

## FOSFONAL U HRANIDBI SVINJA

III. Razmatranje utjecaja FOSFONALA na kolibacilozu i proljev prasadi i neposredan utjecaj na bakteriju E. Coli

### FOSFONAL IN PIG NUTRITION

III Effect of FOSFONAL on Colibacillosis and diarrhoea in Pigs and the Direct Effect on E. Coli Bacteria

**S. Feldhofer, Ankica Nemanjić, Marija Gašpar**

Izvorni znanstveni rad  
UDK: 636.4-636.084.1  
Primljeno: 24. 09. 1992.

### SAŽETAK

Fizikalno-kemijska građa i sastav FOSFONALA, posebice BENAL i amonijev dušik iz monoamonijeva fosfata (MAP), mogu imati specifično djelovanje na neke vrste bakterija u probavnom traktu svinja. FOSFONAL može utjecati na razvoj amonifikatora, bakterija koje trebaju i koriste amonijak za svoju reprodukciju, a zatim na celulotičke bakterije, što dijelom može objasniti bolje iskorištavanje hrane kod svinja hranjenih dodatkom FOSFONALA.

FOSFONAL pomoću BENALA ima moć vezanja i razmjene nekih iona i može ograničiti djelovanje nekih bakterija, njihovih receptora i toksina. BENAL ujedno prekriva sluznicu crijeva i može smanjiti moć pripijanja i naseljavanja bakterija, može utjecati na osmotske procese, resorpciju i izlučivanje tekućine i elektrolita u crijevo, smanjiti nadražnost crijeva, vezati tekućinu i spriječiti gubitak tekućine iz organizma (dehidraciju).

Neposredno djelovanje FOSFONALA, BENALA i MAP-a iz sastava FOSFONALA, istraženo je na hranjivim podlogama koristeći bakterije E. Coli, vrste O 149, soja K 88, izdvojene iz jetre uginule svinje.

U prosjeku se najmanje bakterija E. Coli nalazilo na podlogama s dodatkom 5% BENALA (prosječno 565 bakterija), 2% i 1% MAP-a (709 i 787 bakterija) i 2% FOSFONALA (798 bakterija). Najviše patogenih bakterija E. Coli imale su podloge načinjene dodatkom dikalcijeva fosfata (DiCaP) (1.520 bakterija) i kontrola bez dodataka (1.610 bakterija).

Rezultati istraživanja govore u prilog primjene FOSFONALA kao fosfornog dodatka u hranidbi svinja, posebice mlade prasadi, jer može na stanoviti način djelovati u sprečavanju pojava kolibaciloze i nekih vrsta proljeva. Amonijevim ionima iz MAP-a može se također pripisati određena važnost, što treba potvrditi daljim istraživanjima.

### UVOD

Rano odbijanje prasadi od krmača ubrzava pojavu gonjenja (estrusa), skraćuje puerperij, povećava broj prasenja i reprodukciju. Međutim, prasad rano odbijena od sise i majčina mlijeka nije navikla uzimati suhu hranu, gladuje 1-2 dana, a zatim se javlja instinkt halapljivog uzimanja hrane. To može izazvati poremećaje u fermentaciji i zastoju

hrane u probavnom traktu, opstipaciju, pojačani razvoj bakterija u crijevu i truljenje hrane, proljev i dr. Oboljenju mogu pripomoći i drugi čimbenici, kao: neodgovarajuća hrana i nepravilna hranidba, nedovoljno uzimanje tekućine, promjena mjesta boravka i neprikladan smještaj prasadi, loša ventilacija i loš sastav zraka, vlaga i nepovoljna temperatura u objektu, miješanje prasadi iz više legla, prenapučenost objekta, nečistoća, loši uvjeti držanja i sl.

dr. Stjepan Feldhofer, dipl. vet. viši znanstv. suradnik i Marija Gašpar, dipl. ing., struč. suradnik INA-Petrokemija Kutina. Mr. Ankica Nemanjić, dipl. vet. znanstv. suradnik, Centar za peradarstvo, Vet. fakultet Zagreb.

