

Mikrobiom

jako jeden z głównych wskaźników dobrostanu u cieląt

The microbiome as a key indicator of welfare in calves

prof. dr hab. Renata Urban-Chmiel,
dr n. wet. Ewelina Pyzik

Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

Streszczenie

Mikrobiota jest jednym z kluczowych wskaźników zdrowia i dobrostanu zwierząt hodowlanych. Zróżnicowany mikrobiom wpływa na funkcjonowanie organizmu, w tym odporność, reakcje na stres i zachowanie. Jego skład różni się w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego (np. jelito czcze, kręte, ślepe) oraz zmienia się wraz z wiekiem zwierzęcia. Prawidłowy mikrobiom odgrywa istotną rolę w utrzymaniu homeostazy i produktywności poprzez udział w metabolizmie składników odżywczych, modulację odpowiedzi immunologicznej oraz ochronę przed kolonizacją patogenami. W związku z tym mikrobiota stanowi obiecujący cel strategii poprawiających efektywność żywienia, rozród i odporność na choroby zakaźne.

Słowa kluczowe

bydło, cielęta, mikrobiom, mikrobiota

Abstract

The microbiota is a key indicator of health and welfare in livestock animals. A diverse microbiome supports physiological functions, including immunity, stress responses, and behaviour. Its composition varies across gastrointestinal segments (e.g., jejunum, ileum, caecum) and changes throughout development. A balanced microbiome is essential for maintaining homeostasis and productivity through its roles in nutrient metabolism, immune modulation, and protection against pathogen colonization. Therefore, it represents a promising target for microbiome-based strategies to improve feed efficiency, reproduction, and resistance to infectious diseases.

Keywords

cattle, calves, microbiome, microbiota

Mikrobiom jelitowy, zwany również „zapomnianym narządem” (ang. *forgotten organ*), ma ogromny wpływ na fenotyp żywiciela poprzez szlaki odpornościowe, funkcje nerwowe i szlaki endokrynologiczne, wpływając na zdrowie i zachowanie żywiciela (7).

Jak podają dane literaturowe, liczba mikroorganizmów zasiedlających organizm ludzi i zwierząt, głównie bakterii, wirusów eukariotycznych i prokariotycznych (m.in. bakteriofagów, mykofagów), archeonów oraz grzybów, przewyższa ponad dziesięciokrotnie liczebność komórek eukariotycznych, z których składa się cały organizm, oraz 150-krotnie liczbę genów w porównaniu do genomu gospodarza. Mikroflora jelitowa składa się z około 10¹⁰-10¹⁴ komórek, których geny i różne metabolity zostały zidentyfikowane w całym przewodzie pokarmowym (48).

Ostatnie badania wskazują, że mikrobiota jelitowa stanowi jeden z głównych markerów pomiaru zdrowia i dobrostanu zwierząt hodowlanych. Obecność różnorodnego mikrobiomu wpływa na prawidłowe funkcjonowanie organizmu ludzi i zwierząt, np. na zdrowie, odporność, reakcje na stres oraz zachowania zwierząt.

Zakres czynników wpływających na różnorodność mikrobiomu jelitowego u bydła

– Rodzaj szczepu bakteryjnego zasiedlającego organizm zwierzęcia,
– wiek i rasa zwierząt,

- status fizjologiczny, np. stan otyłości (skala kondycji BCS),
- rodzaje wzbogacania paszy np. nadmiar węglowodanów, niedobory makro- i mikroelementów (Fe, Se),
- rodzaj diety i stosowanych mieszanek paszowych, źródło pochodzenia,
- stosowane systemy utrzymania, np. obecność lub brak ściółki,
- terapie środkami przeciwdrobnoustrojowymi,
- choroby współistniejące, np. zaburzenia metaboliczne, niedobory, infekcje wirusowo-bakteryjne, infekcje grzybicze, inwazje pasożytnicze. Czynniki wpływające na kształtowanie się mikrobiomu jelitowego u bydła przedstawiono na ryc. 1.

Istnieje również wiele czynników, które mogą być zagrożeniem dla prawidłowej homeostazy mikrobiomu, wśród których należy wymienić:

- zakup zwierząt od podmiotów o nieznaną historię chorób,
- brak lub nieskuteczne zasady bioasekuracji,
- niewłaściwe warunki utrzymania,
- parametry mikroklimatu (temperatura, wilgotność, ruch powietrza, zawartość pyłów i gazów, rodzaj ściółki, wentylacja),
- odsadzenie, zmiana pożywienia,
- jakość pokarmu (siara, mleko, pasteryzacja, preparaty mlekozastępcze),
- prawidłowość transferu odporności siarowej,
- kojce porodowe, procedury podczas porodu,
- grupowanie zwierząt o zróżnicowanym statusie immunologicznym/kontakt między osobnikami z różnych grup,

Czynniki wpływające na mikrobiom

Środowiskowe czynniki stresowe

Mykotoksyny
Przekondycjonowanie zwierząt
Stres cieplny
Ekspozycja na patogeny obecne w środowisku utrzymania zwierząt

Endogenne

Błona śluzowa jelit
Różnorodność mikroflory
Status immunologiczny
Złożoność przewodu pokarmowego: zwierzęta monogastyczne, poligastyczne: (przedżołądki, żołądek właściwy)
Lokalizacja w przewodzie pokarmowym: żołądki, dwunastnica, jelito czcze, jelito ślepe, jelito grube
Choroby subkliniczne



Działania związane z zarządzaniem

Rodzaj diety
Wiek zwierząt
Rasa i typ użytkowania (mięsne, mleczne)
Okres odchowu - odsadzenie
Leki: antybiotyki, chemioterapeutyki, sterydy
Odporność siarowa
Dodatki żywieniowe: probiotyki, prebiotyki, psychobiotyki

1

Ryc. 1. Czynniki wpływające na kształtowanie się mikrobiomu jelitowego u bydła

- ▶ szczepienia w niewłaściwym czasie, brak szczepień,
- czynniki stresowe.

Istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu odgrywa tzw. wczesna kolonizacja mikrobioty, która inicjowana jest jeszcze w drogach rodnych samicy np. w macicy. Badania prowadzone przez Kimura i in. oraz Vuong i in. potwierdziły zależność prawidłowego rozwoju metabolicznego i nerwowego płodu oraz zdolność do uzyskania dojrzałości neonatalnej od mikrobioty ciężarnej krowy (21, 41).

Obecność prawidłowego i zróżnicowanego mikrobiomu ma kluczowe znaczenie w homeostazie zdrowia i produktywności zwierząt, m.in. poprzez udział w metabolizmie składników odżywczych, uwalnianiu biochemicznych produktów ubocznych, modulowaniu komórkowych i humoralnych swoistych i nieswoistych mechanizmów immunologicznych, a także utrzymywaniu symbiotycznej korelacji z organizmem zwierzęcia zapewniającej odporność przed kolonizacją patogenami (24). Zatem mikrobiota stwarza nowe i unikalne możliwości rozwoju strategii, mających na celu poprawę wydajności paszy i reprodukcji, a jednocześnie zwiększenie odporności gospodarza na choroby zakaźne.

Badania prowadzone u bydła wykazały obecność zróżnicowanej mikrobioty bytującej w układzie

oddechowym (49), przewodzie pokarmowym (50) czy układzie rozrodczym (25, 51). Potwierdzono również obecność mikroorganizmów określanych jako miokrobiota komensualna w innych narządach zarówno wewnętrznych, jak wątroba, płuca (52, 53) oraz zewnętrznych, jak oczy (54) czy racice (55).

Także bioróżnorodność filogenetyczna mikrobiomu u zwierząt produkcyjnych jest bardzo zróżnicowana w zależności od gatunku zwierzęcia (7). Na przykład u świń oszacowano 375 filotypów (filogenezy obejmującej taksony lub szczepy opatrzone cechami zewnętrznymi) mikrobioty jelitowej. Z kolei u bydła w zważu wyodrębniono od 300 do 1000 gatunków bakterii. U owiec zakres ten udało się ustalić na 2000-3000 mikroorganizmów, natomiast u kurcząt było to około 915 jednostek taksonomicznych (przypisane 97% podobieństwa sekwencji na podstawie analizy bioinformatycznej 16S rDNA).

