



Bakteriocyny

– nowa grupa dodatków paszowych?, cz. I

Współczesne mieszańce kurcząt rzeźnych, wywodzą się od dzikiego kura bankiwa (*Gallus gallus*), który został udomowiony w Azji około 8000 lat temu (Fumihito i inni 1994). Domestykacja i prowadzone przez wiele pokoleń prace hodowlane sprawiły, że zmianom ulegała morfologia ptaków, ich zdolność do wykorzystywania paszy, a także intensywność przyrostów masy ciała.

Masa ciała (m.c.) piskląt kura bankiwa, po wykluciu wynosi średnio 27 g, a w 35 dobie życia około 300 g (Jackson i Daimond 1996). Dla porównania, kury linii wyhodowanej w latach 50-tych XX wieku w USA, utrzymywane na Uniwersytecie w Illinois, w tym wieku osiągają m.c. 1,05 kg (Schmidt 2009). Masa ciała piskląt współczesnych brojlerów kurzych z kolei, po wykluciu wynosi około 40 g, natomiast w 35 dobie życia przekracza 2 kg. W ciągu 5-tygodniowego odchovu zwiększają zatem m. c. aż o 5000% (Choct 2009). Efekt ten został osiągnięty dzięki intensywnej selekcji w kierunku wysokich przyrostów masy ciała, rygorystycznym standardom zoohigienicznym i prawidłowo zbilansowanym mieszankom paszowym zaspo-

kajającym potrzeby pokarmowe ptaków (Choct 2009).

Prace nad udoskonaleniem kur mięsnych wpłynęły również na budowę ptaków i proporcje poszczególnych partii ciała. U współczesnego brojlera udział mięśni piersiowych w masie ciała osiąga 18%, podczas gdy w latach 50 XX wieku u jego odpowiednika wynosił jedynie 9%. W rezultacie prowadzonych badań zmniejszył się też udział masy serca ptaków i zwiększyła się długość jelit, co prawdopodobnie jest związane ze zwiększonymi potrzebami pokarmowymi szybko rosnących mieszańców (Schmidt 2009).

Silny wpływ na stan zdrowia kurcząt rzeźnych oraz efekty ich chowu wywiera, często silnie zróżnicowana, mikroflora jelitowa. Zidentyfikowanie oraz poznanie interakcji zachodzących pomiędzy tworzącymi ją drobnoustrojami jest bardzo trudne. Mimo intensywnie prowadzonych badań z wykorzystaniem nowoczesnych technik molekularnych. Jak dotąd wyizolowano i sklasyfikowano zaledwie 640 gatunków bakterii zasiedlających układ pokarmowy drobiu. Ocenia się, że do dziś poznano mniej niż 10% populacji mikroflory jelitowej kurcząt rzeźnych. Na skład jakościowy i ilościowy tego mikroekosystemu ma wpływ wiele czynników, m.in. wiek ptaków, warunki utrzymania, stres środowiskowy, skład i sposób obróbki paszy oraz stosowane w niej dodatki takie jak pro i prebiotyki, kokeydiostatyki, czy

enzymy. Co więcej, mikroflora przewodu pokarmowego kurcząt jest zróżnicowana, w zależności od odcinka, w którym występuje. Stwierdzono również różnice pomiędzy składem populacji bakterii w jelicie cienkim i jelitach ślepych oraz w kale.

Naruszenie równowagi tego skomplikowanego ekosystemu może skutkować zwiększeniem podatności drobiu na infekcje bakteryjne. Wszelkie uszkodzenia błony śluzowej jelit spowodowane patogennymi drobnoustrojami prowadzą do pogorszenia stanu zdrowia ptaków i spadku wykorzystania paszy. Przyczyną strat finansowych w hodowli są także nie dające wyraźnych objawów formy subkliniczne chorób, występujące często u osobników osłabionych, o obniżonej odporności. Z powyższych względów badania czynności przewodu pokarmowego kurcząt rzeźnych powinny być prowadzone wielostronnie, nie tylko pod kątem mikrobiologii, ale również fizjologii, endokrynologii i immunologii (Choct 2009).