Pojave proljeva se obično pripisuju bakterijama, u prvom redu *Escherichia Coli*, kojih pri pojavi proljeva ima oko 60-80%. Međutim, proljevi su obično polimikrobne etiologije. Uz E. Coli javljaju se i druge bakterije, kao proteusi, klostridije, klebsijele, neki virusi i dr. Dakle, pojave proljeva mogu se objasniti dispepsijom i poremećajima u fermentaciji hrane uz sudjelovanje putridnih mikroorganizama, među kojima prevladava E. Coli.

Raznovrsni stresovi, nepovoljni uvjeti držanja, hranidba i zoohigijena mogu promijeniti fiziološke i imunološke sposobnosti regulacije (humoralni i lokalni imunitet, barijere crijevnih sluznice, motilitet crijeva, broj i toksičnost mikroorganizama u probavnom traktu i sl.), a sve to može dovesti do proljeva s različitim posljedicama za organizam životinja.

Otpornost prasadi prema oboljenjima veoma se pojačava boravkom prasadi s krmačama i uzimanjem kolostruma prvih 48 sati nakon porođaja. S kolostralnim mlijekom prasad dobiva i povećava količinu globulina u krvi, jača imunitet i otpornost sluznice crijeva, što smanjuje pojave kolibaciloze i proljeva uopće, kao i broj uginuća prasadi.

Ima mnogo vrsta bakterija E. Coli, od kojih su samo neke toksinogene. Bakterije se pripijaju na receptoru sluznice crijeva i crijevnih resice. Tu dolazi do naseljavanja bakterija koje otpuštaju enterotoksine, a kao posljedica javlja se povećana sekrecija tekućine u crijevo, povećani motilitet crijeva i proljev. Enterotoksini mijenjaju normalno kretanje iona i vode kroz sluznicu crijeva, mijenjaju se procesi apsorpcije iz crijeva u krv i sekrecija u crijevo, što dovodi do velikog gubitka tekućine i elektrolita iz organizma (Ožegović, 1988).

Starije svinje nemaju, ili postupno gube receptore za pripijanje bakterija, a može kod njih postojati i određena rezistencija prema pripijanju bakterija. Stoga su proljevi u starijih svinja rjeđa pojava, odnosno, s blažim posljedicama.

Bakterije u organizmu, a tako i u probavnom traktu, žive u tzv. biocenozi, odnosno, više vrsta bakterija živi i djeluje međusobno u simbiozi, sinergizmu, antagonizmu, parazitizmu i sl. U tim odnosima podržavaju se i bore za opstanak, a među njima postoji i stanovita ravnoteža. Tako se tu nalaze stalne bakterije, među kojima vlada ravnoteža, što je uvjet za zdravlje i normalno djelovanje organa i organizma u cjelini, i pridošle bakterije, koje povremeno nadolaze i nastoje poremetiti postojeću ravnotežu svojim razmnažanjem. Pridošle bakterije mogu biti uzrok bolesti (Jakovina, 1966. i 1977.).

## MATERIJAL I METODA RADA

Neposredan utjecaj FOSFONALA i njegovih sastavnih dijelova, monoamonijev fosfat (MAP) i BENALA, na rast patogenih bakterija *Escherichia Coli* istraživao je na vrsti 0,149, soju K 88, izdvojenim iz jetre uginule svinje. Istraživanja su provedena u Centru za peradarstvo, Veterinar-

Fizikalno-kemijske promjene u organizmu ili promjene okoliša mogu omogućiti ili sprečavati razvoj nekih bakterija i mikroorganizama. Među ostalim treba u prvom redu upozoriti na hranjivu podlogu za bakterije, na kiselost, odnosno pH vrijednost sredine u kojoj se bakterije razvijaju ili žive.

FOSFONAL, koji se dodaje kao fosforni dodatak u hranu svinja ima pH vrijednost otopine 4,8-5,3. S njim u usporedbi dikalcijev fosfat (DiCaP) ima pH vrijednost oko 4,7, a Rūkana 7,4. Razlike pH vrijednosti između FOSFONALA i često uobičajenog DiCaP-a nisu značajne, i može se reći da je pH vrijednost FOSFONALA na razini fiziološke pH vrijednosti želučanog sadržaja. Prema Rusu i sur. (1969.) pH vrijednost želučanog sadržaja svinja iznosi 4,2-5,1, iako je često mnogo niža.