Należy podkreślić, że mikrobiom jelitowy różni się pod względem gatunkowym także w różnych obszarach przewodu pokarmowego, takich jak jelito czcze, jelito kręte czy jelito ślepe. Znaczne zróżnicowanie mikrobioty pod względem gęstości i różnorodności zmienia się również w zależności od okresu wzrostu zwierzęcia (od wczesnego życia do dorosłości) (24).

Na bioróżnorodność mikrobiomu u cieląt istotny wpływ mają również rodzaj żywienia (karmienie mlekiem czy preparatem mlekozastępczym) oraz czas rozpoczęcia spożywania paszy (7, 11). Zasiedlanie organizmu cieląt mikroorganizmami rozpoczyna się już w macicy, a podczas porodu u noworodków następuje kolonizacja mikrobiomem pochwy, skóry oraz siary matki, co pozwala na wstępne zasiedlanie mikrobiomu przewodu pokarmowego noworodków. Pełna stabilizacja bioróżnorodności mikrobioty przewodu pokarmowego cieląt następuje w okresie od 3 miesięcy nawet do roku i jest uwarunkowana statusem zdrowotnym cielęcia, stabilnością czynników stresowych oraz rodzajem mikrobiomu w środowisku utrzymania zwierząt (3).

Rozwój przewodu pokarmowego u cieląt noworodków jest bardzo złożony i stanowi kluczową rolę w późniejszym wzroście i dojrzewaniu oraz nabywaniu odporności cielęcia. Najtrudniejszy jest 1. miesiąc życia z uwagi na słabo rozwinięty układ siateczkowo-żwaczowy zwacza odpowiedzialnego m.in. za przekształcanie cząstek pokarmu w metabolity oraz tworzenie mikrobiologicznych źródeł białka wykorzystywanych przez zwierzęta (9). Rozwój i kolonizacja zwacza przez mikroorganizmy zachodzi z zachowaniem określonej sekwencyjności. W pierwszej kolejności, w okresie

kilku godzin po urodzeniu, zwacz jest zasiedlany przez bakterie, następnie przez archeony metanogenne, grzyby beztlenowe i pierwotniaki. W okresie pierwszych dwóch tygodni życia cielęcia dominującym mikrobiomem są m.in. bakterie celulolityczne i proteolityczne (3).

Niezależnie od różnic gatunkowych w obecności mikrobioty w poszczególnych układach i narządach występują również tzw. gatunki wspólne dla całego organizmu. Przykładem są chociażby ostatnie badania prowadzone na Uniwersytecie Stanowym w Arizonie w USA (24), które potwierdziły występowanie zbliżonej mikroflory w różnych częściach organizmu, chociaż potwierdziły także zachowanie pewnej bioróżnorodności gatunkowej. Ponadto cytowani autorzy potwierdzili, że suplementacja mineralno-witaminowa o określonej zawartości (wit. A, D, E oraz Ca, P, NaCl, Mg, K, Mn, Co, Cu, Se oraz Zn) u krów ciężarnych odgrywa istot-

ną rolę w modulowaniu mikrobiomu nowo narodzonych cieląt. Szczegółową analizę mikrobiomu u cieląt przedstawiono w tab.1.

Oddziaływanie sposobu żywienia cieląt na rozwój mikrobiomu ich przewodu pokarmowego

Podaż siary dobrej jakości o odpowiedniej temperaturze zbliżonej do temperatury ciała, czyli ok. 39°C, pozwala na hamowanie wzrostu bakterii niepożądanych, np. patogennych *Escherichia coli* i *Shigella*. Jest to jednocześnie temperatura, która wspomaga stymulację zasiedlania mikrobiomem niezbędnym do prawidłowego rozwoju, np. *Bifidobacterium*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* czy *Bacteroidetes* (3). Z kolei w okresie przechodzenia z żywienia siarą na mleko i/lub preparat mlekozastępczy następuje częściowa wymiana mikrobiomu oraz dalsze różnicowanie i wzrost li-

czebności szczególnie w obrębie rodzajów *Lactobacillus*, *Parabacteroides* i *Bacteroides*, *Prevotella*, *Faecalibacterium* oraz innych mikroorganizmów tworzących mikrobiom cieląt. Proces ten zachodzi mniej więcej od 7. dnia po urodzeniu cielęcia do ukończenia 1. miesiąca życia (3).

Aplikacja wody pitnej cielętom od momentu urodzenia również wykazuje stymulujące oddziaływanie na skład mikrobioty przewodu pokarmowego, co przekładało się także na wzrost masy ciała, strawność włókna oraz lepsze wykorzystanie paszy (45).

Kolejny etap życia cielęcia to okres stopniowego przechodzenia z żywienia paszą płynną na stałą, który powoduje zmianę bioróżnorodności mikrobiomu przewodu pokarmowego cielęcia na korzyść zwiększenia liczby bakterii amylolitycznych i fibrolitycznych w zwazu, m.in. z rodzaju *Succinivibrionaceae*, *Fibrobacteraceae* i *Prevotellaceae*. Zmienia się także ▶

reklama



SKUTECZNY
PRZECIWKO ASF
STĘŻENIE 1%
CZAS KONTAKTU:
5 MINUT

SILNY ŚRODEK DEZYNFEKCYJNY O DZIAŁANIU WIRUSOBÓJCZYM, BAKTERIOBÓJCZYM I GRZYBOBÓJCZYM DLA BRANŻY WETERYNARYJNEJ

laboratoires
ceetal
mpc
WWW.CEETAL.PL

- Nie zawiera fenolu ani formaldehydu!
- Ekonomiczny, stosowany w stężeniu od 0,2%
- Posiada Pozwolenie Ministra Zdrowia nr 8225/20 na obrót produktem biobójczym

