ACTA SCIENTIARUM POLONORUM

Czasopismo naukowe założone w 2001 roku przez polskie uczelnie rolnicze

Medicina Veterinaria

Weterynaria

Veterinary Medicine

10 (1) 2011

Bydgoszcz Kraków Lublin Olsztyn
Poznań Siedlce Szczecin Warszawa Wrocław

Executive Board of *Acta Scientiarum Polonorum*

Jerzy Sobota (Wrocław) – chairman

Wiesław Nagórko (Warszawa), Janusz Falkowski (Olsztyn), Florian Gambuś (Kraków), Franciszek Kluza (Lublin), Janusz Prusiński (Bydgoszcz), Stanisław Socha (Siedlce), Waldemar Uchman (Poznań), Bogdan Lasota (Szczecin)

Scientific Board of *Medicina Veterinaria*

Wojciech Zawadzki (Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Poland) – chairman, e-mail: wojciech.zawadzki@up.wroc.pl

Ryszard Bobowiec (University of Life Sciences in Lublin, Poland), Rose Carabaño (Universidad Politecnica de Madrid, Spain), Andrzej Depta (University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland), Dusan Jalc (Slovak Academy of Sciences, Slovakia), Qystein V. Sjaastad (The Norwegian School of Veterinary Science, Oslo, Norway), Jacek Szczawiński (Warsaw University of Life Sciences, Poland), Gustavo Xiccato (University of Padua, Italy)

Bożena Króliczewska (Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Poland) – secretary e-mail: bożena.króliczewska@up.wroc.pl

Covered by: Agro, Ulrich's Database, Copernicus Index, EBSCOhost

ISSN 1644–0676 (print) ISSN 2083–8670 (on-line)

Print edition is an original (reference) edition

Cover design
Daniel Morzyński

Text editor
Ewa Jaworska, e-mail: ewa.jaworska@up.wroc.pl

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Sopocka 23, 50-344 Wrocław, Poland
e-mail: wyd@up.wroc.pl http://www.up.wroc.pl

Printed: 150 + 16 copies Publishing sheets: 2,5 Printing sheets: 2,25

Szanowni Państwo,

Przekazujemy Państwu kolejny zeszyt ACTA SCIENTIARUM POLONORUM Medicina Veterinaria*, czasopisma naukowego wydawanego przez wszystkie polskie uczelnie rolnicze i przyrodnicze w 14 seriach. Seria* Medicina Veterinaria *ukazuje się nakładem Wydawnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.*

Czasopismo nasze publikuje oryginalne prace z zakresu szeroko rozumianej medycyny weterynaryjnej oraz pokrewnych obszarów wiedzy, z naciskiem na aspekty praktyczne. Publikowane są zarówno oryginalne prace badawcze, jak i artykuły o charakterze monograficznym, w języku polskim lub angielskim, ze streszczeniami w obydwu językach, także wszystkie opisy rysunków i tabel są dwujęzyczne. Prace są recenzowane przez najlepszych specjalistów z danej dziedziny. Również w bieżącym numerze dominują prace o charakterze aplikacyjnym.

Od roku 2007 czasopismo wydawane jest jako kwartalnik. Szczegóły dotyczące przygotowania artykułu oraz wymogi redakcyjne można znaleźć na stronie www.acta.media.pl.

Zespół Redakcyjny

Dear Readers,

It is a great pleasure to introduce you the next issue of ACTA SCIENTIARUM POLONORUM Medicina Vetrinaria*, a scientific journal published by all polish universities of environmental sciences. The series of* Medicina Vetrinaria *is released by publishing house of Wrocław University of Environmental and Life Sciences.*

The journal publishes original papers of broadly understood veterinary medicine and related topics, with emphasis on practical aspects. There are published both original research articles and monographs, in Polish or English, with abstracts in both languages, as well all figures' and tables' captions are bilingual. The papers are reviewed by the best specialists in the field. This issue is also dominated by the application problems.

Since 2007 the journal has been published as a quarterly. Details concerning the instruction for authors and editorial requirements can be found at www.media.pl.

Editorial Team

ACTA SCIENTIARUM POLONORUM *Acta Sci. Pol., Medicina Veterinaria 10 (1) 2011, 5-12*
ISSN 1644–0676 (print) ISSN 2083–8670 (on-line)

WPŁYW RÓŻNYCH STĘŻEŃ CITROSEPTU NA WZROST SZCZEPÓW *ASCOSPHAERA APIS IN VITRO*

Paweł Chorbiński, Agnieszka Wójcik

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Streszczenie. Celem badań było ustalenie wrażliwości szczepów otorbielaka pszczelego *Ascosphaera apis* na różne stężenia preparatu Citrosept (Citamani) w warunkach laboratoryjnych. Badania prowadzono na podłożu Sabourauda, posługując się cylinderkową metodą rozcieńczeń wg Buttiego. W doświadczeniu wykorzystano 0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1, 2, 4 i 8% stężenia Citroseptu. Oznaczenia MIC (minimal inhibitory concentration) i MFC (minimal fungicidal concentrations) wykonano w 7. dniu doświadczenia. Średnia wartość MIC dla szczepów użytych w doświadczeniu wyniosła 1,18 ml Citroseptu (0,232% zawartości bioflawonoidów oraz 11,80 mg witaminy C) na 100 ml podłoża, natomiast wartość MFC dla tych szczepów wyniosła 7,20 ml Citroseptu (1,42% bioflawonoidów oraz 72,00 mg wit. C) na 100 ml podłoża. Preparat Citrosept wykazał się znacznym wpływem hamującym wzrost *A. apis* i może znaleźć ewentualne zastosowanie w profilaktyce i zwalczaniu grzybicy otorbielakowej u pszczoły miodnej.

Słowa kluczowe: Citrosept, *Ascosphaera apis*, bioflawonoidy, witamina C

WSTĘP

Grzybica otorbielakowa (*Ascosphaeriosis apium*) jest często występującą chorobą czerwia pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.). Występuje ona w ciągu całego sezonu pszczelarskiego, powodując znaczące obniżenie produkcyjności chorujących rodzin i stanowiąc istotny problem ekonomiczny. Wywoływana jest przez heterotalliczny grzyb – otorbielak pszczeli *Ascosphaera apis* (Maassen ex Claussen). Występowanie grzybicy otorbielakowej jest powodowane między innymi powszechnością występowania patogenu w rodzinach pszczelich i środowisku ulowym, krążeniem jego w populacjach pszczół samotnic i innych owadów oraz powiązane jest z czynnikami środowiskowymi powodującymi obniżanie się odporności rodzin pszczelich na choroby [Harbo 1995, Spivak

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Adres do korespondencji – Corresponding author: Paweł Chorbiński, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: pawel.chorbinski@up.wroc.pl.

i Downey 1998, Gilliam 1986, Spivak i Gilliam 1993]. Wrażliwość lub oporność na grzybicę otorbielakową u pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.) związana jest ściśle z behawioralną odpornością rodzin pszczelich, która jest uwarunkowana genetycznie oraz przekazywana przez matki pszczele swojemu potomstwu. Można ją, w dużym uproszczeniu, określić jako zdolność pszczół do szybkiego wyszukiwania i usuwania zamarłego czerwia pszczelego z komórek plastrów, zanim czynnik chorobotwórczy uzyska zdolność inwazyjną [Gilliam i in. 1983, Oldroyd 1996, Spivak i Downey 1998].

Nasilenie występowania grzybicy otorbielakowej pojawiające się w cyklach kilkuletnich sprawia, że pszczelarze podejmują próby ograniczania inwazji przy użyciu różnych środków chemicznych. W chwili obecnej, z powodu zaliczenia miodu do środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego, nie prowadzi się farmakologicznej terapii tej choroby przy wykorzystaniu leków przeciwgrzybicznych, które doprowadzają do jego kontaminacji. Szczególnie dotyczy to preparatów opartych na nystatynie i klotrimazolu [Gliński i Chmielewski 1979, 1996]. Dlatego dość popularne stało się wprowadzanie do środowiska ulowego kwasów organicznych (np. kwasu mrówkowego, octowego lub cytrynowego), które pogarszają warunki rozwojowe tego grzyba oraz wspomagają zachowania higieniczne pszczół [Kaftanoglu i in. 1992].

Duży nacisk środowisk pszczelarskich na opracowanie nowych możliwości ograniczania występowania chorób czerwia spowodował, że od wielu lat prowadzi się próby wykorzystania substancji naturalnego pochodzenia, głównie wyciągów roślinnych oraz olejków eterycznych [Gliński i in. 1988, Colin i in. 1989, Calderone in. 1994, Liu 1991, 1995, Muszyńska 1999]. W medycynie człowieka i medycynie weterynaryjnej wprowadzono do użytku ekstrakty z owoców cytrusowych, które w badaniach laboratoryjnych wykazały się znaczną aktywnością w stosunku do drobnoustrojów chorobotwórczych oraz mają silne działanie przeciwutleniające i wychwytujące wolne rodniki nadtlenkowe, a także chronią witaminę C przed utlenianiem [Rodov i in. 1995, Fishera i Phillips 2008, Fuselli i in. 2008], a w szczególności ekstrakt otrzymywany z pestek, miąższu i białych części grejpfruta (GSE) [Woedtke i in. 1999, Reagor i in. 2002, Heggers i in. 2002]. Ekstrakty z nasion grejpfrutów charakteryzują się także znaczną aktywnością przeciwgrzybiczą [Kędzia 2001, 2005], która może zostać potencjalnie wykorzystana do ograniczania inwazji *A. apis* w rodzinach pszczelich. Do badań wybrano dietetyczny środek spożywczy otrzymywany z pestek, miąższu i białych części grejpfruta (GSE) o nazwie Citrosept firmy CINTAMANI. Citrosept zawiera w swym składzie 19,7% bioflawonoidów (głównie flawonów, flawanonów i flawanoli), witaminę C (1 g/100 ml preparatu), które zawieszone są w wodnym roztworze glicerolu otrzymywanego z oleju palmowego. W badaniach użyto Citrosept konfekcjonowany w postaci płynu.

Celem prezentowanych badań było określenie wrażliwości wybranych szczepów *A. apis* w stosunku do preparatu Citrosept (ekstrakt, Cintamani).

MATERIAŁ I METODY

Materiał stanowiło 10 szczepów otorbielaka pszczelego *A. apis*, pochodzących z różnych pasiek naszego kraju. W celu izolacji szczepów wykorzystano posiew rozdrobnionych zmarłych larw pszczelich na podłoże Sabourauda (z dodatkiem wyciągu drożdżowego – 0,2% i chloramfenikolu – 0,1%, pH 7,0), a inkubacje prowadzono w temp. 25°C

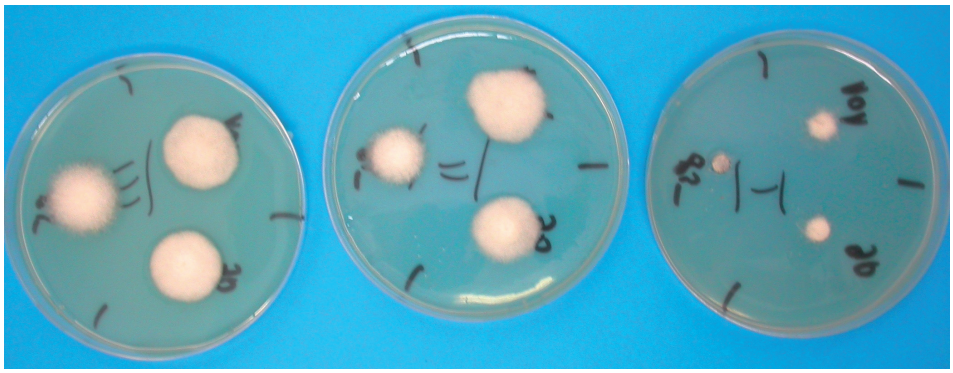
w atmosferze z dodatkiem CO_2. Po uzyskaniu wzrostu i izolowaniu czystych hodowli wszystkie szczepy identyfikowano przy użyciu technik makro- i mikroskopowych na podstawie morfologii i charakterystyki wzrostu grzybni oraz wytwarzania zarodników.

