

## Streszczenie

W hodowli bydła mlecznego dużym problemem jest występowanie chorób związanych z nieprawidłową funkcją układu odpornościowego. W ostatnim czasie zwraca się uwagę na zastosowanie probiotyków w celu poprawy funkcjonowania układu immunologicznego, nie jest jednak w pełni poznany wpływ podawania probiotyków na funkcję tego układu u krów mlecznych jak i u cieląt. Większość publikacji, głównie przeglądowych, jedynie potwierdza, że probiotyki działają stymulująco na odporność u tego gatunku zwierząt. Dlatego też celem badań była ocena wpływu probiotyków stosowanych w postaci dodatków żywieniowych na wybrane wskaźniki odporności u krów mlecznych w różnych okresach laktacji oraz ich potomstwa. Ponadto, celem badań była również ocena wpływu probiotyków stosowanych u ciężarnych krów przez 6 ostatnich tygodni ciąży (cały okres zasuszenia) na wybrane parametry odporności u urodzonych przez nie cieląt.

W pierwszym etapie badania przeprowadzono na 20 ciężarnych krowach. Zwierzęta podzielono na 2 grupy (każda po 10 krów). Grupa doświadczalna – krowy, u których stosowano preparat EM-Probiotyk, jako dodatek do karmy, przez okres od wytypowania krów przed zasuszeniem, do 12 tygodnia po porodzie (90 DPP). Grupę kontrolną stanowiły krowy, które żywiono bez dodatku probiotyku. W drugim etapie doświadczenia badaniem objęto 20 cieląt pochodzących od w/w krów. Grupę doświadczalną stanowiły cielęta (10szt.) pochodzące od krów grupy doświadczalnej, one podobnie otrzymywały do pokarmu preparat EM-Probiotyk od 3 do 120 dnia życia, natomiast cielęta (10szt.) pochodzące od krów grupy kontrolnej również stanowiły grupę kontrolną, żywione były bez dodatku probiotyku. Krew do badań od krów, pozyskiwano sześciokrotnie, pierwszy raz, w dniu wytypowania zwierząt - przed zasuszeniem, a następnie 14 dni przed porodem, 7 dni po porodzie, 21 dni po porodzie, 60 dni po porodzie oraz 90 dni po porodzie. U cieląt natomiast krew pobierano 48 godzin po urodzeniu, 21, 60 i 120 dni po urodzeniu cieląt.

Metodą cytometrii przepływowej oceniona została aktywność fagocytarna granulocytów i monocytów przy użyciu komercyjnego zestawu Phagotest oraz wewnątrzkomórkowa zdolność zabijania neutrofilii przy zastosowaniu zestawu Bursttest. Również przy pomocy cytometru przepływowego przeprowadzono immunofenotypowanie limfocytów. U wszystkich badanych zwierząt oceniono następujące receptory: CD4 (komórki pomocnicze T (Th)), CD8 (komórki T cytotoksyczne/supresorowe), CD11b (podjednostka receptora integryny  $\alpha$ M), CD18 (podjednostka receptora integryny  $\beta$ 2), CD21 (limfocyty B), CD25 (łańcuch alfa receptora interleukiny 2) i Foxp3 (komórki T-regulatorowe).

Pomiary poziomu surowiczego amyloidu A (SAA) w surowicy krwi krów przeprowadzono przy użyciu komercyjnego zestawu ELISA.

Wyniki badań własnych w pierwszym etapie, wykazały wzrost aktywności fagocytarnej i wewnątrzkomórkowej bójczości komórek fagocytujących w krwi obwodowej krów, po zastosowaniu probiotyków. Ponadto, u tych krów, wykazano wzrost procentowego udziału limfocytów Foxp3, limfocytów wspomagających TCD4+, aktywowanych limfocytów BCD25+, integryn  $\beta 2$  (CD18+) oraz  $\alpha M$  (CD11b+). Wzrost aktywności fagocytów oraz wymienione zmiany w subpopulacjach leukocytów, przypuszczalnie są wynikiem uruchomienia procesów regulatorowych w układzie immunologicznym krów otrzymujących probiotyk, który umożliwiał jednoczesne wykorzystanie zarówno mechanizmów komórkowych jak i humoralnych. Może to oznaczać, że u krów po zastosowaniu probiotyku, aktywowane są odpowiednie mechanizmy niezbędne zarówno do likwidacji ewentualnego zagrożenia jak i jednoczesnej stabilizacji układu immunologicznego. Potwierdzeniem tego jest utrzymywanie się stałego, niskiego poziomu surowiczego amyloidu A (SAA) przez cały czas trwania doświadczenia, u krów otrzymujących probiotyk. Dlatego też można założyć, że układ immunologiczny krów, u których stosowano probiotyk, był lepiej przygotowany do reakcji w przypadku zagrożenia oraz łatwiej adaptował się do zmian warunków w różnych okresach laktacji, szczególnie w okresie poporodowym. Dzięki temu zastosowanie probiotyków a szczególnie w okresie zasuszenia i wczesnej laktacji, może ograniczyć występowanie chorób infekcyjnych u krów mlecznych. Z badań własnych wynika również, że zastosowanie probiotyków u krów mlecznych podczas ciąży, ma stymulujący wpływ na układ immunologiczny urodzonych przez nie cieląt. Podobnie jak zastosowanie probiotyków u cieląt już po ich urodzeniu, u których uzyskano istotnie wyższy odsetek limfocytów TCD4+, limfocytów BCD21+, aktywowanych limfocytów BCD25+ oraz integryn  $\beta 2$  (CD18+) i  $\alpha M$  (CD11b+), w porównaniu do cieląt grupy kontrolnej. Wyniki te mogą świadczyć o szybszej adaptacji układu immunologicznego cieląt w grupie doświadczalnej, być może pod wpływem probiotyku. Natomiast procesy regulatorowe, biorąc pod uwagę bardzo niski % limfocytów Foxp3, praktycznie nie funkcjonowały u cieląt w obu badanych grupach, przez cały czas trwania doświadczenia.

**Słowa kluczowe:** krowy mleczne, cielęta, probiotyki, odporność komórkowa.