Zakażenie *Eimeria* sp. ma wysoką chorobowość zwłaszcza u cieląt, powodując kokcydiozę kliniczną lub subkliniczną. *Eimeria* sp. często występują także w odchodach zdrowych cieląt, dlatego też należy prowadzić jednocześnie obserwacje kliniczne biegunki i badania kału w kierunku *Eimeria* sp. (Cornelissen i in., 1995). Ekonomiczny wpływ kokcydiozy klinicznej, ale także subklinicznej, na przemysł rolniczy jest znaczny, zarówno ze względu na koszt leczenia, jak i obniżoną wydajność chorych zwierząt.

W większości przypadków pozytywne wyniki działania probiotyków dotyczą wzrostu wydajności u różnych gatunków zwierząt i traktowane są jako czynniki wpływające na kształtowanie mikroflory w jelitowej, co w konsekwencji prowadzi do niższej częstości występowania patogenów i wyższego wykorzystania składników odżywczych. Wyniki uzyskane na podstawie przeprowadzonych badań wskazują, iż podawanie preparatu probiotycznego korzystnie wpłynęło na przyrosty masy ciała cieląt oraz ich końcową wagę. Korzystnie wpłynęło także na parametry morfologiczne krwi, stężenie immunoglobulin oraz mikroflorę i parazytologię przewodu pokarmowego.

Piśmiennictwo

- Abe F., Ishibashi N., Shimamura S. (1995). Effect of administration of *Bifidobacteria* and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *J. Dairy Sci.*, 78: 2838–2846.
- Abney M.D. (2001). Effects of feeding direct-fed microbials and prebiotics on receiving calf performance, health, and fecal shedding of pathogens. A thesis in animal science. Texas Tech University. ss. 40.
- Agarwal N., Kamra D.N., Chaudhary L.C., Agarwal L., Sahoo A., Pathak N.N. (2002). Microbial status and rumen enzyme profile of crossbred calves on different microbial feed additives. *Lett. Appl. Microbiol.*, 34: 329–336.
- Agazzi A., Tirloni E., Stella S., Marocolo S., Ripamonti B., Bersani C., Caputo J.M., Dell'Orto V., Rota N., Savoini G. (2014). Effects of species-specific probiotic addition to milk replacer on calf health and performance during the first month of life. *Ann. Anim. Sci.*, 14 (1): 101–115; DOI: 10.2478/aoas-2013-0089.