Wszystkie szczepy namnażano powtórnie przez inokulację centralnej części płytki z podłożem Sabourauda, a po uzyskaniu kolonii o średnicy 5–6 cm, jeszcze przed momentem wytwarzania spor, wycinano z nich inokula o średnicy 5 mm, z miejsc jednakowo oddalonych od centrum hodowli, tak aby uzyskać cylinderki agarowe pokryte homogenną mikrokulturą grzyba, zawierające podobne jakościowo i ilościowo elementy grzybni.

W celu oznaczenia MIC (minimum inhibitory concentration) oraz MFC (minimum fungicidal concentration) roztworu preparatu Citrosept na wzrost *A. apis* posłużono cylinderkową metodą rozcieńczeń wg Buttiego w modyfikacji własnej [Butty i in. 1995, Chorbiński 2003].

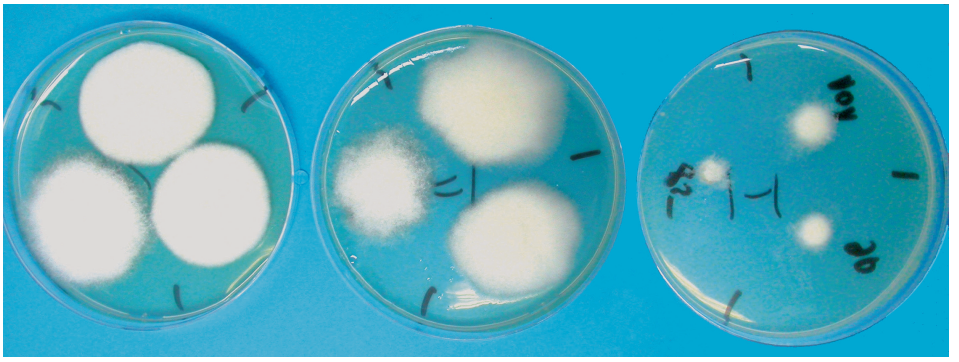
Badania wykonano na płytkach Petriego o średnicy 10 cm, na które wylewano po 30 ml podłoża Sabourauda zawierającego wzrastające kolejno stężenia preparatu Citrosept: 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,8, 1, 2, 4, 8%.

W gotowych podłożach z dodatkiem Citroseptu wycinano po trzy dołki (na każdej płytce), do których w jałowy sposób przenoszono inokula z każdego szczepu *A. apis*. Płytki inkubowano w temp. 25°C, a odczyt prowadzono w 1., 2., 3., 4. i 7. dniu badań, stosując metodykę według Wawrzkiewicz [2000] (rys. 1 i 2). Kontrolę stanowiły podłoża Sabourauda bez dodatku testowanego preparatu, na które w analogiczny sposób przenoszono inokula badanych szczepów. Za wartość hamującą wzrost (MIC) *A. apis* przyjmowano takie stężenie roztworu Citroseptu, przy którym następował wzrost do maksymalnie 7 mm średnicy, tzn. nie więcej niż 2 mm poza krawędź inkorporowanego inokulum w 7. dniu badań, zgodnie z metodyką podaną przez Wawrzkiewicz [2000]. Wszystkie inokula, które nie wykazały wzrostu w 7. dniu badań, w określonym dla nich stężeniu Citroseptu, przenoszono ponownie na czyste podłoża Sabourauda i sprawdzano, czy zahamowanie wzrostu szczepów *Ascosphaera apis* ma charakter trwały, również w 7. dniu doświadczenia. Każde badanie trzykrotnie powtórzono.



Ryc. 1. Wzrost szczepów *A. apis*, stężenie Citroseptu 0,3% (I), 0,2% (II), 0,1% (III), 5. dzień badań

Fig. 1. Growth of the strains of *A. apis*, Citrosept concentrations: 0,3% (I), 0,2% (II), 0,1% (III), 5th day of the experiment



Ryc. 2. Wzrost szczepów *A. apis*, stężenie Citroseptu 0,3% (I), 0,2% (II), 0,1% (III), 7. dzień badań

Fig. 2. Growth of the strains of *A. apis*, Citrosept concentrations: 0,3% (I), 0,2% (II), 0,1% (III), 7th day of the experiment

WYNIKI I OMÓWIENIE

Wszystkie szczepy *A. apis* inokulowane na płytkach bez dodatku Citroseptu (kontrola) wykazały się stabilnym wzrostem i obserwowane różnice we wzroście nie przekraczały 10% średnicy kolonii. Wraz ze wrastającym stężeniem w podłożu Citroseptu następuje zahamowanie wzrostu użytych w doświadczeniu szczepów *A. apis*. Uśrednione wartości średnic kolonii (w mm) testowanych stężeń Citroseptu zamieszczono w tabeli 1. Występowanie znacznych wartości odchyleń standardowych średnic kolonii, które czasami sięgają ponad 50% (np. stężenie 0,8%, dzień 7.), świadczy o zróżnicowanej wrażliwości poszczególnych szczepów na testowany specyfik (tab. 1). Generalnie jednak wszystkie badane szczepy *A. apis* nie wykazywały wzrostu poza 7 mm średnicy na podłożach z dodatkiem 4 i 8% Citroseptu, a przypadku dwóch szczepów na podłożach już z 1% dodatkiem badanego preparatu.

Wyliczona w 7. dniu średnia wartość MIC wszystkich szczepów użytych w doświadczeniu wyniosła 1,18 (+/- 0,437) ml Citroseptu na 100 ml podłoża, co odpowiada 0,232% zawartości bioflawonoidów oraz 11,80 mg witaminy C, natomiast wartość MFC tych szczepów wyniosła 7,20 (+/- 1,687) ml Citroseptu (1,42% bioflawonoidów oraz 72,0 mg wit. C).

Uzyskane wyniki badań wskazują na znaczną, ale nie wybitnie wysoką aktywność hamującą Citroseptu w stosunku do *Ascosphaera apis*. Badania prowadzone nad grzybami drożdżopodobnymi [Kędzia 2001, 2005] z rodzaju *Candida* wskazują, że ok. 1/3 szczepów jest już wrażliwa na stężenia Citroseptu poniżej 0,1%, a w badaniach Saniewskiej i in. [2006] dotyczących F*usarium oxysporum* wykazano wysoką skuteczność stężenia 0,15%. W dostępnej literaturze nie napotkano informacji o wpływie ekstraktu grejpfruta na wzrost *A. apis*, ale w badaniach własnych [Chorbiński 2004], praca niepublikowana, zastrzeżona] oznaczony MIC dla szczepów *A. apis* wyniósł 0,478 ml/100ml czystego ekstraktu z grejpfruta, potwierdzając uzyskane wyniki dla preparatu Citrosept. Wskazane jest przeprowadzenie dodatkowych analiz mających na celu wykluczenie ewentualnego niekorzystnego wpływu Citroseptu na pszczoły i czerw oraz ustalenia dawki preparatu

i sposobu jego aplikacji w warunkach ulowych. Citrosept może znaleźć dodatkowe zastosowanie w rodzinach pszczelich, ponieważ wykazuje hamujący wpływ na *Paenibacillus larvae* [Semprini i in. 2004] – czynnik etiologiczny zgnilca amerykańskiego, powszechnej w polskich pasiekach choroby pszczół [Pohorecka i in. 2011].

Tabela 1. Średnica (mm) kolonii *Ascosphaera apis* dla poszczególnych stężeń Citroseptu w kolejnych dniach doświadczenia (średnia dla 10 szczepów)

Table 1. Diameter (mm) of colonies of *Ascosphaera apis* for each concentration of Citrosept in the following days of experiments (mean for 10 strains)

Stężenie Concentration (%)	Dni doświadczenia (days of experiment)						
	1	2	3	4	5	6	7
0 (control)	12,6 (±2,5)	24,5 (±3,8)	38,0 (±4,1)	55,0 (±4,9)	> 55	> 55	> 55
0,1	9,5 (±3,0)	16,2 (±6,5)	20,0 (±10,2)	22,2 (±10,7)	23,2 (±10,4)	25,0 (±10,6)	26,2 (±10,6)
0,2	8,8 (±3,5)	11,7 (±6,0)	13,6 (±7,5)	16,2 (±9,1)	17,5 (±10,0)	19,3 (±10,9)	20,5 (±12,0)
0,3	6,5 (±2,5)	9,7 (±6,5)	10,5 (±6,5)	11,5 (±7,9)	13,5 (±10,2)	15,0 (±11,05)	17,0 (±13,3)
0,4	6,0 (±2,5)	6,3 (±2,4)	6,8 (±3,6)	7,2 (±4,4)	8,2 (±4,7)	9,8 (±7,0)	11,8 (±11,2)
0,8	5,0 (±0,0)	5,7 (±1,0)	7,2 (±2,7)	7,2 (±2,7)	7,2 (±2,7)	8,5 (±3,3)	10,2 (±4,5)
1	5,3 (±0,8)	6,0 (±1,1)	7,5 (±3,2)	7,5 (±3,2)	7,7 (±3,5)	7,8 (±5,3)	7,8 (±5,3)
2	5,0 (±0,0)	5,3 (±0,8)	5,3 (±0,8)	5,3 (±0,8)	5,3 (±0,8)	5,3 (±0,8)	5,3 (±0,8)
4	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)
8	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)	5,0 (±0,0)

WNIOSKI

1. Citrosept wykazuje zdolność hamowania wzrostu *Ascosphaera apis*.
2. Citrosept może znaleźć potencjalne zastosowanie w profilaktyce i ograniczaniu inwazji grzybicy otorbielakowej w rodzinach pszczoły miodnej.

PIŚMIENNICTWO

Butty P., Lebecq J.C., Mallie M., Bastide J.M., 1995. Evaluation of the susceptibility of dermatophytes to antifungal drugs: a new technique. J. Med. Vet. Mycol., 33, 403–409.

Calderone N.W., Shimanuki H., Allen-Wardell G., 1994. An *in vitro* evaluation of botanical compounds for the control of the honeybee pathogens *Bacillus larvae* and *Ascosphaera apis*, and the secondary invader *Bacillus alvei*. J. Essent. Oil Res., 6(3), 279–287.

Chorbiński P., 2003. Wrażliwość szczepów *Ascosphaera apis* na preparaty przeciwgrzybicze. Medycyna Wet., 59(12), 1137–1139.

Chorbiński P., 2004. Oznaczanie właściwości grzybobójczych i grzybostatycznych różnych stężeń ekstraktu z grejpfruta w stosunku do A*scosphaera apis.* 2004. (praca zastrzeżona).

Colin M.E., Ducos de Lahitte J., Larribau E., Boue T., 1989. Activity of essential oils of *Labiaceae* on *Ascosphaera apis* and treatment of an apiary. *Apidologie*, 20, 221–228.

Fishera K., Phillips C., 2008. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer?, Trends in Food Sci. & Tech. 19(3), 156–164.

Fuselli S., García de la Rosa S.B., Eguaras M.J., Fritz R., 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of *Citrus* essences on honeybee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood. World J. Microb. and Biotech. 24(10), 2067–2072.

Gilliam M., 1986. Infectivity and survival of the chalk brood pathogen, *Ascosphaera apis*, in colonies of honey bees, *Apis mellifera*. Apidologie, 17, 93–100.

Gilliam M., Taber S., Richardson G.V. 1983. Hygienic behavior of honey bees in relation to chalkbrood disease. Apidologie 14,(1), 29–39.

Gliński Z., Chmielewski M., 1979. Antifungal activity of certain polyene Antibiotics against *Ascosphaera apis*, the causative agent of chalk brood. *Ann. UMCS*, 34, 1–7.

Gliński Z., Chmielewski M., 1996. Imidazole derivates in control of the honey bee brood mycoses. Pszczel. Zesz. Nauk., 40, 165–173.

Gliński Z., Wolski T., Chmielewski M., 1988. Badania „in vitro" nad aktywnością przeciwgrzybiczą wyciągów arcydzięgla lekarskiego *(Archangelica officinalis Hoffm.)* w stosunku do *Ascosphaera apis.* Medycyna Wet. 44(9), 552–556.

Harbo J., 1995. Observation on higienic behavior and resistence to chalkbrood. Am Bee J., 135(12), 828.

Heggers J.P., Cottingham J., Gusman J., Reagor L., McCoy L., Carino E., Cox R., Zhao Jian-Gang., 2002. The Effectiveness of Processed Grapefruit-Seed Extract as An Antibacterial Agent: II. Mechanism of Action and *In Vitro* Toxicity. J. Alt. and Complem. Med., 8(3), 333–340.