Istina je da FOSFONAL sadrži u većoj količini alkalne elemente kao: kalij, natrij, magnezij i dr., ali oni mogu samo pozitivno djelovati na prekomjernu kiselost i kao alkalna rezerva (Feldhofer i sur., 1988.).

Prema tome FOSFONAL će povoljno djelovati na održavanje normalne pH vrijednosti i fermentativne aktivnosti u probavnom traktu svinja, kao i na odnose među bakterijama.

FOSFONAL ipak može utjecati na razvoj nekih bakterija, kao npr. na razvoj amonifikatora, bakterija koje trebaju amonijak za svoju reprodukciju. Ovamo se mogu ubrojiti i celulolitičke bakterije, što dijelom može objasniti bolje iskoristavanje hrane (konverziju hrane) uz dodatak FOSFONALA u hranu svinja.

Fizikalno-kemijska građa bentonita, koji je u FOSFONALU posebno aktiviran kao BENAL, i moć vezanja (adsorpcije) ili razmjene nekih iona, mogu biti uzrok da FOSFONAL veže i neposredno ograniči djelovanje nekih bakterija, njihovih receptora i toksina. Na taj način može se spriječiti njihovo antigeno i toksinogeno djelovanje, izlučivanje i djelovanje baktericina (kolicina), enterotoksina i sl. Ova razmatranja otvaraju, međutim, prostor za posebna istraživanja.

FOSFONAL može, nadalje, pomoću BENALA, oblaganjem sluznice crijeva, oslabiti receptore za bakterije i time smanjiti moć vezanja i naseljavanje bakterijama, može utjecati na osmotske procese, resorpciju i izlučivanje tekućine i elektrolita u crijevo, smanjiti nadraženost crijeva, vezati tekućinu i spriječiti gubitak tekućine iz organizma (spriječiti proljeve i dehidraciju organizma).

Od posebnog značaja može biti neposredno djelovanje FOSFONALA na rast i razvoj bakterija E. Coli, posebice toksinogene vrste, što je istraživano u ovom radu.

skog fakulteta u Zagrebu.

Bakterije E. Coli su nakon izolacije iz jetre liofilizirane i čuvane u hladnjaku do upotrebe. Za istraživanje bakterije su uzgojene na selektivnim podlogama, dvostrukom i selektivnom bujonu. Razmnožavanje je trajalo 6 sati u inkubatoru na temperaturi od 37°C, a zatim su hranjive podloge



s E. Coli razrjeđivane s peptonskom otopinom kojoj je dodano:

FOSFONAL	1% i 2%
BENAL	2% i 5%
MAP	1% i 2% (monoamonij fosfat)
DiCaP	1,5% (dikalcij fosfat)
Kontrola bez dodataka	

Razrjeđenja s peptonskom otopinom načinjena su u omjeru:

1 : 10 <sup>-2</sup>
1 : 10 <sup>-3</sup>
1 : 10 <sup>-4</sup>
1 : 10 <sup>-5</sup>

Rast bakterija E. Coli istraživan je na krutim podlogama, na neutralnom agaru, brojenjem kolonija, 24 sata nakon inkubiranja u termostatu na 37°C.

## REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Razvoj bakterija E. Coli istraživan je na hranjivim podlogama s dodacima kako je prikazano na Tablicama 1, 2, 3 i 4 i Grafikonima 1 i 2.

### Broj bakterija E. Coli na hranjivim podlogama s dodatkom FOSFONALA 1% i FOSFONALA 2%

Tablica 1

Razrjeđenje	Broj bakterija E. Coli	
	FOSFONAL 1%	FOSFONAL 2%
1 : 10 <sup>-2</sup>	2.400	1.549
1 : 10 <sup>-3</sup>	1.540	1.430
1 : 10 <sup>-4</sup>	152	117
1 : 10 <sup>-5</sup>	106	97
Prosjek svih razrjeđenja	1.049	798

### Broj bakterija E. Coli na hranjivim podlogama s dodatkom BENALA 2% i BENALA 5%

Tablica 2

Razrjeđenje	Broj bakterija E. Coli	
	BENAL 2%	BENAL 5%
1 : 10 <sup>-2</sup>	2.040	1.290
1 : 10 <sup>-3</sup>	1.500	850
1 : 10 <sup>-4</sup>	897	100
1 : 10 <sup>-5</sup>	80	20
Prosjek svih razrjeđenja	1.129	565

