

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

Przegląd badań

Część II



www.mlodzinaukowcy.com

Poznań 2024

Redakcja naukowa

dr Jędrzej Nyckowiak

dr hab. Jacek Leśny, prof. UPWR

dr n. med. Karol Kłosiński

Wydawca

Młodzi Naukowcy

www.mlodzinaukowcy.com

wydawnictwo@mlodzinaukowcy.com

ISBN (całość 978-83-67991-20-9)

ISBN (wydanie online 978-83-67991-23-0)

ISBN (wydanie drukowane 978-83-67991-24-7)

Data wydania: wrzesień 2024

Niniejsza pozycja jest monografią naukową. Jej rozdziały zostały wydrukowane zgodnie z przesłanymi tekstami po ich zaakceptowaniu przez recenzentów. Odpowiedzialność za zgodne z prawem wykorzystanie użytych materiałów ponoszą autorzy poszczególnych rozdziałów.

Spis treści

1. Wpływ rozwiązań materiałowych połączenia płyty fundamentowej ze ścianą na temperaturę w miejscu krytycznym wężła	7
<i>Cezary Leszczyński</i>	
2. Atomizacja ultradźwiękowa: nowy sposób na uzyskanie proszku do produkcji addytywnej	14
<i>Łagoda Agnieszka</i>	
3. Przegląd aktualnych proszków metalicznych używanych w produkcji addytywnej	20
<i>Łagoda Agnieszka</i>	
4. Zakaźne choroby drobiu i ich wpływ na produkcję towarową	28
<i>Wojciech Madzula, Sofii Danko, Kinga Janas, Marcin Trzybiński, Kamil Drabik</i>	
5. Animaloterapia – praca z człowiekiem, czy praca dla człowieka?	34
<i>Patrycja Masier, Agnieszka Ziemiańska</i>	
6. Grafen - nowe możliwości w medycynie	41
<i>Piechaczek Karolina, Koch Milena, Kempys Karolina, Korzonek Kamila, Janikowska Grażyna</i>	
7. Zastosowanie i możliwości <i>Helichrysum sp.</i> Mill. jako cennych roślin leczniczych i kosmetycznych	47
<i>Piechaczek Karolina, Kempys Karolina, Koch Milena</i>	
8. Wpływ stosowania probiotyków i prebiotyków na profil mikroflory jelitowej	52
<i>Sikora Wiktoria, Grzegorzek Maria, Wolska Natalia, Janas Kinga, Karolina Wengerska, Drabik Kamil</i>	
9. Mikrotafonomia kości kredowych dinozaurów z Pustyni Gobi	57
<i>Alicja Staniek</i>	
10. Decelularyzacja kości konia, nowe horyzonty badawcze wykorzystania kostnej macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM-BM) w hipologii klinicznej	62
<i>Tomańska Anna</i>	
11. Problem narastania antybiotykooporności patogenów ryb na przykładzie <i>Aeromonas spp.</i>	68
<i>Tomańska Anna</i>	
12. Zaburzenia behawioralne drobiu i ich wpływ na dobrostan i zdrowotność ptaków	74
<i>Trzybiński Marcin, Grzegorzek Maria, Madzula Wojciech, Janas Kinga, Drabik Kamil</i>	
13. Wpływ dolegliwości bólowych na behavior różnych gatunków zwierząt	79
<i>Włodowska Martyna, Gołembiewska Marzena</i>	

Przedmowa

Szanowni Państwo, wydawnictwo „Młodzi Naukowcy” oddaje do rąk czytelnika kolekcję monografii naukowych dotyczących szerokiego spektrum nauk. Znajdują się tutaj pozycje dotyczące nauk medycznych i nauk o zdrowiu, nauk przyrodniczych, technicznych i inżynierskich oraz szeroko pojętych nauk humanistycznych i społecznych.

W prezentowanych monografiach poruszany jest bardzo szeroki przekrój zagadnień, jednak każda z osobna składa się z kilkunastu rozdziałów, dających jednocześnie bardzo dobry przegląd tematyki naukowej jaką zajmują się studenci studiów doktoranckich lub ich najmłodszy absolwenci, którzy uzyskali już stopień doktora.

Czytelnikom życzymy wielu przemyśleń związanych z tematyką zaprezentowanych prac. Uważamy, że doktoranci i młodzi badacze z pasją i bardzo profesjonalnie podchodzą do swojej pracy, a doświadczenie jakie nabierają publikując prace w monografiach wydawnictwa „Młodzi Naukowcy”, pozwoli im udoskonalać swój warsztat pracy. Dzięki temu, z pewnością wielu autorów niniejszych prac, z czasem zaczną publikować prace naukowe w prestiżowych czasopiśmie. Przyczyni się to zarówno do rozwoju nauki, jak i każdego autora, budując jego potencjał naukowy i osobisty.

Redakcja

1. Wpływ rozwiązań materiałowych połączenia płyty fundamentowej ze ścianą na temperaturę w miejscu krytycznym węzła

The influence of material solutions for connecting the foundation slab with the wall on the temperature at the critical point of the junction

Cezary Leszczyński

Szkoła Doktorska Politechniki Białostockiej

Opiekun naukowy: prof. dr hab. inż. Walery Jezierski, dr inż. Beata Sadowska

Walery Jezierski: w.jezierski@pb.edu.pl

Słowa kluczowe: fundament, kondensacja, podłoga na gruncie

Streszczenie

Zapewnienie ciągłości warstwy termoizolacyjnej obudowy zewnętrznej budynku pozwala na zmniejszenie strat ciepła w miejscach zwanych mostkami termicznymi. Są to miejsca, które charakteryzują się także niższą temperaturą powierzchni wewnętrzną w odniesieniu do innych miejsc obudowy budynku, co sprawia, iż w okresie zimowym i przejściowych w tych miejscach może wystąpić zawilgocenie powierzchni wewnętrznej i w konsekwencji ryzyko kondensacji powierzchniowej. Prawidłowe rozwiązanie tych detali jest więc ważnym aspektem projektowania budynków energooszczędnych. Miejszem specyficznym z uwagi na niemożliwość zachowania ciągłości termoizolacji jest węzeł połączenia ściany zewnętrznej z podłogą na gruncie w przypadku zastosowania tradycyjnych fundamentów. Rozwiązaniem alternatywnym jest w tym przypadku płyta fundamentowa. Jednym z charakterystycznych elementów tego rodzaju fundamentu jest opaska przeciwwysadzinowa okalająca całą płytę dokoła, która pozwala uniknąć konieczności uwzględniania głębokości przemarzania gruntu podczas projektowania. W artykule przedstawiono wyniki badania wpływu wybranych parametrów przyziemia budynku w miejscu połączenia ściany zewnętrznej z płytą fundamentową na pole temperatur analizowanego węzła. Praca przedstawia analizę temperatury ϑ_{img} występującej na powierzchni wewnętrznej ściany zewnętrznej na styku z podłogą na gruncie. Zamodelowano 27 wariantów węzła, dla których obliczono temperaturę krytyczną w programie THERM. Analizę przeprowadzono dla warunków klimatycznych miasta Białystok (Polska).

1. Wstęp

Opaska przeciwwysadzinowa to element, który okala całą płytę fundamentową i pełni dwie główne funkcje termoizolacyjną oraz jak sama nazwa wskazuje przeciwwysadzinową. W przypadku posadowienia budynku na gruntach spoistych występuje ryzyko powstania wysadzin, które negatywnie wpływają na konstrukcję budynku stopniowo ją osłabiając. W dalszym procesie powodując jej uszkodzenie. W przypadku płyt fundamentowych, które z reguły są posadowione powyżej poziomu przemarzania gruntu zapewnienie im prawidłowej izolacji jest priorytetowe. Opaska również poprawia parametry energetyczne budynku. Wpływa na wzrost temperatury wewnętrznej oraz zmniejszenie mostka termicznego.

Mostki termiczne to takie miejsca w przegrodach zewnętrznych, przez które budynek traci ciepło, a opór cieplny tego miejsca, który powinien ograniczać utratę ciepła jest wyraźnie mniejszy niż w innych częściach budynku. Mostki może sklasyfikować na (Krause i in. 2016):

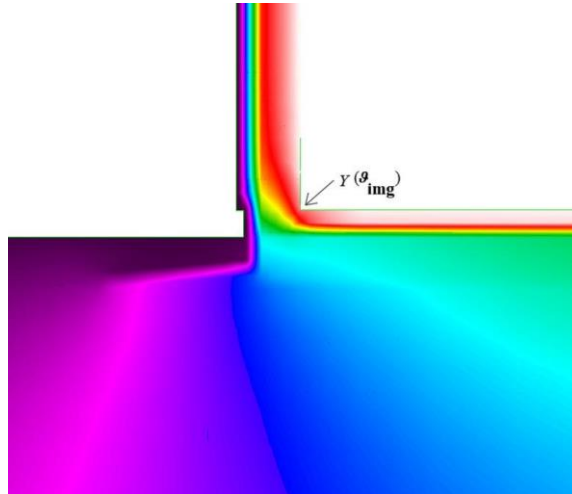
- geometryczne
- materiałowe
- konstrukcyjne
- konwekcyjne

Mostki termiczne niosą za sobą wiele negatywnych skutków takich jak:

- wzrosty strat ciepła budynku, które powodują straty ekonomiczne związane z wzrostem opłat za ogrzewanie budynku

- wystąpienie kondensacji na powierzchni przegród budowlanych ze względu na osiągnięcie temperatury punktu rosy
- zagrożenie pojawienia się pleśni i grzybów na powierzchni przegród budowlanych, które w negatywny sposób wpływają na organizm człowieka

Celem badania jest wytypowanie najbardziej korzystnego rozwiązania pod względem temperaturowym, czyli węzła z najwyższą temperaturą w miejscu krytycznym spośród analizowanych rozwiązań projektowych.



Rys. 1. Miejsce występowanie temperatury krytycznej w analizowanym węźle.

Podobna tematyka została poruszona przez autora w jego innej publikacji, której jest współautorem (Jeziński i in. 2024). W artykule została przeanalizowana temperatura w miejscu mostka termicznego węzła połączenia ściany zewnętrznej i fundamentowej, podłogi na gruncie i gruntu. Oprócz tego praca przedstawia analizę zależności liniowego współczynnika ciepła ψ_{im} mostka termicznego. W przypadku poprzedniego badania analizowany budynek posadowiony był na fundamencie tradycyjnych.

2. Materiał i metody

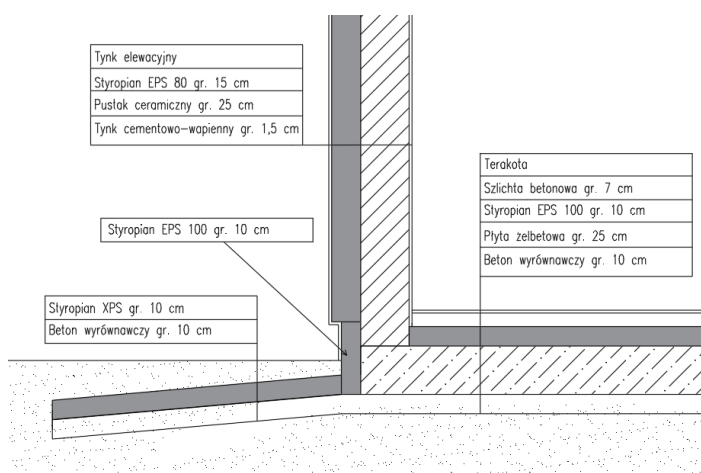
Badanie przeprowadzono dla węzła połączenia podłogi na gruncie (płyta fundamentowa) ze ścianą zewnętrzną. Niezmiennie elementy węzła przedstawiono w Tab. 1 i zobrazowano na Rys. 2. Termoizolacja cokołu oraz opaska przeciwwysadzinowa jest czynnikiem, którego parametry grubości zostały uwzględnione jako zmienne, dlatego w trzeciej kolumnie nie ma podanej wartości. Natomiast w Tab. 2 przedstawiono zmienne czynniki przyjęte do badania (Brodsky i in. 1982).

Tab. 1. Przyjęte rozwiązania materiałowe do badania.

Typ	Materiał	Grubość [m]	Współczynnik λ [(W/m·K)]
Ściana zewnętrzna	Cegła z pustaka ceramicznego	0,25	0,316
Termoizolacja ściany zewnętrznej	Styropian EPS80	0,15	0,037
Termoizalacja cokołu	Styropian EPS80	-	0,037
Opaska przeciwwysadzinowa	Styropian XPS	-	0,037
Płyta żelbetowa	Żelbet	0,25	1,7

Tab. 2. Przyjęte czynniki do badania.

Nr. czynnika	Czynniki	Naturalne wartości X_{imin} , X_0 , X_{imax}		
		$X_i=-1$	$X_i=0$	$X_i=+1$
Czynnik X_1	Szerokość opaski przeciwwysadzinowej [m]	0,5	1	1,5
Czynnik X_2	Grubość opaski przeciwwysadzinowej [m]	0,05	0,1	0,15
Czynnik X_3	Grubość termoizolacji cokołu [m]	0,05	0,1	0,15
Czynnik X_4	Grubość termoizolacji podłogi na gruncie [m]	0,05	0,1	0,15
Czynnik X_5	Współczynnik przewodzenia termoizolacji podłogi na gruncie [W/mK]	0,04	0,035	0,03



Rys. 2. Schemat analizowanego węzła połączenia ściany zewnętrznej z płytą fundamentową.

Analizę przeprowadzono dla budynku ogrzewanego położonego w Białymstoku (Polska). Na cele badania przyjęto wartość $B'=8m$. Na podstawie normy PN-EN ISO 10211 do potrzeb modelowania analizowanych detali przyjęto następujące warunki brzegowe (PN-EN ISO 10211-1:1998):

- dla powierzchni zewnętrznej ściany - temperatura powietrza zewnętrznego $t_e = -22^\circ C$, $R_{se} = 0,04 [m^2 \cdot K \cdot W^{-1}]$,
- dla powierzchni zewnętrznej gruntu - temperatura powietrza zewnętrznego $t_e = -22^\circ C$, $R_{se} = 0,04 [m^2 \cdot K \cdot W^{-1}]$,
- dla wewnętrznej powierzchni ściany - temperatura powietrza wewnętrznego $t_i = 20^\circ C$, $R_{si} = 0,13 [m^2 \cdot K \cdot W^{-1}]$,
- dla podłogi na gruncie wewnątrz budynku od góry - temperatura powietrza wewnętrznego $t_i = 20^\circ C$, $R_{si} = 0,17 [m^2 \cdot K \cdot W^{-1}]$.

Do obliczeń wykorzystano program THERM 7.6, który opiera się na metodzie elementów skończonych i umożliwia on obliczenie współczynnika przenikania ciepła U dla przegrody, zobrazowanie rozkładu izoterm, wektorów ciepła oraz pól temperaturowych (THERM 2.0: Program Description). W celu poprawnego obliczenia i zamodelowania danego elementu wykorzystuje się następujący schemat:

- a) Modelowanie geometrii węzła
- b) Określenie warunków brzegowych
- c) Nadanie parametrów fizyko-chemicznych

- d) Zdefiniowanie siatki MES
- e) Obliczenie wartości temperatur.

Metoda określenia pól temperatur w obrębie powstającego mostka termicznego

Z równania ogólnego energii wyprowadza się równanie, które określa dwuwymiarowe przewodzenie ciepła:

$$k \left(\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} \right) + q_g = 0$$

gdzie: q_g – wewnętrzne wytwarzanie ciepła, które odpowiada następującym warunkom brzegowym: $q_f = 0$ – adiabatyczny warunek brzegowy; $T = f(x, y)$ – temperaturowy warunek brzegowy; $q_f = \bar{q}$ – obliczony strumień ciepła – warunek brzegowy; $q_c = h(T - T_m)$ – zlinearyzowane promieniowanie – warunek brzegowy; $q_r = \varepsilon_i \sigma T_i^4 - \alpha_i H_i$ – promieniowanie – warunek brzegowy

W kolejnym kroku program dla warunków brzegowych przyjmując powierzchnie jako szarą i izotermiczną, stąd $\alpha = \varepsilon$. Równanie napromieniowania ma postać:

$$H_i = \frac{1}{1 - \varepsilon_i} (B_i - \varepsilon_i \sigma T_i^4)$$

gdzie: B – promienistość powierzchni, obliczana za pomocą równania:

$$B_i = \varepsilon_i \sigma T_i^4 + (1 - \varepsilon_i) \sum_{j=1}^n F_{ij} B_j$$

W kolejnym kroku program wykorzystując regułę krzyżową wylicza współczynniki widoku F:

$$F_{ij} = \frac{r_{12} + r_{21} - (r_{11} + r_{22})}{2L_i}$$

Kolejno wykorzystując prawo Fouriera określana jest wielkość strumienia ciepła do granicy $q = q_f + q_c + q_r$:

$$q_f + q_c + q_r = -k \left(\frac{\partial T}{\partial x} n_x + \frac{\partial T}{\partial y} n_y \right)$$

THERM bazuje na metodzie elementów skończonych, która opiera się na metodzie reszt ważonych, którego podstawą jest równanie:

$$\iint_{\Omega} W \mathcal{R} dx dy = 0$$

Wyniki uzyskane w programie THERM są wynikami przybliżonymi. Modele, które zostały zamodelowane nie oddają w 100% rzeczywistości, ponieważ nie są wykonane z rzeczywistych komponentów. Rezultaty obliczeń mieszczą się w granicy 10% dokładności, dlatego możemy bazować na otrzymanych wynikach.