AGRIGERM 1510

POMIESZCZENIA, MAGAZYNY,
WNĘTRZA POJAZDÓW

ELEMENTY WYPOSAŻENIA MAJĄCE
KONTAKT Z PASZĄ ORAZ WODĄ

BRODZIKI / MATY DEZYNFEKUJĄCE:
RACICE, OBUWIE, KOŁA



Rodzaj badanej próbki	Zidentyfikowane gatunki bakterii	Gatunki bakterii występujące we wszystkich badanych obszarach ciała
Wymazy z oczu	<i>Clostridium sensu stricto 7</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Jeotgalicoccus</i> , <i>Bibersteinia</i> , <i>Solibacillus</i> , <i>Butyricoccus</i> , <i>Dietzia</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Enteractinococcus</i> , <i>Caryophanon</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Mannheimia</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Conchiformibius</i> , <i>Atopostipes</i> , <i>Ornithinimicrobium</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Rothia</i> , <i>Ornithinococcus</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Glutamicibacter</i> , <i>Luteimonas</i> , <i>Brachyacterium</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Devosia</i> , <i>Brevundimonas</i> , <i>Jeotgalibaca</i> , <i>Carnobacterium</i> , <i>Brevibacterium</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Pedobacter</i>	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Escherichia-Shigella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium sensu stricto 1</i> , <i>Planococcus</i>
Wymazy z racic	<i>Macroccoccus</i> , <i>Facklamia</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Peptoniphilus</i> , <i>Gallicola</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Helcococcus</i> , <i>Mannheimia</i> , <i>Ignavigranum</i> , <i>Jeotgalicoccus</i> , <i>Salinicoccus</i> , <i>Globicatella</i> , <i>Rothia</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Anaerococcus</i> , <i>Psychrobacter</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Dietzia</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Solibacillus</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Enteractinococcus</i> , <i>Proteus</i> , <i>Conchiformibius</i> , <i>Clostridium sensu stricto 7</i> , <i>Pseudomonas</i>	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia-Shigella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium sensu stricto 1</i> , <i>Planococcus</i>
Tkanka wątroby	<i>Bacillus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Enhydrobacter</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Ileibacterium</i> , <i>Blautia</i> , <i>Arsenicicoccus</i> , <i>Faecalibacterium</i> , <i>Pandoraea</i> , <i>Ralstonia</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Anaerococcus</i> , <i>Solibacillus</i> , <i>Anoxybacillus</i> , <i>Lautropia</i> , <i>Sediminibacterium</i> , <i>Hydrogenophaga</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Candidatus Udaeobacter</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Luminiphilus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Serratia</i> , <i>Candidatus Limnoluna</i> , <i>Megasphaera</i> , <i>Paucibacter</i> , <i>Nocardioides</i> , <i>Ochrobactrum</i> , <i>Thermicanus</i> , <i>Pelomonas</i>	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia-Shigella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium sensu stricto 1</i> , <i>Planococcus</i>
Tkanka płucna	<i>Bacillus</i> , <i>Butyricoccus</i> , <i>Geobacillus</i> , <i>Bibersteinia</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Jeotgalicoccus</i> , <i>Solibacillus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Ruminococcus gnavus</i> group, <i>Pandoraea</i> , <i>Finegoldia</i> , <i>Blautia</i> , <i>Rheinheimera</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Thermicanus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Anaerococcus</i> , <i>Mannheimia</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Succinivibrionaceae</i> , <i>Peptoclostridium</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Paracoccus</i> , <i>Moheibacter</i> , <i>Gallibacterium</i> , <i>Blastococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Anoxybacillus</i> , <i>Fusobacterium</i>	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia-Shigella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium sensu stricto 1</i> , <i>Planococcus</i>
Tkanka żwacza	<i>Butyricoccus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Gallibacterium</i> , <i>Bibersteinia</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Carnobacterium</i> , <i>Sarcina</i> , <i>Peptoclostridium</i> , <i>Conchiformibius</i> , <i>Clostridium sensu stricto 2</i> , <i>Ruminococcus gnavus</i> group, <i>Pseudomonas</i> , <i>Alkanindiges</i> , <i>Mannheimia</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Ligilactobacillus</i> , <i>Tepidiphilus</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Anaerococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Epulopiscium</i> , <i>Fructobacillus</i> , <i>Pelistega</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Rothia</i> , <i>Candidatus Udaeobacter</i> , <i>Dietzia</i>	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia-Shigella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium sensu stricto 1</i> , <i>Planococcus</i>
Płyn żwaczowy	<i>Klebsiella</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Gallibacterium</i> , <i>Bibersteinia</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Carnobacterium</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Mannheimia</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Conchiformibius</i> , <i>Pelistega</i> , <i>Ligilactobacillus</i> , <i>Bergeyella</i> , <i>Weissella</i> , <i>Fructobacillus</i> , <i>Kosakonia</i> , <i>Alkanindiges</i> , <i>Rothia</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Limosilactobacillus</i> , <i>Alysiella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Liquorilactobacillus</i> , <i>Kurthia</i> , <i>Thermus</i> , <i>Gemella</i>	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia-Shigella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium sensu stricto 1</i> , <i>Planococcus</i>
Wymaz z pochwy	<i>Klebsiella</i> , <i>Bibersteinia</i> , <i>Butyricoccus</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Mannheimia</i> , <i>Rothia</i> , <i>Jeotgalicoccus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Epulopiscium</i> , <i>Clostridium sensu stricto 7</i> , <i>Dietzia</i> , <i>Terrisporobacter</i> , <i>Solibacillus</i> , <i>Ornithinimicrobium</i> , <i>Clostridium sensu stricto 2</i> , <i>Enteractinococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Ornithinococcus</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Ruminococcus gnavus</i> group, <i>Brachyacterium</i> , <i>Caryophanon</i> , <i>Brevibacterium</i> , <i>Glutamicibacter</i> , <i>Leucobacter</i> , <i>Atopostipes</i> , <i>Paracoccus</i> , <i>Sphingobacterium</i> , <i>Citricoccus</i> , <i>Alishewanella</i> , <i>Blautia</i>	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia-Shigella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium sensu stricto 1</i> , <i>Planococcus</i>
Wymaz z nosa	<i>Conchiformibius</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Bibersteinia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Mannheimia</i> , <i>Rothia</i> , <i>Clostridium sensu stricto 7</i> , <i>Jeotgalicoccus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Solibacillus</i> , <i>Dietzia</i> , <i>Psychrobacter</i> , <i>Brevibacterium</i> , <i>Atopostipes</i> , <i>Frederiksenia</i> , <i>Glutamicibacter</i> , <i>Carnobacterium</i> , <i>Enteractinococcus</i> , <i>Caryophanon</i> , <i>Bergeyella</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Brachyacterium</i> , <i>Ornithinimicrobium</i> , <i>Pedobacter</i> , <i>Uruburuella</i> , <i>Georgenia</i>	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia-Shigella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium sensu stricto 1</i> , <i>Planococcus</i>

Tab. 1. Przykłady najliczniej występujących rodzajów bakterii tworzących mikrobiom w badanych obszarach organizmu u cieląt (24).

Legenda: kolorem niebieskim zaznaczono gatunki występujące w kilku badanych obszarach organizmu

► skład i zawartość enzymów, co wynika chociażby z konieczności trawienia cukrów złożonych oraz włókna surowego (3). Również żywienie różnymi rodzajami paszy stałej cieląt, np. pasza sypka wpływa negatywnie na wzrost brodawek żwacza, obniża pH płynu żwaczowego, zmniejsza liczbę bakterii rozkładających celulozę i zwiększa liczbę degraderów amylozy. Z kolei dodatek kiszonki we wczesnym okresie żywienia paszą treściwą powoduje zmniejszenie różnorodności bakterii żwacza, wzrost różnorodności archeonów oraz ograniczenie różnorodności mikrobiomu grzybów (3, 10).

Niezwykle istotnym czynnikiem stresogennym wpływającym na stabilność i jakość mikrobiomu jelitowego u cieląt jest również okres nagłego odsadzenia z żywienia płynnego/diety mlecznej na pokarm stały (3). Jak wykazują liczne badania, przejście z żywienia mlecznego na paszę stałą cieląt w wieku ok. 8 tygodni nie tylko nie wpłynęło istotnie na homeostazę i bioróżnorodność mikrobiomu żwacza, ale również przyczyniło się do zwiększenia aktywności enzymów w żwaczu oraz wpłynęło na wzrost wykorzystania paszy, co przełożyło się na zwiększenie dziennych przyrostów masy ciała cieląt (3).

Predyspozycje genetyczne w kształtowaniu się mikrobiomu cieląt

W kształtowaniu się mikrobiomu jelitowego u cieląt istotny wpływ mają również predyspozycje genetyczne związane chociażby z uwarunkowaniami rasowymi. Dla przykładu, u cieląt rasy Brahman potwierdzono większą różnorodność rodzajów bakterii wytwarzających maślan i trawiących włókno, a także obecność genów odpowiedzialnych za metabolizm węglowodanów. Ponadto obserwowano mniejszą koncentrację oportunistycznych bakterii patogennych odpowiedzialnych za degradację mucyny. Przekładało się to również na niższy poziom przeciwciał klasy IgG1 w osoczu oraz mniejsze przyrosty masy cia-

ła cieląt, w porównaniu do cieląt rasy Angus, u których wykazano większą koncentrację mikroorganizmów odpowiedzialnych za metabolizm aminokwasów i lipidów (3, 12).