### Broj bakterija E. Coli na hranjivim podlogama s dodatkom monoamonijeva fosfata (MAP) 1% i MAP 2%

Tablica 3

Razrjeđenje	Broj bakterija E. Coli	
	MAP 1%	MAP 2%
1 : 10 <sup>-2</sup>	1.710	1.275
1 : 10 <sup>-3</sup>	650	910
1 : 10 <sup>-4</sup>	410	553
1 : 10 <sup>-5</sup>	380	100
Prosjek svih razrjeđenja	787	709

**Broj bakterija E. Coli na hranjivim podlogama s dodatkom dikalcijeva fosfata (DiCaP) 1,5% i kontrola bez dodataka**

Tablica 4

Razrjeđenje	Broj bakterija E. Coli	
	DiCaP 1,5%	Kontrola –
1 : 10 <sup>-2</sup>	2.870	2.830
1 : 10 <sup>-3</sup>	1.850	1.740
1 : 10 <sup>-4</sup>	950	1.070
1 : 10 <sup>-5</sup>	410	801
Prosjeck svih razrjeđenja	1.520	1.610

Najveći broj bakterija patogene vrste E. Coli O 149, soja K 88, izdvojenih iz jetre uginule svinje, nalazio se nakon 24 sata inkubiranja na podlogama kojima je dodano 1,5% DiCaP, odnosno na podlogama bez dodataka (kontrola). Na ovim podlogama broj je bakterija bio približno jednak i to: 2.870 bakterija na podlogama s DiCaP, a 2.830 bakterija na kontrolnim podlogama bez dodataka, uz razrjeđenja 1 : 10<sup>-2</sup>. Prosječan broj bakterija E. Coli za sva razrjeđenja iznosio je 1.520 bakterija na podlogama s DiCaP i 1.610 bakterija na kontrolnim podlogama (Tablica 4).

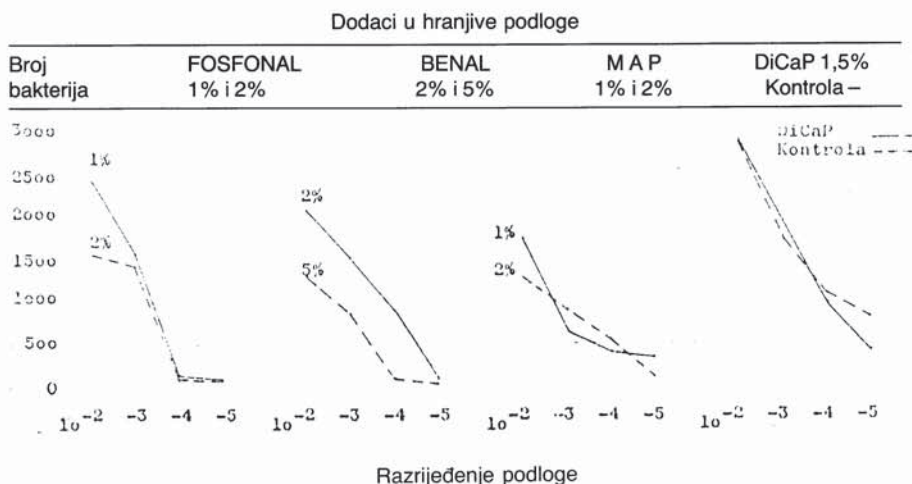
Manji broj bakterija patogene vrste E. Coli nalazio se na podlogama načinjenim s dodatkom 2% BENALA i 1%

FOSFONALA (Tablica 2 i Tablica 1). Posebno se ističu malim brojem bakterija podloge načinjene dodatkom 2% FOSFONALA, 1% i 2% MAP-a, a naročito podloge s 5% BENALA (Tablica 1, Tablica 3 i Tablica 2). Broj bakterija na ovim podlogama bio je gotovo pola manji nego na podlogama s DiCaP i kontroli.