Jako metodę badawczą wykorzystano plan pięcioczynnikowy trójpoziomowy, który zakłada N=27 doświadczeń i n=5 czynników. Plan takiego eksperymentu opiera się na analizie 27 przypadków zależnych od 5 czynników, które opisują wartości minimalne, średnie oraz maksymalne.

Opierając się na normie PN-EN ISO 6946:1999 zweryfikowano możliwość wystąpienia kondensacji pary wodnej. Opierając się na wzorze:

$$p_{ni} = \frac{\varphi_i \cdot p_i}{100}$$

gdzie: φ_i – obliczeniowa wilgotność względna powietrza w pomieszczeniu, p_{ni} – ciśnienie cząstkowe pary wodnej nasyconej przy temperaturze „t” (PN-EN ISO 6946:1999).

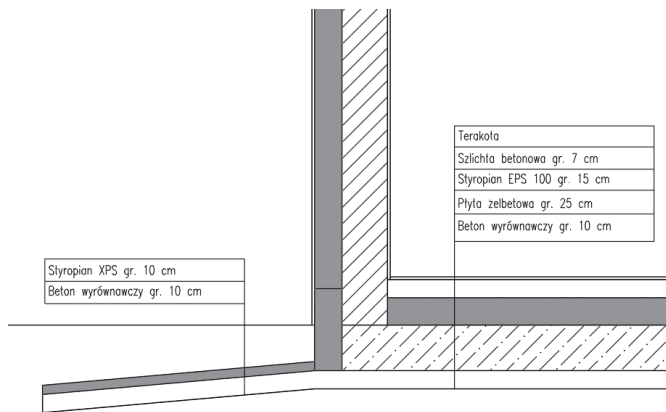
3. Wyniki

Wyniki analizy dla 27 prób przedstawiono w tabeli 3, a na rys. 3 i 4 przedstawiono wariant obliczeniowy z najwyższą i najniższą temperaturą wśród analizowanych prób. Do określenia punktu

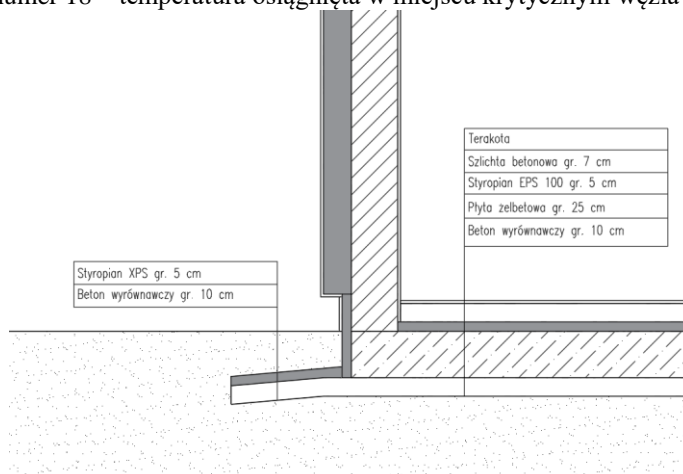
rosy przyjęto wilgotność powietrza wewnętrznego na poziomie 55% dla takich pomieszczeń jak salon czy sypialnia. Natomiast uwzględniono również wilgotność powietrza wewnętrznego na poziomie 70% dla pomieszczeń takich jak łazienka, kuchnia czy pralnia. Jak wykazują obliczenia żaden przypadek analizowanego węzła przy wilgotności 55% nie jest narażony na pojawienia się kondensacji pary wodnej. Inna sytuacja jest gdy wilgotność powietrza wzrasta do poziomu 70%. W tej sytuacji 6 z zamodelowanych przypadków jest zagrożone wystąpienie kondensacji pary wodnej na powierzchni wewnętrznej przegrody.

Tab. 3. Wyniki obliczeń temperatury w miejscu krytycznym węzła dla poszczególnych prób.

Nr	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	Temperatura ϑ_{img} [°C]
1.	+1	+1	+1	+1	+1	15.8
2.	-1	-1	-1	-1	+1	14.5
3.	+1	-1	+1	+1	+1	15.7
4.	-1	-1	+1	+1	+1	15.6
5.	-1	-1	-1	+1	-1	15.3
6.	+1	+1	+1	-1	-1	16.1
7.	-1	+1	0	-1	0	15.6
8.	0	-1	-1	-1	0	15.3
9.	-1	+1	-1	-1	-1	15.3
10.	0	0	0	+1	-1	16.0
11.	+1	0	-1	-1	-1	15.5
12.	+1	-1	+1	-1	+1	15.9
13.	+1	-1	-1	+1	+1	15.4
14.	+1	0	+1	0	0	16.1
15.	-1	-1	+1	+1	0	15.5
16.	-1	0	-1	+1	+1	15.2
17.	-1	-1	+1	-1	-1	15.7
18.	+1	-1	+1	+1	-1	16.2
19.	+1	-1	0	-1	-1	15.9
20.	0	+1	-1	0	+1	15.6
21.	-1	+1	+1	+1	-1	15.6
22.	+1	+1	-1	+1	-1	15.5
23.	+1	-1	-1	0	-1	15.1
24.	-1	+1	+1	-1	+1	15.7
25.	-1	+1	-1	+1	+1	15.7
26.	-1	0	+1	0	-1	15.5
27.	+1	+1	-1	-1	+1	15.5



Rys. 3. Wariant numer 18 – temperatura osiągnięta w miejscu krytycznym węzła 16,2 °C.



Rys. 4. Wariant numer 2 – temperatura osiągnięta w miejscu krytycznym węzła 14,5 °C.

4. Wnioski

- Najwyższa temperatura wyniosła 16,2°C w próbie numer 18. Wartości poszczególnych czynników w tej próbie wynoszą: X_1 – szerokość opaski przeciwwysadzinowej = 1,50m, X_2 – grubość opaski przeciwwysadzinowej = 0,05m, X_3 – grubość termoizolacji cokołu = 0,15m, X_4 – grubość termoizolacji podłogi na gruncie = 0,15m, X_5 – współczynnik przewodzenia ciepła termoizolacji podłogi na gruncie = 0,04 [W/mK]
- Najniższa temperatura wyniosła 14,5 °C w próbie numer 2. Wartości poszczególnych czynników w tej próbie wynoszą: X_1 – szerokość opaski przeciwwysadzinowej = 0,50m, X_2 – grubość opaski przeciwwysadzinowej = 0,05m, X_3 – grubość termoizolacji cokołu = 0,05m, X_4 – grubość termoizolacji podłogi na gruncie = 0,05m, X_5 – współczynnik przewodzenia ciepła termoizolacji podłogi na gruncie = 0,03 [W/mK]
- Jak wynika z obliczeń największy wpływ na temperaturę wśród analizowanych przypadków miały 2 czynniki: X_3 – grubość termoizolacji cokołu oraz X_4 – grubość termoizolacji podłogi na gruncie. W próbach z $X_i = +1$ wymienionych czynników temperatury były większe w porównaniu z próbami, w których te czynniki były na poziomie $X_i = -1$
- Wśród 27 modeli 6 z nich są zagrożone wystąpieniem kondensacji pary wodnej na powierzchni przegrody wewnętrznej przy wilgotności powietrza na poziomie 70%.

W pomieszczeniach takich jak kuchnia czy łazienka dochodzi do podwyższenia wilgotności powietrza, dlatego należy w zadbać o dobrą wentylację.

5. Literatura

- Brodsky VZ, Brodsky LI and Golikova TI (1982) Tables of experimental plans for factor and polynomial models. Moscow, Metallurgiya' publishers, 1–752 (in Russian).
- Jezierski W., Szczepaniak P., Leszczyński C., (2024) Optimization of vertical perimeter thermal insulation parameters in a building with single-layer walls based on mathematical modeling of heat flow
- Krause P, Steidl T, Orlik-Koźdoń B (2016) Ciepłno-wilgotnościowe projektowanie ścian z betonu komórkowego. Zeszyt 3 Część 2 Mostki termiczne. SBPB. Warszawa.
- PN-EN ISO 10211-1:1998 „Mostki cieplne w budynkach. Strumień cieplny i temperatura powierzchni. Ogólne metody obliczania.”
- PN-EN ISO 6946:1999 „Komponenty budowlane i elementy budynku – Opór cieplny i współczynnik przenikania ciepła – Metoda obliczania”
- THERM 2.0: Program Description, A PC Program for Analyzing the Two-Dimensional Heat Transfer Through Building Products, Elizabeth Finlayson, Robin Mitchell, and Dariush Arasteh, Windows and Daylighting Group, Building Technologies Department Environmental Energy

2. Atomizacja ultradźwiękowa: nowy sposób na uzyskanie proszku do produkcji addytywnej

Ultrasonic atomization: new method to obtain the powder for additive manufacturing
Łagoda Agnieszka

Katedra Technologii Maszyn i Materiałoznawstwa, Wydział Mechaniczny, Politechnika Opolska

Łagoda Agnieszka: a.lagoda@po.edu.pl

Słowa kluczowe: fala kapilarna, recykling metalu, druk 3D metali

Streszczenie

Produkcja addytywna albo po prostu druk 3D to metoda produkcji, która podbija rynek. Drukując detal, warstwa po warstwie, możliwe jest uzyskanie gotowego produktu przy znaczących oszczędnościach w porównaniu do tradycyjnych metod wytwórczych. Prototypowanie nigdy wcześniej nie było tak szybkie. Projektowanie nigdy nie było tak swobodne, a wytwarzanie lżejszych konstrukcji, tak proste. Ilość materiałów kompatybilnych do druku 3D stale się powiększa zaczynając od żywic, a kończąc na metalach. Wykorzystywane metale to aluminium, tytan czy różnego rodzaju stale w formie proszku, uzyskiwanego najczęściej w procesie atomizacji, głównie gazowej i wodnej. Istnieje również inny rodzaj atomizacji, który został zapomniany – atomizacja ultradźwiękowa, wykorzystujący wibracje z wysoką częstotliwością. Czynnikiem wpływającym na brak badań przez tak długi czas był problem z wytrzymałością sonotrody (elementu wibrującego), który udało się rozwiązać dopiero na przełomie kilku ostatnich lat. Pierwsze wzmianki zanotowano już w 1927 roku, jednak opisanie w 1967 roku zjawiska powstawania fal kapilarnych na skutek przekroczenia wartości progowej amplitudy drgań cieczy na elemencie wibrującym pomogło w zrozumieniu procesu wyrzucania małych cząstek cienkiej warstwy cieczy z powierzchni pracującej sonotrody. Wyrzucone kropelki zastygają i zamieniają się w proszek. W zależności od częstotliwości drgań, możliwe jest uzyskanie różnej wielkości ziarna proszku.

1. Wstęp

Additive Manufacturing zyskuje w ostatnim czasie coraz większą rzeszę zwolenników. Wykorzystywane jest w coraz szerszym zakresie, począwszy od lotnictwa, nawet po sektory medyczne. Założenia metody są proste – przedmiot jest najpierw modelowany, a następnie jego cyfrowy model jest drukowany kolejno warstwa po warstwie aż do uzyskania finalnego wyrobu. Wydruki możliwe są zarówno z różnego rodzaju tworzyw sztucznych, jak i metali. Rozwój MAM (Metal Additive Manufacturing) zrewolucjonizował rynek produkcyjny. Zainteresowanie tą techniką jest ogromne i wynika głównie z zalet, które metoda prezentuje: mniejsze zużycie surowca poprzez zastosowanie lżejszej konstrukcji lub wypełnienia w formie lattice, swobodę projektowania, a co za tym idzie swobodę tworzenia detali o złożonych i unikalnych kształtach, które ciężko jest uzyskać w konwencjonalny sposób, krótki czas produkcji czy możliwość wydrukowania części, które są trudnodostępne lub nawet całkowicie wycofane ze sprzedaży (Yaozhong i in. 2023).

Metoda nie jest oczywiście pozbawiona wad. Główne wady wynikają z jakości proszku, który wykorzystywany jest do drukowania, poziomu jego upakowania, kształtu i wielkości cząstek. Uzyskanie odpowiedniego jakościowo proszku jest kluczowe dla poprawności wydruku finalnego elementu. Często firmy produkujące konkretne drukarki do metali oferują w swojej ofercie kompatybilny proszek o wysokim poziomie upakowania. Najczęstszymi proszkami są stale, tytan, aluminium czy proszki na bazie niklu.

Nieudane wydruki, zalegające elementy drukowane czy złomy po drukowanych próbkach do badań można ponownie przekształcić w proszek. Atomizacja metali, głównie gazowa i wodna pozwala na uzyskanie proszku o dobrych parametrach. Istnieje również inny rodzaj atomizacji, który został zapomniany na wiele lat ze względu na brak kompatybilnego materiału, który byłby wystarczająco wytrzymały zmęczeniowo, aby pracować w bardzo wysokiej częstotliwości ultradźwiękowej i jednocześnie być odpornym na bardzo wysokie temperatury. Atomizacja

ultradźwiękowa, wykorzystująca efekt fal kapilarnych, o których pierwsze wzmianki zanotowano już w 1927 roku, dopiero od niedawna jest wykorzystywaną metodą uzyskania proszków. Wraz ze wzrostem częstotliwości drgań zmniejsza się wielkość cząstek, które można uzyskać w procesie atomizacji, co czyni metodę uniwersalną formą na uzyskanie odpowiedniego proszku do konkretnych celów.

2. Opis zagadnienia

Podstawy atomizacji wodnej opierają się na podobnych zasadach co atomizacja gazowa. Metal w stanie ciekłym zderza się ze strumieniem wody pod dużym ciśnieniem wydobywającej się ze specjalnie skonstruowanej i zaprojektowanej dyszy. Proszek uzyskany tą metodą charakteryzuje się nieregularnym kształtem i chropowatą powierzchnią. Taki proszek nie jest najlepszym materiałem do druku metodą L-PBF czy SLS/DMLS, gdzie sferyczność proszku ma bardzo duże znaczenie. Na jakość uzyskanego proszku można wpływać poziomem przegrzania topionego metalu, wyższym ciśnieniem wody czy odpowiednim kątem ułożenia dysz, uzyskując lepszy rozkład kształtu i wielkości ziaren proszku, a co za tym idzie, uzyskując proszek o odpowiednich parametrach do druku 3D.

Atomizacja gazowa natomiast zamiast wody używa gazu o bardzo wysokiej szybkości wyrzutu z dyszy, często naddźwiękowej. Tutaj wielkością uzyskanego ziarna proszku i jego kształtem można sterować za pomocą dostosowania ciśnienia gazu wydobywającego się z dyszy, zmianie kształtu i wymiarów samej dyszy czy szybkości wydobywania się gazu lub ciekłego metalu. Atomizacja gazowa charakteryzuje się uzyskaniem bardziej kulistych ziaren proszku, o stosunkowo gładkiej powierzchni w porównaniu do proszku uzyskanego drogą atomizacji wodnej. W produkcji addytywnej właśnie taki rodzaj proszku jest pożądanym materiałem. W związku z lepszymi parametrami jakościowymi otrzymanego proszku, koszt atomizacji gazowej (szczególnie przy użyciu gazów obojętnych) jest zdecydowanie wyższy niż atomizacji wodnej.

Powyższe metody przeznaczone są głównie do atomizowania dużej ilości proszku. W przypadku konieczności uzyskania małej ilości proszku, np. jako materiał do badań, atomizacja gazowa i wodna są bardzo kosztowne i zwykle nieopłacalne ekonomicznie. W tym przypadku sprawdzi się atomizacja ultradźwiękowa, którą można wykorzystać do atomizacji sporej ilości materiału, ale będzie również idealnym rozwiązaniem, jeśli potrzebna jest niewielka ilość konkretnego proszku, zachowując tym samym wysoką jakość i odpowiedni kształt i rozmiar ziaren.

Atomizacja ultradźwiękowa jest metodą uzyskiwania proszku metalu. Jej założenia znane są od wielu lat, jednak zainteresowanie metodą zawęży się do ostatnich kilku lat, a badania i prace naukowe z nią związane są nadal niekompletne.