Z kolei u cieląt mlecznych rasy HF, zwłaszcza po pierwszych 8 tygodniach życia, dominującym mikrobiomem są mikroorganizmy uczestniczące w degradacji węglowodanów, takich jak skrobia, ksylan, pektyna i hemiceluloza, oraz do produkcji propionianu, bursztynianu i octanu, a także białek w celu uzyskania peptydów w żwaczu. Mikroorganizmy, zasiedlając przewód pokarmowy cielęcia, uczestniczą ponadto w wytwarzaniu krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA, ang. *short-chain fatty acid*), m.in. octanu, propionianu czy maślanu, co ma istotny wpływ na regulację procesów immunologicznych ustroju (6).

Funkcje krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w ustroju:

- są ligandami receptorów białka G (GPRs), w których aktywacja GPR zwiększa poziom mucyny w komórkach kubkowych, peptydów przeciwdrobnoustrojowych w komórkach Panetha oraz połączeń białkowych w enterocytach,
- hamują wydzielanie cytokin prozapalnych (m.in. TNF-, IL-2, IL-6) przez makrofagi,
- hamują ekspresję białek migrujących z komórek dendrytycznych (CXCL, CD40),
- poprzez hamowanie aktywności deacetylazy histonowej (HDAC) indukują różnicowanie limfocytów regulatorowych (Tre) oraz wydzielanie przez nie cytokin przeciwzapalnych, takich jak IL-10,
- mogą aktywować zależne od komórek dendrytycznych wydzielanie przeciwzapalnej IL-10 oraz wytwarzanie IgA przez limfocyty B.

Drugi istotny przykład udziału predyspozycji genetycznych w kształtowaniu mikrobiomu jelitowego to obserwowane ograniczenia bioróżnorodności oraz ilości mikrobioty u cieląt pochodzących z ciąży bliźniaczych. Jak wykazano w kilku bada-

niach, skład mikrobiomu u cieląt bliźniąt był bardzo zbliżony, natomiast różnił się od składu obserwowanego u pozostałych cieląt utrzymywanych w tej samej grupie (11, 27).

Można zatem przyjąć, że uwarunkowania genetyczne wpływają zarówno na bioróżnorodność mikrobiomu jelitowego we wczesnym okresie życia u cieląt, jak również mogą oddziaływać na odporność ogólnoustrojową, wpływając na zdrowotność i wzrost zwierząt.

Oddziaływanie mikrobiomu jelitowego na rozwój układu odpornościowego

Zróżnicowany mikrobiom jest kluczowy do prawidłowego rozwoju nabłonka błony śluzowej, zarówno w drogach oddechowych, jak i przewodzie pokarmowym czy macicy, co umożliwia prawidłowy rozwój miejscowych mechanizmów odpornościowych związanych z błonami śluzowymi (MALT, GALT, BALT). Układ odpornościowy związany z błonami śluzowymi składa się z różnych barier fizycznych i chemicznych umożliwiających współistnienie z obecnymi w nabłonku i błonie śluzowej symbiotycznymi mikroorganizmami, jednocześnie zapewniając ochronę przed drobnoustrojami patogennymi (4, 16). Obecność prawidłowego mikrobiomu już od wczesnych godzin życia pozwala na zwiększoną aktywację do produkcji szerokiej gamy limfocytów B, stymulacji limfocytów T oraz produkcji przeciwciał sIgA (3).

Dysbioza jelitowa

Zaburzenia w prawidłowej bioróżnorodności mikrobiomu jelitowego połączone są często ze zmniejszeniem ogólnej ilości bakterii komensalnych. Dysbioza mikroflory może zmienić fenotyp i funkcję komórek odpornościowych układu wrodzonego, prowadząc do zmniejszenia ich aktywności, co w efekcie może powodować zmniejszenie wytwarzania przeciwciał i degranulację komórek tucznych (12).

▶ Jednym z bardziej krytycznych etapów odchowu cieląt są okresy związane z odsadzeniem od dotychczas stosowanego pożywienia, np. zmiana z karmienia mlekiem na preparat mlekozastępczy, odsadzenie od krowy czy przejście z żywienia płynnego na paszę stałą. Obserwowane w tym okresie zaburzenia homeostazy mikrobiomu, ukierunkowane na dysbiozę, wpływają na zwiększoną częstotliwość występowania infekcji bakteryjnych i wirusowych, powodujących biegunkę, jako główną przyczynę śmiertelności u cieląt nowo narodzonych (3, 12). Także karmienie cieląt ras mlecznych tzw. mlekiem odpadowym, np. pochodzącym od krów leczonych środkami przeciwdrobnoustrojowymi, stanowi istotny czynnik powodujący dysbiozę przewodu pokarmowego, polegającą nie tylko na zmniejszeniu ogólnej liczby mikroorganizmów komensalnych, takich jak *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Prevotella* i *Eubacterium*, ale również na zwiększeniu liczebności bakterii patogennych (*Shigella*, *Escherichia* i *Enterococcus*). Przyczynia się również do rozwoju szczepów bakterii opornych na środki przeciwdrobnoustrojowe, a także niekontrolowanego do transferu genów oporności do innych bakterii (3). Ekspozycja na antybiotyki zmniejsza stężenie SCFA, które utrzymują funkcje bariery nabłonkowej jelit oraz stymulują limfocyty T CD4+ i ILC do wytwarzania przeciwzapalnej IL-22, m.in. poprzez hamowanie diacetylaz histolowych (HDAC) i stymulację GPR41/43 (6).

Dlatego niezbędne jest właściwe działanie, polegające m.in. na kontrolowaniu i stabilizacji mikroorganizmów tworzących mikrobiom, w szczególności gatunków bakterii z rodzaju *Faecalibacterium*, dominujących w procesach aktywacji reakcji przeciwzapalnych, utrzymywaniu właściwego pH oraz uczestniczących w zwiększonej produkcji maślanu w jelicie grubym, ograniczając w ten sposób występowanie biegunek (31).

Sposoby zapobiegania dysbiozie przewodu pokarmowego oraz modulowania mikrobiomu jelitowego u cieląt

- Doustne podawanie mikrobiomu zwacza pozyskanego od dorosłego bydła,
- aplikacja mikroorganizmów probiotycznych np. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium per os* w pierwszym tygodniu odchowu cieląt – bakterie kwasu mlekowego (LAB) – w sposób naturalny zasiedlają przewód pokarmowy, a zarówno ich wszechstronność w zakresie wykorzystywania substratów, jak i zdolność do kolonizacji powoduje korzystny efekt w modulowaniu mikrobiomu przewodu pokarmowego cieląt (1, 44),
- suplementacja preparatów prebiotycznych, np. oligosacharydów, propionianów oraz naturalnych składników, zawartych m.in. w czosnku, cebuli, topinamburze, szparagach

czy owsie, bezpośrednio po urodzeniu ma wpływ na wzrost liczebności mikrobiomu, w porównaniu do aplikowania ich w późniejszym etapie odchowu (19),

- alternatywą dla probiotyków komercyjnych jest podawanie cielętom *per os* jogurtu lub kefiru (fermentowanego mleka) jako dodatku do mleka lub preparatu mlekozastępczego – jogurt i kefir wpływają na poprawę trawienia, wspomagają funkcje odpornościowe i zapobiegają chorobom u cieląt (37),
- aplikacja filtratu kałowego pozyskanego od zdrowych cieląt lub dorosłego bydła w celu wyeliminowania dysbiozy jelitowej oraz pobudzenia systemów naprawczych i obronnych środowiska jelit (18, 20),
- możliwość rozważenia utrzymywania cieląt z matkami lub krowami karmiącymi do ukończenia 3. miesiąca życia przy niskim poziomie odporności naturalnej oraz wysokich wskaźnikach śmiertelności, wynikających z zaburzeń mikrobiomu – umożliwia to pozyskiwanie bezpośrednio od krowy niezbędnych składników odżywczych, zdecydowanie większej różnorodności mikroorganizmów kolonizujących oraz innych substancji wzmacniających odporność cieląt pozyskiwanych z mleka (37).