Slabiji rast patogene vrste E. Coli posebno se očituje nakon dodavanja većeg postotka FOSFONALA (povećanje od 1% na 2%), BENALA (povećanje od 2% na 5%) i MAP-a, iako se čini do povećanje postotka MAP-a iznad 1% ne dovodi značajno do daljeg smanjenja bakterija (Grafikon 1 i Grafikon 2).

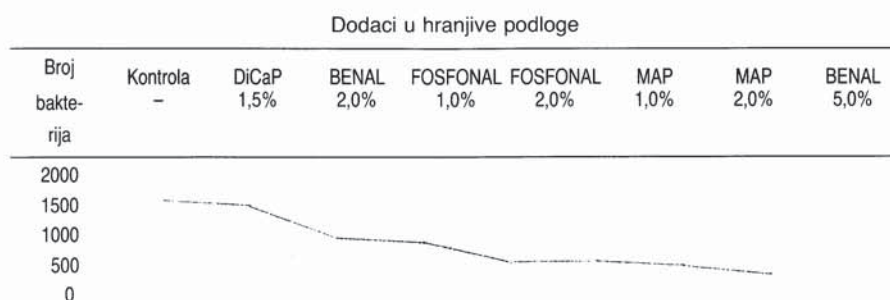
Grafikon 1

**Broj bakterija E. Coli na gojilištima s dodatkom FOSFONALA, BENALA i MAP-a u usporedbi s DiCaP i kontrolom bez dodataka**



Grafikon 2

Prosječan broj bakterija E. Coli iz gojišta s razrjeđenjima  $10^{-2}$  –  $10^{-5}$  i dodatkom FOSFONALA, BENALA, MAP-a, DiCaP i kontrole bez dodatka



Neposredno djelovanje FOSFONALA, BENALA i MAP-a na slabiji rast patogene vrste bakterija E. Coli očigledan je iz Grafikona 2, gdje je prikazan usporedni odnos prosječnog broja bakterija E. Coli iz svih razrjeđenja, od  $1 : 10^{-2}$  do  $1 : 10^{-5}$ , iz hranjivih podloga s istraživanim dodacima.

### RAZMATRANJE ISTRAŽIVANJA

Iz navedenih rezultata istraživanja nije za sada moguće dati znanstveno potvrđeno objašnjenje o načinu djelovanja FOSFONALA, BENALA i MAP-a na bakterije patogene vrste E. Coli. Može se pretpostaviti da BENAL, zahvaljujući fizikalno-kemijskoj građi, veže ili ograničava razvoj i razmnožavanje bakterija, što se očitovalo na hranjivim podlogama naročito nakon povećanja postotka BENALA, od 2 na 5 i na podlogama s većim razrjeđenjima.

MAP vjerojatno djeluje amonijevim ionima na opne i receptore bakterija, koje oštećuje i na taj način sprečava njihovu reprodukciju. Izgleda da je za postizanje ovog

### ZAKLJUČAK

Fizikalno-kemijska građa i sastav FOSFONALA, posebice sadržaj amonijačnog dušika i BENALA, mogu imati specifično djelovanje na neke vrste bakterija u probavnom traktu svinja, a naročito na bakterije koje mogu uzrokovati proljeve.

Neposredno djelovanje FOSFONALA, BENALA i MAP-a (monoamonijeva fosfata) na rast patogene vrste bakterija E. Coli istraženo je na gojištima, selektivnim podlogama, koristeći E. Coli izdvojenu iz jetre uginule svinje (vrste O 149, soja K 88).

U prosjeku se najmanje bakterija E. Coli razvijalo na hranjivim podlogama dodatkom 5% BENALA (prosječno 565 bakterija), 2% i 1% MAP-a (709 i 787 bakterija) i 2% FOSFONALA (798 bakterija). Najviše bakterija E. Coli

U prosjeku su najmanje bakterija E. Coli imale podloge s dodatkom 5% BENALA (565 bakterija), 2% i 1% MAP-a (709 i 787 bakterija) i 2% FOSFONALA (798 bakterija). Najviše patogenih bakterija E. Coli imale su podloge načinjene dodatkom DiCaP i kontrola (prosječno 1.520 i 1.610 bakterija) (Grafikon 2).

učinka na bakterije E. Coli dovoljno dodavanje 1,0-1,5% MAP-a, jer povećanje MAP-a na 2% značajno ne smanjuje broj bakterija.