Pierwsze wzmianki o metodzie zanotowano w 1927 roku. Przelomowy artykuł opisujący zasady atomizacji ultradźwiękowej został napisany przez Roberta W. Wooda i Alfreda L. Loomisa. Ich badania, zatytułowane "The Physical and Biological Effects of High-Frequency Sound-Waves of Great Intensity", zostały opublikowane w Philosophical Magazine. W swoim badaniu Wood i Loomis zbadali wpływ ultradźwiękowych fal o wysokiej częstotliwości na ciecz, prowadząc do zjawiska atomizacji. Proces ten polega na wykorzystaniu fal ultradźwiękowych do wytworzenia drobnej mgiełki z cieczy, co znalazło szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach, w tym w nebulizatorach medycznych i technologiach natryskowych w przemyśle. Przeprowadzili eksperymenty, które wykazały, że fale ultradźwiękowe o częstotliwości około 300 kHz mogą skutecznie tworzyć krople z cieczy, co stanowiło znaczący postęp w zrozumieniu atomizacji cieczy pod wpływem fal dźwiękowych (Wood i Loomis 1927). Badania dotyczyły zachowania się wody, a także innych cieczy, np. alkoholu. Wtedy jeszcze nie było mowy o tworzeniu proszku z metalu w stanie ciekłym.

Metodą zainteresowano się ponownie na skutek reprintu pracy z 1878 w 1945 roku. Praca autorstwa Johna Williama Strutta, znanego bardziej jako Lord Rayleigh wprowadziła pojęcie fal kapilarnych do nauki i jest fundamentalnym dziełem z dziedziny akustyki. Niezwykle szczegółowa publikacja składa się z dwóch tomów. Fale kapilarne to fale, które powstają na powierzchni cieczy na skutek działania sił napięcia powierzchniowego. Napięcie powierzchniowe to siła działająca wzdłuż powierzchni cieczy, która powoduje, że powierzchnia ta zachowuje się jak sprężysta błona. Efekt ten wynika z przyciągających sił molekularnych między cząsteczkami cieczy. W książce

Rayleigh analizował fale pod względem ich właściwości (prędkość propagacji) i wpływu różnych parametrów (gęstość cieczy i napięcie powierzchniowe). Jako pierwszy przedstawił matematyczne podejście do zrozumienia fal kapilarnych, wykorzystując równania ruchu i uwzględniając siły działające na powierzchni cieczy. Wykazał, że prędkość tych fal zależy od długości fali i napięcia powierzchniowego, a także od gęstości cieczy. Jednym z kluczowych wyników jego analiz było stwierdzenie, że dla krótkich fal (o długości fali mniejszej niż kilka milimetrów), dominującą rolę odgrywa napięcie powierzchniowe, podczas gdy dla dłuższych fal większe znaczenie mają siły grawitacyjne (Rayleigh 1945). Rayleigh szczegółowo omówił matematyczne rozwiązania opisujące zachowanie fal kapilarnych, co miało istotne znaczenie dla dalszych badań i praktycznych zastosowań w naukach przyrodniczych i inżynierii. Równanie na długość fali kapilarnych przedstawiono wzorem (Rayleigh 1945):

$$\lambda = \left(\frac{2\pi\sigma}{\rho v^2} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (1)$$

gdzie:

- σ – napięcie powierzchniowe cieczy
- ρ – gęstość cieczy
- v – częstotliwość oscylacji

Jeśli częstotliwość oscylacji w cieczy jest o połowę mniejsza niż w rezonatorze, wówczas równanie przybiera postać:

$$\lambda = \left(\frac{8\pi\sigma}{\rho f^2} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (2)$$

gdzie:

- f – częstotliwość ultradźwiękowa

Badania Rayleigh'a potwierdził w 1950 roku G. I. Taylor. Jego praca dotycząca fal kapilarnych to kluczowy artykuł w dziedzinie mechaniki płynów. W tej pracy badano głównie aspekt stabilności fali kapilarnych na powierzchniach cieczy. Badania obejmowały teoretyczne analizy, które ukazały, jak napięcie powierzchniowe i inne czynniki wpływają na powstawanie i zachowanie się tych fal. Taylor również wykazał, że napięcie powierzchniowe odgrywa istotną rolę w formowaniu fal kapilarnych, szczególnie w kontekście małych fal, gdzie jego wpływ jest dominujący. Analizy Taylora wskazują, że istnieje krytyczna długość fali, poniżej której fale są stabilne dzięki napięciu powierzchniowemu. Jego praca stała się fundamentem dla dalszych badań nad dynamiką płynów i stabilnością interfejsów między różnymi fazami (Taylor 1950). Na tym etapie atomizowano głównie płyny. Powodem niepowodzenia przeniesienia metody na metale stanowił problem z materiałem, z którego wykonana musiałaby być sonotroda, czyli element wibrujący. Ciągłe nie dysponowano materiałem, który nie ulegałby destrukcji na skutek pęknięć zmęczeniowych i mógłby pracować w wysokich częstotliwościach.

Atomizacja ultradźwiękowa metali jest bardziej skomplikowana niż w przypadku cieczy ze względu na bardzo wysoką temperaturę topnienia metali. Jej efektem końcowym również musi być proszek o odpowiedniej frakcji wielkości cząstek oraz wysokiej sferyczności. Proces ten obejmuje następujące etapy:

- a) Preparacja materiału – metal jest topiony w piecu indukcyjnym lub plazmowym. Może być również stopiony przy pomocy elektrody. Metale topią się w różnych temperaturach, dlatego urządzenie musi być odporne na szeroki zakres temperatur.
- b) Ultradźwięki – stopiony metal jest poddawany działaniu ultradźwięków za pomocą przetwornika lub w komorze urządzenia w atmosferze gazu obojętnego spada na sonotrodę. W zależności od wybranej częstotliwości wibracji, możliwe jest uzyskanie różnych wymiarów cząstek.

- c) Rozpylanie – w wyniku wysokiej częstotliwości drgań sonotrody i przekraczania wartości progowej amplitudy ciekłego metalu, powstają fale kapilarne, których grzbiety oddzielając się od zagłębień fal, wyrzucają drobne krople metalu.
- d) Schładzanie i zbieranie – rozpylone krople metalu są schładzane w atmosferze gazu obojętnego, tworząc proszek, który zbierany jest w specjalnym zbiorniku. Zastosowanie gazu obojętnego chroni również proszek przed zanieczyszczeniami i utlenianiem materiału.

Właściwości proszków metali stosowanych do druku 3D, zwłaszcza w technologii Selective Laser Sintering (SLS) czy Laser Powder Bed Fusion (L-PBF) są kluczowe dla uzyskania wysokiej jakości wydruków i ich specyficznych zastosowań. Najistotniejsze z właściwości jakie proszki muszą spełniać dotyczą (Montero-Sistiaga i in. 2019):

- a) Skład chemiczny – metalowe proszki muszą być jednorodne i wolne od wszelakich zanieczyszczeń. Popularne metale to tytan, aluminium, stal nierdzewna, nikiel oraz stopy takich metali jak kobalt-chrom, który jest szczególnie ceniony w medycynie za wysoką wytrzymałość i biokompatybilność.
- b) Właściwości mechaniczne – wytrzymałość, twardość i odporność na ścieranie są kluczowe dla wielu zastosowań, a także odporność na korozję.
- c) Gęstość i sypkość proszku – gęstość nasypowa i rzeczywista czy też poziom upakowania proszku, mają wpływ na jakość spiekania. Wysoka gęstość nasypowa sprzyja równomiernemu rozprowadzaniu proszku podczas procesu drukowania, co prowadzi do lepszej jakości końcowego wydruku. Przede wszystkim wydruki uzyskane przy zastosowaniu proszku o wysokiej gęstości charakteryzują się wysoką wytrzymałością na rozciąganie, wyższą udarnością oraz trwałością zmęczeniową. Dąży się do uzyskania wydruku o gęstości rzeczywistej jak najbardziej zbliżonej do gęstości teoretycznej materiału. Gęstość rzeczywista na poziomie mniejszym niż 90% gęstości teoretycznej może wskazywać na istotne problemy z jakością proszku.
- d) Rozmiar i kształt cząstek – homogeniczny rozkład wielkości cząstek oraz ich sferyczny kształt sprzyjają lepszemu spiekaniu i jakości powierzchni. Proszki o zróżnicowanej wielkości cząstek mają wysoki poziom upakowania, ale to te o bardziej jednorodnym rozmiarze cząstek pozwalają na bardziej przewidywalne i kontrolowane procesy produkcyjne.
- e) Temperatura topnienia i właściwości termiczne – materiały o wysokiej temperaturze topnienia, takie jak tytan czy stopy niklu, są często używane w aplikacjach wymagających dużej odporności na temperaturę, jak w przemyśle lotniczym i kosmicznym.
- f) Biokompatybilność – w przypadku zastosowań medycznych, takich jak implanty, biokompatybilność jest kluczową właściwością. Materiały takie jak hydroksyapatyt i różne stopy tytanu są często używane ze względu na swoją zdolność do osteointegracji z tkanką kostną.

3. Przegląd literatury

Dostępna literatura w głównej mierze skupia się na wynikach morfologii proszków uzyskanych metodą atomizacji ultradźwiękowej i ewentualnym ich porównaniu z proszkiem kupionym bezpośrednio od producenta. Badane są takie czynniki jak rozkład wielkości ziarna, jego kształt, sferyczność oraz skład chemiczny gotowego proszku. Badania w głównej mierze skupiają się na zdjęciach wykonanych skaningowym mikroskopem elektronowym (SEM). Lukę w literaturze naukowej stanowią bardziej szczegółowe badania nad proszkiem uzyskanym konkretnie metodą atomizacji ultradźwiękowej. Zauważalny jest również brak badań nad materiałem będącym gotowym wydrukiem uzyskanym z proszku atomizowanego. Poniżej zebrano ciekawsze wyniki analizy wielkości ziarna dostępne na chwilę obecną w literaturze, dotyczące proszku uzyskanego w procesie atomizacji ultradźwiękowej.

W pracy (Halapi i Varga 2023) autorzy skupili się nad proszkami uzyskanymi podczas atomizacji ultradźwiękowej stali 1.4551 oraz stali węglowej. Materiały wejściowe były w formie stalowego drutu. Oba materiały zamienione w proszek zachowały się bardzo podobnie podczas

atomizacji ultradźwiękowej. Ich rozkład wielkości różni się nieznacznie między sobą. Można zauważyć, że cząstki najbardziej pożądane do druku 3D, czyli w zakresie 45-63 μm stanowiły niecałe 65% wszystkich cząstek dla stali 1.4551, a także prawie 80% dla stali węglowej, co oznacza, że stanowią dominantę badanej próbki i znaczną część całości, a co za tym idzie gwarantują wysoką jakość proszku do druku 3D ze względu na swoją powtarzalność. Cząstki najmniejsze <32 μm oraz największe >80 μm w obu przypadkach stanowiły mniej niż 5% frakcji. Cząstek w nieco większych i nieco mniejszych niż skrajne przedziały, tj. 32-45 μm oraz 63-80 μm dla obu stali jest mniej niż 15%, co nadal nie czyni tej wielkości dominującą. Można uznać, że rozkład świadczy o jednolitości wielkości cząstek w badanej próbce, co może mieć istotne znaczenie dla właściwości fizycznych i chemicznych materiału oraz jego potencjalnych zastosowań. Można również uznać, że gotowy element wydrukowany z takiego proszku może charakteryzować się mniejszą porowatością.

Innymi badaniami są badania zawarte w pracy (Priyadarshi i in. 2024), w których porównywano m.in. proszki aluminium uzyskane metodą atomizacji ultradźwiękowej, ale ustawiając różne zakresy mocy sonotrody. Amplitudy wynosiły odpowiednio 100% mocy, 75% oraz 60%. Zauważono, że rozkład poszczególnych partii różnił się znacznie pod względem wielkości cząstek, jednak mimo to proszki miały uderzająco podobne właściwości. Przede wszystkim charakteryzowały się głównie wyjątkową sferycznością oraz brakiem wydłużonych czy skupionych cząstek. Co ciekawe, proszek aluminium po atomizacji nie zawierał żadnych zamkniętych porów gazowych, a cecha ta jest szczególnie korzystna dla procesu druku 3D, gdzie płynny i równomierny przepływ materiału jest kluczowy dla uzyskania komponentów o gęstości jak najbardziej zbliżonej do gęstości teoretycznej.

W pracy (Bałasz i in. 2023) porównano proszek tytanu Grade 5 kupny z różnych firm oraz atomizowany przy częstotliwości 35kHz. Uzyskano wyniki, które charakteryzowały się wysoką wydajnością produkcji, ponieważ 94% surowca udało się przekształcić w użyteczny proszek do druku 3D z cząstkami <100 μm . Prawie wszystkie cząstki wykazywały kształt sferyczny, z niewielkim udziałem satelitów lub cząstek z pustkami lub zdeformowanymi częściami. Proszek atomizowany wykazywał wysoką gęstość nasypową, pozorną i rzeczywistą, a także bardzo dobrą płynność oraz stabilny skład chemiczny.

Innym przykładem pracy nad atomizacją ultradźwiękową jest praca (Grzelak i in. 2022), w której porównano dwie metody uzyskania proszku stali nierdzewnej 316L. Porównano proszek uzyskany przy pomocy atomizacji ultradźwiękowej z proszkiem uzyskanym metodą PAGA. Proszki PAGA (Plasma Atomized – Gas Atomized) to rodzaj proszków metalicznych, które są produkowane przez kombinację dwóch różnych technologii atomizacji: atomizacji plazmowej i atomizacji gazowej. Te zaawansowane i specyficzne metody produkcji łącząc się mają na celu uzyskanie proszków o bardzo wysokiej jakości. Z założenia proszki uzyskane metodą PAGA charakteryzują się niezwykle wysoką sferycznością cząstek oraz wysoką gęstością nasypową i rzeczywistą, ponadto wysoką płynnością proszku, niską zawartością zanieczyszczeń i co za tym idzie, wysoką czystością proszku. Wszystkie te poszczególne cechy są niezwykle pożądane w produkcji addytywnej, a dzięki połączeniu zalet obu technologii, proszki PAGA są szczególnie cenione w przemyśle. Co ciekawe, wyniki pokazały, że pomimo założeń jakościowych proszków PAGA, to jednak proszek uzyskany metodą atomizacji ultradźwiękowej okazał się być bardziej sferyczny. Ponadto na zdjęciu SEM proszku atomizowanego ultradźwiękowo brak jest widocznych niepożądanych wyraźnych aglomeratów i zdeformowanych cząstek, które są zauważalne w proszku PAGA. Sferyczność i kształt cząstek w dużej mierze pozytywnie wpływa na płynność i gęstość uzyskanego proszku, co również zostało potwierdzone badaniami w cytowanej pracy. Średnia wielkość tych cząstek wynosiła 20-63 μm , gdzie proszek PAGA okazał się być drobniejszy i wynosił 15-45 μm . Na wykonanych zglądach proszków wykazano brak zwiększonej porowatości wewnętrznej dla proszków uzyskanych przy pomocy obu metod oraz brak znaczących wad samych cząstek, co podnosi jakość proszku.

W innej pracy zbadano i oceniono wpływ wyżarzania roztworowego (820°C przez 1h) oraz starzenia (490°C przez 6h) na detale wydrukowane z proszku metalicznego w technologii druku 3D metali stali maraging X3NiCoMoTi 18-9-5, zwanej MS1 uzyskanego w procesie atomizacji. Stal maraging jest stalą narzędziową, martenzytyczną i na wydruku stal miała takową strukturę – martenzytyczną, dodatkowo z resztkowym austenitem i wieloma defektami. Zastosowanie

wyżarzania roztworowego i starzenia spowodowało widoczny zanik struktury komórkowej. Powstała gruboziarnista struktura martenzytyczna z wydzieleniami tytanu i molibdenu. Samo starzenie bez wyżarzania również prowadziło do powstania wydzieleni, ale w tym przypadku zachowana została struktura komórkowa. Zastosowana obróbka cieplna znacząco poprawiła właściwości mechaniczne stali, praktycznie podwajając jej twardość i granicę plastyczności materiału, ale kosztem nieznacznego spadku plastyczności. Wyniki mogą sugerować, że samo starzenie jest wystarczające do poprawy właściwości mechanicznych próbek drukowanych w technologii druku 3D, bez konieczności wyżarzania roztworowego (Strakosova i in. 2019).

4. Podsumowanie i wnioski

- a) Atomizacja ultradźwiękowa, choć znana od lat, nadal jest nowością, jeśli chodzi o uzyskanie proszków metali, a obecna literatura naukowa jest niekompletna dla tej metody.
- b) Popularne rodzaje atomizacji: gazowa i wodna, są odpowiednią metodą uzyskania dużej ilości proszku metalowego, jednak są nieopłacalne ekonomicznie, gdy potrzebna jest mała ilość proszku, np. do badań naukowych.
- c) Proszek uzyskany tą metodą jest bardzo dobrym materiałem do druku w technologii SLS/DMLS czy L-PBF. Rozkład wielkości ziarna charakteryzuje się jednolitym rozmiarem i pożądanym sferycznym kształtem.
- d) Atomizacji ultradźwiękowej można poddać materiał w postaci drutu lub pojedynczych elementów, np. nieudanych wydruków, podpór po wydrukach czy innych drukowanych odpadów, co czyni metodę również idealnym sposobem na recykling takich elementów.
- e) Atomizacja ultradźwiękowa jest odpowiednią metodą uzyskania proszku z różnych rodzajów metali, od stali, po aluminium, tytan czy nawet złoto.