Zoonozy i choroby drobiu

Skład mikroflory jelitowej brojlerów ma wpływ na zdrowotność ptaków oraz opłacalność produkcji. Istotne jest także bezpieczeństwo konsumentów mięsa drobiowego oraz osób zajmujących się kurczętami na fermach, bądź stanowiących obsługę ubojni. Osoby te są bowiem



szczególnie narażone na kontakt z patogenami, mogącymi wywoływać groźne dla zdrowia lub nawet życia choroby odzwierzęce. Przypadki zatruc pokarmowych będących następstwem konsumpcji mięsa drobiowego są notowane na całym świecie. Najczęściej są one wywoływane przez bakterie z rodzajów *Salmonella* i *Campylobacter*. Największe ryzyko zakażenia zoonotycznego wiąże się ze spożywaniem mięsa surowego, które jest składnikiem licznych lokalnych potraw, w egzotycznych krajach. Warunki klimatyczne jakie panują w wielu z nich w połączeniu z brakiem elementarnych zasad higieny sprawiają, że prawdopodobieństwo występowania drobnoustrojów chorobotwórczych w wytwarzanym na ich terenie mięsie drobiowym jest szczególnie wysokie. Dla przykładu w Kambodży ok. 80% próbek surowego mięsa drobiowego było zakażonych bakteriami z rodzaju *Campylobacter* (*C. jejuni* 50.0%; *C. coli* 29.0%; *C. lari* 21.0%), a w ok. 88% występowały także pałeczki *Salmonella* (Lay i inni 2010).

Przypadki zatruc pokarmowych wywołanych przez patogeny obecne w mięsie drobiowym odnotowuje się także w krajach rozwiniętych. Według CDC (Centers for Disease Control and Prevention) w USA najczęstszą przyczyną są bakterie *Campylobacter jejuni* obecne w niedogotowanym mięsie drobiowym. Rocznie na terenie tego kraju rejestruje się od 2,1 do 2,4 mln przypadków campylobakteriozy (Blaser i inni 1983). Leczenie tej jednostki chorobowej jest bardzo trudne gdyż często jest ona konsekwencją infekcji wywoływanej przez bakterie odporne na powszechnie stosowane (podawane pacjentom) antybiotyki. Niewyleczona campylobakterioza może prowadzić do zapalenia stawów lub być przyczyną zespołu Guillaina-Barrégo, choroby atakującej układ nerwowy i mogącej wywołać paraliż (Alterkuse 1999).

Pałeczki *Salmonella* również stanowią istotny czynnik epizootologiczny zatruc pokarmowych ludzi. W większości przypadków salmonellozy są powodowane przez bakterie, których nosicielami są ptaki. Przykładowo, na terenie wojewódz-

stwa warmińsko-mazurskiego w latach 2001-2005 stwierdzono występowanie pałeczek *Salmonella* w 10,4% ferm drobiu (Mituniewicz i inni 2007). Salmonellozy są chorobami zakaźnymi, których zwalczanie jest uregulowane prawnie. W Polsce na podstawie ustawy z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (Dz. U. 2004 nr 69. Poz. 625 z późniejszymi zmianami) i dyrektywy Komisji Europejskiej nr 2003/99/EC.

W ramach „Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów Salmonelli w stadach hodowlanych gatunku kura (*Gallus gallus*)”. Monitoringiem są objęte serotypy *Salmonella Typhimurium Salmonella Enteritidis. Salmonella Infantis, Salmonella Hadar* i *Salmonella Virchow*. Od roku 2008 podobny monitoring obowiązuje w stadach niosek towarowych, a od 2009 roku także na fermach brojlerów kurzych. Obejmuje on najbardziej niebezpieczne bakterie *Salmonella Typhimurium* i *Salmonella Enteritidis*.




**Radosnych Świąt
 Wielkanocnych,
 smacznego jajka
 życzy:
 Zarząd i Pracownicy
 Dossche
 Sp. z o.o.**

DOSSCHE Sp. z o.o., 62-800 Kalisz, ul. Obozowa 32-36, tel. 0-62 753 87 00



Wymienione bakterie mogą przedostawać się do produktów drobiowych, a co za tym idzie być źródłem salmonelloz u ludzi (Rzedzicki i inni 2000). Ich objawy (biegunka, wysoka gorączka, gorączka skurcze tułowi), najczęściej pojawiają się po 6-72 godzinach od spożycia zakażonych produktów i ustępują po 4-7 dobach. (CDC 2008; CDC 2010).

W celu ograniczenia ryzyka zakażeń pałeczkami *Salmonella* za pośrednictwem produktów drobiowych CDC opracowało zalecenia żywieniowe. Są one również ważnym elementem profilaktyki innych zoonoz o podobnych drogach transmisji. Nakładają one konieczność:

- gotowania mięsa drobiowego i jaj,
- mycia rąk, powierzchni roboczych i przyborów kuchennych niezwłocznie po kontakcie z surowym mięsem,
- zachowywania szczególnej ostrożności w trakcie przygotowywania żywności dla niemowląt, dzieci, osób starszych oraz osób o obniżonej odporności,
- uniemożliwienia dzieciom kontaktu z surowym mięsem drobiowym,
- nie spożywania mięsa niedogotowanego,
- nie przechowywania produktów podanych obróbce termicznej z produktami surowymi.