Kaftanoglu O., Bicici M., Yeninar H., Toker S, Guler A., 1992. Eine Studie über den Einfluss von Ameisensaureplatten auf *Varroa jacobsoni* und die Kalkbrut (*Ascosphaera apis*) bei Bienenvölkern (*Apis mellifera* L.). Allg. Dtsch.-Imkerztg 26 (3), 14–16.

Kędzia A., 2001. Działanie Citroseptu (Cintamani) na grzyby drożdżopodobne z rodzaju *Candida* wyizolowane z zakażeń dróg oddechowych. Mik. Lek. 8, 1–4.

Kędzia A., 2005 Aktywność Citroseptu (*Cintamani*) wobec grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z zakażeń jamy ustnej. Postępy Fitoterapii, 1–2, 2–6.

Liu TP., 1991. A possible chalkbrood control. Am. Bee J. 131, 551.

Liu T.P., 1995. A possible control of chalkbrood and nosema diseases of the honey bee with neem. Am. Bee J. 135, 195–198.

Muszyńska J., 1999. The use of some essential oils in the control of honeybee diseases. Medycyna Wet. 55(3), 167–168.

Oldroyd B.P.,1996. Evaluation of Australian commercial honey bees for higienic behaviour a critical character for tolerance to chalk brood. Australian J. Experim. Agric. 36(6), 625–629.

Pohorecka K., Bober A., Skubida M., Zdańska D., 2011. Sytuacja epizootiologiczna zgnilca amerykańskiego w pasiekach południowo-wschodniego regionu Polski. Mat. XLVII Nauk. Konf. Pszczel. 64–65.

Reagor L., Gusman J., McCoy L., Carino E., Heggers J.P., 2002. The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: I. An *in vitro* agar assay. J. of Alt. and Complem. Med. 8(3), 325–332.

Rodov V., Ben-Yehoshua S., Fang D.Q., Kim J.J., Ashkenazi R., 1995. Preformed antifungal compounds of lemon fruit: Citral and its relation to disease resistance. J. Agri. and Food Chem. 43, 1057–1061.

Saniewska A., Jarecka A., 2006. Wpływ endogennych flawonoidów grejpfruta (C*itrus paradisi* Macf.) na wzrost i rozwój dwóch form specjalnych F*usarium oxysporum* Schlecht**.** Progress in Plant Prot. 46(2), 517–520.

Semprini P., Langella V., Pasini B., Falda MT., Calvarese S., 2004. Antibacterial properties of grapefruit seed extract against *Paenibacillus larvae subsp. larvae*. Vet Ital. 40(2), 39–45.

Spivak M., Downey D.A., 1998. Field assays for hygienic behavior in honey bees (*Hymenoptera; Apidae*). J. Econ. Entomol. 91**(**1), 64–70.

Spivak M., Gilliam M., 1993. Facultative expression of hygienic behaviour of honeybees in relation to disease resistance. J. Apic. Res. 32, 147–157.

Wawrzkiewicz K., Ziółkowska G., Sadzikowski Z., 2000. Oznaczanie wrażliwości dermatofitów na preparaty przeciwgrzybicze cylinderkową metodą rozcieńczeń w agarze. Medycyna Wet., 56, 648–652.

von Woedtke T., Schlüter B., Pflegel P., Lindequist U., Jülich W.D., 1999. Aspects of the antimicrobial efficacy of grapefruit seed extract and its relation to preservative substances contained. Pharmazie, 54(6), 452–6.

THE EFFECT OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF CITROSEPT (CITAMANI) ON THE GROWTH OF *ASCOSPHAERA APIS* STRAINS

Abstract. The aim of this study was to determine the sensitivity of strains of *Ascosphaera apis* to different concentrations of the Citrosept (Citamani) in laboratory conditions. The study was carried out on Sabouraud medium, using the cylinders dilutions method (by Butti). In the experiment the 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1, 2, 4 and 8% concentration of Citrosept were used. Determination MIC (minimal inhibitor concentration) and MFC (minimal fungicidal concentrations) were performed on 7th day of experience. The mean value of MIC for the strains used in the experiment was 1,18 ml of Citrosept's (0.232% content of bioflavonoids and 11.80 mg of vitamin C) per 100 ml medium, while the value of MFC for these strains was 7.20 ml Citrosept (1.42% bioflavonoids and vitamin C 72.00 mg) per 100 ml of medium. Citrosept showed significant growth inhibitory effects of A. apis and can be potential used in the prevention and control a chalkbrood disease of honeybees.

Key words: Citrosept, *Ascosphaera apis*, bioflawonoids, Vitamin C

Accepted for print – Zaakceptowano do druku: 30.03.2011

For citation – Do cytowania: Chorbiński P., Wójcik A., 2011. Wpływ różnych stężeń Citroseptu na wzrost szczepów *Ascosphaera apis in vitro*. Acta Sci. Pol. Med. Vet. 10 (1), 5–12.

ACTA SCIENTIARUM POLONORUM *Acta Sci. Pol., Medicina Veterinaria 10 (1) 2011, 13-24*
ISSN 1644–0676 (print) ISSN 2083–8670 (on-line)

PROBIOTYKI W ŻYWIENIU ZWIERZĄT TOWARZYSZĄCYCH

Edyta Wincewicz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Streszczenie. Funkcjonowanie układu pokarmowego oraz jego stan są niezmiernie ważne dla ogólnej kondycji zwierząt domowych. Niezakłócony ekosystem jelitowy stymuluje układ odpornościowy zwierzęcia, chroni psy i koty przed patogenami i zapewnia odpowiednie składniki odżywcze. Prawidłowe żywienie jest więc jednym z elementów warunkujących właściwą homeostazę organizmu. Zbyt powszechne stosowanie antybiotyków i ich działania niepożądane spowodowały duże zainteresowanie wykorzystaniem probiotyków w celach profilaktyczno-leczniczych. Uzupełnienie dawek pokarmowych w odpowiednie gatunki bakterii o potwierdzonych właściwościach probiotycznych, pozwala na utrzymanie homeostazy przewodu pokarmowego zwierzęcia, powiększając tolerancję na niekorzystne bodźce środowiskowe, ułatwia procesy trawienia i zwiększa przyswajalność składników karmy, a w przypadku stosowania antybiotyków w celach leczniczych przyspiesza okres rekonwalescencji.

Słowa kluczowe: probiotyki, pies, kot, żywienie zwierząt towarzyszących

WSTĘP

Psy i koty można karmić w rozmaity sposób, stosując karmy komercyjne lub pożywieniem przygotowywanym przez właściciela. Najważniejsze, by wybrać opcję najbardziej odpowiadającą i zwierzęciu, i posiadaczowi. Pies czy kot powinien być żywiony w sposób dostosowany do jego wieku, aktywności fizycznej, stanu zdrowia oraz indywidualnych i rasowych cech.

Jeszcze w niedalekiej przeszłości uważano, że pełnowartościowa karma to taka, która dostarcza zwierzętom białko, węglowodany, tłuszcze, witaminy i związki mineralne w odpowiednio zbilansowanej dawce. Obecnie podstawowa rola żywności to nie tylko podtrzymywanie funkcji życiowych poprzez zapewnienie energii i składników odżywczych. Nowoczesna karma ma zapewniać prawidłowy rozwój, ale też zwiększać wydolność organizmu, spowalniać procesy degeneracyjne oraz zapobiegać wystąpieniu niektórych chorób przewlekłych i infekcyjnych [Kolanowski 1999, Ostaszewski i in. 2004].

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Adres do korespondencji – Corresponding author: Edyta Wincewicz, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Kożuchowska 5, 51-631 Wrocław, e-mail: edyta.wincewicz@up.wroc.pl.

Ukoronowaniem tych potrzeb było wprowadzenie na rynek karm lub suplementów o pożądanym działaniu zdrowotnym, zawierających kultury bakterii jelitowych (probiotyki). Bakterie te trwale przejściowo kolonizują przewód pokarmowy i wpływają zarówno na równowagę w ekosystemie jelitowym, jak i na ogólne procesy metaboliczne organizmu zwierzęcia [Kolanowski 1999, Madsen i in. 2001].

Koncepcję probiozy, czyli zjawiska dobroczynnego wpływu bakterii na zdrowie człowieka i interakcji między bakteriami, zaobserwowano już w XIX wieku. Pasteur i Jaubert w 1877 roku opisali występowanie antagonizmu między wybranymi szczepami bakteryjnymi. Natomiast Miecznikow, rosyjski mikrobiolog, w 1907 r. wykazał, że niektóre bakterie sprzyjają, a inne hamują rozwój *Vibrio cholerae.* Ponadto propagował on spożywanie produktów zawierających pałeczki kwasu mlekowego, opinię swoją opierając na obserwacjach wieśniaków rosyjskich i bułgarskich, których codziennym napojem był (i jest) jogurt zawierający *Lactobacillus bulgaricus* [Miecznikow 1907].

Próby szerszego stosowania w praktyce lekarskiej preparatów zawierających pałeczki kwasu mlekowego uwieńczone były jednak miernymi efektami, co spowodowało spadek zainteresowania probiozą na kilka dziesięcioleci. Dodatkowo przyczyniło się do tego wprowadzenie do lecznictwa antybiotyków. Dopiero działania niepożądane i skutki uboczne stosowania antybiotyków oraz pojawianie się coraz liczniejszych szczepów opornych spowodowały spadek fascynacji antybiotykami i renesans zainteresowania probiozą [Bengmark 1998].

MIKROFLORA JELITOWA

Funkcjonowanie układu pokarmowego oraz jego stan są niezmiernie ważne dla ogólnej kondycji zwierząt domowych. Niezakłócony ekosystem jelitowy stymuluje układ odpornościowy zwierzęcia, chroni psy i koty przed patogenami i zapewnia odpowiednie składniki odżywcze. Prawidłowe żywienie jest więc jednym z elementów warunkujących właściwą homeostazę organizmu.

Mikroflora jelitowa zmienia się w trakcie życia zwierzęcia zależnie od jego wieku, stanu fizjologicznego, sposobu odżywiania, mechanizmów odpornościowych czy też stosowanych leków.

Przewód pokarmowy jest jednym z największych narządów układu odpornościowego w organizmie. Posiada 80% komórek sekrecyjnych układu immunologicznego ciała i więcej niż 50% komórek efektorowych [Cebra 1999, Jalkanen 1990, Brandtzaeg i in. 1989, McKay i Perdue 1993]. Obecność mikroflory jest niezbędna do prawidłowego rozwoju zwierząt. Wykazano bowiem, że psy i koty pozbawione bakterii rezydujących w przewodzie pokarmowym wykazywały niedorozwój kosmków jelitowych, zmniejszoną powierzchnię blaszki właściwej błony śluzowej, niedorozwój lokalnego układu immunologicznego, zmniejszoną ogólną liczbę limfocytów czy też niedorozwój kępek Peyer'a [Thorbecke 1959, McCracken i Gaskins 1999].

Przewód pokarmowy jest siedliskiem urozmaiconej mikroflory bakteryjnej tlenowej i beztlenowej. Oczywiście z powodu różnic anatomicznych, jak i fizjologicznych każdy gatunek posiada unikalną mikroflorę [Suchodolski i in. 2004, 2005, Ritchie i in. 2010]. Różnica dotyczy nie tylko składu, ale również liczby bakterii zasiedlających poszczególne odcinki przewodu pokarmowego.

Przewód pokarmowy nowo narodzonych zwierząt jest jałowy i ulega kolonizacji mikroflorą w ciągu kilku godzin po urodzeniu przez bakterie znajdujące się w kanale rodnym i w otaczającym środowisku. Po 24 godzinach tlenowce i beztlenowce stanowią już 10^8 CFU/g zawartości jelit. W pierwszych tygodniach po urodzeniu liczba bakterii tlenowych i beztlenowych jest niemalże równoważna, natomiast w miarę dojrzewania liczba ta zmienia się na korzyść beztlenowców [Buddington 2003].

W przewodzie pokarmowym dorosłych psów i kotów może znajdować się kilkaset filotypów bakterii. Ponad 99% stanowią *Firmicutes*, *Bacterioidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria i Actinobacteria*. Pozostałe należą między innymi do filotypu *Spirochetes* czy też *Tenericutes*. Bakterie tlenowe i względne beztlenowce zasiedlają jelito cienkie, a beztlenowce dominują w jelicie grubym [Suchodolski i in. 2009, Swanson i in. 2010].

