

**Opracowanie preparatów synbiotycznych do profilaktyki
zdrowotnej trzody chlewnej**

mgr inż. Agnieszka Chlebicz-Wójcik

Promotor

Prof. dr hab. inż. Katarzyna Śliżewska

Streszczenie

W Krajach Członkowskich Unii Europejskiej wprowadzono zakaz stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu w hodowli zwierząt, który obowiązuje od 1 stycznia 2006. Konsekwencją tego, może być ograniczenie efektywności hodowli zwierząt oraz zwiększenia występowania drobnoustrojów chorobotwórczych w środowisku. Jednakże, równie istotnym niebezpieczeństwem dla ludzi i zwierząt jest rozwój antybiotykooporność bakterii chorobotwórczych. Dlatego też, bardzo ważnym aspektem w hodowli żywego inwentarza, między innymi trzody chlewnej, jest wprowadzenie alternatywnych dodatków paszowych, które zapewniłyby odpowiedni poziom stymulacji wzrostu zwierząt, jak również wpływały pozytywnie na ich dobrostan.

Przyjmuje się, iż w hodowli trzody chlewnej, najkorzystniejszy wpływ na zwierzęta mają probiotyki oraz prebiotyki. Preparaty zawierające oba te komponenty, które określa się mianem synbiotyków, mają silniejsze korzystne działanie na organizm gospodarza, aniżeli stosowanie probiotyków i prebiotyków indywidualnie. Z tego powodu, celem badań, było stworzenie preparatów synbiotycznych do profilaktyki zdrowotnej trzody chlewnej, których działanie będzie efektywniejsze, niż handlowo dostępnych probiotyków.

Pierwszym etapem pracy były badania *in vitro*, mające na celu wyselekcjonowanie szczepów probiotycznych *Lactobacilli* oraz drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, dobór odpowiedniej niskokosztowej, alternatywnej pożywki fermentacyjnej do ich namnażania oraz wybór optymalnego prebiotyku.

Wstępną eliminację szczepów *Lactobacilli* oraz drożdży *S. cerevisiae* przeprowadzono na podstawie, odpowiednio, analizy antybiotykooporności i antagonizmu wobec bakterii patogennych oraz właściwości amylopolitycznych. W dalszym etapie pracy, oceniono poddano przeżywalność tych drobnoustrojów w warunkach niskiego pH i obecności soli żółci, ale także ich zdolność do detoksyfikacji mykotoksyn, co pozwoliło na wyselekcjonowanie szczepów do opracowania wieloszczepowych preparatów probiotycznych. Następnie zbadano bezpieczeństwo wybranych szczepów, poprzez analizę właściwości mucynolitycznych i hemolitycznych, jak również przeprowadzono ocenę cytotoksyczności. Kolejnym etapem była analiza hydrofobowości wyselekcjonowanych szczepów, ale także ich zdolności do autoagregacji i koagregacji z bakteriami chorobotwórczymi oraz adhezji do komórek nabłonka jelitowego, jak również innych powierzchni biotycznych i abiotycznych. Analizowano także potencjał tych szczepów do hamowania przylegania bakterii patogennych do komórek Caco-2. Ta część doświadczenia pozwoliła wybrać 5 szczepów *Lactobacilli*, tj.: *Lactocaseibacillus (Lc) paracasei* ŁOCK 1091, *Lactiplantibacillus (L.) pentosus* ŁOCK 1094, *L. plantarum* ŁOCK 0860, *Limosilactobacillus reuteri* ŁOCK 1092 i *Lc. rhamnosus* ŁOCK 1094 oraz jeden szczep drożdży *S. cerevisiae* ŁOCK 0119, które wykazywały potencjał probiotyczny.

W kolejnym etapie badań skoncentrowano się na stworzeniu alternatywnej, niskokosztowej pożywki fermentacyjnej w oparciu o surowce naturalne, wykorzystywane w żywieniu trzody chlewnej. W tym celu analizowano dynamikę wzrostu wybranych szczepów drobnoustrojów w pożywce składającej się z mieszaniny mąk i wody w odpowiednio dobranych proporcjach oraz w optymalnych warunkach temperatury i pH. Pożywka

fermentacyjna, która w składzie zawierała mąki, tj.: pszenną (40%), jęczmienną (30%), kukurydzianą (20%) oraz żytnia (10%), wymieszane z wodą w stosunku 1:1,5, spełniała zapotrzebowania na składniki odżywcze wyselekcjonowanych szczepów i stymulowała ich wzrost.

Ostatnią fazę badań *in vitro* stanowił dobór substancji prebiotycznej dla wybranych szczepów mikroorganizmów. Badano wpływ 5 różnych związków o właściwościach prebiotycznych (inulina, maltodekstryny, pektyna z jabłek, β -glukan, skrobia kukurydziana) oraz porównawczo glukozy na wzrost, metabolizm oraz profil enzymatyczny wybranych szczepów *Lactobacilli*. Ponadto, metodą wspólnej hodowli analizowano wpływ wybranych substancji prebiotycznych na właściwości antagonistyczne szczepów probiotycznych wobec bakterii chorobotwórczych. Jedynie inulina wpływała pozytywnie na wytwarzanie kwasu mlekowego oraz krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, jednocześnie stymulując właściwości przeciwdrobnoustrojowe probiotyków i nie mając negatywnego wpływu na profil enzymatyczny wyselekcjonowanych szczepów mikroorganizmów.

Przeprowadzone badania *in vitro* pozwoliły na skonstruowanie 3 preparatów synbiotycznych, w których skład wchodziła inulina, szczep drożdży *S. cerevisiae* ŁOCK 0119 oraz od 3 do 5 szczepów *Lactobacilli*. W drugim etapie tworzenia niniejszej pracy analizowano wpływ nowo opracowanych synbiotyków na mikrobiotę kałową trzody chlewnej oraz jej metabolizm *in vivo*. Ponadto, badano potencjał danych preparatów do redukcji genotoksyczności wody kałowej świń. Wykazano, iż nowo opracowane preparaty synbiotyczne miały korzystny wpływ na skład dominującej mikrobioty kałowej świń na wszystkich etapach hodowli, jak również obserwowano pozytywne zmiany w stężeniach kwasów organicznych w kale trzody chlewnej. Jednakże, nie stwierdzono istotnego wpływu stosowania danych preparatów na genotoksyczność wody kałowej tych zwierząt. Efekt działania synbiotyków na trzodę chlewną był bardziej znaczący, aniżeli handlowo dostępnych probiotyków, tj. BioPlus 2B® i Cylactin® LBC.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że stworzone preparaty synbiotyczne mogą korzystnie wpływać na dobrostan oraz wzrost trzody chlewnej poprzez modulację mikrobioty jelitowej oraz jej metabolizmu, stanowiąc tym samym alternatywę dla antybiotykowych stymulatorów wzrostu.