5. Literatura

- Bałasz B, Bielecki M, Gulbiński W i in. (2023) Comparison of ultrasonic and other atomization methods in metal powder production. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering* 116: 11-24.
- Gogate PR (2015) The use of ultrasonic atomization for encapsulation and other processes in food and pharmaceutical manufacturing. *Power Ultrasonic* 1: 911-935.
- Grzelak K, Bielecki M, Kluczyński J i in. (2022) A comparative study on laser powder bed fusion of differently atomized 316L stainless steel. *Materials* 15: 4938-1-4938-19.
- Halapi D, Varga L (2023) Ultrasonic powder atomization for additive manufacturing. *International Journal of Engineering and Management Sciences* 8: 69-75.
- Montero-Sistiaga M, Pourbabak P, Humbeeck JV i in. (2019) Microstructure evolution and mechanical properties of Hastelloy X alloy processed by selective laser melting. *Materials & Design* 165: 107598-1-107598-10.
- Neikov OD, Naboychenko SS, Murashova IB (2019) Production of noble metal powders. *Handbook of Non-Ferrous Metal Powder*. Elsevier.
- Priyadarshi A, Shahrani SB, Choma T i in. (2024) New insights into the mechanism of ultrasonic atomization for the production of metal powders in additive manufacturing. *Additive Manufacturing* 83: 104033-1-104033-20.
- Rayleigh J (1945) *The theory of sound* (reprinted) vol. 1 and 2. New York Dover Publications.
- Strakosova A, Kubasek J, Michalцова A i in. (2019) High strength X3NiCoMoTi 18-9-5 maraging steel prepared by selective laser melting from atomized powder. *Materials* 12: 4171-1-4171-10.
- Taylor GI (1950) The instability of liquid surfaces when accelerated in a direction perpendicular to their planes. *Proceedings of the Royal Society A* 201: 192-196.
- Wood RW, Loomis AL (1927) The physical and biological effects of high-frequency sound-waves of great intensity. *Philosophical Magazine* 4: 417-436.
- Yaozhong W, Jianguang F, Chi W i in. (2023) Additively manufactured materials and structures: a state-of-the-art review on their mechanical characteristics and energy absorption. *International Journal of Mechanical Science* 246: 108102-1-108102-62.

3. Przegląd aktualnych proszków metalicznych używanych w produkcji addytywnej

The overview of current metal powders used in additive manufacturing

Łagoda Agnieszka

Katedra Technologii Maszyn i Materiałoznawstwa, Wydział Mechaniczny, Politechnika Opolska

Łagoda Agnieszka: a.lagoda@po.edu.pl

Słowa kluczowe: stal nierdzewna, tytan, aluminium

Streszczenie

Druk 3D obecnie wiezie prym wśród metod produkcji. Nic dziwnego więc, że zastosowanie produkcji addytywnej jest coraz bardziej szerokie, a jej zakres ogromny. Obecnie technologia druku 3D wykorzystywana jest w wielu dziedzinach od medycyny po lotnictwo, kosmonautykę czy nawet życie codzienne. Rozwój Metal Additive Manufacturing (MAM) zrewolucjonizował metody konwencjonalne produkcji metalowych części, głównie poprzez możliwość użycia znacznie mniejszej ilości surowca, zmniejszenie wypełnienia gotowego produktu w formie lattice, a co za tym idzie - zmniejszenie wagi gotowej konstrukcji, tworzenie detali o zróżnicowanych kształtach, często niedostępnych dla metod tradycyjnych, a także wydruk elementów, które nie są już produkowane lub, których pojedyncza produkcja nie jest opłacalna konwencjonalnymi metodami. Oczywiście MAM nie jest pozbawiony wad i posiada pewne ograniczenia, które decydują o powodzeniu wydruku. Sprowadza się to głównie do jakości materiału wsadowego, a więc proszku, który spiekany warstwa po warstwie tworzy gotowy detal. Od jakości proszku zależy jakość finalnego wyrobu. W pracy zebrano i przedstawiono podstawowe rodzaje proszków używane w produkcji addytywnej, ich zastosowanie oraz właściwości, a także ich wpływ na druk 3D metali.

1. Wstęp

Additive Manufacturing (AM), szybkie prototypowanie, produkcja addytywna czy po prostu produkcja w technologii druku 3D zyskuje uznanie użytkowników na całym świecie. Jest jedną z najszybciej rozwijających się dziedzin techniki, a jej osiągnięcia z roku na rok są coraz bardziej imponujące i coraz szersze. Wpływ produkcji addytywnej można zauważyć już w niemal każdej dziedzinie życia, począwszy od medycyny, lotnictwa czy nawet po prostu życia codziennego. Obecnie nawet przeciętny użytkownik może sobie pozwolić na zakup małej drukarki i zestawu filamentów do druku we własnym domu. Jest w stanie stworzyć własny model (np. części sprzętu elektronicznego, który nie jest już produkowany lub elementu, którego nie da się kupić osobno) i wydrukować gotowy detal, który da nowe życie zepsutemu urządzeniu. Obok różnych rodzajów tworzyw sztucznych, szeroko rozwinięty jest również Metal Additive Manufacturing (MAM), czyli technologia druku 3D metali. Założenia metody nie są skomplikowane i sprowadzają się do wytwarzania finalnego produktu na podstawie cyfrowego modelu 3D poprzez stapianie proszku laserem i drukowanie elementu warstwa po warstwie. Metoda ogranicza ilość narzędzi oraz sprzętów potrzebnych do uzyskania finalnego elementu w przeciwieństwie do metod konwencjonalnych (Kanishka i Acherjee 2023). Z zalet, które należy wymienić na korzyść produkcji addytywnej to również ograniczenie kosztów na skutek ograniczenia zużycia materiału, zmniejszenie wagi konstrukcji oraz możliwość druku skomplikowanych elementów (Yaozhong i in. 2023). Głównymi wadami metody są wysokie wymagania co do materiału wsadowego – proszku, którego jakość jest kluczowa dla otrzymania wysokiej jakości gotowego wydruku. Na rynku istnieje duży wybór proszków metali do wyboru. Najpopularniejsze z nich to stale nierdzewne, aluminium oraz tytan.

2. Opis zagadnienia

Jakość gotowego wyrobu, jego jednorodność i brak występujących porów czy przerw w integralności materiału oraz jego odpowiednia chropowatość to parametry, które zapewnia wybór

materiału wsadowego o wysokich parametrach, a więc proszku o wysokiej jakości wytworzenia (Frazier 2014). Proszki metaliczne najczęściej uzyskuje się w procesie atomizacji. Najpopularniejsze są atomizacja gazowa oraz atomizacja wodna, a także wchodząca dopiero na rynek – atomizacja ultradźwiękowa.

Charakterystykę proszków określają normy ISO/ASTM 52907:2019 oraz ISO/ASTM 52925:2022. Na jakość proszku do druku 3D wpływa wiele czynników, które są skrupulatnie badane. Głównymi z nich są (Montero-Sistiaga i in. 2019):

- a) Skład chemiczny – w zależności od składu chemicznego proszku uzyskujemy materiał wsadowy o innych właściwościach, np. tytan grade 23 o wykazujących właściwościach biokompatybilnych i właściwościach nadających się na wydruk implantów medycznych lub stal narzędziowa 18Ni300 o wysokiej wytrzymałości na obciążenia dynamiczne na elementy maszyn, części i narzędzi. Ważne jest, aby proszek wolny był od zanieczyszczeń, np. w formie wolframu pozostałego po procesie atomizacji.
- b) Kształt cząstek – kształt zależny jest od metody wytwarzania proszku. Najbardziej pożądanym kształtem do druku 3D jest cząstka sferyczna czy kulista bez widocznych satelitów. Kształt ten wykazuje niskie tarcie powierzchniowe, dzięki czemu cząstki nie skleją się ze sobą i wykazują się wysoką sypkością. Taki kształt można uzyskać metodą atomizacji w atmosferze gazu obojętnego.
- c) Wielkość cząstek – uznaje się, że idealną wielkością cząstki dla druku 3D to wielkość poniżej 63µm. Im bardziej jednolity proszek pod względem wielkości, tym bardziej przewidywalne jego zachowanie podczas spiekania. Jednocześnie, im mniejszy rozmiar ziarna w proszku, tym poziom upakowania wyższy (Feng 2023) i więcej energii pochłoniętej przez materiał w procesie druku metodą L-PBF, co zwiększa szybkość wydruku (Averardi i in. 2020).
- d) Gęstość nasypowa – to stosunek masy proszku przesypanego do jego objętości. Im wyższa wartość tego parametru, tym lepsze i bardziej równomierne rozproszczenie proszku, a to gwarantuje wyższą jakość finalnego wyrobu poprzez jego wyższą wytrzymałość na rozciąganie, zmienne obciążenia dynamiczne oraz wyższą trwałość zmęczeniową. Wyróżnia się gęstość rzeczywistą i teoretyczną. Rzeczywista to ta, którą wykazuje bezpośrednio badany proszek. Teoretyczna to gęstość zakładająca brak zanieczyszczeń i pustek występujących w proszku. Gęstość rzeczywista na poziomie niższym niż 90% gęstości teoretycznej świadczy o niskiej jakości proszku, zanieczyszczeniach lub możliwych nieprawidłowościach, które wystąpiły w trakcie procesu produkcji danego proszku. Najczęściej wykorzystywanym przyrządem do pomiaru gęstości oraz sypkości jest lejek Halla. Gęstość wyrażana jest wzorem:

$$\rho_{nas} = \frac{m}{V} \left[\frac{g}{cm^3} \right] \quad (1)$$

gdzie:

m – masa proszku przesypanego swobodnie

V – objętość proszku przesypanego swobodnie

- e) Sypkość – to czas, w którym określona ilość proszku przesypane przez lejek. Najczęściej do badań wykorzystuje się próbkę 50g oraz otwór lejka Ø2,5. Cząstki kuliste i sferyczne wykazują największą sypkość. Sypkość określa się wzorem:

$$X_p = t_s f = t_s \frac{25,3}{C} [s] \quad (2)$$

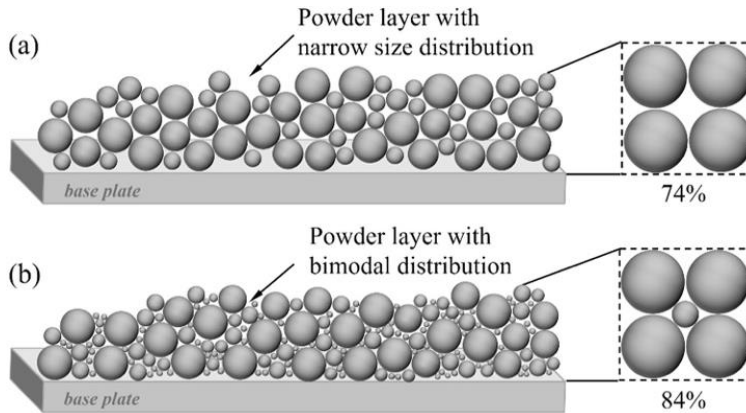
gdzie:

t_s – czas przesypania proszku

f – współczynnik korygujący uwzględniający cechę lejka

C – cecha lejka (czas przelewania 100cm³ wody destylowanej), której wartość powinna wynosić 25±2s.

- f) Poziom upakowania – proszki o jednakowej wielkości wykazują niższy poziom upakowania od proszków o zróżnicowanych kształtach. Poziom upakowania mówi o objętości zajmowanej przez proszek (Rys.1). Najwyższy poziom upakowania posiadają proszki, w których mniejsze ziarna zajmują pustki wokół większych ziaren. Wbrew pozorom, wysokiej jakości proszek nie może jednak posiadać zbyt drobnych ziaren, ze względu na to, że stosunek powierzchni do objętości ziarna jest wysoki, co wpływa negatywnie na sypkosć materiału (Heaney 2012). Nieregularny kształt cząstek oraz tarcie powierzchniowe może również negatywnie wpłynąć na poziom upakowania materiału (Dunkley 2019).

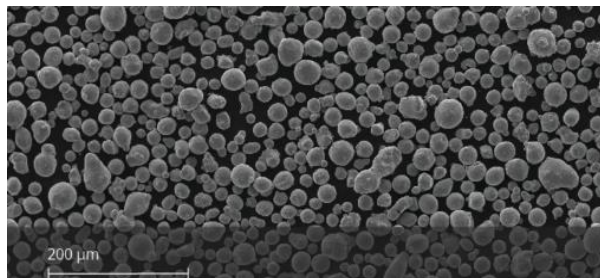


Rys. 1. Warstwy proszku o różnym poziomie upakowania, gdzie: a) poziom niższy – ziarna o podobnej wielkości, pustki między cząstkami, b) poziom wyższy – ziarna o zróżnicowanej wielkości, pustki są wypełnione drobniejszymi cząstkami (Zhu i in. 2007)

3. Przegląd literatury

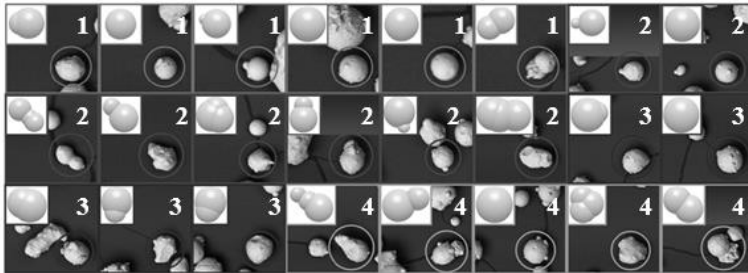
Jednymi z najbardziej popularnych proszków do druku 3D metali aktualnie są: proszki stali nierdzewnych, np. 316L, 17-4 PH, proszki tytanowe, np. Ti6Al4V, proszki aluminiowe, np. AlSi10Mg, proszki kobaltowo-chromowe, proszki niklu, np. Inconel 625, Inconel 718, proszki miedzi, proszki brązu. Te materiały najlepiej wypadają pod względem jakości dostosowanej do druku 3D omawianej w poprzednim punkcie.

Poniżej przedstawiono ciekawe badania nad proszkami metalu wykorzystywane w produkcji addytywnej na przestrzeni ostatnich lat. Najczęściej pojawiającym się materiałem w literaturze jest stal 316L – stal nierdzewna o wysokiej wytrzymałości oraz odporności na korozję. Wykazuje się również wysoką twardością. Najczęściej wykorzystywana w przemyśle chemicznym, spożywczym, medycznym oraz marynarce wojennej, gdzie potrzebne są materiały odporne na oddziaływanie soli morskiej. W porównaniu do innych proszków, jest materiałem stosunkowo tanim. W swoim składzie chemicznym wykazuje 17-19% Cr, 13-15% Ni, 2,25-3% Mo, max. 0,03% C, max. 0,1% N, resztę stanowi Fe (EOS 2024). Średnia wielkość cząstek proszku wynosi 20-65 μ m (Rys.2).



Rys. 2. Cząstki ziaren proszku stali 316L (EOS 2024).

Proszek stali 316L uzyskany w procesie atomizacji gazowej charakteryzuje się pożądanym rozkładem wielkości cząstek od 15 μ m do 55 μ m, gdzie najwięcej cząstek znajduje się w zakresie 25-35 μ m (40,8%). Prawie 30% stanowią cząstki wielkości 15-25 μ m, a 23,9% to rząd wielkości cząstek 25-45 μ m. Zaledwie 5,7% to cząstki o wielkości 45-55 μ m, co świadczy o bardzo drobnistej naturze proszku (Nan i in. 2018). Na rys.3 przedstawiono kształt uzyskanych ziaren w procesie atomizacji gazowej z podziałem na poszczególne zakresy wielkości uzyskanych cząstek. Cząstki zostały również zamodelowane przy użyciu metod opisanych w publikacji Favier'a z 1999 roku. Można zauważyć, że najczęściej występuje sferyczny kształt, ale nie brakuje również satelit przy poszczególnych cząstkach.



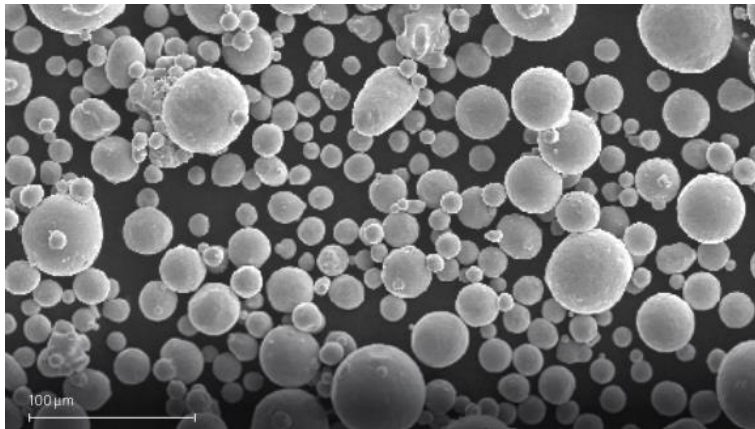
Rys. 3. Kształt rzeczywisty i zamodelowany cząstek proszku stali 316L, gdzie: 1 – zakres wielkości 15-25 μ m, 2 – zakres wielkości 25-35 μ m, 3 – zakres wielkości 35-45 μ m, 4 – zakres wielkości 45-55 μ m (Nan i in. 2018).