U psów i kotów w przewodzie pokarmowym dominują przede wszystkim *Bacteroides*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, spp., *Bifidobacterium* i Enterobacteriaceae (tab. 1) [Benno i in. 1992, Mentula i in. 2005].

Tabela 1. Dominująca mikroflora przewodu pokarmowego psów i kotów [według Davis i in. 1977, Benno i in. 1992, Johnston i in. 1993, Mentula i in. 2005], w modyfikacji własnej

Table1. The dominant microflora in the gastrointestinal tract of dogs and cats [by Davis et al. 1977, Benno et al. 1992, Johnston and al. 1993, Mentula et al. 2005], a modification of his own

Lokalizacja Location	Drobnoustroje Microorganisms	Liczba drobnoustrojów w 1 g treści przewodu pokarmowego (log CFU x g^{-1}) The number of microorganisms in 1 g of digestive tract content (log CFU x g^{-1})
Jelito cienkie **Small intestine**	Pręciki o spiralnym kształcie Spiral shaped rods	3,0–6,8
	Bacteroides	0–5,5
	Lactobacillus spp.	1,0–5,4
	Streptococcus spp.	3,0–5,2
	Escherichia coli	2,3–5,0
	Clostridium perfringens	1,0–2,5
Jelito grube **Large intestine**	*Bacteroides*	7,3–10,2
	Bifidobacterium spp.	8,0–10,0
	Clostridium perfringens	5,5–8,0
	Clostridium spp.	7,3–9,5
	Escherichia. coli	6,4–8,6
	Lactobacillus spp.	5,5–9,0
	Prevotella	7,0–8,5
	Ruminococcus	7,0–8,0
	Staphylococcus spp.	5,2–5,3
	Streptococcus spp.	8,8–9,1

W treści żołądkowej zawartość bakterii waha się od 10^1 do 10^6 log cfu g^{-1}. W dwunastnicy i jelicie czczym jest niska i wynosi 10^5 cfu mL^{-1}, ale może wzrosnąć u niektórych psów i kotów do 10^9 [Johnston 1999]. Jelito cienkie kotów zasiedla większa liczba beztlenowców, aniżeli ma to miejsce u psów [Johnston i in. 1993]. Dalsze odcinki jelita cienkiego zawierają różnorodne mikroorganizmy w dużo większej liczbie, np. w jelicie biodrowym 10^7 mL^{-1}, a w okrężnicy 10^{11} log cfu g^{-1}.

W praktyce bakterie stanowiące mikroflorę przewodu pokarmowego zwierząt dzieli się, ze względu na funkcje, jakie pełni w organizmie, na trzy grupy [Zduńczyk 2002]:

- drobnoustroje korzystne – hamujące wzrost bakterii szkodliwych i stymulujące wiele ważnych funkcji przewodu pokarmowego i organizmu gospodarza, np. *Lactobacillus i Bifidobacterium*;
- drobnoustroje potencjalnie szkodliwe – których obecność i negatywne oddziaływanie ujawnia się w przypadku zaburzeń funkcjonowania przewodu pokarmowego, np. *E. coli*;
- drobnoustroje bezwzględnie szkodliwe – zakłócające fizjologiczne funkcje przewodu pokarmowego, produkujące toksyny i substancje kancerogenne, np. niektóre gatunki *Clostridium* sp.

Wszystkie te grupy muszą pozostawać ze sobą w równowadze. W stanach zaburzenia nawet dobroczynna flora jelitowa może uszkadzać barierę śluzówkową czy też produkować toksyny bakteryjne uszkadzające komórki gospodarza [Lara-Tejero i Galán 2000, Elwell i Dreyfus 2000].

Mikroflora jelitowa jest integralną częścią bariery jelitowej chroniącej organizm zwierzęcia przed inwazją bakterii chorobotwórczych. Taki mechanizm nazywany jest „oporem kolonizacji", a polega na rywalizacji o tlen, składniki odżywcze, miejsce wiązania ze ścianą jelita i produkcji związków antybakteryjnych, np. bakteriocyn działających bakteriobójczo w stosunku do innych szczepów. Kwas mlekowy produkowany przez *Lactobacillus i Bifidobacterium* obniża pH, tworząc niekorzystne środowisko dla wielu szczepów bakterii chorobotwórczych [Kanauchi i in. 2005, Tagg i in. 1976].

Podsumowując, rola mikroflory jelitowej polega na:

1. tworzeniu biofilmu na powierzchni błon śluzowych jelit oraz na konkurencyjnej blokadzie miejsc receptorowych dla drobnoustrojów patogennych;
2. udziale w procesach trawienia i wchłaniania;
3. działaniu troficznym na strukturę jelita (synteza krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, podstawowego materiału energetycznego dla kolonocytów);
4. syntezie witamin (z grupy B i K);
5. zwiększeniu bioprzyswajalności wapnia i żelaza z produktów pochodzenia roślinnego;
6. konwersji bilirubiny do urobiliny, cholesterolu do koprostanolu;
7. dekoniugacji kwasów żółciowych;
8. zapobieganiu nowotworom jelita grubego;
9. stymulacji układu immunologicznego oraz korzystnej modulacji odpowiedzi ustroju na czynniki zakaźne i alergizujące [Trafalska i Grzybowska 2004].

PROBIOTYKI

Zbyt szerokie stosowanie antybiotyków i ich działania niepożądane spowodowały duże zainteresowanie wykorzystaniem probiotyków w celach profilaktyczno-leczniczych.

Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że uzupełnienie dawek pokarmowych w odpowiednie gatunki bakterii o potwierdzonych właściwościach probiotycznych pozwala na utrzymanie homeostazy przewodu pokarmowego zwierzęcia, powiększając tolerancję na niekorzystne bodźce środowiskowe, ułatwia procesy trawienia i zwiększa przyswajalność składników karmy, a w przypadku stosowania antybiotyków w celach leczniczych przyspiesza okres rekonwalescencji.

Termin „probiotyk" pochodzi od dwóch greckich słów „pro" i „bios" (dla życia) i jest przeciwstawny nazwie antybiotyk (przeciw życiu). Jako pierwsi wprowadzili pojęcie „probiotyku" Lilly i Stillwell w 1965 roku, określając tak substancję wytwarzaną przez mikroorganizmy i działającą stymulująco na organizmy ludzi i zwierząt [Lilly i Stillwell 1965]. Fuller [1991] uzupełnił i rozszerzył pojęcie probiotyków, określając je jako „żywe, mikrobiologiczne uzupełnienie pokarmu", które korzystnie wpływa na żywiciela poprzez poprawę równowagi mikroflory jelitowej.

Teraźniejsza koncepcja probiotyków zakłada, że drobnoustroje używane jako probiotyki powinny być izolowane od przedstawicieli gatunku, u którego mają być stosowane, ponieważ część korzystnych dla zdrowia efektów jest specyficzna gatunkowo. Powinny spełniać ponadto następujące kryteria [Ouwehand i in. 1999, Salminen i in. 1998]:

- zawierać żywe komórki, np. liofilizowane komórki albo bakterie czynne w produktach mleczarskich czy innych produktach fermentowanych;
- poprawiać stan zdrowia zwierząt (co może też obejmować stymulację wzrostu);
- wywierać korzystny efekt w jamie ustnej bądź w przewodzie pokarmowym (podawane jako dodatki do żywności lub preparaty farmaceutyczne), w górnych drogach oddechowych (stosowane w postaci aerozoli) lub w przewodzie moczowo-płciowym (preparaty miejscowe).

Efektywność oddziaływania probiotycznych szczepów bakterii na organizm zwierzęcia zależy od wielu czynników, stąd ważne jest, by mikroorganizmy były odpowiednie dla danego gatunku oraz dostarczane mu systematycznie w dużej liczbie. Zawartość żywych komórek w różnych preparatach probiotycznych waha się od 10^5 do 10^9 cfu g^{-1}. W produkcji tych preparatów zastosowanie mają: *Lactobacillus* spp. (np. szczepy *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. casei, L. plantarum, L. reuteri*), *Saccharomyces boulardii*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus* spp. (np. *S. thermophilus, S. faecium*), *Enterococcus faecium* i *Bifidobacterium* spp. (np. *B. bifidium, B. breve, B. lactis, B. longum*) [Borchers i in. 2004]. Spośród nich najczęściej w gotowych preparatach probiotycznych używa się *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. i *Bifidobacterium* spp. [Sauter i in. 2006].

PROBIOTYKI BAKTERYJNE

Główne zadania probiotyków to zachowanie i przywracanie homeostazy w przewodzie pokarmowym zwierząt oraz likwidowanie dysbakteriozy.

Do działań probiotyków należy:

- hamowanie rozwoju patogennych mikroorganizmów poprzez wytwarzanie kwasów organicznych, nadtlenku wodoru i bakteriocyn;
- konkurencyjne hamowanie adhezji do nabłonka jelitowego innych drobnoustrojów, głównie patogennych;
- konkurencyjne wykorzystanie składników pokarmowych niezbędnych do wzrostu i rozwoju innych mikroorganizmów, głównie patogennych;
- udział w trawieniu laktozy;
- immunostymulacja i immunomodulacja, głównie poprzez wzmacnianie fagocytozy, zwiększanie aktywności makrofagów i limfocytów, przeciwciał klasy IgA;
- produkcja substancji protekcyjnych i peptydów czynnościowych [Bengmark 1998, Socha i in. 2000, Socha 1995, Hooper i in. 2001].

Efekt probiotyczny bakterie kwasu mlekowego uzyskują poprzez produkcję czynników antagonistycznych, do których można zaliczyć kwasy organiczne (mlekowy, octowy, propionowy), niskocząsteczkowe produkty przemiany materii, kwas 2-pirolidono-5--karboksylowy, bakteriocyny oraz pochodne tlenu.

Antybakteryjny wpływ kwasów organicznych polega na zmianie pH poza zakres optymalnej wartości dla wzrostu patogenów lub na inhibicji biochemicznej. Kwas octowy i propionowy mogą wpływać na błony komórkowe, neutralizując potencjał elektrochemiczny komórki, mogą również powodować denaturację białek wewnątrzkomórkowych oraz redukować pH (np. ograniczenie wzrostu S*almonella* spp.). Szczepy *Lactobacillus* spp. hamują adhezję patogennych mikroorganizmów. Poza tym zwiększają aktywność makrofagów i produkcje immunoglobulin (np. IgA) [Depta 2001].

Kwas 2-pirolidono-5-karboksylowy, zwany potocznie PCA (piroglutaminowym) działa hamująco na rozwój bakterii Gram-ujemnych. PCA, przenikając przez błony komórek i spor, powoduje zakłócenie procesów energetycznych. *Lacotbacillus acidophilus* wytwarza PCA zewnątrzkomórkowo, który szczególnie antagonistycznie działa na *Pseudomonas* i *Enterobacter* [Depta 2001].

Antagonistycznie w stosunku do patogenów działa nadtlenek wodoru poprzez zdolność do wytwarzania toksycznych dla nich rodników hydroksylowych. *Lactobacillus lactis* i *bulgaricus* produkują nadtlenek wodoru w ilości 5–10 ppm i hamują tym samym rozwój i wzrost *Staphylococcus aureus* [Depta 2001].

Bakteriocyny są naturalnymi substancjami antybiotycznymi działającymi bójczo i statycznie na mikroorganizmy patogenne. Najbardziej znanymi są nizyna i jej analogi produkowane przez bakterie kwasu mlekowego. Działa bakteriobójczo w stosunku do bakterii Gram-dodatnich, hamuje też kiełkowanie zarodników *Clostridium* i *Bacillus*. Pozostałe bakteriocyny to m.in. acydoliza, laktacyjna B, plantacyjna, bulgarina, reuteryna oraz laktozyna, jednakże ich rola jeszcze nie jest do końca poznana [Depta 2001, Sultan i in. 2006, Limdi i in. 2006, Gotteland i in. 2006].