- Alipour M.J., Jalanka J., Pessa-Morikawa T., Kokkonen T., Satokari R., Hynönen U., Iivanainen A., Niku M. (2018). The composition of the perinatal intestinal microbiota in cattle. *Sci. Rep.*, 8:10437; DOI:10.1038/s41598-018-28733-y.
- Allen H.K., Levine U.Y., Looft T., Bandrick M., Casey T.A. (2013). Treatment, promotion, commotion: Antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends Microbiol.*, 21: 114–119.
- Baumgartner W. (2005). *Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere*. Parey, Berlin. ss. 300.
- Benito de Cárdenas I.L., Ledesma O.V., Olivier G. (1987). Utilization of pyruvate in *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ATCC 7469. *Curr. Microbiol.* 15: 259–264.
- Bhat M.I., Kapila R. (2017) Dietary metabolites derived from gut microbiota: critical modulators of epigenetic changes in mammals. *Nutr Rev.*, 1, 75(5): 374–389.
- Boccardo A., Belloli A., Biffani S., Locatelli V., Dall'Ara P., Filipe J., Restelli I., Proverbio D., Pravettoni D. (2016). Intravenous immunoglobulin transfusion in colostrum-deprived dairy calves. *Vet. J.*, 209: 93–97.
- Bouskra D., Christophe Brézillon C., Bérard M., Werts C., Varona R., Boneca I.G., Eberl G. (2008). Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature*, 456: 507–510.
- Castagliuolo I, LaMont J.T., Nikulasson S.T., Pothoulakis C. (1996). *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infect Immun.*, 64(12): 5225–5232.
- Constable P.D., Thomas E., Boisrame B. (2001). Comparison of two oral electrolyte solutions for the treatment of dehydrated calves with experimentally-induced diarrhoea. *Vet. J.*, 162: 129–140.
- Cornelissen A.W., Verstegen R., van den Brand H., Perie N.M., Eysker M., Lam T. J., Pijpers A. (1995). An observational study of *Eimeria* species in housed cattle on Dutch dairy farms. *Vet Parasitol.*, 56: 7–16; DOI: 10.1016/0304-4017(94)00671-X.
- Dumoulin P.G., Girard C.L., Matte J.J., St-Laurent G.J. (1991). Effects of a parenteral supplement of folic acid and its interaction with level of food intake on hepatic tissues and growth performance of young dairy heifers. *J. Anim. Sci.*, 69: 1657–1666.
- Elam N.A., Gleghorn J.F., Rivera J.D., Galyean M.L., Defoor P.J., Brashears M.M., Yountsdahl S.M. (2003). Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (strains NP45 and NP51) and *Propionibacterium freudenreichii* on performance, carcass, and intestinal characteristics and *Escherichia coli* strain 0157 shedding of finishing beef steers. *J. Anim. Sci.*, 81: 2686–2698.
- Faber N., Faber N.E., McCauley T.C., Ax R.L. (2005). Case study: Effects of colostrum ingestion on lactational performance. *Prof. Anim. Sci.*, 21: 420–425.
- Guarner F., Malagelada J.R. (2003). Gut flora in health and disease. *Lancet.*, 361: 512–519.
- Hassig M., Stadler T., Lutz H. (2007). Transition from maternal to endogenous antibodies in newborn calves. *Vet. Rec.*, 160: 234–235.
- Henderson G.B, Kojima M.J., Kumar H.P. (1985). Kinetic evidence for two interconvertible forms of the folate transport protein from *Lactobacillus casei*. *J. Bacteriol.* 163: 1147–1152.
- Henriksen S.A., Pohlenz J.F. (1981). Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet. Scand.*, 22(3-4): 594–596.
- Higgenbotham G.E., Bath D.L. (1993). Evaluation of *Lactobacillus* fermentation cultures in calf feeding systems. *J. Dairy Sci.*, 76: 615–620.
- Hulbert L.E., Moisés S.J. (2016). Stress, immunity, and the management of calves. *J Dairy Sci.*, 99(4): 3199–3216.