W pracy Ahmed'a (Ahmed i in. 2020) próbowano zbadać zachowanie się proszku podczas rozkładania warstwy proszku w bębnie drukarki. Zdarza się, że podczas rozkładania kolejnej warstwy proszku gotowej do spiekania, pojawiają się puste miejsca, co prowadzi do braku spieku w danym miejscu i wadliwości gotowego wydruku. Częstotliwość powstawania pustych miejsc i ich rozmiar próbowano wykazać za pomocą analizy obrazu skaningowego mikroskopu elektronowego. Miejsca powstania pustek oraz ich wielkość znacząco maleją wraz ze wzrostem wysokości szczeliny, która odpowiada za grubość warstwy.

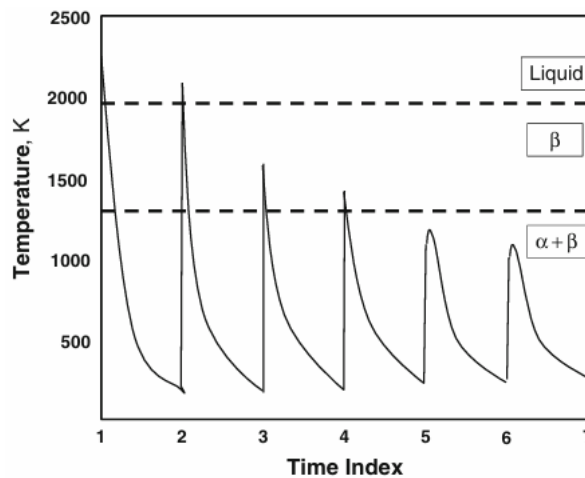
Kolejny materiałem badanym na szeroką skalę i bardzo dobrze przyjętym w produkcji addytywnej jest proszek tytanu Ti-6Al-4V. Materiał szczególnie doceniany za swoje właściwości: niska waga, a jednocześnie wysoka wytrzymałość materiału, wysoka odporność na korozję, wysoka wytrzymałość zmęczeniowa i trwałość. Dzięki swoim właściwościom ten rodzaj tytanu wykorzystuje się w szczególności w lotnictwie, w branży automotive, a także w każdej dziedzinie, gdzie wysoka wytrzymałość w połączeniu z niską masą konstrukcji ma szczególne znaczenie. Na skład chemiczny proszku składają się poszczególne pierwiastki: 5,5-6,75% Al, 3,5-4,5 V oraz maksymalnie 0,2% O, 0,05% N, 0,08% C, 0,015% H, 0,3% Fe, 0,005% Y, inne pierwiastki mogą stanowić 0,1-0,4%, a reszta to tytan (EOS 2018). Cząstki osiągają wielkość 20-80 μ m (Rys. 4).

Drukowanie 3D zakłada produkcję poprzez nakładanie jednej warstwy na drugą warstwę materiału. Może to skutkować złożonymi profilami temperaturowymi w finalnym produkcie zależnymi od czasu. Oznacza to, że materiał wydrukowany może wielokrotnie przechodzić przez różne przemiany fazowe w stanie stałym oraz w stanie stałym-ciecz (Kelly i Kampe 2004; Wang i in. 2013). Profil termiczny dla Ti-6Al-4V przedstawiono na rys.5, gdzie widoczne są dwie przemiany stan stały-ciecz oraz dwie przemiany alfa-beta zależne od wyposażenia do produkcji addytywnej, w tym mocy lasera drukarki oraz jego szybkości, czasu pomiędzy przejściami, a także od geometrii drukowanego produktu.

Dla każdego wydruku w technologii Laser Power Bed Fusion (L-PBF) czy Selective Laser Sintering (SLS) wymagane jest zastosowanie obróbki cieplnej, która ma na celu zniwelować efekt anizotropii w gotowym wydruku. Dla wydruków powstałych z proszku Ti-6Al-V zalecana jest obróbka cieplna w 926°C przez 2 do 4 godzin, a następnie chłodzenie w piecu poniżej 427°C. Wyżarzanie powinno zostać przeprowadzone w 913°C przez 2 do 4 godzin, a następnie chłodzenie w piecu poniżej 427°C. Przeprowadzenie obróbki również zbliżają gotowy element do wyrobu wytworzonego metodami konwencjonalnymi (Frazier 2014).



Rys. 4. Cząstki ziaren proszku tytanu Ti-6Al-4V (EOS 2018).

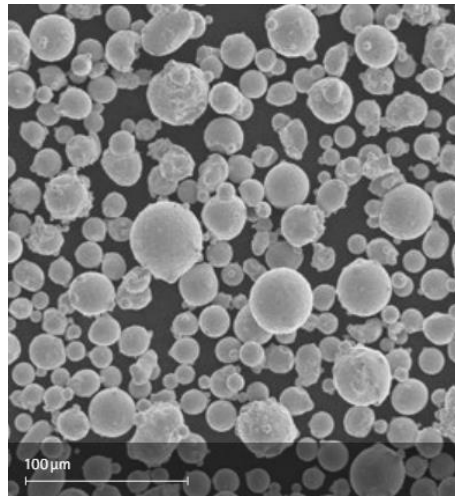


Rys. 5. Profil termiczny dla warstwy materiału Ti-6Al-4V (Frazier 2014).

Kolejne materiały spotykane w literaturze to proszki niklu Inconel 625 (IN 625) oraz Inconel 718 (IN 718). Oba materiały są stopami niklu, a ich zastosowanie głównie związane jest z przemysłem lotniczym oraz z przemysłem zajmującym się produkcją części i elementów maszyn o bardzo wysokiej odporności na korozję. Różnice między materiałami wynikają głównie z ich składu chemicznego, właściwości mechanicznych oraz konkretnego zastosowania. Inconel 625 zawiera 20-23% chromu, 8-10% molibdenu, 3,15-4,15% niobu, 2,5% żelaza oraz niewielkie ilości aluminium, tytanu i manganu. Natomiast Inconel 718 zawiera znacznie więcej niklu, bo aż 50-55%, 17-21% chromu, 4,75-5,5% niobu, 2,8-3,3% tytanu, 1-1,7% molibdenu i niewielkie ilości aluminium i manganu. Średnia wielkość ziarna IN 624 wynosi około $35\mu\text{m}$, podczas gdy dla IN 718 jest to zakres $20\text{-}55\mu\text{m}$ (rys.6). Widoczne są również różnice w twardości wyrobu drukowanego z powyższych materiałów. IN 625 jest mniej twardy i wynosi HRC 27, gdzie twardość IN 718 wynosi już HRC 47 (EOS 2020; EOS 2022). Mikrostruktura IN718 charakteryzuje się drobnym rozmieszczeniem dendrytów. Wytrzymałość na rozciąganie i wydłużenie dla obu materiałów przetworzonych addytywnie przekraczały te dla stanu odlewanego (Baufeld 2012).

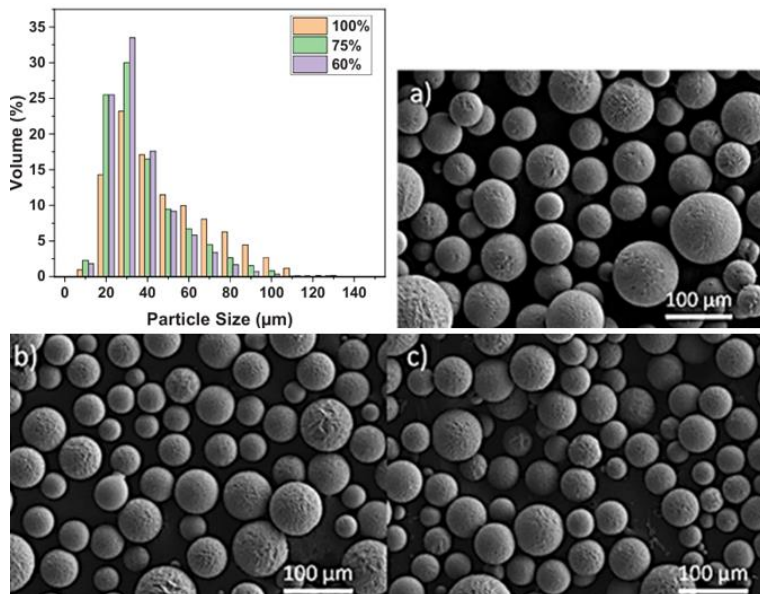
Pod względem właściwości mechanicznych oba materiały cechuje wysoka odporność na korozję. Materiał IN 625 charakteryzuje się zastosowaniem w ekstremalnych warunkach, takich jak wysoka temperatura i agresywne środowiska. W związku z tym jego największym zastosowaniem są wymienniki ciepła, aparaty reakcyjne, rurociągi, turbiny gazowe. Posiada również dużą twardość i wytrzymałość na rozciąganie. Natomiast IN 718 jest stopem o jeszcze większej wytrzymałości

i twardości. Ma bardzo dobrą odporność na pękanie zmęczeniowe, co jest kluczowe w aplikacjach lotniczych. Powszechnie stosowany jest w produkcji wirników, wałów, łopat turbinowych, cylindrów silnikowych, podzespołów napędowych czy układów spalinowych.



Rys. 6. Cząstki ziaren proszku niklu Inconel 718 (EOS 2022).

W literaturze powszechnie można również spotkać różnego rodzaju badania stopu aluminium przeznaczonego do produkcji addytywnej. Ciekawe badanie przedstawiono w artykule „New insights into the mechanism of ultrasonic atomization for the production of metal powders in additive manufacturing” ukazany w tym roku w czasopiśmie Additive Manufacturing. Autorzy podjęli między innymi próbę atomizacji ultradźwiękowej aluminium wykorzystując różne amplitudy częstotliwości drgań sonotrody (element wibrujący). Wykorzystano częstotliwość na poziomie 60 kHz oraz moc na poziomie 100%, 75% oraz 60%. Badania wykazały brak cząstek wielkości poniżej 10µm. Dla każdego poziomu mocy najwięcej zanotowano proszku o średnicy 20-40µm (rys.7).



Rys. 7. Rozkład wielkości cząstek aluminium uzyskanych w procesie atomizacji ultradźwiękowej przy wykorzystaniu różnej mocy amplitudy, gdzie: a) zdjęcie SEM cząstek aluminium uzyskanych przy 100% mocy, b) przy 75% mocy, c) przy 60% mocy (Pryiadarshi i in. 2024).

Widoczne różnice w rozmiarze cząstek na poszczególnych obrazach rys.7 wykazują wspólne uderzająco podobne cechy. W szczególności zauważalny jest charakter cząstek - wyjątkowa sferyczność oraz brak wydłużonych lub zgrupowanych ziaren. Dodatkowo brak widocznych satelitów w produkowanych proszkach zapewnia bardziej jednorodny materiał wsadowy, co ostatecznie przyczynia się do niezawodności i powtarzalności procesu druku 3D. Zauważalny wąski rozkład wielkości cząstek jest szczególnie korzystny dla niektórych technik addytywnych, takich jak choćby Laser Power Bed Fusion (Priyadarshi i in. 2024).

4. Podsumowanie i wnioski

- a) Proszki metaliczne przeznaczone do produkcji addytywnej muszą spełniać szereg właściwości, aby zostać odpowiednim materiałem wsadowym do druku. Zła jakość proszku może odbić się na finalnym wyrobie poprzez obecność porów w materiale, niejednorodność strukturalną i słabszą wytrzymałość elementu.
- b) Najważniejszymi cechami, które proszki muszą spełniać to skład chemiczny bez zanieczyszczeń, sferyczny kształt i wielkości do 63µm cząstki proszku, odpowiednia gęstość nasypowa, sypkość oraz wysoki poziom upakowania.
- c) Najczęstszymi materiałami pojawiającymi się w literaturze jako szczególnie pożądane do produkcji addytywnej to w głównej mierze stale nierdzewne, np. 316L, stopy tytanu, np. Ti-6Al-4V, stopy niklu, np. Inconel 625 oraz Inconel 718 oraz stopy aluminium.
- d) Ilość materiałów do produkcji addytywnej stale się powiększa.

5. Literatura

- Ahmed M, Pasha M, Nan W i in. (2020) A simple method for assessment powder spreadability for additive manufacturing. *Powder Technology* 367: 671-679.
- Averardi A, Cola C, Zeltmann SE i in. (2020) Effect of particle size distribution on the packing of powder beds: a critical discussion relevant to additive manufacturing. *Materials Today Community* 24: 100964.
- Baufeld B (2012) Mechanical properties of INCONEL 718 parts manufactured by shaped metal deposition (SMD). *Journal of Materials Engineering and Performance* 21: 1416-1421.
- Dunkley JJ (2019) Metal powder atomisation methods for modern manufacturing. *Johnson Matthey Technology Review* 63: 226-232.
- EOS (2018) Ti-6Al-4V titanium alloy data sheet.
- EOS (2020) Inconel 625 nickel alloy data sheet.
- EOS (2022) Inconel 718 nickel alloy data sheet.
- EOS (2024) 316L steel data sheet.
- Feng S, Jia D, Fu Y i in. (2023) Preparation of additive manufacturing powder by external field-enabled: a comparative assessment. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology* 131: 3239-3265.
- Frazier WE (2014) Metal additive manufacturing: a review. *Journal of Materials Engineering and Performance* 236: 1917-1928.
- Heaney DF (2012) *Handbook of metal injection molding*. Woodhead Publishing.
- Kanishka K, Acherjee B (2023) Revolutionizing manufacturing: a comprehensive overview of additive manufacturing processes, materials, developments, and challenges. *Journal of Manufacturing Processes* 107: 574-619.
- Kelly SM, Kampe SL (2004) Microstructural evolution in laser-deposited multilayer Ti-6Al-4V builds: part II thermal modeling. *Metallurgical and Materials Transactions* 35: 1869-1879.
- Montero-Sistiaga M, Pourbabak P, Humbeeck JV i in. (2019) Microstructure evolution and mechanical properties of Hastelloy X alloy processed by selective laser melting. *Materials & Design* 165: 107598-1-107598-10.
- Nan W, Pasha M, Bonakdar T i in. (2018) Jamming during particle spreading in additive manufacturing. *Powder Technology* 338: 253-262.

- Priyadarshi A, Shahrani S, Choma T i in. (2024) New insights into the mechanism of ultrasonic atomization for the production of metal powders in additive manufacturing. *Additive Manufacturing* 83: 104033-1–104033-20.
- Wang F, Williams S, Colegrove P i in. (2013) Microstructure and mechanical properties of wire and arc additive manufactured Ti-6Al-4V. *Metallurgical and Materials Transactions* 44: 968-977.
- Yaozhong W, Jianguang F, Chi W i in. (2023) Additively manufactured materials and structures: a state-of-the-art review on their mechanical characteristics and energy absorption. *International Journal of Mechanical Science* 246: 108102-1–108102-62.
- Zhu HH, Fuh JYH, Lu L (2007) The influence of powder apparent density on the density in direct laser-sintered metallic parts. *International Journal of Machine Tools and Manufacture* 47: 294-298.

4. Zakaźne choroby drobiu i ich wpływ na produkcję towarową

Infectious poultry diseases and their impact on livestock production

Wojciech Madzula⁽¹⁾, Sofiia Danko⁽¹⁾, Kinga Janas⁽¹⁾, Marcin Trzybiński⁽¹⁾, Kamil Drabik⁽²⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe Biologii, Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾ Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun SKN: dr inż. Kamil Drabik

Wojciech Madzula: wojtekmadzula@gmail.com

Streszczenie

Zakaźne choroby drobiu stanowią poważne zagrożenie dla produkcji towarowej, wpływając na zdrowotność i efekty produkcyjne ptaków. Analiza przyczyn zachorowalności drobiu oraz szczegółowy opis wybranych chorób, takich jak: pochodzenia wirusowego- choroba Mareka, pochodzenia bakteryjnego- kolibakterioza lub pochodzenia pierwotniakowego- kokcydioza, pozwala zrozumieć ich wpływ na produkcję drobiarską. Wpływ tych chorób na ekonomiczne aspekty produkcji drobiarskiej wymaga skutecznych strategii zapobiegania i leczenia.

1. Wstęp

Celem niniejszej monografii jest szczegółowe omówienie problematyki zakaźnych chorób drobiu, które stanowią istotne zagrożenie dla zdrowia ptaków oraz efektywności produkcji drobiarskiej. Praca ta ma na celu zrozumienie mechanizmów rozprzestrzeniania się chorób, ich wpływu na stada oraz przedstawienie nowoczesnych metod diagnostycznych, profilaktycznych i terapeutycznych.