Na podstawie badań prowadzonych zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* stwierdzono, iż bakterie *Lactobacillus casei, L. acidophilus i Bifidobacterium spp.* stymulują namnażanie się lub aktywność limfocytów B i T. Żywe komórki przyjmowane w wysokich dawkach

mogą stymulować większą zdolność fagocytarną limfocytów lub wzrost poziomu interferonu oraz immunoglobuliny klasy A. Poza tym składniki ściany komórkowej bakterii kwasu mlekowego pobudzają aktywność makrofagów, a te poprzez zwiększoną produkcję wolnych rodników tlenowych i enzymów lizosomalnych szybciej i łatwiej niszczą patogeny. Bakterie probiotyczne stymulują także uwalnianie cytokin przez immunokompetentne komórki przewodu pokarmowego [Depta 2001].

Stosowanie probiotyków u psów i kotów

Badania prowadzone na psach przy użyciu bakterii *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) wykazały, że jedynie przy zastosowaniu najwyższej dawki (5x 10^{11} cfu dzień$^{-1}$) uzyskano niewielką poprawę zdrowotności [Weese i Anderson 2002]. Goldin i in. [1992] udowodnili, że szczepy LGG wykazują znacznie lepsze działanie u ludzi aniżeli u psów. Prawdopodobnie ma to związek ze swoistością bakterii probiotycznych użytych do badań. Tezę tę zdają się potwierdzać badania prowadzone przez Strompfova` i wsp. [Strompfova` i in. 2006], która podawała doustnie, wyizolowany od psów, szczep *Lactobacillus fermentum* (AD1). Probiotyk ten znacznie zwiększył stężenie białka całkowitego i lipidów, zmniejszył natomiast poziom glukozy we krwi psów. Nie potwierdzono jednak jego wpływu na funkcjonowanie układu immunologicznego. W jednym z badań zastosowano u psów z objawami biegunki mieszankę szczepów *L. acidophilus* i *L. johnsonie.* Okazało się, że probiotyki te nie wywierają działania przeciwzapalnego i psy wyzdrowiały w tym samym czasie bez względu na stosowaną suplementację [Sauter i in. 2006].

Bakterie z rodzaju *Enterococcus* spp. to Gram-dodatnie względnie beztlenowe ziarniaki z rodziny *Enterococcaceae.* Stanowią naturalną florę jelitową u ludzi i zwierząt. *Enterococcus faecium* SF68 jest specyficznym szczepem probiotycznym stosowanym u psów i kotów. Z przeprowadzonych badań wynika, że przy podaży szczeniętom szczepionym przeciwko nosówce probiotyków zawierających *Enterococcus faecium* SF68, w porównaniu z tymi, którym nie podawano probiotyków, zanotowano wolniejszy spadek przeciwciał poszczepiennych w surowicy [Benyacoub 2003]. W innym z badań podawano psom szczep *Enterococcus faecium* EE3. Badanie wykazało pozytywny wpływ tych bakterii na zdrowie psów, jednak nie wyjaśniono mechanizmu działania [Marcina´kova` i in. 2006].

Oceniając wpływ różnych szczepów probiotycznych na przyczepność wybranych patogenów do śluzówki jelita psów, stwierdzono, że *E. faecium* powodował znaczny wzrost adhezji *Campylobacter jejuni*. Być może więc enterokoki mogą ułatwiać kolonizację bakterii patogennych, ale nie zostało to dokładnie wyjaśnione [Rinkinen i in. 2003].

FHV-1 stanowi najczęstszą przyczynę wirusowych chorób górnych dróg oddechowych kotów. Chociaż nie muszą one prowadzić do śmierci, to jednak powodują niekiedy ciężkie zaburzenia oddechowe, uciążliwe zarówno dla kota, jak i dla właściciela. Kot zakażony FHV-1 z reguły cierpi na zapalenie błony śluzowej nosa i spojówek, a czasem także na owrzodzenie rogówki. W badaniach pilotażowych zastosowano probiotyk ze szczepem *Enterococcus faecium* SF68, który podawano grupie kotów z objawami FHV-1 i drugiej grupie, u której zastosowano placebo. Koty były następnie monitorowane pod kątem objawów klinicznych oraz swoistej i komórkowej odpowiedzi immunologicznej. Badania wykazały, że podawanie probiotyków zmniejszyło zachorowalność związaną z przewlekłą infekcją FHV-1 u niektórych kotów [Lappin i in. 2009].

Bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* spp. (Gram-dodatnie, beztlenowe) stanowią rdzenną mikroflorę przewodu pokarmowego i jako jedne z pierwszych zasiedlają jałowy przewód pokarmowy noworodka. W okresie karmienia mlekiem stanowią dominującą mikroflorę w jelicie grubym. Ich działanie polega przede wszystkim na zapobieganiu kolonizacji bakterii patogennych, jak *E. coli*, *Clostridium*, *Salmonella*. Odbywa się to poprzez dołączanie się do ściany jelita oraz wypychanie patogenów, a także konkurowanie o składniki odżywcze. Bifidobakterie produkują kwasy mlekowy i octowy, które obniżają pH w świetle jelit i uniemożliwiają rozwój bakterii niepożądanych. Badania nad *Bifidobacterium* udowodniły, że organizmy te zwiększają przyswajanie składników mineralnych takich jak żelazo, wapń, magnez i cynk. Stosowane są np. w dysbiozie jelitowej po antybiotykoterapii, wzmagają też perystaltykę jelit [Depta 2001, Myers 2007]. Jednak ich wykorzystanie jako probiotyku u psów i kotów nie zostało w pełni zbadane. Kelley i in. [2009] i O'Mahony i in.[2009] zastosowali w badaniach szczep *Bifidobacterium animalis* AHC7, który wyizolowano z błony śluzowej jelit psów. Probiotyk ten przyspieszał zdrowienie w przypadku ostrej biegunki. Ponadto, kolonizując błonę śluzową, powodował szybszą eliminację *Salmonella typhimurium* u myszy.

Z dostępnej literatury wynika, że podstawową wadą stosowania probiotyków jest niezdolność ich utrzymania się w przewodzie pokarmowym psów. Prawdopodobnie wynika to z faktu, że większość bakterii probiotycznych wyizolowano z kału zwierząt, a tylko niewielką część stanowiła mikroflora pobrana bezpośrednio z błony śluzowej psich i kocich jelit. Być może bakterie przylegające do błony śluzowej jelit mają większą zdolność do utrzymania się w przewodzie pokarmowym i stanowią wówczas efektywniejszą barierę dla patogenów [O'Mahony i in. 2009].

Badania nad zastosowaniem probiotyków u kotów są dopiero w fazie wstępnej, a opracowanie wiarygodnych wyników wymaga jeszcze wielu badań.

SZCZEPY DROŻDŻY JAKO PROBIOTYKI

Drożdże są organizmami tlenowymi, ale powszechnie wykorzystuje się ich zdolność do wzrostu w warunkach beztlenowych. Zmuszone są wówczas, poprzez zmiany w metabolizmie, do przeprowadzania fermentacji etanolowej.

Drożdże wykorzystuje się jako bogate źródło witamin z grupy B, niektórych biopierwiastków, enzymów, a przede wszystkim dobrze trawionego białka. Badania przeprowadzone na zwierzętach gospodarskich (przeżuwacze, świnie, drób) potwierdziły korzystny wpływ drożdży na florę przewodu pokarmowego, a także stymulację wzrostu i rozwoju młodych zwierząt oraz ich zdrowotność i produkcyjność [Erasmus i in. 2005, Linge 2005].

Jak do tej pory istnieje niewiele doświadczeń oceniających skuteczność wpływu drożdży lub ich produktów na zdrowie psów. A takie eksperymenty w ogóle nie były prowadzone na kotach.

Na podstawie ograniczonych badań wnioskować można, że włączenie produktów drożdżowych do karmy dla zwierząt towarzyszących może wywierać korzystny wpływ na utrzymanie homeostazy przewodu pokarmowego. Wymaga to jednak dalszych badań [Vickers i in. 2001, Swanson i in. 2010].

PODSUMOWANIE

Liczne badania dostarczają dowodów na skuteczność stosowania probiotyków u ludzi. Natomiast u zwierząt, szczególnie tych towarzyszących, jest ich ciągle zbyt mało.

Niewiele jeszcze wiemy o mikroflorze przewodu pokarmowego psów i kotów. Do tej pory izolowano bakterie z kału zwierząt, co okazuje się niewystarczające. Istnieje też potrzeba zastosowania badań molekularnych w celu identyfikacji bakterii.

Z danych literaturowych wynika, że brak jest wystarczających badań oceniających wpływ probiotyków na zdrowie psów i kotów. Ze względu na odmienność mikrobiologiczną nie można bezpośrednio przenosić badań prowadzonych na ludziach na zwierzęta nam towarzyszące.

Niezbędne są dalsze badania naukowe w celu jak najlepszego poznania działania mikroflory przewodu pokarmowego zwierząt i wyselekcjonowania nowych szczepów o cechach probiotycznych o potwierdzonej skuteczności działania oraz pozbawionych działań niepożądanych.

PIŚMIENNICTWO

Bengmark S., 1998. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. Gut., 42, 2–7.

Benno Y., Nakao H., Uchida K., Mitsuoka T., 1992. Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs. J. Vet. Med. Sci., 54, 703–706.

Benyacoub J., 2003. Supplementation of food with Enterococcus faecium (SF68) stimulates immune functions in young dogs. J. Nutr., 133, 1158–1162.

Borchers A., Keen C., Gershwin M., 2004. Probiotics and prebiotics, [in:] M. Gershwin, P. Nestel and C. Keen, Editors, Handbook of Nutrition and Immunity, Humana Press, Totowa. NJ.

Brandtzaeg P., Halstensen T.S., Kett K., 1989. Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: Humoral immunity and intraepithelial lymphocytes. Gastroenterol., 97, 1562–1584.

Buddington R.K., 2003. Postnatal changes in bacterial populations in the gastrointestinal tract of dogs. Am. J. Vet. Res., 64, 646–651.

Cebra J.J., 1999. Influence of microbiota on intestinal immune system development. Am. J. Clin. Nutr., 69, 1046–1051.

Depta A., 2001. Probiotyki – właściwości i ich rola, i znaczenie oraz możliwości stosowania w profilaktyce i leczeniu schorzeń przewodu pokarmowego u prosiąt. Trzoda chlewna, 39, 7, 98–100.

Davis C.P., Cleven D., Balish E., Yale C.E., 1977. Bacterial association in the gastrointestinal tract of Beagle dogs. Appl. Environ. Microbiol., 34, 194–206.

Elwell C.A., Dreyfus L.A., 2000. DNase I homologous residues in CdtB are critical for cytolethal distending toxin-mediated cell cycle arrest. Mol. Microbiol., 37, 952–963.

Erasmus L.J., Robinson P.H., Ahmadi A., Hinders R., Grrett J.E., 2005. Influence of prepartum and postpartum supplementation of a yeast culture and monensin, or both, on ruminal fermentation and performance of multiparous dairy cows. Anim. Feed Sci. Technol., 122, 219–239.

Fuller R., 1991. Probiotics in human medicine. Gut., 32, 439 – 442.

Goldin B.R., Gorbach S.L., Saxelin M., Barakat S., Gualtieri L., Salminen, S., 1992. Survival of lactobacillus species (strain GG) in human gastrointestinal tract. Dig. Dis. Sci., 37(1), 121–128.

Gotteland M., Brunser O., Cruchet S., 2006. Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*?. Aliment Pharmacol Ther., 23, 1077–1086.