FOSFONAL sadrži BENAL i MAP i stoga krivulja prosječnog broja bakterija E. Coli približno odgovara odnosima i količinama u kojima se nalaze MAP i BENAL u FOSFONALU.

Ova opažanja ipak za sada samo otvaraju nova područja istraživanja, koja će potvrditi koliko se može neposredno djelovati na patogene vrste E. Coli dodavanjem FOSFONALA i drugih dodataka i s tim smanjiti broj bakterija, spriječiti pojave proljeva i ugibanje mlade prasadi.

imale su podloge načinjene dodatkom DiCaP i kontrola bez dodataka (prosječno 1.520 i 1.610 bakterija).

Rezultati istraživanja govore u prilog uporabe FOSFONALA kao fosfornog dodatka u hranidbi svinja, posebice mlade prasadi, jer može neposredno poslužiti i djelovati u sprečavanju i liječenju kolibaciloze i pojave proljeva.

### Literatura

1. **FELDHOFER, S.:** (1988) Karakteristike FOSFONALA kao fosforno mineralnog dodatka za stočnu hranu. *Krmiva* 30 (5-6) 83-87.
2. **FELDHOFER, S., EMILIJA TKALČEC, V. MITIN, M. SVETIĆ, P. KRALJEVIĆ, MARIJA GAŠPAR:** (1988) Fizikalno-kemijska svojstva bentonita i BENALA značajna za hranidbu stoke, s posebnim osvrtom na resorpciju kalcija i forfora kod pilića. *Veterinaria*, 37 (1) 51-63.
3. **JAKOVINA, M.:** (1976) Baktericini. *Praxis Veterinaria* 5-6, 271-287.
4. **JAKOVINA, M.:** (1977) Kolicini u crijevnih bakterija s posebnim osvrtom na bakteriju *Escherichia Coli*. *Praxis Veterinaria* 2, 85-92.
5. **OŽEGOVIĆ, T.:** (1988) Prilog proučavanju bakterijskih enteritisa kod teladi sa govedarskih uzgoja B i H. *Veterinaria* 37 (2-3) 311-338.
6. **RUS, P.M., P.E. JAKOBSON:** *The Physiology, Biochemistry and Microbiology of Digestion and Metabolism of Nutrients in Pigs. The Nutrition of Animals of Agricultural Importance. Part I*, 149-182, Oxford/London, 1969

### SUMMARY

Physical and chemical structure and composition of FOSFONAL – a phosphoric additive of the INA-Petrokemija production – and particularly BENAL and ammonium nitrogen from monoammonium phosphate (MAP), can produce a specific influence on bacteria of the pig digestive tract. FOSFONAL can also stimulate development of ammonifactors and bacteria which use ammonia for their reproduction; furthermore, it has an influence on cellulitic bacteria which can partly explain better feed utilization in pigs fed with FOSFONAL containing feeds.

By means of BENAL, FOSFONAL can bind and exchange some ions and also reduce effects of some bacteria, their receptors and toxins. BENAL also covers the intestine mucus and reduces sticking and settling of bacteria, it influences osmotic processes, resorption and secretion of liquid and electrolytes into the intestine; it can reduce irritation of the intestine, bind liquid and prevent loss of liquid in the organism (dehydration).

Direct influence of FOSFONAL and BENAL and MAP contained in FOSFONAL, has been examined on nutritious culture using bacteria *E. Coli*, type O 149, soya K 88 extracted from the dead pig liver. On average the least number of *E. Coli* bacteria was found on the culture with 5% of BENAL (565 bacteria on average), 2% and 1% of MAP (709 and 787 bacteria) and 2% of FOSFONAL (798 bacteria). Most of the pathogen *E. Coli* bacteria were found on the culture prepared with dicalcium phosphate (DiCaP) (1.520 bacteria) and in the control group without any additives (1,610 bacteria). Results of these studies suggest the use of FOSFONAL as a phosphoric additive in pig feeds particularly in young piglets since it can in a way help in preventing colibacillosis and some types of diarrhea. Ammonia ions in MAP may also be considered of certain influence but this should be confirmed in further research.