2. Przyczyny zachorowalności drobiu:

Ptaki są zwierzętami podatnymi na wiele chorób wirusowych, bakteryjnych, grzybiczych i pasożytniczych, które w niektórych przypadkach mogą skutkować poważnym uszczerbkiem na zdrowiu lub śmiercią (Sharma 1999). Zapadalność na rozmaite schorzenia u drobiu z roku na rok sukcesywnie zmniejsza się w budynkach produkcyjnych, głównie ze względu na poprawę warunków życia ptaków, a także poprzez liczne szczepienia. Ogólnodostępne szczepienia są w stanie zapobiec chorobie lub zminimalizować szanse na jej wystąpienie (Marangon i Busani 2007). Wykazano istnienie wielu czynników wywołujących choroby w fermach drobiu. Możemy do nich zaliczyć czynniki: środowiskowe, żywieniowe, związane z niewłaściwą profilaktyką lub leczeniem. Ważnym elementem przekładającym się na dobrostan ptaków jest odpowiedni mikroklimat w kurniku. W dużej mierze ilość drobnoustrojów zarówno w ściółce, jak i w powietrzu zależy od czynników takich jak: temperatura, wilgotność, czy pH ściółki (Witkowska i in. 2010).

Główne przyczyny zakażeń to infekcje poziome, wywołane przez obecność mikroorganizmów w paszy lub środowisku, w tym zwłaszcza w ściółce. Największym zagrożeniem jest zbyt wysoka wilgotność ściółki prowadząca do zwiększonego wzrostu ilości drobnoustrojów, takich jak grzyby lub bakterie. Źródłem szkodliwych dla drobiu szczepów bakterii najczęściej są odchody oraz kurz (Lutful i Kabir 2010). Ten stan znacząco wpływa na zdrowie ptaków, ponieważ zwiększony jest ich kontakt z patogenami co potencjalnie prowadzi do chorób takich jak zapalenie skóry na podeszwie stopy, podrażnień oraz zmian chorobowych związanych z układem oddechowym. (Breitenbach i Simon-Nobbe 2002). W przypadku chorób dróg oddechowych, główną przyczyną zwiększonej podatności na infekcje może być zbyt sucha ściółka wpływająca na wysoki stopień zapylenia kurnika. Jest to spowodowane najczęściej bezpośrednim kontaktem ptaków z luźnym materiałem oraz zbyt wysoką liczbą ptaków na powierzchni budynku produkcyjnego (Mituniewicz i Dzik 2018). Istotny wpływ na zdrowie kur ma również oświetlenie będące niezbędnym czynnikiem

działającym na wydajność drobiu, aktywność behawioralną, fizjologiczną oraz na odpowiedź immunologiczną (Yang i in. 2016; Soliman i El-Sabroun 2020).

Żywnienie pozostaje jednym z ważniejszych aspektów utrzymania zdrowotności stada. Zoptymalizowana dieta może poprawić zdrowie ptaków, pozytywnie wpłynąć na ich wzrost, morfometrię jelit czy produktywność (El-Sabroun i in. 2022). Natomiast przez niedobory witamin w paszach ptaków znacznie zwiększane jest ryzyko inwazji pasożytniczych. Dodatkowo sprawia to, że ptaki ciężiej je przechodzą (Cornet i in. 2014). Przykładem takiej witaminy jest witamina A, która między innymi pobudza syntezę białek enzymatycznych trzustki, nawet w stanach chorobowych, gdy fizjologicznie ich aktywność spada (Castro 1981).

3. Często występujące choroby w produkcji i hodowli drobiu

Chorobami dróg oddechowych są szczególnie zakażenia wywołane bakteriami oraz wirusami. Gatunek bakterii *Mycoplasma gallisepticum* najczęściej wywołujący mykoplazmozę u drobiu w porównaniu do innych gatunków, jest spotykany głównie u drobiu grzebiącego, szczególnie u indyków. Ogniskiem zakażeń są najczęściej: woda, kał, ściółka oraz nasienie koguta/indora- przez które najczęściej dochodzi do zachorowalności. W przebiegu mykoplazmozy często towarzyszą także inne drobnoustroje chorobotwórcze (Bradbury 1984). Do objawów zalicza się wycieki z nosa razem z wydzieliną z oczu, worków powietrznych i pozostałych elementów dróg oddechowych, co skutkuje częstym odkrztuszaniem. Do pozostałych objawów można zaliczyć kulawizny oraz zapalenia stawów. Choroba ta może utrzymywać się nawet do kilkunastu miesięcy a przebieg choroby zależny jest od konkretnego szczepu bakterii, kondycji ptaków oraz warunków ich utrzymywania (Tomczyk 2019). Między osobnikami, mykoplazmoza może się przenosić drogą transowarialną, co może skutkować nawet zakażeniem wykłutych piskląt. Najczęściej stada takie wycofywane są z reprodukcji, by zapobiegać rozprzestrzenianiu choroby, ze względu na bardzo wysoką oporność bakterii na antybiotyki. Jednak w przypadku, kiedy stado należy leczyć, stosuje się antybiotyki z grupy tetracyklin, makrolidów i chinolonów oraz preparaty rozszerzające oskrzela lub zawierające argininę i cholinę.

Z kolei do chorób wirusowych drobiu atakujących głównie układ oddechowy możemy zaliczyć zakaźne zapalenie oskrzeli (*IB – Infectious Bronchitis*), spowodowane wysoce zjadliwymi szczepami wirusa IBV (*Infectious Bronchitis Virus*) lub wirusem choroby Newcastle. Wirus ten charakteryzuje się wysoką przeżywalnością, bo nawet do 56 dni (Jackwood i de Wit 2013). Z kolei IBV sklasyfikowany został przez Międzynarodowy Komitet ds. Taksonomii Wirusów jako "koronawirus ptaków - AvCoV, do którego można też zaliczyć genetycznie podobne wirusy zidentyfikowane u udomowionych przedstawicieli rzędu *Galliformes*. Są nimi TCoV, czyli indyczy koronawirus lub GfCoV niedawno wykryty u perliczki (Cavanagh 2005; Liais i in. 2014; Brown i in. 2016). Wirusy te wywołują nie tylko schorzenia dróg oddechowych, do których zalicza się między innymi zapalenie oskrzeli, ale także obejmują zapalenie nerek czy problemy z produkcją jaj, co zwykle skutkuje wysoką śmiertelnością drobiu. Poprzez różnorodną transmisję wirusa, często przez wydalenie z układu rozrodczego, może on zakażać młode ptaki (Jackwood i de Wit 2013). W celach zapobiegawczych należy zapewnić ptakom odpowiednie warunki zoohigieniczne, a młodym osobnikom zaleca się stosowanie szczepień ochronnych w pierwszym tygodniu życia. W przypadku leczenia dorosłych osobników stosuje się antybiotyki szerokospektralne, np. amoksycylinę, doksylicylinę i tylozynę, ponieważ infekcjom wirusowym bardzo często towarzyszą nadkażenia bakteryjne.

Newcastle inaczej Rzekomy pomór drobiu jest wpisana na listę Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE) i podlega obowiązkowi zwalczania. To zakaźna choroba wirusowa ptaków, uważana za jedną z najważniejszych chorób drobiu na świecie. Wywoływana przez paramyksowirusa ptasiego typu I, który dotyka ponad dwieście gatunków ptaków. Jest to choroba enzootyczna występująca w niektórych częściach Azji, Afryki, Bliskiego Wschodu i niektórych krajów Ameryki Południowej. W niektórych krajach Europy i Ameryki Środkowej izolowane ogniska rzekomego pomoru drobiu występują sporadycznie (Dzobgema i in. 2021). Zachorowalność i śmiertelność zależą od zjadliwości szczepu wirusa, stopnia odporności poszczepiennej, warunków środowiskowych, i kondycji stada. Trzy najbardziej zjadliwe patotypy paramyksowirusa ptaków (APMV-1) to

lentogeny, mezogeniczny i welogeny (Getabalew i in. 2019). Szczepy lentogenne: zwykle wywołujące subkliniczną chorobę charakteryzującą się łagodnym zaburzeniem ze strony układu oddechowego: kaszel, sapanie, kichanie i rżenie. W przypadku współwystępowania innych czynników zakaźnych może dojść do poważnych objawów. Śmiertelność jest znikoma. Szczepy mezogeniczne: mogą powodować ostrą chorobę układu oddechowego i objawy neurologiczne u niektórych gatunków. Śmiertelność jest niska zwykle do 10%. Szczepy welogenne: najczęściej powodują ciężką chorobę u kurcząt ze śmiertelnością; objawy głównie oddechowe i/lub nerwowe. Początkowe objawy kliniczne są różne, ale obejmują letarg, brak apetytu, potargane pióra, obrzęk, zapalenie spojówek oczu. W miarę postępu choroby u ptaków może pojawić się zielonkawa lub biała wodnista biegunka, duszność oraz zapalenie głowy i szyi, często z sinicą. W późniejszych stadiach choroby objawy neurologiczne mogą objawiać się jako: drżenie, skurcze, niedowład skrzydeł/nóg lub paraliż, kręcz szyi i nieprawidłowe zachowanie polegające na kręceniu się w kółko. Nagły spadek produkcji jaj, jaja zawierają wodniste białko i są zniekształcone z nieprawidłowo zabarwionymi, szorstkimi lub cienkimi skorupkami (Ashraf i Shah 2014; Abdisa i Tagesu 2017).

Do groźnych chorób powodujących liczne procesy nowotworzenia zalicza się chorobę Mareka (MD) spowodowaną przez wirusa choroby Mareka (MDV – *Marek Disease Virus*). Patogeneza przypadłości jest związana ściśle z upośledzeniem procesów odpornościowych ptaka. Narządy objęte najintensywniejszą replikacją wirusa w organizmie to głównie tchawica, płuca i worki powietrzne, natomiast po 36 godzinach wirus jest wykrywalny w grasicy, śledzionie i bursie Fabrycjusza (Adldinger i Calnek 1973; Calnek 2001). Osłabione formy wirusa zawarte w szczepionkach powodują ochronę przed wczesną fazą replikacji wirusa choroby Mareka w narządach limfatycznych i obniżają poziom latencji infekcji (Vielitz i Landgraf 1986). Po 3 dniach od infekcji aktywowane są komórki NK. Ich funkcję określa się jako wytwarzanie interferonu IFN-gamma, za których produkcję odpowiadają także makrofagi. Wytwarzane substancje pełnią funkcję inhibitorów namnażania wirusa, a także stymuluje makrofagi do wytwarzania tlenu azotu, który również hamuje namnażanie wirusa terenowego. Szczepienia jednodniowych piskląt domięśniowo zapobiegają namnażaniu się wariantów terenowych i rozprzestrzenianiu się ich wśród kurcząt. Obniżają także czynnik wirulencji drobnoustroju, poprzez zahamowanie jego replikacji w folikulach piór, a także zapobiega zmianom w nerwach i narządach wewnętrznych oraz nowotworzeniu.

Choroba Gumboro, inaczej zakaźne zapalenie Torby Fabrycjusza (IBD – *Infectious Bursal Disease*) to ostra, wysoce zakaźna, immunosupresyjna wirusowa choroba, która występuje najczęściej u młodych kurcząt (od 3 do 6 tygodni), na całym świecie, powodowana jest przez wirus *Avibirna*, należący do rodziny *Birnaviridae* (Etteradossi i Saif 2013). Włoski szczep IBDV (*Infectious Bursal Disease Virus*), odpowiedzialny za subkliniczną chorobę związaną z ciężkim stanem immunosupresji, który skutkuje znacznym pogorszeniem wyników produkcyjnych (końcowa masa ciała, współczynnik zużycia paszy). Ten wysoce patogenny szczep powoduje niemal 100% zachorowalności i 20-30% śmiertelności w przypadku grup bardzo podatnych (młode kurczęta) (Lupini i in. 2020). Choroba Gumboro u drobiu jest przenoszona głównie drogą kontaktu bezpośredniego oraz pośredniego. Wirus może być przenoszony poprzez zakażone ptaki, ich wydzieliny, odchody oraz zanieczyszczone pasze, wodę, sprzęt i odzież. Ponadto, wirus może być przenoszony za pośrednictwem insektów i dzikich ptaków, które mają kontakt z zakażonym drobiem lub ich środowiskiem (Wagari 2021). Za naturalnych gospodarzy wirusa uważa się kury i indyki. Okres inkubacji jest krótki i wynosi 2-3 dni. Do charakterystycznych objawów klinicznych choroby należą biała, obfita, wodnista biegunka oraz apatia i nastrośnienie piór. Objawy te nie są na tyle specyficzne, aby umożliwić postawienie ostatecznej diagnozy. O wiele bardziej charakterystyczne są zmiany sekcyjne, które dotyczą głównie torby Fabrycjusza. W badaniach sekcyjnych zmiany w torbie Fabrycjusza charakteryzują się silnym powiększeniem i napięciem, obecnością krwawych wylewów oraz galaretowatej substancji na błonie surowiczej. Patologiczne zmiany mogą również występować w nerkach, które robią się blade i obrzękłe. Dodatkowo można zaobserwować krwawe wylewy i wybroczyny w mięśniach piersiowych, udowych oraz na błonie żołądka gruczołowego (Jackwood 2019).

Ptasia grypa (Influenza ptaków) to choroba, która również jest wpisana na listę OIE oraz podlega obowiązkowi zwalczania. Wirusy ptasiej grypy (AIV) należą do rodziny *Orthomyxoviridae*,

rodzaju *Influenzavirus A*. Istnieje kilka podtypów AIV, które można rozróżnić na podstawie dwóch powierzchniowych glikoprotein: hemaglutyniny (HA) i neuraminidazy (NA). U ptaków zidentyfikowano obecnie szesnaście podtypów HA i dziewięć podtypów NA. Ponadto, AIV klasyfikuje się również na podstawie stopnia ich patogeniczności u kurcząt (Lupiani i Reddy 2009). Mniej zjadliwe typy wirusa grypy ptaków, znane jako nisko zjadliwy wirus ptasiej grypy (LPAIV), powodują bezobjawowe lub subkliniczne zakażenia, prowadzące do łagodnych lub ciężkich chorób układu oddechowego na przykład gorączkę, duszność, kaszel, kichanie, sinicę błon śluzowych oraz objawy neurologiczne, takie jak drgawki, dezorientacja czy utrata równowagi. Z kolei infekcja wysoce zjadliwym wirusem grypy ptaków (HPAIV), bardziej zjadliwym typem AIV, powoduje u kurcząt poważne objawy kliniczne takie jak powiększenie i zasinienie grzebienia, brak jaj lub jaja z miękką skorupą oraz występowanie w stadzie wysokiej śmiertelności (Suarez 2016). Ptasia grypa może być przenoszona drogą bezpośredniego kontaktu z zakażonymi ptakami oraz drogą kropelkową, co obejmuje wydzielanie przez ptaki wirusa w powietrze przez wydychanie. Dodatkowo, wirus może być przenoszony przez skażone powierzchnie, paszę i wodę. Istnieje również możliwość zakażenia poprzez kontakt z dzikimi ptakami (dzikie ptaki, zwłaszcza ptactwo wodne, są naturalnymi nosicielami tych wirusów i dlatego są uważane za stale obecne źródło wirusów). Ponadto, wiriony tego wirusa charakteryzują się dużą trwałością wobec warunków środowiskowych (Capua i Marangon 2006).

Choroby zakaźne jelit wywołane bakteriami takimi jak *Escherichia coli* czy *Salmonella spp.* występują z roku na rok coraz rzadziej, natomiast mimo to wciąż stanowią problem w wielu hodowlach. Objawy chorób układu pokarmowego są zwykle podobne do siebie. Kolibakterioza jest przykładem takiej choroby ptaków, u której *Escherichia coli* jest głównym patogenem. Do głównych objawów choroby zaliczamy zakażenie woreczka żółtkowego, choroby układu oddechowego, m.in. płuc, tchawicy, a także zapalenie osierdzia, zapalenie worków powietrznych, ostra posocznica, zapalenie jajowodu u kur, zapalenie tkanki łącznej jak również zapalenie kości i szpiku. Zwykle dorosłe osobniki są odporne na liczne zmiany posocznicowe, natomiast pisklęta, które nie wykształciły jeszcze odpowiedniej odporności, stosunkowo często nie przeżywają zakażenia (Nakamura i in. 1985). Salmonelloza to choroba wywołana przez wiele szczepów bakterii z rodzaju *Salmonella*. Najczęściej dochodzi do zakażeń drogą fekalno-oralną. Mogą one mieć charakter ogólnoustrojowy (bakteremia) lub mogą obejmować zmiany w obrębie jelit, głównie jelita ślepego, które jest najlepszym miejscem bakteriologicznej izolacji jelitowej *Salmonella spp.* Objawy są dotkliwe głównie wśród piskląt, często kończą się ich śmiercią, natomiast dorosłe ptaki nie wykazują objawów klinicznych w takim stopniu. Mogą one jednak wykazywać apatię, nastroszone pióra, blade i skurczone grzebienie, zmniejszoną produkcję jaj, wylęgowość, płodność, szczególnie w przypadku zakażenia *Salmonella gallinarum* (Pomeroy i Nagaraja 1991). Zwiększona podatność na zakażenia tą bakterią w przypadku drobiu występuje, gdy stosowana jest antybiotykoterapia, gdyż zaburza ona mikroflorę jelitową, a także w przypadku stosowania nieodpowiednich pasz lub towarzysząc zakażeniu kokcydiami (Hikasa i in. 1982; Porter i Holt 1993).