Hooper L.V., Wong M.H., Thelin A., 2001. Molecular analysis of commensal host-microbial relationship in the intestine. Science., 291, 881–884.
Jalkanen S., 1990. Lymphocyte homing into the gut. Immunopath., 12, 153–164.
Johnston K.L., 1999. Small intestinal bacterial overgrowth. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 29, 523–550.
Johnston K.L., Lamport A., Batt R.M., 1993. An unexpected bacterial flora in the proximal small intestine of normal cats. Veterinary Record., 132, 362–363.
Kanauchi O., Matsumoto Y., Matsumura M., Fukuoka M., Bamba T., 2005. The beneficial effects of microflora, especially obligate anaerobes, and their products on the colonic environment in inflammatory bowel disease. Curr. Pharm. Des., 11, 1047–1053.
Kelley R.L., Minikhiem D., Kiely B., O'Mahony L., O'Sullivan D., Boileau T., Park J. S., 2009. Clinical benefits of probiotic canine-derived Bifidobacterium animalis strain AHC7 in dogs with acute idiopathic diarrhea. Vet. Therap., 10(3), 121–130.
Kolanowski W., 1999. Nowoczesne produkty spożywcze o pożądanym działaniu zdrowotnym, żywność funkcjonalna. Żywn. Zdr., 9; 8(1), 101–109.
Lappin M.R., Veir J.K., Satyaraj E., 2009. Pilot study to evaluate the effect of oral supplementation of Enterococcus faecium SF68 on cats with latent feline herpesvirus 1, J. Feline Med. Surg., 11, 650.
Lara-Tejero M., Galán J.E., 2000. A bacterial toxin that controls cell cycle progression as a deoxyribonuclease I-like protein. Science, 290, 354–357.
Lilly D.M., Stillwell R.H., 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. Science, 47, 747–748.
Limdi J., O'Neill C., McLaughlin J., 2006. Do probiotics have a therapeutic role in gastroenterology? World J. Gastroenterol., 12 (34), 5447–5457.
Linge P., 2005. The use of probiotics and yeast derivatives in India. World Poult., 21, 10, 12–15.
Madsen K.L., Cornish A., Soper P., 2001. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. Gastroenterology, 121, 580–591.
Marcina´kova´ M., Simonova´ M., Strompfova´ V., Laukova´, A. 2006. Oral application of Enterococcus faecium strain EE3 in healthy dogs. Folia Microbiologica, 51(3), 239–242.
McCracken V.J., Gaskins H.R., 1999. Intestinal microbes and the immune system, [in:] Probiotics: A Critical Review (G.W. Tannock, ed.). Horizon Scientific Press, Norfolk, UK, 85–111.
McKay D.M., Perdue M.H., 1993. Intestinal epithelial function: The case for immunophysiological regulation. Dig. Dis. Sci., 38, 1377–1387.
Mentula S., Harmoinen J., Heikkila M., Westermarck E., Rautio M., Huovinen P., Kononen E., 2005. Comparison between cultured small-intestinal and fecal microbiotas in Beagle dogs. Appl. Environ. Microbiol., 71, 4169–4175.
Miecznikow E., 1907. The prolongation of life. New York: G. P. Putnom & Sons.
Myers D., 2007. Probiotics. J. Exotic Pet. Med., 16, 3, 195–197.
O'Mahony D., Murphy K. B., MacSharry J., Boileau T., Sunvold G., Reinhart,G., Kiely B., Shanahan F., O'Mahony L., 2009. Portrait of a canine probiotic bifidobacterium–from gut to gut. Vet. Microbiol., 139(1–2), 106–112.
Ostaszewski P., Jank A., 2004. Probiotyki w żywieniu psów i kotów. Weterynaria w Praktyce, 6, 64.
Ouwehand A.C., Isolauri E., Kirjavainen P.V., Salminen S.J., 1999. Probiotics: mechanisms and established effects. Int. Dairy, 9, 43–52.
Rinkinen M., Jalava K., Westermarck E., Salminen S., Ouwehand A.C., 2003. Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: a risk factor for intestinal Enterococcus faecium colonization? Vet. Microbiol., 92(1–2), 111–119.

Ritchie L.E., Burke K.F., Garcia-Mazcorro J.F., Steiner J.M., Suchodolski J.S. 2010. Characterization of fecal microbiota in cats using universal 16S rRNA gene and groupspecific primers for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. Vet. Microbiol., 144, 140–146.

Salminen S., Ouwehand A., Isolauri E., 1998. Clinical applications of probiotic bacteria. Int. Dairy J., 8, 563–572.

Sauter S.N., Benyacoub J., Allenspach K., Gaschen F., Ontsouka E., Reuteler G., Cavadini C., Knorr R., Blum J. W., 2006. Effects of probiotic bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with an elimination diet. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition., 90(7–8), 269–277.

Socha J. 1995. Mikroflora jelitowa a antybiotykoterapia. Pediatr Pol., 70, 547–552.

Socha J., Madaliński K., Stolarczyk A., 2000. Probiotyki w chorobach przewodu pokarmowego i ich działanie immunomodulujące. Pediatr Współcz., 2(3), 137–140.

Strompfova´ V., Marcina´kova´ M., Simonova´ M., Bogovic-Matijasic´ B., Laukova´ A., 2006. Application of potential probiotic Lactobacillus fermentum AD1 strain in healthy dogs. Anaerobe., 12(2), 75–79.

Suchodolski J.S., 2010. Characterization of fecal microbiota in cats using universal 16S rRNA gene and groupspecific primers for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. Vet. Microbiol., 144, 140–146.

Suchodolski J.S., Dowd S.E., Westermarck E., Steinem J.M., Wolcott R.D., Spillman T., Harmoinen J.A., 2009. The effect of the macrolide antibiotic tylosin on microbial diversity In the panine small intestine as demonstrated by Massie paralel 16s rRNA gene sequencing. BMC Microbiol., 9, 210.

Suchodolski J.S., Ruaux C.G, Steiner J.M., Fetz K.,. Williams D.A., 2005. Assessment of the qualitative variation in bacterial microflora among compartments of the intestinal tract of dogs by use of a molecular fingerprinting technique. Am. J. Vet. Res., 66, 1556–1562.

Suchodolski J.S., Ruaux C.G., Steiner J.M., Fetz K., Williams D.A., 2004. Application of molecular fingerprinting for qualitative assessment of small-intestinal bacterial diversity in dogs. J. Clin. Microbiol., 42, 4702–4708.

Sultan A., Durrani F., Suhail S., 2006. Comparative effect of yogurt as a probiotic on the performance of broiler chicks. Pakistan J. Biol. Sci. 9, 88–92.

Swanson K.S., Dowd S.E., Suchodolski J.S., Middelbos I.S., Vester B.M., Barry K.A., Nelson K.E., Cann I.K, White B.A., Fahey G.C., 2010. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with human and mice. ISME J. 10.1038/ismej.162.

Swanson K.S., Fahey G.C. Jr. The role of yeasts in companion animal nutrition http://en.engormix.com/MA-pets/articles/the-role-yeasts-companion_430.htm) 5/14/2007.

Tagg J.R., Dajani A.S., Wannamaker L.W., 1976. Bacteriocins of gram-positive bacteria. Bacteriol. Rev., 40, 722–756.

Thorbecke G.J., 1959. Some histological and functional aspects of lymphoid tissue in germ free animals. Ann. N.Y. Acad. Sci., 78, 237–246.

Trafalska E., Grzybowska K., 2004. Probiotyki – alternatywa dla antybiotyków? Wiadomości lekarskie, LVII, 9–10,491–498.

Vickers R.J., Sunvold G.D., Kelley R.L., Reinhart G.A., 2001. Comparison of fermentation of selected fructooligosaccharides and other fiber substrates by canine colonic microflora. Am. J. Vet. Res., 62, 09–615.

Weese J.S., Anderson M.E., 2002. Preliminary evaluation of Lactobacillus rhamnosus strain GG, a potential probiotic in dogs. Can. Vet. J., 43(10), 771–774.

Zduńczyk Z., 2002. Probiotyki i prebiotyki, oddziaływanie lokalne i systemowe. Przemysł Spożywczy, 4, 6–8.

PROBIOTICS IN PETS

Abstract. The functioning of the digestive system and its condition are extremely important for overall health of pets. Stimulates intestinal ecosystem undisturbed animal's immune system, protects dogs and cats against pathogens and provide adequate nutrients. Proper nutrition is therefore one of the prerequisites for proper homeostasis of the organism. Too broad use of antibiotics and their side effects resulted in large interest in using probiotics for prophylactic and therapeutic. Supplementing rations with appropriate species of bacteria with probiotic properties certified, allows you to maintain homeostasis in the gastrointestinal tract of the animal, increasing tolerance to adverse environmental stimuli, helps digestion and increases the digestibility of feed ingredients, and for the use of antibiotics for treatment accelerates the recovery period.

Key words: probiotics, dog, cat, pet nutrition

Accepted for print – Zaakceptowano do druku: 30.03.2011

For citation – Do cytowania: Wincewicz E., 2011. Probiotyki w żywieniu zwierząt towarzyszących. Acta Sci. Pol. Med. Vet., 10 (1), 13–24.

ACTA SCIENTIARUM POLONORUM *Acta Sci. Pol., Medicina Veterinaria 10 (1) 2011, 25-34*
ISSN 1644–0676 (print) ISSN 2083–8670 (on-line)

VARIATION IN THE BRANCHES OF AORTIC ARCH IN WILD RABBIT (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS* L. 1758)

Włodzimierz Nowicki, Witold Brudnicki, Benedykt Skoczylas, Ryszard Jabłoński, Jan Wach

Uniwersytet Przyrodniczo-Technologiczny w Bydgoszczy

Abstract. The research involved 34 individuals of wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L. 1758): 22 males and 12 females. From the aortic arch there descended two or three vessels. In 64.7% cases these were: the brachiocephalic artery and left subclavian artery and in 35.3% cases the aortic arch gave rise to the brachiocephalic artery, left common carotid artery and left subclavian artery. There were observed cases (11.1%) of the descent from the trunk for right common carotid artery and the right subclavian artery, thyroid cranial artery.

Key words: aortic arch, wild rabbit

INTRODUCTION

One of the oldest reports on the morphological description of the aortic arch in animals, and more precisely in rabbit, is the paper by Smith [1891]. The most interesting papers on the aortic arch in *Leporidae*, besides the report by Smith, include Ding et al. [2006] of vascular variations in rabbit, Dabanoglu [2000] on the aorta in New Zealand rabbit and Brudnicki et al. [2007] on brown hare.

The applicable literature seems to offer a number of reports on the variation in the aortic arch in Carnivora such as: dog [Marthen 1940], cat [Smollich and Berg 1959], american mink [Wiland 1974], racoon dog [Jabłoński et al. 1987], red fox [Wiland et al. 1996, Nowicki 2003, Nowicki et al. 2003] and polar fox [Knasiecka 1970].

Similarly a detailed coverage on the aortic arch is found in different representatives of rodents [Sinzinger and Hohenecker 1972, Jabłoński 1980, Knasiecka 1984].

Despite such abundant applicable literature, there seems to be no description of the morphological and morphometrical variation in the branches of the aortic arch region in wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L. 1758). Bearing that in mind, the present authors have launched research of that vascular region.

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Corresponding author – Adres do korespondencji: Włodzimierz Nowicki, Katedra Morfologii Zwierząt i Łowiectwa, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz, e-mail: anat@utp.edu.pl

MATERIAL AND METHOD

The research of the aortic arch involved 34 individuals (22 males and 12 females) of wild rabbit.

With the use of syringe, through the left heart ventricle the animals were injected with synthetic latex (LBS – 3060) dyed with black pigment. Prior to fixation, there was determined the total body length from the tip of the nose to the epiphysis of the tail and the trunk length – from the squamous part of the occipital bone to the epiphysis of the tail.

The material was fixed in 5% formalin solution for 3 months. Then there were prepared the aortic arch with its branches, and finally the vessels were described and photographed.

The following measurements were taken: the diameter of the ascending aorta, diameter of the brachiocephalic artery, the diameter of the left common carotid artery, the diameter of the right common carotid artery, the diameter of the left vertebral artery, the diameter of the right vertebral artery, the diameter of the left subclavian artery, the diameter of the right subclavian artery, the length of the brachiocephalic artery and the left subclavian artery to the first branch.

The measurements were made with the four-function digital calliper MAU–E 3F.

RESULTS

The first branch of the aortic arch in wild rabbit was the brachiocephalic artery (*a. brachiocephalica)*; it was a large vessel running askew to the right and cephalically and ventrally from the trachea (Phot. 1).

The second vessel was the left subclavian artery (*a. subclavia sinistra*) supplying blood to the adequate half of the neck, thoracic limb and partially the thorax. The right subclavian artery (*a. subclavia dextra*) descended from the brachiocephalic artery after an earlier descent of the right and left common carotid arteries (*a. carotis communis sinistra et dextra*).

Each of the subclavian arteries made an arch towards the front and then it went around the front margin of the first rib, changing into the axillary artery (*a. axillaris*) and went posterior-inferior towards the lower section of the thoracic limb.

From the right and left subclavian arteries there descended internal thoracic and vertebral arteries, as well as costocervical trunks and superficial cervical arteries.

The internal thoracic artery *(a. thoracica interna)* went backwards on the upper surface of the sternum and costal cartilages.

Whereas the vertebral artery *(a. vertebralis)* descended from the dorsal surface of the subclavian artery and went laterally from the trachea and descended into the transverse foramen of the sixth cervical vertebra.