Utrzymywanie prawidłowego mikrobiomu przy użyciu suplementów jest zdecydowanie łatwiejsze we wczesnym okresie życia cielęcia, a uzyskane rezultaty mogą się utrzymywać

Rodzaj neuroprzekaźnika lub prekursora	Rodzaj bakterii wchodzących w skład mikrobiomu
GABA	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i>
Noradrenalina	<i>Escherichia</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Saccharomyces</i>
Dopamina	<i>Bacillus</i>
Acetylocholina	<i>Lactobacillus</i>
Serotonina	<i>Escherichia</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Candida</i> , <i>Streptococcus</i>
Tryptofan	<i>Clostridium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i>

Tab. 2. Udział wybranych bakterii stanowiących mikrobiom jelitowy w produkcji wybranych neuroprzekaźników lub ich prekursorów (15)

przez dłuższy okres odchowu (3). Nawet nieznaczne zaburzenia bioróżnorodności gatunkowej mikrobioty prowadzą do zaburzeń metabolicznych i immunologicznych, szczególnie młodego bydła mlecznego (33). U cieląt, jak wskazano powyżej (tab. 1), występuje bardzo zróżnicowany mikrobiom, co wpływa na zwiększenie potencjału oddziaływania bakterii na organizm cielęcia.

Mechanizmy oddziaływania mikrobiomu jelitowego na organizm gospodarza

- Kluczowa rola w procesie wchłaniania i metabolizmie paszy, m.in. poprzez regulację ruchów perystaltycznych jelit oraz utrzymywanie homeostazy bariery jelitowej,
- utrzymywanie równowagi między tzw. pożytecznymi i szkodliwymi bakteriami w jelitach poprzez produkcję końcowych produktów metabolizmu krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, głównie octanu, propionianu i maślanu, pochodzących z fermentacji błonnika pokarmowego i skrobi (należy podkreślić, że co najmniej 85% wszystkich bakterii powinny stanowić bakterie pożyteczne, wysoce specyficzne dla zdrowia i wydajności produkcyjnej),
- produkcja końcowych metabolitów bakterii stanowiących mikrobiom odgrywa niezastąpioną rolę w regulacji homeostazy energetycznej oraz wpływa na aktywność enzymów trawiennych, usprawniając proces trawienia i wchłaniania składników pokarmowych (30),
- metabolity mikrobioty mogą wchodzić w reakcje z układem śluzowym przewodu pokarmowego, wpływając na homeostazę jelitową oraz indukowanie zaburzeń neurologicznych,
- mikrobiom aktywnie uczestniczy w regulacji osi mikrobiota – jelito – mózg, określanej także jako dwukierunkowa komunikacja między szlakami nerwowymi, hormonalnymi i immunologicznymi i jest powiązana z występowaniem stanu

zapalnego jelit oraz reakcji stresowej i zaburzeniami behawioralnymi; komunikacja ta przebiega z udziałem mediatorów głównie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, neuroprzekazników, modulatorów układu odpornościowego, hormonów, a także nerwu błędnego (8).

Przykłady rodzajów bakterii stanowiących mikrobiotę, odpowiedzialnych za produkcję wybranych neuroprzekazników lub ich prekursorów, przedstawiono w tab. 2.

Interakcja między mikroorganizmami a ich żywicielem pozwala ocenić, w jaki sposób mikrobiom przewodu pokarmowego może wpływać na rozwój reakcji stresowej, wydajność metaboliczną czy odporność na choroby. Chorobom zwykle towarzyszy brak równowagi w składzie mikroflory jelitowej. Zaburzenia mikrobioty gospodarza mogą wywoływać dysfunkcje przewodu pokarmowego, prowadząc do rozwoju kwasicy żwacza, wzdęć, niestrawności czy biegunek. Mogą również przyczyniać się do zwiększonej podatności na infekcje wymion, macicy oraz choroby układu oddechowego, co ma istotny związek z zakłóceniem homeostazy miejscowych mechanizmów obronnych związanych z błonami śluzowymi (13, 17).

Kolonizacja jelit przez mikroorganizmy zmienia również rodzaje mucyn produkowanych przez komórki kubkowe przewodu pokarmowego, co odgrywa kluczową rolę w rozwoju i modulacji układu odpornościowego. Prawidłowy mikrobiom stymuluje rozwój mechanizmów obronnych gospodarza jelitowego, w tym warstwy śluzowej – monowarstwowego nabłonka i blaszki właściwej, systemu komórek odpornościowych zlokalizowanych u podstawy epitelium. Warstwa śluzu oddziela zarówno komensalne, jak też patogenne drobnoustroje od tkanek zwierzęcych, z kolei nabłonek stanowi barierę uniemożliwiającą przedostanie się patogenów do tkanek w sytuacji uszkodzenia warstwy śluzu (13, 30). Co więcej, te zmiany występują tylko w tych miejscach jelit, w których doszło do kolonizacji. Związek między

zmniejszoną różnorodnością a chorobami wskazuje, że bogaty gatunkowo ekosystem jelitowy jest bardziej odporny na wpływy środowiska, ponieważ spokrewnione pod względem funkcjonalnym mikroorganizmy mogą kompensować funkcje innych, brakujących gatunków. W związku z tym różnorodność wydaje się być ogólnie dobrym wskaźnikiem „zdrowych jelit” (30).

Oddziaływanie mikrobioty jelitowej na behavior zwierząt

- Mikrobiom jelitowy może również odgrywać kluczową rolę w modulowaniu zachowań społecznych i afektywnych zwierząt, w tym agresji, dociekań oraz stanów depresyjnych i lękowych (5). Dla przykładu, u świń komensalny mikrobiom jelitowy ma ogromny wpływ na poziom apetytu oraz przejawianie zróżnicowanych zachowań żywieniowych, w tym eksploracyjnych (8).
- Bioróżnorodność mikrobioty decyduje również o częstotliwości i jakości przejawiania zachowań pielęgnacyjnych. Na przykład u bydła mięsnego czynności pielęgnacyjne matki zmniejszają liczbę bakterii w sierści cieląt, co wpływa na bioróżnorodność mikrobiomu nowo narodzonych cieląt.
- Mikroflora kształtuje fenotyp gospodarza. Bakterie są powszechnymi czynnikami zakaźnymi, a większość bakterii jest przenoszona przez bliskie kontakty lub przez produkty pośrednie, takie jak żywność, woda, powietrze i przedmioty obecne w środowisku.

Mikroflora jelitowa i wskaźnik odporności gospodarzy

- Mikrobiom jelitowy, poza pełnieniem funkcji metabolicznych, związanych m.in. z fermentacją niestrawionych resztek pokarmowych i endogennego śluzu, oszczędzaniem energii, wytwarzaniem witaminy K oraz wchłanianiem jonów, odgrywa bardzo istotną rolę w modulowaniu ogólnych i miejscowo- ▶