- Knowles T.G., Edwards J.E., Bazeley K.J., Brown S.N., Butterworth A., Warriss P.D. (2000). Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Vet. Rec.*, 147: 593–598.
- Kong X.F., Wu G.Y., Yin Y.L. (2011). Roles of phytochemicals in amino acid nutrition. *Front Biosci.*, S3: 372–384.
- Kupczyński R., Adamski M., Roman A. (2008). Hematological parameters and acid-base balance in blood of calves depending on an iron level in the first week of their life. *Acta Sci. Pol. Zootechnica.*, 7 (3–4): 61–70.
- Lesmeister K.E., Heinrichs A., Gabier M.T. (2004). Effects of supplemental yeast culture on rumen development, growth character and blood parameters in neonatal dairy calves. *J Dairy Sci.*, 87: 1832–1839.
- Li L.L., Hou Z.P., Yang C.B., Wu G.Y., Huang R.L., Tang Z.R., Gong J.H., Yu H., Li T.J., Kong X.F., Pan C.F., Deng J., Wang X.Q., Yin G., Yin Y.L. (2008). Effects of probiotic supplementation on ileal digestibility of nutrients and growth performance in 1-d-old to 42-d-old broilers. *J Sci. Food Agric.*, 88: 135–142.
- Martínez-Vaz B.M., Fink R.C., Diez-Gonzalez F., Sadowsky M.J. (2014). Enteric pathogen-plant interactions: Molecular connections leading to colonization and growth and implications for food safety. *Microbes Environ.*, 29: 123–135.
- McAllister T.A., Wang Y., Diarra M.S., Alexander T., Stanford K. (2018). Challenges of a one-health approach to the development of alternatives to antibiotics. *Animal Frontiers.* 8(2): 10–20.
- McGee M., Drennan M.J., Caffery P.J. (2005). Effect of suckler cow genotype on cow serum immunoglobulin (Ig) levels, colostrum yield, composition and Ig concentration and subsequent immune status of their progeny. *Irish J. Agric. Food Res.*, 44: 173–183.
- McGee M., Drennan M.J., Caffery P.J. (2006). Effect of age and nutrient restriction pre partum on beef suckler cow serum immunoglobulin concentrations, colostrum yield, composition and immunoglobulin concentration and immune status of their progeny. *Irish J. Agric. Food Res.*, 45: 157–171.
- Mohri M., Sharifi K., Eidi S. (2007). Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. *Res. Vet. Sci.*, 83: 30–39.
- Morrill J.L., Morrill M., Feyerherm A.M. (1995). Plasma protein and probiotic as ingredients in milk replacer. *J. Dairy Sci.*, 78: 902–907.
- Omran H.F., Kiroloss F.N., Mohamed A.S. (2020). Effect of CATA PRO[®] on hemato-biochemical parameters, fecal shedding of *Escherichia coli* and frequency of diarrhea in neonatal buffalo calves. *Zag. Vet. J.*, 48 (2): 107–115.
- Pais P., Almeida V., Yılmaz M., Teixeira M.C. (2020). *Saccharomyces boulardii*: What makes it tick as successful probiotic? *J. Fungi*, 6(2): 78.
- Pothoulakis C. (2009). Review article: Anti-inflammatory mechanisms of action of *Saccharomyces boulardii*. *Aliment Pharmacol. Ther.*, 30(8): 826–833.
- Qadis A.Q., Goya S., Yatsu M., Yoshida Y., Ichijo T., Sato S. (2014). Effects of a bacteria-based probiotic on subpopulations of peripheral leukocytes and their cytokine mRNA expression in calves. *J. Vet. Med. Sci.*, 76(2): 189–195.
- Raabis S., Li W., Cersosimo L. (2019). Effects and immune responses of probiotic treatment in ruminants. *Vet. Imm. Immunopathol.* 208: 58–66.
- Riddell J.B., Gallegos A.J., Harmon D.L., Mcleod K.R. (2010). Addition of a *Bacillus* based probiotic to the diet of preruminant calves: influence on growth, health, and blood parameters. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.*, 8: 78–85.
- Roepstorff A., Nansen P. (1998). Epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of swine. *FAO Animal Health Manual*, Roma. ss. 161.

- Roodposhti P.M., Dabiri N. (2012). Effects of probiotic and prebiotic on average daily gain, fecal shedding of *Escherichia coli*, and immune system status in newborn female calves. *Asian-Australas J Anim. Sci.*, 25(9): 1255–1261; DOI: 10.5713/ajas.2011.11312.
- Rossi M., Amaretti A., Raimondi S. (2011). Folate production by probiotic bacteria. *Nutrients*, 3(1): 118–134.
- Santman-Berends I.M.G.A., Schukken Y.H., van Schaik G. (2019). Quantifying calf mortality on dairy farms: Challenges and solutions. *J. Dairy Sci.*, 102(7): 6404–6417.
- Schamberger G.P., Diez-Gonzalez F. (2002). Selection of recently isolated colicinogenic *Escherichia coli* strains inhibitory to *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Protect.*, 65: 1381–1387.
- Skrzypczak W.F., Ożgo M., Lepczyński A., Herosimczyk A. (2011). Defining the blood plasma protein repertoire of seven day old dairy calves – a preliminary study. *J. Physiol. Pharmacol.*, 62: 313–319.
- Stenzel R., Saba L., Wideński K., Chabuz W. (2000). The use of herb extracts in the feeding of calves to three months of age. *Ann. Anim. Sci.*, 27: 123–131.
- Thorsteinsson M., Martin H.L., Larsen T., Sehested J., Vestergaard M. (2020). The effects of supplementation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and postbiotic from *Lactobacillus acidophilus* on the health and growth performance of young Jersey heifer calves. *Anim. Feed Sci.* 29 (3): 224–233.
- Timmerman H.M., Mulder L., Everts H., van Espen D.C., van der Wal E., Klaassen G., Rouwers S.M., Hartemink R., Rombouts F.M., Beynen A.C. (2005). Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *J. Dairy Sci.*, 88: 2154–2165.
- Tkalcic S., Zhao T., Harmon B.G., Doyle M.P., Brown A., Zhao P. (2007). Fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in weaned calves following treatment with probiotic *Escherichia coli*. *J. Food Protect.*, 66: 1184–1189.
- Uyeno Y., Sekiguchi Y., Kamagata Y. (2010). rRNA-based analysis to monitor succession of faecal bacterial communities in Holstein calves. *Lett. Appl. Microbiol.*, 51:570–577
- Uyeno Y., Shigemori S., Shimosato T. (2015). Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity. *Microbes. Environ.*, 30(2): 126–132.
- Verma R., Das G., Saiyam R., Bendigeri S. (2018). Clinical coccidiosis in calves and its treatment. *J. Entomol. Zool. Stud.*, 6(2): 2964–2967.
- Villot C., Ma T., Renaud D.L., Ghaffari M.H., Gibson D.J., Skidmore A., Chevaux E., Guan L. L., Steele M.A. (2019). *Saccharomyces cerevisiae boulardii* CNCM I-1079 affects health, growth, and fecal microbiota in milk-fed veal calves. *J. Dairy Sci.*, 102(8): 7011–7025.
- Villot C., Chen Y., Pedgerachny K., Chaucheyras-Durand F., Chevaux E., Skidmore A., Guan L.L., Steele M.A. (2020). Early supplementation of *Saccharomyces cerevisiae boulardii* CNCM I-1079 in newborn dairy calves increases IgA production in the intestine at 1 week of age. *J. Dairy Sci.*, 103(9): 8615–8628.
- Vogels Z., Chuck G.M., Morton J.M. (2013). Failure of transfer of passive immunity and agammaglobulinaemia in calves in South-West Victorian dairy herds: Prevalence and risk factors. *Aust. Vet. J.*, 91: 150–158.
- Von Buenau R., Jaekel L., Schubotz E., Schwarz S., Stroff T., Krueger M. (2005). *Escherichia coli* strain Nissle 1917: significant reduction of neonatal calf diarrhoea. *J. Dairy Sci.*, 88: 317–323.
- Ye J., Wu W., Li Y., Li L. (2017). Influences of the gut microbiota on DNA methylation and histone modification. *Dig. Dis. Sci.*, 62(5): 1155–1164.