The costocervical trunk *(trancus costocervicalis)* ascended from the subclavian artery and continued dorsally to the first intercostals space where it undergoes further bifurcation.

The superficial cervical artery *(a. cervicalis superficialis)* went to the shoulder-cervical region where it got divided into small vessels.

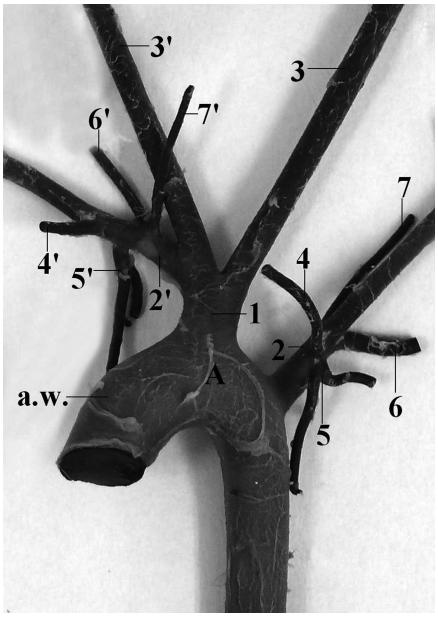


Fig.1. Arteries of the aortic arch- (A) in wild rabbit: brachiocephalic artery – 1, left subclavian artery – 2, right subclavian artery – 2', left common carotid artery – 3, right common carotid artery – 3', left internal thoracic artery – 4, right internal thoracic artery – 4', left costocervical trunk – 5, right costocervical trunk – 5', left vertebral artery – 6, right vertebral artery – 6', left superficial cervical artery – 7, right superficial cervical artery – 7', ascending aorta – a.w.

Fot. 1. Naczynia odchodzące od łuku aorty – (A) u królika dzikiego: t. ramienno-głowowa – 1, t. podobojczykowa lewa – 2, t. podobojczykowa prawa – 2', t. szyjna wspólna lewa – 3, t. szyjna wspólna prawa – 3', t. piersiowa wewnętrzna lew – 4, t. piersiowa wewnętrzna prawa – 4', pień żebrowo – szyjny lewy – 5, p. żebrowo-szyjny prawy – 5', t. kręgowa lewa – 6, t. kręgowa prawa – 6', t. szyjna powierzchowna lewa – 7, t. szyjna powierzchowna prawa – 7', t. wstępująca – a.w.

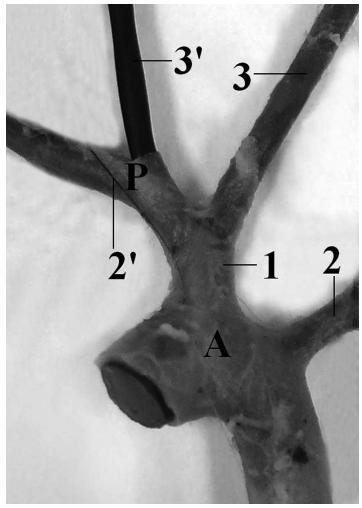
The material was used to research different descent patterns of the aortic arch branches. First brachiocephalic artery descended, followed by the left subclavian artery. Such an artery descent pattern was found in 22 individuals (64.7 % of the population investigated) (Phot. 2).

However in the other 12 individuals (35.3 % of the population researched) three vessels descend directly from the aortic arch: the brachicephalic artery, next to me – the left common carotid artery, and then the left subclavian artery (Phot. 3).

There could be differentiated two common carotid arteries descent patterns. In 22 cases the brachiocephalic artery divided into the left common carotid artery and common trunk for the right common carotid artery and the right subclavian artery.

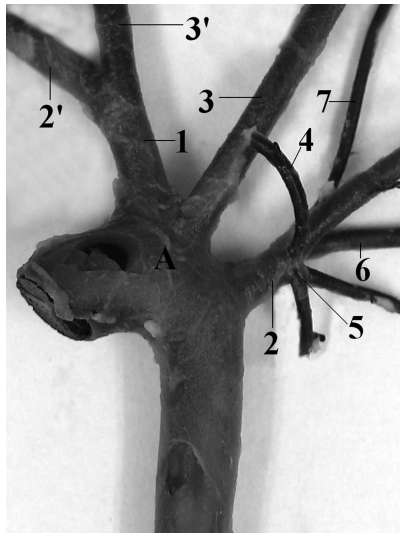
In the other part of the individuals researched (12 cases = 35.3%), the left common carotid artery descends directly from the aortic arch (namely, between the brachiocephalic artery and the left subclavian artery) (Phot. 3).

In four preparations from the trunk for the right common carotid artery and the right subclavian artery there descended the thyroid cranial artery (Phot. 4).



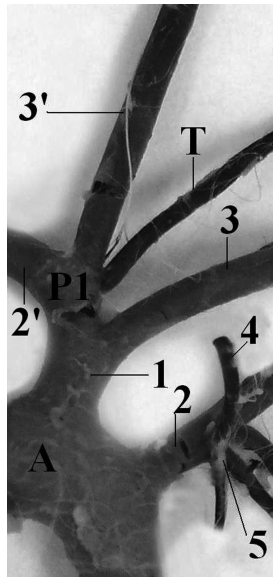
Phot. 2. Descent of two vessels from the aortic arch (A). Brachiocephalic artery –1, left subclavian artery – 2, right subclavian artery – 2', left common carotid artery – 3, right common carotid artery – 3'

Fot. 2. Odejście dwóch naczyń od łuku aorty (A): tętnica ramienno-głowowa – 1, t. podobojczykowa lewa – 2, t. podobojczykowa prawa – 2', t. szyjna wspólna lewa – 3, t. szyjna wspólna prawa – 3'



Phot. 3. Descent of three vessels from the aortic arch (A). Brachiocephalic artery – 1, left subclavian artery – 2, right subclavian artery – 2', left common carotid artery – 3, right common carotid artery – 3', t. left internal thoracic artery – 4, left costocervical trunk – 5, t. left vertebral artery – 6, left superficial cervical artery – 7

Fot. 3. Odejście trzech naczyń od łuku aorty (A): tętnica ramienno-głowowa – 1, t. podobojczykowa lewa – 2, t. podobojczykowa prawa – 2', t. szyjna wspólna lewa – 3, t. szyjna wspólna prawa – 3', t. piersiowa wewnętrzna lewa – 4, pień żebrowo-szyjny lewy – 5, t. kręgowa lewa – 6, t. szyjna powierzchowna lewa – 7



Phot. 4. Case of descent from the trunk – P1 of the right common carotid artery – 3' and the right subclavian artery – 2' thyroid cranial artery – T. Brachiocephalic artery – 1, left subclavian artery – 2, right subclavian artery – 2', left common carotid artery – 3, left internal thoracic artery – 4, left costocervical trunk – 5

Fot. 4. Przypadek odejście od pnia – P1 tętnicy szyjnej wspólnej prawej – 3', t. podobojczykowej prawej – 2' i t. tarczycowej – T. Tętnica ramienno-głowowa – 1, t. podobojczykowa lewa – 2, t. szyjna wspólna lewa – 3, t. piersiowa wewnętrzna lewa – 4, pień żebrowo-szyjny lewy – 5

Both the right and left subclavian arteries gave rise to, in all the cases at the same length, the following branches: the internal thoracic artery and the costocervical trunk from the abdominal surface, the vertebral artery from the lateral surface and the superficial cervical artery from the dorsal surface.

The morphometrical research involved 34 individuals (12 females and 22 males). The body length ranged from 43 to 50 cm, while the trunk length from 31 to 39 cm. (Tab. 1).

The diameter of the ascending aorta ranged from 3.62 to 6.20 mm the population average was 5.15 mm.

The measurement of the diameter of the brachicephalic artery for the population researched ranged from 1.91 to 4.20 mm. The average was 3.04 mm.

The research also covered the length of the brachiocephalic artery to its first branch. The lengths, depending on the division of the vessel, ranged from 3.22 to 7.36 mm, and the average value was 4.80 mm.

The measurements of the diameter of the right common carotid artery ranged from 1.21 to 2.89 mm and the left one – from 0.95 to 2.01. The vessel average was 1.91 mm for the right vessel and 1.66 for the left vessel.

Another research object was the diameter of the right subclavian artery, with the highest recorded value being 2.15 mm, while the lowest – 1.32 mm. The diameter for the entire population investigated was 1.80 mm.

Table 1. Body length and trunk length in wild rabbit
Tabela 1. Długość ciała i długość tułowia u badanych dzikich królików

Group Grupa	N	Body length Długość ciała		Trunk length Długość tułowia	
		$\bar{x}$	Interval Zakres	$\bar{x}$	Interval Zakres
♂♀	34	46.76	43.00–50.00	34.97	31.00–39.00
♂	22	47.05	44.50–50.00	35.41	33.00–39.00
♀	12	46.25	43.00–49.00	34.17	31.00–36.50

The second artery most frequently descending from the aortic arch was the left subclavian artery. Its diameter ranged from 0.54 to 2.32 mm and the average value of that measurement was 1.74 mm.

There were made measurements of the vertebral arteries which descended from the subclavian arteries. Their mean value was on the right – 0.84 mm and n the left – 0.93 mm, respectively.

The analysis of the measurements of metrical characteristics of the aortic arch branches in wild rabbit, considering the sex of the individuals investigated, showed that for all the measurements, the difference was significant (Tab. 2).

The present results facilitated the calculation of coefficients of correlation for all the individuals. The correlation matrices are given in Table 3.

From the correlation between the characters researched it was possible to differentiate three cases of very high correlation, and six cases of high correlation. There were found nine cases of average correlation, eighteen – poor correlation and nine cases of inconsiderable correlation (Tab. 3).

Table 2. Parameters of aortic arch branches in wild rabbit
Tabela 2. Parametry łuku aorty u dzikiego królika

Character Badana cecha		n	Interval Zakres [mm]	$\bar{x}$	S_x	V_x	t_0
1	2	3	4	5	6	7	8
Diameter of ascending aorta Średnica aorty wstepującej	♂	22	3.62–6.12	5.01	0.78	15.57	0.292*
	♀	12	4.22–6.20	5.42	0.69	13.16	
	♂♀	36	3.62–6.20	5.15	0.75	14.56	
D. of brachiocephalic artery ś. t. ramienno-głowowej	♂	22	1.91–4.20	3.01	0.68	22.59	0.823*
	♀	12	2.18–4.02	3.10	0.78	25.16	
	♂♀	36	1.91–4.20	3.04	0.69	22.69	
Length of brachiocephalic artery Długość t. ramienno-głowowej	♂	22	3.22–7.36	4.74	1.44	30.38	0.816*
	♀	12	3.33–6.13	4.91	1.36	27.70	
	♂♀	36	3.22–7.36	4.80	1.37	28.54	
D. of left common carotid artery Ś. t. szyjnej wspólnej lewej	♂	22	0.95–1.99	1.59	0.31	19.50	0.163*
	♀	12	1.50–2.01	1.80	0.21	11.66	
	♂♀	36	0.95–2.01	1.66	0.29	17.47	

Table 2 cont.
Tabela 2 cd.