- ▶ wych procesów immunologicznych związanych z błonami śluzowymi.
- Układ immunologiczny jelit, zawiera ok. 70-80% komórek odpornościowych całego organizmu, odgrywając istotną rolę w prawidłowym rozwoju wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Mikroflora jelitowa reguluje i stymuluje aktywność układu odpornościowego przez całe życie. Bakterie komensalne są w stanie bezpośrednio wpływać na wrodzoną i nabytą odpowiedź immunologiczną, m.in. poprzez tłumienie zbędnych reakcji zapalnych i utrzymywaniu homeostazy immunologicznej.
- Istotną rolę w utrzymywaniu poziomu odporności naturalnej odgrywa ją interakcja między mikrobiomem jelitowym a układem odpornościowym błony śluzowej jelit, ponieważ bariera ta stanowi pierwszą linię obrony przed drobnoustrojami jelitowymi.
- Powierzchnie błony śluzowej stanowią m.in. gęsta warstwa śluzu, białka połączeń ścisłych i białka przeciwdrobnoustrojowe. Wrodzone komórki odpornościowe jelit rozwijają tolerancję na bakterie komensalne poprzez identyfikację inwazyjnych patogenów i zapobieganie ich przedostawaniu się ze światła jelita do układu krążenia, a także poprzez zapobieganie przestostowi i przyleganiu prawidłowej mikrobioty.
- Komórki układu odpornościowego są zaangażowane zarówno w swoje, jak i nieswoiste mechanizmy odpowiedzi immunologicznej, m.in. w produkcję przeciwciał (IgA, IgG), fagocytozę, inaktywację toksyn, indukcję ekspresji głównego układu zgodności tkankowej (MHC) klasy II w komórkach nabłonka.
- Po przedostaniu się przez barierę nabłonkową bakterie patogenne poprzez receptory, np. LPS, mogą stymulować uwalnianie mucyny przez komórki kubkowe i indukować szybką regenerację wewnętrznej warstwy śluzowej.
- Mikroflora jelitowa odgrywa kluczową rolę w rozwoju jelitowego układu odpornościowego, podczas gdy układ odpornościowy z kolei kształtuje mikroflorę jelitową i rozwija się równolegle wraz z jej rozwojem (14). Mechanizmy oddziaływania mikrobiomu jelitowego w stanie zdrowia lub choroby przedstawiono w tab. 3.

Jak zatem wykazano w tab. 3, łącznie wiele populacji komórek odporności wrodzonej utrzymuje homeostazę mikrobioty jelitowej.

Mikrobiota jelitowa a stres u zwierząt

Mikroflora jelitowa odgrywa istotną rolę w odpowiedzi na czynniki stresowe, natomiast homeostaza optymalnego mikrobiomu może przyczyniać się do uruchamiania mechanizmów

Mikrobiom jelitowy a odporność

Organizm zdrowy	Organizm chory, niski poziom dobrostanu
<ol style="list-style-type: none"> 1. Pobudzenie komórek dendrytycznych (DC) poprzez prezentację antygenów i aktywowanie receptorów TLR w celu pobudzenia pamięci immunologicznej wrodzonego układu odpornościowego w rozpoznawaniu drobnoustrojów chorobotwórczych i komensalnych. 2. Fagocytoza i eliminacja patogenów przez aktywowane oddziaływaniem mikrobioty komórki odpornościowe błony śluzowej, głównie DC i makrofagi. 3. Zdolność swoistych podgrup komórek DC do pochłaniania wybranych gatunków bakterii w blaszce właściwej błony śluzowej jelita. 4. Przyspieszanie dojrzewania prekursorów konwencjonalnych komórek DC typu 1 za pośrednictwem czynnika martwicy nowotworu (TNFα) indukowanego przez mikroflorę jelitową oraz aktywowane mikrobiomem monocyty i makrofagi. 5. Aktywacja dodatkowo wyspecjalizowanych komórek nabłonkowych, tj. komórki kubkowe i komórki Panetha, uwalniających substancje przeciwdrobnoustrojowe (defensyny, lizozym, wydzielnicza fosfolipaza A2 i katelicyny) i służące jako dodatkowe komórki odpornościowe, utrzymujące wrodzoną odporność jelit. 6. Aktywacja wrodzonych komórek limfoidalnych (ILC), które w większości nie są cytotoksyczne i uczestniczą głównie w wydzielaniu kilku cytokin efektorowych. 7. Mikrobiota m.in. prawdopodobnie poprzez modulację ekspresji swoistych cytokin i chemokin w mikrośrodowisku przewodu pokarmowego wspomaga ponowne zasiedlanie przez makrofagi jelitowe pustej niszy podczas stanu zapalnego (7). 	<ol style="list-style-type: none"> 1. W stanie choroby (proces subkliniczny oraz kliniczny) zmiany mikrobioty sprzyjają wzrostowi oportunistycznych patogenów, zmniejszając liczebność bakterii komensalnych, tj. dysbiozę mikroflory jelitowej. 2. W środowisku patologicznym neutrofile poprzez nadmierne zaangażowanie w miejscu zapalenia mogą indukować uszkodzenie błony śluzowej jelita m.in. poprzez zwiększenie wydzielania cytokin prozapalnych, produkcję metaloproteazy (stres oksydacyjny) i patologiczną aktywację komórek. 3. Dysbioza mikroflory jelitowej indukuje aktywację tzw. zewnątrzkomórkowych czynników neutrofilii (NET, ang. <i>neutrophil extracellular traps</i>), co wiąże się z intensyfikacją stanu zapalnego błony śluzowej jelit. 4. Inicjowanie NETozy przez wiązanie receptorów powierzchniowych neutrofilów (R) z drobnoustrojami lub produktami rozpadu drobnoustrojów, bodźcami zapalnymi lub induktorami endogennymi. 5. Zmiany morfologiczne obserwowane podczas NETozy obejmują rozpad błon jądrowych i ziarnistych oraz mieszanie się zawartości jądrowej, ziarnistej i cytoplazmatycznej. Efektem jest brak równowagi odpowiedzi immunologicznej.

Tab. 3. Mechanizmy stabilizujące odporność naturalną w układzie mikrobiom – organizm – patogen (7)

	Zakres badań	Droga podania	Piśmiennictwo
Krowy	Transfer zawartości żwacza do krowy biorcy, aby zbadać parametry fermentacji i profile bakteryjne biorców	Podaż z paszą	(43)
	Przeszczep kału od krowy do myszy wykazał, że mikrobiom jelitowy jest jedną z przyczyn <i>mastitis</i>	Aplikacja <i>per os</i>	(26)
	Transfer mikroflory kałowej krowy do mikroflory żołądkowo-jelitowej zaburzonej antybiotykami	Przetoka żwacza	(23)
Młode opasy	Transfer najwyższej lub najniższej resztkowej zawartości paszy do wymiany w żwaczu w celu poprawy wydajności pobierania paszy	Kaniulacja żwacza	(46)
Cielęta	Aplikacja <i>per rectum</i> filtratu kałowego pobranego od zdrowych cieląt starszych dawców z sześciu gospodarstw w celu oceny skuteczności w leczeniu biegunki u cieląt noworodków	Wprowadzenie przy użyciu cewnika do odbytu cielęcia biorcy z biegunką na głębokość ok. 30 cm do około drugiego kręgu lędźwiowego	(18)
	Podawanie <i>per os</i> (2x dziennie, co 12 godz.) filtratu płynu żwaczowego nowo narodzonym cielętom do 6. tygodnia życia wraz z siarą lub mlekiem	Dodawanie po 8 ml przefiltrowanego płynu żwaczowego pobranego od krowy bezpośrednio do siary oraz do mleka	(29)
	Aplikacja filtratu kałowego pobranego od zdrowych cieląt w wieku 21-50 dni w celu wyeliminowania dysbiozy jelitowej i ograniczenia objawów biegunkowych u cieląt w wieku od 5. do 50. dnia życia	Cielętom z objawami biegunki podawano doustnie, 2x dziennie, zawiesinę kału (40 ml, 0,0005 g/ml kału)	(20)
	Aplikacja filtratu kałowego pobranego od krów matek cielętom rasy HF z objawami biegunek (stopień 2 w skali 1-4) w wieku od 2. do 4. tygodnia życia	Cielęta otrzymały jedną dawkę filtratu kałowego (25 g zblendowanej mokrej masy kału) dodawanego bezpośrednio do 2,36 l preparatu mlekozastępczego	(35)

Tab. 4. Przykłady przeszczepiania mikroflory kałowej u bydła

radzenia sobie ze stresującymi sytuacjami bez strat produkcyjnych. Obecność czynników stresowych, szczególnie stresu chronicznego i związana z nim aktywność osi podwzgórza – przysadka – nadnercza (HPA), mogą oddziaływać negatywnie na skład mikroorganizmów jelitowych. Oś HPA moduluje wydzielanie kortyzolu i kortykosteronu, które z kolei regulują wydzielanie cytokin krążących w jelitach, co może dodatkowo wpływać na funkcję bariery jelitowej i zmieniać skład mikroflory jelitowej poprzez oś mikrobiota – jelito – mózg. Zwiększona aktywność osi HPA, zarówno u zwierząt gospodarskich, jak i towarzyszących, ma istotny wpływ na obniżenie liczby bakterii z rodziny *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Autorzy wskazują, że stanowi to potwierdzenie współdziałania mikrobiomu jelitowego z mózgiem za pośrednictwem

układu nerwowego, układu odpornościowego i układu hormonalnego, co przekłada się na funkcjonowanie i zachowanie mózgu (38).