EFFECT OF PROBIOTIC PREPARATION ON WEIGHT GAIN, IMMUNE SYSTEM STATUS AND HEALTH OF CALVES

Iwona Radkowska, Agata Szewczyk

SUMMARY

The aim of the study was to determine the effect of a preparation containing probiotic bacteria on body weight gain and health of calves. The experiment was conducted on Polish Holstein-Friesian calves aged from 2 to 60 days. The study involved 2 groups of calves: Group I (control group), Group II (experimental group receiving the probiotic preparation). The experimental factor was the feeding of calves twice daily with 20 ml of the probiotic bacteria preparation. Blood and feces were collected for laboratory analyses during the experiment. Material was collected on days 7, 30 and 60 after birth (+/-2 days). Morphological blood analyses were performed in the collected blood, immunoglobulin levels in IgA, IgM and IgG classes were determined, while microbiological and parasitological tests were performed in the feces. During the study, a systematic evaluation of health status and weight gain was carried out. Based on the results, calves receiving the probiotic preparation (Group II) showed approximately 12% higher daily weight gains and a higher final body weight. Irregular fluctuations in the number of leucocytes and hemoglobin were found during the study period. The erythrocyte count and hematocrit for both groups showed an upward trend. Serum IgG, IgM, IgA concentrations were slightly higher in the group receiving the probiotic preparation; the highest IgG values were found in both groups in plasma on day 7 of age. Fecal microbiological tests showed the highest total number of bacteria in both groups I and II at the first collection, i.e. on day 7 of age, with a significant ($p \leq 0.05$) decrease on subsequent dates. Similar relationships were found for *E. coli* and *Clostridium perfringens*. Eggs of gastrointestinal nematodes of the order Strongylida (average invasion intensity 20 to 40 EPG) and coccidia of the genus *Eimeria* sp. (10–30 OPG) were found in the material examined. Parasitological examination of feces did not reveal *Cryptosporidium* sp. oocysts in any of the samples tested. The results indicate that the administration of the probiotic preparation had a favorable effect on the weight gain of the calves and their final weight. It also had a favorable effect on blood morphological parameters, immunoglobulin concentrations and gastrointestinal microflora and parasitology.

Key words: calves, probiotic preparation, weight gain, morphological parameters, immune antibodies