1	2	3	4	5	6	7	8
D. of right common carotid artery Ś. t. szyjnej wspólnej prawej	♂	22	1.21–2.89	1.92	0.47	24.48	0.967*
	♀	12	1.42–2.19	1.91	0.28	14.66	
	♂♀	36	1.21–2.89	1.91	0.40	20.94	
D. of right subclavian artery Ś. t. podobojczykowej prawej	♂	22	1.32–2.15	1.79	0.23	12.85	0.718*
	♀	12	1.64–2.04	1.83	0.19	10.38	
	♂♀	36	1.32–2.15	1.80	0.21	11.66	
D. of right vertebral artery Ś. t. kręgowej prawej	♂	22	0.68–1.05	0.88	0.12	13.64	0.432*
	♀	12	0.42–1.14	0.78	0.29	37.18	
	♂♀	36	0.42–1.14	0.84	0.19	22.61	
D. of left subclavian artery Ś. t. podobojczykowej lewej	♂	22	0.54–2.22	1.69	0.45	26.63	0.481*
	♀	12	1.34–2.32	1.84	0.35	19.02	
	♂♀	36	0.54–2.32	1.74	0.41	23.56	
Length left subclavian artery Ś. t. podobojczykowej lewej	♂	22	0.95–3.89	2.46	0.94	38.21	0.369*
	♀	12	2.06–3.55	2.86	0.63	22.03	
	♂♀	36	0.95–3.89	2.60	0.85	32.70	
Diameter of left vertebral artery Ś. t. kręgowej lewej	♂	22	0.10–1.55	0.92	0.36	39.13	0.814*
	♀	12	0.77–1.05	0.95	0.13	13.86	
	♂♀	36	0.10–1.55	0.93	0.29	31.18	

* Levels of significance for – poziom istotności dla: p – 0.05

Table 3. Correlation matrix of the characters of the aortic arch in wild rabbit
Tabela 3. Macierz korelacji cech łuku aorty u dzikiego królika

	ŚAW	ŚTRG	DTRG	ŚTSWL	ŚTSWP	ŚTPP	ŚTKP	ŚTPL	DTPL	ŚTKP
ŚAW		0.245	-0.518	0.776	0.199	0.630	0.281	0.778	0.280	0,065
ŚTRG			-0.799	0.253	0.367	0.158	0.216	0.501	0.438	-0,276
DTRG				-0.368	-0.244	-0.258	-0.283	-0.634	-0.475	0,115
ŚTSWL	Inconsiderable non-correlated Nikła, nieskorelowana				0.327	0.624	0.381	0.693	0.200	0,037
ŚTSWP						-0.035	0.526	0.269	-0.099	-0.059
ŚTPP	Poor – Słaba 0.1>0.3						0.134	0.400	-0.093	0.004
ŚTKP	Average – Przeciętna 0.3>0.5							0.274	-0.160	-0.008
ŚTPL	High – Wysoka 0.5>0.7								0.458	0.045
DTPL	Very high – Bardzo wysoka 0.7>0.9									-0.293
ŚTKP										

Diameter of ascending aorta – średnica aorty wstepującej – ŚAW; d. of brachiocephalic artery – ś. tętnicy ramienno-głowowej – ŚTRG; length of brachiocephalic artery – długość tętnicy ramienno-głowowej – DTRG; d. of left common carotid artery – ś. t. szyjnej wspólnej lewej – ŚTSWL; d. of right common carotid artery – ś. t. szyjnej wspólnej prawej – ŚTSWP; d. of right subclavian artery – ś. t. podobojczykowej prawej – ŚTPP; d. of right vertebral artery – ś. t. kręgowej prawej – ŚTKP; d. of left subclavian artery – ś. T. podobojczykowej lewej – ŚTPL; l. of, left subclavian artery – d. t. podobojczykowej lewej – DTPL; d. of left vertebral artery – ś. t. kręgowej lewej – ŚTKL

DISCUSSION

In domestic rabbit [Smith 1891] and brown hare [Brudnicki et al. 2007], directly from the aortic arch there descended two vessels: the brachiocephalic artery the left and subclavian artery. In the material researched such a pattern of descent of the arteries from the aortic arch, occurred only in 64.7% of cases. The observations of the variation in the aortic arch in brown hare [Smith 1891] show that it is the only pattern of descent of the branches of that section of the aorta.

A similar artery descent pattern was found in different dog breeds [Marthen 1940], in different fox subspecies [Knasiecka 1970] and in American mink [Wiland 1974]. Two vessels descending from the aortic arch were also found in guinea pig [Jabłoński 1980], and in coypu [Knasiecka 1984].

In 35.3% cases the research identified that directly from the aortic arch there descended three vessels: the brachiocephalic artery, the left common carotid artery and the left subclavian artery. Such a type occurred in rat in 90% [Sinzinger and Hohenecker 1972].

The division of the brachiocephalic artery into the left common carotid artery and the common trunk for the right common carotid artery and the right artery in the material researched was observed in 64.7% of cases. Such a division was described by Knasiecka [1970] in arctic fox in 55.12% of the population, in racoon dog Jabłoński et al. [1987] in 65.4%, and in mink – by Wiland [1974] in 92.5% of the population researched.

Of the 22 individuals four cases (11.11%) were an exception: from the brachiocephalic artery there descended the left common carotid artery, the thyroid cranial artery and the common trunk for the right common carotid artery and the right subclavian artery. The research into the aortic arch in mink Wiland [1974] observed such cases in 2.5% individuals.

Subclavian arteries bifurcated as follows: the costocervical trunk, the internal thoracic artery and the vertebral artery, while the superficial cervical artery was closing the branches of the subclavian artery. The left subclavian artery bifurcated the same way as the right subclavian artery.

Such a pattern of branches was described in hare by Brudnicki et al. [2007], in different types of red fox Knasiecka [1970], Wiland et al. [1996], Nowicki et al. [2003].

The analysis of correlation between the characters researched shows that very high correlation occurred in three cases: between the diameter of the ascending aorta and the diameter of the left common carotid artery and the diameter of the left subclavian artery, the diameter of the brachiocephalic artery and the length of the brachiocephalic artery.

The variation in the aortic arch arteries demonstrates some finite definable interval. The interval within the population of a single species cannot exceed the variation reached as a result of the philogenetic development.

The research into the branches of the aortic arch aims at developing the knowledge on the arterial pattern and its variation which can also have a pathological origin.

CONCLUSIONS

1. There were identified differences in the morphological structure. From the aortic arch there descended two (64.7%) or three (35.3%) vessels.

2. The left common carotid artery descended independently from the brachiocephalic artery or directly from the aortic arch.

3. It was observed that from the trunk of the right common carotid artery and the right subclavian artery there descended the thyroid artery.

4. There was demonstrated very high correlation in the four cases analysed.

REFERENCES

Brudnicki W., Macherzyńska A., Nowicki W., 2007. Variation in the arteries of the aortic arch in European Brown Hare (*Lepus europaeus*). Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Veterinary Medicine, Volume 10, Issue 1.

Dabanolgu I., 2000. A quantitative study of the aorta of the New Zealand rabbit (*Oryctolagus cuniculus L.*). Anatomia Histologia Embryologia., 29; 3, 145–147, 19 ref.

Ding, Yong Hong MD, Dai, Daying MD; Layton, Kennith F. MD; Lewis, Debra A. PhD; Danielson, Mark A. PhD; Kadirvel, Ramanathan PhD; Cloft, Harry J. MD; PhD; Kallmes, David F. MD. 2006. Vascular Anatomic Variation in Rabbits. Journal of Vascular and Interventional Radiology. 17 (6), 1031–1035.

Jabłoński R., 1980. Obserwacje nad tętnicami podstawy mózgowia i łuku aorty oraz odmianami u świnki morskiej (*Cavia porcellus L*). Zesz. Nauk. ATR Bydgoszcz seria Zootechnika, 5, 5–25.

Jabłoński R., Brudnicki W., Wiland C., 1987. Główne tętnice łuku aorty i sposób odejścia ich gałęzi u jenota (*Myetereutes procynoides Gray*). Zeszyty Nauk. ATR Bydgoszcz, 150, Zoot., 15 27–35.

Knasiecka V., 1970. Łuk aorty u lisa polarnego. Rocz. WSR w Poznaniu. T. 49, 53–67.

Knasiecka V., 1984. Główne tętnice łuku aorty i sposoby odejścia ich gałęzi u nutrii Myocostot coypus (Molina 1782). Rocz. AR w Poznaniu, CXLVIII, 81–95.

Marthen G., 1940. Uber die Arterien der Korperwand des Hundes. Morphogisches Jahrbuch. T. 84 187–219.

Nowicki W., Jabłoński R., Skoczylas B., Brudnicki W., 2003. Variations of the aorta arch in common fox. Problemy Gigeny selskochozjajstwennych żiwotnych. Akademia Weterynarnoj Medyciny Witebsk, 168–170.

Nowicki W., 2003. Comparison of Biometric Characters of Aorta Branches in Farm and Wild Fox (*Vulpes vulpes* L.). Folia Biologica (Kraków), vol. 53, Supplement.

Sinzinger H., Hohenecker J., 1972. Arcus aortae bei Negern (Rodentia). Anat. Anz. Bd. 132, 341–347.

Smith R., 1891. An abnormal arrangement of the right subclavian artery n a Rabbit. Journal of Anatomy and Physiology vol.XXV New. Sains Vol.V, Part III, 325–326.

Smollich A., Berg R., 1959. Beobachtungen über das Verhalten der Äste des Aortenbogens bei Canis familiaris, Felis domestica und Sus scrofa domesticus. Anat. Anz., 107, 309.

Wiland C., 1974. Zmienność tętnicy podstawy mózgowia i łuku aorty u norki amerykańskiej. Bydgoszcz, Towarzystwo Nauk Przyrodniczych Warszawa, Poznań 14, 79.

Wiland C., Kubica J., Zawadzińska B., 1996. Zmienność tętnic łuku aorty u lisa srebrzystego (*Vulpes vulpes* L.) Zesz. Nauk. ATR w Bydgoszczy No 204, Zoot. 28, 35.

ZMIENNOŚĆ ODGAŁĘZIEŃ ŁUKU AORTY U DZIKIEGO KRÓLIKA (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS* L. 1758)

Streszczenie. Badania przeprowadzono na 34 osobnikach dzikiego królika (*Oryctolagus cuniculus* L. 1758), były to 22 samce i 12 samic. Od łuku aorty odchodziły dwa lub trzy naczynia. W 64,7% przypadków odchodziła tętnica ramienno-głowowa i tętnica podobojczykowa lewa, a 35,3% od łuku aorty odchodziła tętnica ramienno-głowowa, tętnica szyjna wspólna lewa i tętnica podobojczykowa lewa. Zaobserwowano przypadki (11,1%) odejścia od pnia tętnicy szyjnej wspólnej prawej i tętnicy podobojczykowej prawej, tętnicy tarczowej dogłowowej.

Słowa kluczowe: łuk aorty, dziki królik

Accepted for print – Zaakceptowano do druku: 30.03.2011

For citation – Do cytowania: Nowicki W., Brudnicki W., Skoczylas B., Jabłoński R., Wach J., 2011. Variation in the branches of aortic arch in wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L. 1758). Acta Sci. Pol. Med. Vet. 10 (1), 25–34.

RECENZENCI – REVIEWERS

prof. dr hab. Maciej Ugorski
Wroclaw University of Environmental and Life Sciences

Prof. dr hab. Andrzej Depta
University of Warmia and Mazury in Olsztyn

prof. dr hab. Wiesław Skrzypczak
West Pomeranian University of Technology Szczecin

prof. dr hab. Jose Luis Valverde Piedra
University of Warmia and Mazury in Olsztyn

prof. dr hab. Piotr Tryjanowski
University of Life Sciences in Poznań

prof. dr hab. Iwona Puzio
University of Life Sciences in Lublin

prof. dr hab. Jolanta Chichłowska
University of Life Sciences in Poznań

prof. dr hab. Wojciech Zawadzki
Wroclaw University of Environmental and Life Sciences

prof. dr hab. Danuta Strusińska
University of Warmia and Mazury in Olsztyn

prof. dr hab. Ryszard Bobowiec
University of Life Sciences in Lublin

prof. dr hab. Zbigniew Boratyński
University of Life Sciences in Lublin

Prof. dr hab. Izabela Krakowska
University of Life Sciences in Lublin

prof. dr hab. Jan Szarek
Agricultural University of Cracow

prof. dr hab. Hanna Bis-Wenzel
University of Life Sciences in Lublin

prof. dr hab. Anna Wójcik
University of Warmia and Mazury in Olsztyn

prof. dr hab. Szymon Godynicki
University of Life Sciences in Poznań

SPIS TREŚCI
CONTENTS

Paweł Chorbiński, Agnieszka Wójcik
Wpływ różnych stężeń Citroseptu na wzrost szczepów *Ascosphaera apis in vitro* 5
The effect of different concentrations of citrosept (Citamani) on the growth of *Ascosphaera apis* strains

Edyta Wincewicz
Probiotyki w żywieniu zwierząt towarzyszących 13
Probiotics in pets

Włodzimierz Nowicki, Witold Brudnicki, Benedykt Skoczylas, Ryszard Jabłoński, Jan Wach
Variation in the branches of aortic arch in wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L. 1758)..... 25
Zmienność odgałęzień łuku aorty u dzikiego królika (*Oryctolagus cuniculus* L. 1758)

Recenzenci – Reviewers..... 35