Metody poprawy kondycji mikrobioty u zwierząt ekspozowanych na stres

Jednym ze sposobów poprawiania kondycji zwierząt podczas stresu i ograniczania negatywnych konsekwencji chronicznej reakcji stresowej jest aplikacja filtratu kałowego (FMT, ang. *fecal microbiota transplantation*). Polega ona na przeszczepieniu materiału kałowego pobranego od jednego osobnika drugiemu zwierzęciu w celu odtworzenia składu i funkcjonowania mikroorganizmów jelitowych. Należy podkreślić, że kał zawiera również dodatkowe substancje, jak białka, kwasy żółciowe i witaminy, które mogą przyczyniać się do sprawnego przy-

wrócenia funkcji jelit. Metoda FMT jest obecnie powszechnie stosowana w leczeniu klinicznym chorób zarówno u ludzi, jak i zwierząt, pomimo tego, że mechanizm, na którym opiera się FMT w leczeniu chorób, nie został do końca poznany. Sugeruje się, że może być on powiązany z naprawą, zastąpieniem oraz rekonstrukcją pierwotnej mikroflory żywicieli zdrowym mikrobiomem kałowym (18). Przykłady przeszczepiania mikroflory u bydła zostały przedstawione w tab. 4.

Żywnienie jako czynnik powodujący zaburzenia mikrobioty

Jedną z przyczyn mogących istotnie wpływać na zaburzenia homeostazy mikrobioty jest niewłaściwe żywienie. Dla przykładu, dieta wysokosolna stymuluje procesy predysponujące do występowania zaburzeń metabo-

► licznych u ludzi oraz zwierząt, także wysokoprodukcyjnego bydła mlecznego. Ponadto, ze względu na zmianę środowiska jelit, wpływa bezpośrednio na różnorodność mikrobiomu jelitowego, prowadząc do dysbiozy jelitowej. Zmiana mikrobiomu u ciężarnej krowy przekłada się bezpośrednio na proces zasiedlania właściwymi mikroorganizmami płodów oraz noworodków cieląt. Jak wskazują wcześniejsze badania (11), zasiedlanie mikrobiotą inicjowane jest jeszcze w macicy, a następnie w drogach rodnych samicy podczas porodu oraz wraz z pierwszymi porcjami siary.

Niekorzystne oddziaływanie nadmiaru soli w diecie polega również na wpływie na reakcje immunologiczne poprzez aktywację mediatorów prozapalnych, indukując patogennych komórek Th17 (komórek pomocniczych T wytwarzających IL-17) oraz zwiększenie produkcji cytokin prozapalnych GM-CSF, TNF- α i IL-2, co sprzyja rozwojowi chorób autoimmunologicznych.

Z kolei dieta zawierająca wysokie stężenia polifenoli, tj.: flawonoidy, antocyjany, katechiny i garbniki, powoduje efekt destrukcyjny na mikroorganizmy tworzące biofilm komensalny, między innymi poprzez wzmożenie wytwarzania H₂O₂, który uszkadza ścianę komórkową bakterii, a także hamowanie wytwarzania przez bakterie kwasów tłuszczowych oraz biosyntezy kwasu foliowego. Dodatkowo niektóre polifenole są odpowiedzialne za indukowanie stresu oksydacyjnego między innymi poprzez zwiększenie produkcji i uwalniania reaktywnych form utleniania (ROS) u podatnych bakterii (32, 42).

Jedną z metod kontroli mikrobiomu i zapobiegania jego degradacji przez składniki pokarmowe zawarte w paszy jest suplementacja dodatków paszowych w postaci probiotyków, prebiotyków oraz błonnika pokarmowego. Probiotyki, które często zawierają bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, *Bifidobacteria* oraz drożdże, np. *Saccharomyces*, odpowiedzialne są m.in. za utrzymywanie integralności bariery

nabłonkowej jelit poprzez zmniejszenie poziomu LPS, ochronę połączeń ścisłych i zmniejszenie poziomu cytokin prozapalnych. Dla przykładu, suplementacja probiotykami zawierającymi szczepki *Lactobacillus johnsonii* stabilizowała mikroflorę jelitową zarówno matki, jak i potomstwa oraz chroniła młode przed infekcjami wywołanymi przez reowirusy (22). Z kolei prebiotyki, takie jak inulina, fruktooligosacharydy i galaktooligosacharydy, wybiórczo zwiększają występowanie populacji bakterii probiotycznych, głównie *Lactobacillus* i *Bifidobacteria* (34).

Wzrost spożycia błonnika pokarmowego, szczególnie fruktanów i galaktooligosacharydów, przyczynia się do zwiększenia liczebności bakterii *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* bez zmiany różnorodności. Na podkreślenie zasługuje to, że zarówno pro-, jak i prebiotyki przyczyniają się do zwiększenia poziomu SCFA, korzystnie wpływając na mechanizmy odporności, w tym także miejscowej, związanej z błonami śluzowymi, a także poprzez hamowanie prozapalnych szlaków NF- κ B i indukując komórek Treg (34).

Synergistyczne efekty jednoczesnego stosowania pro- i prebiotyków związane są również z hamowaniem rozwoju chorób metabolicznych, alergicznych i autoimmunologicznych, wynikających z dysbiozy mikrobioty jelitowej. Należy jednak podkreślić, że probiotyki są skuteczne tylko wtedy, kiedy są podawane w postaci aktywnej, a ich skuteczność nie jest długoterminowa i dlatego wymagane jest ich okresowe stosowanie w celu uzupełnienia i stabilizacji mikrobioty (2).

Należy pamiętać, że różne rodzaje szczepów probiotycznych mogą mieć zróżnicowane działanie na organizm.

Probiotyki mogą wpływać zarówno na odporność wrodzoną, jak i nabytą gospodarza. Przy czym odporność wrodzona zapewnia barierę fizyczną i chemiczną przed patogenami. Na przykład komórki nabłonka jelitowego (IEC) zapobiegają rozprzestrzenianiu się szkodliwych drobnoustrojów, dzięki czemu nie dochodzi do infekcji. Z kolei nabyta odpowiedź immunologiczna zależy od limfocytów B i limfocytów T, które stymulują odpowiedź swoistą dla określonego antygeny (39).

W zakresie funkcji immunologicznych związanych ze środowiskiem jelit, probiotyki odgrywają istotną rolę w proliferacji i różnicowaniu komórek nabłonkowych oraz w rozwoju i homeostazie układu odpornościowego. Ponadto aktywują komórki odpowiedzi immunologicznej, w tym granulocyty, komórki dendrytyczne, makrofagi, limfocyty T i limfocyty B, przez co pośrednio biorą udział w odpowiedziach zapalnych regulowanych przez cytokiny, takie jak TNF- α , IL-8, IL-1 β , IL-15 i IL-6. Dla przykładu, bakterie *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus fermentum* i *Lactobacillus crispatus*, mogą korzystnie regulować poziom wydzielania pro- i przeciwzapalnych interleukin IL-6, IL-8 oraz IL-10 (56).