Bakteryjne infekcje przewodu pokarmowego u ludzi najczęściej leczy się zachowawczo, bazując na odpowiednim nawadnianiu wyczerpanego biegunką i wymiotami organizmu oraz lekkostrawnej diecie. Antybiotykoterapię stosuje się jedynie u niemowląt, małych dzieci i osób dorosłych o obniżonej odporności. W przypadku hodowli zwierząt, zwłaszcza prowadzonej na skalę przemysłową, tak łagodne środki nie byłyby jednak w stanie zapobiec szybkiemu rozprzestrzenianiu się chorób, a co za tym idzie, powstaniu zagrożenia dla ludzi i środowiska oraz generowaniu znacznych strat ekonomicznych.

W hodowli zwierząt antybiotyki stosowane są niemal od chwili, gdy zostały odkryte. Pełnią one jednak rolę nie tylko terapeutyczną. W wielu krajach do dnia dzisiejszego są używane jako antybiotykowe stymulatory wzrostu (ASW). Podnoszą one

wykorzystanie paszy o 3-5% oraz chronią ptaki przed patogennym oddziaływaniem potencjalnie chorobotwórczych mikroorganizmów jelitowych. Ich stosowanie, poza niezaprzeczalnymi korzyściami ekonomicznymi, doprowadziło jednak także do rozwoju antybiotykooporności bakterii chorobotwórczych i w konsekwencji tego stało się także przyczyną spadku odporności otrzymujących je zwierząt, oraz zmniejszenia wrażliwości na antybiotyki ludzi spożywających produkty pochodzenia zwierzęcego.

Od 1 stycznia 2006 na terenie Unii Europejskiej prawo zabrania używania antybiotykowych stymulatorów wzrostu. Z powyższych względów konieczne jest poszukiwanie innych metod profilaktyki i zwalczania infekcji bakteryjnych u drobiu. (Lipiński 2007).

Alternatywy dla antybiotyków poszukuje się w pro i prebiotykach, kwasach, enzymach oraz preparatach ziołowych. Proponowano również doustne podawanie przeciwciał pochodzących z jaj kurzych (Yokohama i inni 1998) czy stosowanie cytokin jako stymulatorów wzrostu i odporności (Lowenthal i inni 1999). Szeroko rozważana jest także możliwość stosowania zamiast antybiotyków - bakteriocyn i peptydów antibakteryjnych produkowanych przez inne mikroorganizmy niż bakterie oraz bakteriofagów – wirusów niszczących bakterie. Bakteriocyny mogą być podawane zwierzętom bezpośrednio w paszy lub pośrednio poprzez szczepy bakterii, które je produkują (Joerger 2003).

Bakteriocyny

Bakteriocyny są związkami białkowymi wytwarzanymi przez przeciętnie co trzeci szczep bakteryjny. Różnią się między sobą budową, masą cząsteczkową, właściwościami fizyko-chemicznymi, zakresem aktywności oraz mechanizmem działania. Związki te mają wiele cech wspólnych z antybiotykami. Różnią się od nich jednak pochodzeniem, sposobem działania oraz zakresem aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Bakteriocyny są syntezowane rybosomalnie przez bakterie, podczas gdy antybiotyki są

najczęściej wtórnymi metabolitami mikroorganizmów takich jak pleśnie, promieniowce i grzyby. Spektrum działania antybiotyków jest szerokie, natomiast bakteriocyn zwykle wąskie – wymierzone w drobnoustroje blisko spokrewnione ze szczepem je produkującym (Błaszczyk 2008; Klaenhammer 1993).

Struktura chemiczna i masa cząsteczkowa antybiotyków jest także dużo bardziej zróżnicowana niż bakteriocyn. Wszystkie bakteriocyny jako związki o charakterze białkowym są wrażliwe na działanie enzymów proteolitycznych. Większość z nich ulega inaktywacji pod wpływem działania pronazy, proteinazy i trypsyny. Wiele bakteriocyn traci także aktywność w rezultacie działania niespecyficznego enzymów proteolitycznych wytwarzanych przez drobnoustroje. Związki te są natomiast odporne na wysokie temperatury, drastyczne zmiany pH, a także na działanie lizozymu i lipazy (Svetoch & Stern, 2010). Bakteriocyny nie akumulują się w środowisku naturalnym. Nie inicjują one również powstawania opornych na ich działanie form drobnoustrojów. Bakteriocyny są skuteczne w walce z patogenami niewrażliwymi na antybiotyki, co z punktu widzenia medycyny ludzkiej jest niezwykle ważne w przypadku tzw. zakażeń wewnątrzszpitalnych.