Do chorób wywołanych przez pasożytnicze pierwotniaki zalicza się przede wszystkim kokcydiozę, która jest jednym z największych problemów intensywnego chowu drobiu. Wywołują ją rodzaj *Eimeria spp.*, w szczególności *E. acervulina* i *E. maxima* (Moraes i in. 2015). Do bardzo patogennych gatunków obserwowanych wśród zakażeń kur można zaliczyć *E. necatrix*, *E. tenella*, *E. brunetti*, natomiast do tych wywołujących łagodne objawy - *E. mitis* i *E. praecox*. Choroba objawia się w 2 postaciach: klinicznej i subklinicznej. Postać kliniczna cechuje się osowiałością, osłabieniem, sennością, nastroszonymi piórami, a także ptaki często przybierają postawę "sępa". Wśród zakażeń spowodowanych *E. necatrix* i *E. brunetti* obserwuje się brunatny kałomocz o brunatnoróżowej barwie z płynną, pianistą lub brązową o konsystencji pasty, przy której obserwuje się wzmoczone pragnienie. *E. tenella* wywołuje krwotoczne zapalenia błony śluzowej jelita ślepego przybierającego czerwonomalinową lub sinoczerwoną, a także zapalenie krwotoczno-martwicze jelita. *E. acervulina* i *E. maxima* wywołują postać subkliniczną choroby, która objawia się obniżeniem przyrostów masy ciała i zwiększa współczynnik konwersji paszy, czego skutkiem jest słabszy wynik odchovu. Ich cykl rozwojowy jest monoksemiczny czyli obejmuje tylko jednego żywiciela oraz związany jest z przewodem pokarmowym gospodarza. Komórki mają rozmiar okrągły lub owalny o długości 15,6-

30,5µm i szerokości 14,2–20,7 µm w zależności od gatunku pasożyta. Pierwotniaki dostają się do organizmu na skutek spożycia oocyst wraz z pokarmem, wodą lub kałem. Atakują i niszczą enterocyty jelitowe. Profilaktyka kokcydiozy opiera się rzadko na stosowaniu leków na stadkach kur mogłoby spowodować uzyskanie oporności konkretnego szczepu *Eimeria spp.* na lek, natomiast rozsądniejszą opcją oraz częściej stosowaną są kokcydiostatyki. Szczepienia kur są specyficzne wobec określonego gatunku, stąd ich niska skuteczność. Obecnie kokcydiostatyki stosuje się głównie jako dodatki paszowe. Używane są także bardzo wyspecjalizowane środki dezynfekujące pomimo wysokiej oporności oocyst pasożytu. Kokcydiostatyki stosuje się ze wcześniej uwzględnionymi programami kokcydiostatycznymi, do których zalicza się programy rotacyjne i wymienne (Chapman 1986). Polegają one na zmianach antybiotyku co trzy pokolenia kurcząt, by pasożyt nie zdążył wykształcić na nie mechanizmów odporności.

4. Podsumowanie

Zakaźne choroby drobiu są poważnym wyzwaniem dla hodowli, wpływając na zdrowie zwierząt i ekonomię produkcji. Skuteczna kontrola wymaga zaawansowanej diagnostyki, profilaktyki, szczepień i biobezpieczeństwa. Postępy w weterynarii i biotechnologii pomagają minimalizować ryzyko epidemii i poprawiać kondycję stad. Kluczowe jest monitorowanie oraz międzynarodowa współpraca w celu dostosowywania strategii ochronnych do zmieniających się warunków epidemiologicznych.

5. Bibliografia

- Abdisa T, Tagesu T (2017) Review on Newcastle disease of poultry and its public health importance. *Journal of Veterinary Science & Technology* 8(3): 441. 37:1009–1016.
- Addinger HK, Calnek BW (1973) Pathogenesis of Marek's disease: early distribution of virus and viral antigens in infected chickens. *Journal of the National Cancer Institution* 50: 1287-1298.
- Ashraf A, Shah MS (2014) Newcastle disease: present status and future challenges for developing countries. *African Journal of Microbiology Research* 8(5): 411-416.
- Bradbury JM (1984) Avian mycoplasma infections: Prototype of mixed infections with mycoplasmas, bacteria and viruses. *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie* 135(1): 83-89.
- Breitenbach M, Simon-Nobbe B (2002) The allergens of *Cladosporium herbarum* and *Alternaria alternata*. *Chemical Immunology* 81: 48-72.
- Brown PA, Touzain F, Briand FX, i in. (2016) First complete genome sequence of European turkey coronavirus suggests complex recombination history related with US turkey and guinea fowl coronaviruses. *Journal of General Virology* 97: 110–120.
- Calnek B (2001) Pathogenesis of Marek's disease virus infection. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 255: 25-55.
- Capua I, Marangon S (2006) Control of avian influenza in poultry. *Emerging Infectious Diseases* 12(9): 1319-1324.
- Castro GA (1981) Gastrointestinal function in the parasitized host. In: *Isotopes and radiation in parasitology IV. Panel proceedings series. International Atomic Energy Agency Vienna*, 143-153.
- Cavanagh D (2005) Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathology* 34: 439–448.
- Chapman HD (1986) Drug resistance in coccidia: recent research. *Proceedings of the George Coccidiosis Conference, Athens*, 330–341.
- Cornet S, Bichet C, Larcombe S i in. (2014) Impact of host nutritional status on infection dynamics and parasite virulence in a bird malaria system. *Journal of Animal Ecology* 83(1): 256-265.
- Dzozbema KFX, Talaki E, Batawui KB i in. (2021) Review on Newcastle disease in poultry. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 15(2): 773-789.
- El-Sabrou K, El-Deek A, Ahmad S i in. (2022) Lighting, density, and dietary strategies to improve poultry behavior, health, and production. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology* 10(1): 2212-2212.
- Etteradossi N, Saif YM (2013) Infectious bursal disease. *Diseases of Poultry* 219-246.

- Getabalew M, Alemneh T, Akebergn D i in. (2019) Epidemiology, diagnosis & prevention of Newcastle disease in poultry. *American Journal of Biomedical Science and Research* 16: 50-9.
- Hikasa Y, Baba E, Fukata T i in. (1982) The invasion of *Salmonella typhimurium* into the cecal wall of chickens infected with *Eimeria tenella*. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene, I. Abteilung Originale A* 253: 344–354.
- Himathongkham S, Riemann H (1999) Destruction of *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes* in chicken manure by drying and/or gassing with ammonia. *FEMS Microbiology Letters* 171(2): 179-182.
- Jackwood D (2019) Infectious bursal disease in poultry. *MSD Veterinary Manual*.
- Jackwood M, de Wit S (2013) Infectious bronchitis. In: Swayne DE (ed.) *Diseases of Poultry*, 13th Edition. Wiley-Blackwell, 139–160.
- Liais E, Croville G, Mariette J i in. (2014) Novel avian coronavirus and fulminating disease in guinea fowl, France. *Emerging Infectious Diseases* 20: 105–110.
- Lupiani B, Reddy SM (2009) The history of avian influenza. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 32(4): 311-323.
- Lupini C, Quaglia G, Mescolini G i in. (2020) Alteration of immunological parameters in infectious bronchitis vaccinated-specific pathogen-free broilers after the use of different infectious bursal disease vaccines. *Poultry Science* 99(9): 4351-4359.
- Lutful Kabir SM (2010) Avian colibacillosis and salmonellosis: a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 7(1): 89-114.
- Marangon S, Busani L (2007) The use of vaccination in poultry production. *Revue Scientifique et Technique - Office International des Epizooties* 26(1): 265.
- Mituniewicz T, Dzik S (2018) Dobra ściółka a poziom dobrostanu brojlerów kurzych. *Ogólnopolska Informacja Drobiarska* 9: 24–36.
- Moraes JC, França M, Sartor AA i in. (2015) Prevalence of *Eimeria* spp. in broilers by multiplex PCR in the southern region of Brazil on two hundred and fifty farms. *Avian Diseases* 59: 277–281.
- Nakamura K, Maeda M, Imada Y i in. (1985) Pathology of spontaneous colibacillosis in a broiler flock. *Veterinary Pathology* 22: 592–597.
- Pomeroy BS, Nagaraja KV (1991) Fowl typhoid. *Diseases of Poultry*, 9th Edition. Iowa State University Press, Ames, IA, 87–99.
- Porter RE Jr, Holt PS (1993) Effect of induced molting on the severity of intestinal lesions caused by *Salmonella enteritidis* infection in White Leghorn chickens. *Avian Diseases*. 1009-1016.
- Sharma JM (1999) Introduction to poultry vaccines and immunity. *Advances in Veterinary Medicine* 41: 481-494.
- Suarez DL (2016) Influenza A virus. *Animal Influenza* 1-30.
- Tomczyk G (2017) *Mykoplasma drobiu* (*Mycoplasmosis avium*). *Choroby drobiu*, Wrocław, 259-278.
- Wagari A (2021) A review on infectious bursal disease in poultry. *Health Economics and Outcome Research: Open Access* 7(2): 167, 18-23.
- Witkowska D, Chorąży Ł, Mituniewicz T i in. (2010) Zanieczyszczenia mikrobiologiczne ściółki i powietrza podczas odchovu kurcząt brojlerów. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie* 10: 201-210.
- Yang YF, Jiang JS, Pan JM i in. (2016) The relationship of spectral sensitivity with growth and reproductive response in avian breeders (*Gallus gallus*). *Scientific Reports* 6(1): 1-9.

5. Animaloterapia – praca z człowiekiem, czy praca dla człowieka?

Animal therapy – working with humans or working for humans?

Patrycja Masier, Agnieszka Ziemiańska

Zakład Animaloterapii i Psychologii Zwierząt, Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Patrycja Masier: patrycja.masier@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: AAI, stres, dobrostan, pies domowy, kawia domowa, królik europejski.

Streszczenie

Sesje animaloterapii (SA) przynoszą szereg korzyści ludziom, jednak co raz częściej podnosi się temat ich negatywnego wpływu na zwierzęta. Niewiele dotychczasowych badań zajmowało się problematyką oddziaływania tego typu sesji na doświadczenia zwierząt. Dokonano przeglądu obecnego stanu wiedzy odnośnie wpływu SA na psy domowe, świnki morskie i króliki europejskie. Przegląd miał na celu ocenę w jaki sposób SA oddziałują na stan emocjonalny i dobrostan zwierząt. Wzięto pod uwagę prace, w których autorzy za pomocą fizjologicznych i/lub behawioralnych markerów oceniali poziom stresu i napięcia emocjonalnego zwierząt.

Przeprowadzona analiza wykazała wysoką heterogeniczność wyników. Niektórzy autorzy obserwowali wzrost markerów stresu u zwierząt, podczas, gdy inni obserwowali ich istotny spadek. Przyczyną rozbieżności okazały się różnice w metodyce. Szczególną uwagę zwrócono na przygotowanie psów do SA, co okazało się słabą stroną wielu badań. Na podstawie analizy opracowano wstępne zalecenia mające w przyszłości poprawić dobrostan zwierząt uczęszczających na SA. Wykazano, że na obecnym etapie badań nie możliwości ustalenia jednoznacznego wpływu SA na zwierzęta. Dyskusja na ten temat nie ma mocnego ugruntowania naukowego, a obszar ten wymaga dalszych badań oraz standaryzacji metodyki, zwłaszcza w kontekście doboru zwierząt do sesji animaloterapeutycznych.

1. Wstęp

Sesje animaloterapii (SA), określane w literaturze, jako Interwencje z Udziałem Zwierząt (Animal Assisted Intervention, AAI) mające na celu poprawę zdrowia ludzkiego, definiuje się jako każdą praktykę, w której wykorzystywane są zwierzęta w ramach procesu terapeutycznego lub łagodzącego. SA wiążą się zatem z szeregiem korzyści dla człowieka tj. łagodzeniem bólu (Feng i in. 2021), poprawą dobrostanu emocjonalnego (Nimer i Lundahl 2007), poprawą funkcji kognitywnych (Chang i in. 2021), czy wzrostem umiejętności społecznych (Chitic i in. 2012).

Znacznie mniej prac badawczych zajmowało się problematyką traktującą o wpływie SA na doświadczenia zwierząt. Coraz częściej podnoszony jest temat negatywnego oddziaływania tego typu sesji na dobrostan zwierząt terapeutycznych (np. Fatjó i in. 2021). W niniejszej pracy dokonano przeglądu obecnego stanu wiedzy odnośnie wpływu SA na różne gatunki zwierząt. Wzięto pod uwagę wpływ sesji dogoterapeutycznych (SD) na psy domowe (*Canis familiaris*), sesji cavioterapeutycznych (SC) na kawie domowe (*Cavia porcellus*) oraz sesji lagoterapeutycznych (SL) na króliki europejskie (*Oryctolagus cuniculus*).

2. Metody

Przegląd prowadzonych dotychczas badań miał na celu sprawdzenie w jaki sposób SA oddziałują na dobrostan i stan emocjonalny zwierząt. Zestawiono dane w postaci: liczby zwierząt, rodzajów sesji, rodzajów stosowanych markerów, odbiorców oraz środowiska w jakim przeprowadzano badania (Tab. 1.). Większość badań skupiała się na ocenie dobrostanu psów, temat wpływu SA na zajęczaki, czy gryzonie, jest słabo zbadany. Nie odnaleziono żadnego badania traktującego o wpływie SA na koty domowe. Jest to spójne z metaanalizą przeprowadzoną przez Nimer i Lundahla (2007), którzy wykazali, że psy są najczęstszym gatunkiem uczęszczającym na SA. Grupy badawcze były niewielkie, a największa z nich stanowiła 27 zwierząt (n=27). Najczęściej badanym rodzajem SA były sesje AAA (animal assisted activities), czyli aktywności z udziałem

zwierząt. Większość markerów stresu, z jakich korzystali badacze stanowiła pomiar stężenia kortyzolu w ślinie oraz ocena zaobserwowanych reakcji behawioralnych zwierząt.

Tab. 1. Zestawienie wstępnych danych odnośnie metodyki badań analizowanych prac.

N°	Liczba zwierząt	Rodzaj sesji	Rodzaj markera	Odbiorcy	Środowisko
SD1	19	AAA	tętno (ciągłe i zmienność), temperatura błony bębenkowej, stężenie kortyzolu i oksytocyny w ślinie	osoby dorosłe z fibromialgią	klinika fibromialgii
SD2	4	AAA	kortyzol w ślinie	pielęgniarki	szpital
SD3	5	AAA	kortyzol w ślinie	więźniowie	więzienie
SD4	19	AAA, AAT	kortyzol w ślinie, tętno, częstość oddechów	b.d.	b.d.
SD5	5	AAT	kortyzol w ślinie, reakcje behawioralne	pacjenci uzależnieni	ośrodek leczenia uzależnień
SD6	21	AAT	kortyzol w ślinie	dorośli pacjenci z chorobami psychicznymi	placówki zdrowia psychicznego
SD7	18	AAA, AAT	kortyzol w ślinie	b.d.	b.d.
SD8	18	AAA, AAT	kwestionariusz, kortyzol w ślinie	dzieci i dorośli	szkoły podstawowe, szpitale, ośrodki rehabilitacyjne, domy opieki dla osób starszych
SD9	27	AAT	kortyzol w ślinie, kwestionariusz, reakcje behawioralne	dorośli pacjenci	szpital
SD10	5	AAA	kortyzol w kale, kortyzol w ślinie, badanie fizykalne, panel hematochemiczny	osoby starsze	dom spokojnej starości
SD11	18	AAA, AAT	kwestionariusz, reakcje behawioralne	dzieci i dorośli z różnymi dolegliwościami oraz zdrowi	szpitale, ośrodki rehabilitacji, szkoły, domy spokojnej starości
SD12	26	AAA	kwestionariusz, kortyzol w ślinie, reakcje behawioralne	dzieci chore na raka	placówki onkologii dziecięcej
SD13	9	AAT	tętno, kortyzol w ślinie	dzieci z ADHD	dedykowana sala eksperymentalna
SD14	15	AAA	kortyzol w ślinie, reakcje behawioralne	studenci	akademik, uniwersytet, dom przewodnika
SD15	4	AAA	kortyzol w ślinie, tętno	dorośli pacjenci	placówka opieki zdrowotnej
SC1	5	AAT	reakcje behawioralne	pacjenci kliniki	klinika rehabilitacji
SL1	20	AAE	reakcje behawioralne, kwestionariusze	dzieci	letni obóz dla dzieci

SD – sesje dogoterapeutyczne, SC – sesje cavioterapeutyczne, SL – sesje lagoterapeutyczne, AAA – animal assisted activities (aktywność z udziałem zwierząt), AAT – animal assisted therapy (terapia z udziałem zwierząt), AAE – animal assisted education (edukacja z udziałem zwierząt), ADHD – attention deficit hyperactivity disorder (zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi), b.d. – brak danych.