Antybakteryjny mechanizm działania probiotyków

Probiotyki wytwarzają substancje antybakteryjne oraz hamują rozwój bakterii, ich przyczepność i translokację. Bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* mogą wytwarzać bakteriocyny lub inne peptydy antybakteryjne, które minimalizują rozwój ściśle powiązanych bakterii (47). Bakteriocyny są bioaktywnymi peptydami przeciwdrobnoustrojowymi, wytwarzanymi w rybosomach wielu bakterii. Podstawą działania bakteriocyn jest przenikanie przez błonę bakterii chorobotwórczych, co zapewnia hamowanie syntezy DNA i RNA przez komórkę oraz utratę środowiska wewnątrzkomórkowego. Bakteriocyny ograniczają także zdolność drobnoustrojów do kolonizacji (40).

Podstawowy sposób działania probiotyków obejmuje konkurencyjne wykluczenie patogennych mikroorganizmów poprzez hamowanie adhezji

patogenów, a także produkcję składników antybakteryjnych, tzw. peptydów przeciwdrobnoustrojowych (AMP), m.in. bakteriocyn i defensyn, ale także kwasów organicznych (kwas mrówkowy, kwas mlekowy, kwas octowy), etanolu, dwutlenku węgla czy diacetyle (36). Szczepy probiotyczne przeciwdziałają bakteriom chorobotwórczym poprzez obniżanie pH światła jelita, wzmocnienie funkcji bariery jelitowej oraz modulację układu odpornościowego MALT i GALT (22, 28).

Potencjalne problemy ze strony probiotyków

Nie można zagwarantować, że każdy unikalny probiotyk zapewni bezpieczeństwo w przypadku szczepów konwencjonalnych. Niektóre mogą mieć niepożądane właściwości, takie jak przenoszona oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe, czynniki zjadliwości, hemoliza czy potencjalnie niepożądane uwalnianie toksycznych substancji biochemicznych. Aby uniknąć jakichkolwiek niepożądanych reakcji, należy określić odrębne szczepy probiotyczne dla poszczególnych gatunków w określonym środowisku. Należy również pamiętać, że skuteczność i reakcje dla każdego probiotyku są odmienne, dlatego konieczna jest identyfikacja optymalnych warunków, w których szczep probiotyczny może przetrwać, kolonizować, rozprzestrzeniać się i wywierać wpływ na gospodarzy w określonym środowisku. Przed wskazaniem wytycznych, dotyczących probiotyków z jakimkolwiek stopniem pewności, zawsze niezbędne są dodatkowe wymagania w odniesieniu do badanych potencjalnych szczepów probiotycznych (22, 28).

Podsumowanie

Zasiedlanie mikroorganizmów stanowiących mikrobiotę u cieląt rozpoczyna się już w macicy oraz w trakcie porodu. Skład mikroorganizmów oraz ich bioróżnorodność kształtuje się w ciągu pierwszych kilku tygodni życia cielęcia i jest silnie zależne od predyspozycji genetycznych, środowiska utrzymania i odchowu cieląt, wieku

i rodzaju żywienia (okres siarowy, karmienie mlekiem lub mlekozastępczym), jak również wczesnego leczenia antybiotykami (3).

Aby lepiej zrozumieć interakcje gospodarz – mikrobiom, niezwykle ważna jest dogłębna wiedza na temat bioróżnorodności mikroorganizmów występujących między nabłonkiem błony śluzowej a światłem przewodu pokarmowego u cieląt w okresach pre-dylekcyjnych, takich jak poród i okres siarowy, zmiana żywienia z preparatu mlekozastępczego na paszę stałą czy okres odsadzenia.

Skład mikrobiomu jelitowego we wczesnym okresie życia cielęcia oraz ocena jego aktywności ekologicznej i metabolicznej może stanowić istotny wskaźnik przewidywania wystąpienia potencjalnych zaburzeń zdrowotnych w okresie odchowu.

Istotną rolę w kształtowaniu się bioróżnorodności gatunkowej mikroorganizmów oraz zachowaniu homeostazy ustroju odgrywają czynniki powodujące powstawanie dysbiozy wywołanej głównie przez środki przeciwdrobnoustrojowe podawane w paszy oraz środowiskowe czynniki stresowe. Dlatego wskazane jest zwiększenie nacisku na możliwość wykorzystania mikrobiomu jelitowego w postaci prebiotyków i probiotyków lub filtratów kałowych, płynów żwaczowych czy naturalnych fermentacji produktów mlecznych (3).

Piśmiennictwo

1. Abe F., Ishibashi N., Shimamura S.: *Effect of administration of Bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets.* „J Dairy Sci”, 1995, 78, 2838-2846.
2. Amara A.A., Shibl A.: *Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management.* „Saudi Pharm J”, 2015, 23 (2), 107-14.
3. Amin N., Seifert J.: *Dynamic progression of the calf's microbiome and its influence on host health.* „Comput Struct Biotechnol J”, 2021, 26 (19), 989-1001.
4. Chase C., Kaushik R.S.: *Mucosal immune system of cattle: all immune responses begin here.* „Vet Clin North Am Food Anim Pract”, 2019, 35, 431-51.
5. Campbell B.E., Hassan M.M., Moore R.J., Olchoway T., Ranjbar S., Soust M., Ramirez-Garzon O., Al Jassim R.,

- Alawneh J.I.: *Temporal Changes in Faecal Microbiota Composition and Diversity in Dairy Cows Supplemented with a Lactobacillus-Based Direct-Fed Microbial.* „Animals”, 2024, 14, 3437.
6. Campbell J., Fahey G.: *Psyllium and methylcellulose fermentation properties in relation to insoluble and soluble fiber standards.* „Nutr Res”, 1997, 17, 619-629.
7. Chen Q., Nair S., Ruedl C.: *Microbiota regulates the turnover kinetics of gut macrophages in health and inflammation.* „Life Sci Alliance”, 2021, 2, 5 (1).
8. Choudhury R., Middelkoop A., Bolhuis J.E. et al.: *Exploring the association between microbiota and behaviour in suckling piglets.* „Sci Rep”, 2022, 12, 12322.
9. Davis C.L., Drackley J.K.: *The development, nutrition, and management of the young calf.* „Ames (IA): Iowa State University Press”, 1998.
10. Dill-McFarland K.A., Weimer P.J., Breaker J.D., Suen G., Dudley E.G.: *Diet influences early microbiota development in dairy calves without long-term impacts on milk production.* „Appl Environ Microbiol”, 2019, 85, 2141-18.
11. Du Y., Gao Y., Hu M., Hou J., Yang L., Wang X., Du W., Liu J., Xu Q.: *Colonization and development of the gut microbiome in calves.* „J Anim Sci Biotechnol”, 2023, 14 (1), 46.
12. Fan P., Bian B., Teng L., Nelson C.D., Driver J., Elzo M.A. et al.: *Host genetic effects upon the early gut microbiota in a bovine model with graduated spectrum of genetic variation.* „ISME J”, 2020, 14, 302-17.
13. Flint H.J., Scott K.P., Louis P., Duncan S.H.: *The role of the gut microbiota in nutrition and health.* „Nat Rev Gastroenterol Hepatol”, 2012, 9 (10), 577-89.
14. Hirano T., Nakase H.: *The Multifaceted Effects of Gut Microbiota on the Immune System of the Intestinal Mucosa.* „Immuno”, 2021, 1, 583-594.
15. Homer B., Judd J., Mohammadi Dehcheshmeh M., Ebrahimie E., Trott D.J.: *Gut Microbiota and Behavioural Issues in Production, Performance, and Companion Animals: A Systematic Review.* „Animals”, 2023, 13 (9), 1458.
16. Hooper L.V., Littman D.R., Macpherson A.J.: *Interactions between the microbiota and the immune system.* „Science”, 2012, 336, 1268-73.
17. Hu X., Li S., Mu R., Guo J., Zhao C., Cao Y., Zhang N., Fu Y.: *The Rumen Microbiota Contributes to the Development of Mastitis in Dairy Cows.* „Microbiol Spectr”, 2022, 10 (1), e02512-21.

Całość piśmiennictwa dostępna na vetkompleksowo.pl.