Ponadto, powstanie antybiotykooporności nie prowadzi do pojawienia się oporności krzyżowej względem bakteriocyn.

Podział bakteriocyn

Wykrycie w 1925 roku szczepów bakterii *Escherichia coli* zdolnych do syntezy substancji przeciwdrobnoustrojowych o selektywnym działaniu (później nazwanych kolicynami) zapoczątkowało badania nad bakteriocynami (Jack i inni 1995).

Do chwili obecnej w literaturze opisano ponad tysiąc bakteriocyn wytwarzanych zarówno przez gram-dodatnie jak i gram-ujemne bakterie. W celu usystematyzowania wiedzy na temat bakteriocyn Klaenhammer dokonał ich klasyfikacji. Biorąc pod uwagę budowę, właściwości, oraz mechanizm działania wyróżnił on 4 klasy bakteriocyn:



- **klasę I**, - lantybiotyków, tj. membranowoaktywnych bakteriocynów zawierających lantioninę, związków o masie cząsteczkowej nie przekraczającej 5 kDa. W obrębie tej klasy wyróżniono dwie podgrupy - lantybiotyki typu A i B.

Do typu A zaliczono bakteriocyny o elastycznej, podłużnej budowie cząsteczek, zdolne do tworzenia porów (permeabilizacji) w błonie cytoplazmatycznej komórek wrażliwych drobnoustrojów. **Do typu B** włączono z kolei lantybiotyki o globularnych, sztywnych cząsteczkach i o zróżnicowanym mechanizmie działania.

- **klasę II** – bakteriocynów nielantybiotycznych czyli pozbawionych lantioniny termostabilnych bakteriocynów o masie cząsteczkowej nie przekraczającej 10 kDa.

W obrębie tej klasy wydzielono cztery podgrupy:

IIa - bakteriocyny pediocynopodobne zawierające w swojej strukturze co najmniej dwie cząsteczki cysteiny połączone wiązaniem dwusiarczkowym, wykazujące silną aktywność wobec m.in. *Listeria* sp.

IIb - bakteriocyny dipeptydowe powstające w wyniku połączenia dwóch zwykle nieaktywnych peptydów

IIc - bakteriocyny sec-zależne wydzielane za pomocą białek sec,

IId - bakteriocyny, które odbiegają budową, mechanizmami wydzielania i działania od pozostałych podgrup bakteriocynów klasy II

- **klasę III** – termostabilnych bakteriocynów o masie cząsteczkowej przekraczającej 40 kDa,
- **klasę IV** – bakteriocynów, które do uzyskania pełnej aktywności potrzebują obecności komponentów lipidowych lub węglowodanowych.

W literaturze znaleźć można również inne systemy klasyfikacji bakteriocynów. Przykładowo bakteriocyny bakterii gramujemnych często dzielone są na dwie grupy - mikrocyyny i kolicyny. Za kolicyny uznawane są białka o masie cząsteczkowej od 25 do 80 kDa. Ich głównymi produ-

centami są szczepy *Escherichia coli* oraz drobnoustroje należące do rodzajów *Shigella* i *Serratia*. Spektrum działania kolicyn jest wąskie, ograniczone do szczepów blisko spokrewnionych z producentem. Wydzielanie kolicyn jest letalne dla producenta i najczęściej odbywa się w warunkach stresowych.

Peptydy o działaniu przeciwdrobnoustrojowym wytwarzane przez bakterie należące do rodziny *Enterobacteriaceae* zaliczane są z kolei do mikrocyyn. Podobnie jak kolicyny mają one wąski zakres aktywności. Mikrocyyny ze względu na masę cząsteczkową i właściwości podzielono na dwie klasy:

klasę I - peptydów o masie cząsteczkowej nie przekraczającej 5 kDa, które

ulegają modyfikacji potranslacyjnej i są zdolne do uszkodzeń struktur wewnątrzkomórkowych

klasę II - polipeptydów o masie cząsteczkowej od 7 do 10 kDa, które nie ulegają modyfikacji potranslacyjnej i powodują permeabilizację błony komórkowej

Istnieje również możliwość dokonywania innych podziałów bakteriocynów. Przykładowo, niektórzy autorzy na podstawie zakresu aktywności dzielą bakteriocyny na trzy grupy - bakteriocyny o **wąskim, umiarkowanym i szerokim spektrum działania**.

ZRÓWNOWAŻONA FLORA JELITOWA



CLOSTAT™

ACTIVE MICROBIAL - DLA ZACHOWANIA IDEALNEJ RÓWNOWAGI PRZEWODU POKARMOWEGO



INSPIRED MOLECULAR SOLUTIONS™