Na podstawie: SD1 – Clark i in. (2020), SD2 – Clark i in. (2019), SD3 – d’Angelo i in. (2021), SD4 – de Carvalho i in. (2020), SD5 – Glenk i in. (2014), SD6 – Glenk i in. (2013), SD7 – Haubehofer i Kirchengast (2006), SD8 – Haubehofer i Kirchengast (2007), SD9 – King i in. (2011), SD10 – Marinelli, Mongillo i in. (2009), SD11 – Marinelli, Normando i in. (2009), SD12 – McCullough i in. (2018), SD13 – Melco i in. (2020), SD14 – Ng i in. (2014), SD15 – Pirrone i in. (2017), SC1 – Gut i in. (2018), SL1 – Suba-Bokodi i in. (2022).

Przeanalizowano prace pod kątem szczegółowych informacji, które były istotne dla uzyskiwanych wyników. Zwrócono uwagę na: zatwierdzenie badań przez uprawnioną instytucję, kwalifikacje zwierząt i przewodników, wcześniejsze doświadczenie zwierząt w SA, regularność uczęszczania na SA, a ponadto, czy przewodnik był jednocześnie opiekunem zwierzęcia (Tab. 2.). Większość badań posiadała zgodę odpowiedniej instytucji. W przypadku pozostałych danych informacje uzyskano jedynie częściowo, wiele z kluczowych zmiennych nie zostało podanych w metodyce prac.

Przegląd badań – Część II

Tab. 2. Zestawienie szczegółowych danych na temat zwierząt i ich opiekunów w analizowanych pracach.

N°	Zatwierdzenie badania (instytucja)	Kwalifikacje zwierząt (nadane przez)	Kwalifikacje przewodników w (nadane przez)	Opiekun jako przewodnik	Doświadczenie zwierząt (w latach)	Regularność uczęszczania zwierząt
SD1	IACUC	Alliance of Therapy Dogs, Pet Partners, Therapy Dog International, Helping Paws	b.d.	tak	0,3-10	b.d.
SD2	IACUC	Pet Partners, Therapy Dog International, Alliance of Therapy Dogs	b.d.*	b.d.	b.d.	tak, wszystkie psy
SD3	Ethics Committee of the Department of Veterinary Medicine, University of Bari	brak	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
SD4	b.d.	b.d.**	b.d.**	tak	b.d.	b.d.
SD5	Ethics Committee of the University of Veterinary Medicine Vienna	b.d.*	b.d.*	tak	min. 2	tak, wszystkie psy
SD6	Ethics Committee of the University of Veterinary Medicine Vienna	b.d.**	b.d.*	tak	min. 1 (dwie grupy), brak (trzecia grupa)	tak (dwie grupy), nie (trzecia grupa)
SD7	b.d.	Tiere als Therapie	Tiere als Therapie	tak	b.d.	b.d.
SD8	b.d.	Tiere als Therapie	Tiere als Therapie	tak	b.d.	b.d.
SD9	Northeastern Illinois University Animal Care and Use Committee	Therapy Dogs Inc.	b.d.	b.d.	<2 (jedna grupa), >2 druga grupa)	b.d.
SD10	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
SD11	b.d.	b.d.	b.d.	nie	0-3 (czas trwania badania)	tak
SD12	IACUC	Pet Partners (75%), b.d.* (pozostałe)	Pet Partners (75%), b.d.* (pozostali)	b.d.	0,5-9,17	b.d.
SD13	Western University of Health Sciences Institutional Animal Care and Use Committee	Reading Education Assistance Dogs, Therapy Dogs International, Pet Partners, HOPE Animal-Assisted Crisis Response, Bright and Beautiful	b.d.	tak	0,5-7	b.d.
SD14	IACUC	b.d.*	b.d.	tak	1-8	tak
SD15	Ethics Committee of the Residenza Sanitario Assistenziale	SpazioperNoi	b.d.	tak (trzy psy), nie (jeden pies)	1	b.d.
SC1	Veterinary Office of the canton Basel-Stadt	b.d.	b.d.	nie	b.d.	tak

N°	Zatwierdzenie badania (instytucja)	Kwalifikacje zwierząt (nadane przez)	Kwalifikacje przewodników w (nadane przez)	Opiekun jako przewodnik	Doświadczenie zwierząt (w latach)	Regulacja uczenia zwierząt
SL1	Committee on the Ethics of Animal Experiments of the Hungarian University of Agriculture and Life Sciences	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.

SD – sesje dogoterapeutyczne, SC – sesje cavioterapeutyczne, SL – sesje lagoterapeutyczne, IACUC – Institutional Animal Care and Use Committee, b.d. – brak danych, b.d.* – informacja o posiadanych kwalifikacjach, jednak brak informacji odnośnie instytucji certyfikującej, b.d.** – informacja o posiadanych kwalifikacjach jedynie przez część zwierząt/przewodników, jednocześnie brak informacji odnośnie instytucji certyfikującej.

Na podstawie: SD1 – Clark i in. (2020), SD2 – Clark i in. (2019), SD3 – d’Angelo i in. (2021), SD4 – de Carvalho I in. (2020), SD5 – Glenk i in. (2014), SD6 – Glenk i in. (2013), SD7 – Haubenhofer i Kirchengast (2006), SD8 – Haubenhofer i Kirchengast (2007), SD9 – King i in. (2011), SD10 – Marinelli, Mongillo i in. (2009), SD11 – Marinelli, Normando i in. (2009), SD12 – McCullough i in. (2018), SD13 – Melco i in. (2020), SD14 – Ng i in. (2014), SD15 – Pironi i in. (2017), SC1 – Gut i in. (2018), SL1 – Suba-Bokodi i in. (2022).

3. Wyniki

Przeprowadzona analiza wykazała wysoką heterogeniczność uzyskiwanych wyników. Podczas gdy część autorów obserwowała spadek markerów stresu w czasie i po SA, inni obserwowali ich wzrost. Zestawienie wyników wraz z krótkim podsumowaniem zamieszczono w Tab. 3.

Tab. 3. Zestawienie wyników i podsumowania z analizowanych prac.

N°	Wyniki	Podsumowanie
SD1	istotny spadek tętna i temperatury na końcu SD w porównaniu z jej początkiem	(–) istotny spadek fizjologicznych markerów stresu po sesji
SD2	istotny spadek stężenia kortyzolu podczas regularnych SD (2 razy w tygodniu) w porównaniu do mniej regularnych wizyt (1 raz w tygodniu, 1 raz na dwa tygodnie i 1 raz na cztery tygodnie)	(–) istotny spadek fizjologicznych markerów stresu przy regularnych sesjach (2x/tyg.)
SD3	istotny spadek stężenia kortyzolu na końcu SD w porównaniu z jej początkiem; istotny wzrost stężenia kortyzolu po transporcie do miejsca prowadzenia SD	(–) istotny spadek fizjologicznych markerów stresu po sesji (+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu po transporcie
SD4	istotny wzrost stężenia kortyzolu, tętna i częstości oddechów na końcu SD w porównaniu z pomiarem w domu; istotny wzrost tętna przy sesjach AAA w porównaniu z sesjami AAT; istotny wzrost tętna i częstości oddechów po SD u zwierząt transportowanych dłużej, niż 50 min	(+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu po sesji (+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu przy sesjach AAA (+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu po sesji u zwierząt poddanych długiemu transportowi
SD5	istotny spadek stężenia kortyzolu po SD w porównaniu z jej początkiem przy dwóch ostatnich SD (z pięciu)	(–) istotny spadek fizjologicznych markerów stresu wraz z kolejnymi sesjami
SD6	brak istotnych różnic między dniami pracującymi i niepracującymi; istotny spadek stężenia kortyzolu u zwierząt na smyczy	(–) istotny spadek fizjologicznych markerów stresu u zwierząt na smyczy
SD7	istotny wzrost stężenia kortyzolu w dni pracujące w porównaniu do dni kontrolnych; istotnie wyższe stężenie kortyzolu po SD u zwierząt podczas porannych sesji (do 14.00) w porównaniu z popołudniowymi (po 14.00); istotnie wyższe stężenie kortyzolu podczas krótkich sesji (1 godzinne, bez przerw), w porównaniu z długimi sesjami (do 8 godzin z przerwami); istotny wzrost stężenia kortyzolu wraz z kolejnymi sesjami w porównaniu z początkowymi (9-50 SD okresie 3 miesięcy)	(+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu w dni pracujące (+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu podczas porannych sesji (+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu podczas krótkich sesji (1h) (+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu wraz z kolejnymi sesjami

Przegląd badań – Część II

N°	Wyniki	Podsumowanie
SD8	istotny wzrost stężenia kortyzolu w dni pracujące w porównaniu do dni kontrolnych; istotny wzrost stężenia kortyzolu wraz ze wzrostem ilości sesji w tygodniu (wzrost obserwowano dopiero od 25 SD w okresie 3 miesięcy, tj. powyżej 2 sesji w tygodniu)	(+) wzrost fizjologicznych markerów stresu w dni pracujące (+) wzrost fizjologicznych markerów stresu wraz ze wzrostem częstotliwości (>2x/tyg.)
SD9	istotny wzrost stężenia kortyzolu po pierwszej godzinie SD w stosunku do wartości wyjściowej; brak istotnych zmian dla SD ze specjalnie przygotowaną przerwą (quiet-play) i bez niej; istotnie więcej behawioralnych oznak stresu u młodszych zwierząt (<6 l.) w stosunku do starszych zwierząt; istotnie mniej behawioralnych oznak stresu u doświadczonych zwierząt (dośw. >2 l.) w stosunku do mniej doświadczonych zwierząt	(+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu po pierwszej godzinie sesji (+) istotny wzrost behawioralnych markerów stresu u młodszych zwierząt (>6 l.) (-) istotny spadek behawioralnych markerów stresu u doświadczonych zwierząt (dośw. >2l.)
SD10	istotnie wyższy poziom kortyzolu w kale przed programem (3 tyg. przed), w stosunku do poziomu podczas programu i po nim (4 tyg. po); istotny wzrost behawioralnych oznak stresu po programie (4 tyg. po) w stosunku do zachowań przed programem (3 tyg. przed); istotny wzrost behawioralnych oznak stresu po SD w stosunku do pomiaru przed SD	(+/-) istotny wzrost behawioralnych markerów stresu z istotnym spadkiem fizjologicznych markerów stresu przed programem (+) istotny wzrost behawioralnych markerów stresu po sesji
SD11	istotny wzrost behawioralnych oznak stresu podczas kontaktu z młodszymi odbiorcami (<12 l.) w stosunku do starszych odbiorców	(+) istotny wzrost behawioralnych markerów stresu podczas sesji z młodszymi odbiorcami (<12 l.)
SD12	brak istotnych różnic w stężeniu kortyzolu oraz reakcjach behawioralnych przed SD i po SD	(o) brak istotnych zmian w fizjologicznych i behawioralnych markerach stresu
SD13	brak istotnych różnic w stężeniu kortyzolu i tętna między poszczególnymi aktywnościami; brak istotnych behawioralnych oznak stresu przy poszczególnych aktywnościach	(o) brak istotnych zmian w fizjologicznych i behawioralnych markerach stresu
SD14	istotny wzrost stężenia kortyzolu w nowym środowisku (pokój eksperymentalny) w stosunku do znanych pomieszczeń (dom przewodnika, akademik), istotny wzrost behawioralnych oznak stresu w zatłoczonym środowisku (akademik) w stosunku do spokojnego środowiska (dom przewodnika)	(+) istotny wzrost fizjologicznych markerów stresu w nowym środowisku (+) istotny wzrost behawioralnych markerów stresu w zatłoczonym środowisku
SD15	brak istotnych różnic w markerach stresu przed, w trakcie i po SD; istotnie wysoki współczynnik synchronizacji zachowań przed i w trakcie SD w diadach przewodnik-pies	(o) brak istotnych zmian w fizjologicznych markerach stresu * wysoki poziom synchronizacji zachowań przewodnik-pies
SC1	istotny wzrost behawioralnych oznak stresu w SC bez możliwości ukrycia się w porównaniu do SC z możliwością ukrycia się i grupy kontrolnej	(+) istotny wzrost behawioralnych markerów stresu w SC bez możliwości ukrycia się
SL1	istotny wzrost behawioralnych oznak stresu w trzeciej SL (z trzech) w porównaniu z pierwszą i drugą SL; istotny spadek behawioralnych oznak stresu u zwierząt socjalizowanych z ludźmi w okresie neonatalnym w porównaniu do zwierząt niesocjalizowanych	(+) istotny wzrost behawioralnych markerów stresu wraz z ze wzrostem częstotliwości SL (-) istotny spadek behawioralnych markerów stresu u socjalizowanych zwierząt

SD – sesje dogoterapeutyczne, SC – sesje cavioterapeutyczne, SL – sesje lagoterapeutyczne, AAA – animal assisted activities (aktywność z udziałem zwierząt), AAT – animal assisted therapy (terapia z udziałem zwierząt), (+) – istotny wzrost markerów stresu; (-) – istotny spadek markerów stresu, (+/-) – istotny wzrost niektórych markerów stresu z jednoczesnym istotnym spadkiem innych, (o) – brak istotnych różnic markerów stresu, tyg. – tydzień/tygodnie, h – hour (godzina/godziny), l. – rok/lata; dośw. – doświadczenie zwierzęcia w sesjach animaloterapeutycznych.

Na podstawie: SD1 – Clark i in. (2020), SD2 – Clark i in. (2019), SD3 – d'Angelo i in. (2021), SD4 – de Carvalho I in. (2020), SD5 – Glenk i in. (2014), SD6 – Glenk i in. (2013), SD7 – Haubenhofer i Kirchengast (2006), SD8 – Haubenhofer i Kirchengast (2007), SD9 – King i in. (2011), SD10 – Marinelli, Mongillo i in. (2009), SD11 – Marinelli, Normando i in. (2009), SD12 – McCullough i in. (2018), SD13 – Melco i in. (2020), SD14 – Ng i in. (2014), SD15 – Pirrone i in. (2017), SC1 – Gut i in. (2018), SL1 – Suba-Bokodi i in. (2022).

4. Wnioski i dyskusja

Szczegółowa analiza prowadzonych dotychczas badań wykazała szereg rozbieżności w zastosowanej metodycy, co przyczyniło się do znacznej heterogeniczności wyników. Autorzy posługiwali się różnymi markerami stresu oraz badali zwierzęta w różnych środowiskach. Słabą stroną wielu badań okazała się kwestia doboru zwierząt do SA. Kluczowe dla tego typu badań wydają się być zmienne w postaci: odpowiednich kwalifikacji zwierzęcia i jego przewodnika, rodzaju więzi zwierzęcia z przewodnikiem, doświadczenia zwierzęcia w SA oraz regularności uczęszczania na SA. W wielu badaniach informacje na ten temat były podane jedynie szczątkowo, a przy opisach certyfikacji zwierząt brakowało nazw instytucji nadających kwalifikacje. Ponadto istnieje również duża rozbieżność w kwestii kwalifikacji certyfikowanych zwierząt – każda z instytucji stosuje inne metody szkolenia oraz oceny zwierząt, co również może wpływać na rozbieżności w ich przygotowaniu do pracy i zdolności w radzeniu sobie ze stresem podczas SA.

Okazuje się jednak, że badacze, którzy wykorzystywali zwierzęta doświadczone (Clark i in. 2020; Glenk i in. 2014; King i in. 2011) i regularnie uczęszczające na SA (Clark i in. 2019; Glenk i in. 2014) obserwowali spadek markerów stresu. Dodatkowo wydaje się, że regularna praca, jednak nie częstsza, niż dwa razy w tygodniu, pozwalała psom na odpowiednią regenerację (Haubenhofer i Kirchengast, 2007), a tym samym przyczyniała się do wzrostu ich dobrostanu. W przypadku małych ssaków nie prowadzono badań na ten temat, wiadomo jednak, że króliki powinny pracować maksymalnie 20 min. jednego dnia (Suba-Bokodi i in., 2022). Inne zalecenia, które można sformułować na podstawie wyników to: zapoznanie zwierząt ze środowiskiem przed rozpoczęciem SA (Ng i in., 2014), unikanie długiego transportu (d'Angelo i in. 2021; de Carvalho i in. 2020), praca z psami smyczy podczas SA (Glenk i in. 2013) oraz zapewnienie małym ssakom (świnkom morskim, królikom) możliwości schronienia się podczas SA (Gut i in. 2018).

Analiza pozwoliła sformułować wstępne zalecenia, jednak nie udało się odpowiedzieć jednoznacznie na pytanie odnośnie wpływu SA na zwierzęta. Dyskusja nie ma mocnego ugruntowania naukowego z powodu niewielkiej ilości badań, rozbieżności wyników oraz problemów metodycznych. Obszar ten wymaga dalszych badań oraz standaryzacji metodyki, zwłaszcza w kontekście doboru zwierząt do SA.

5. Literatura

- Chitic V, Rusu AS, Szamoskozi S (2012) The effects of animal assisted therapy on communication and social skills: a meta-analysis. *Transylvanian Journal of Psychology/Erdélyi Pszichológiai Szemle*, 13(1).
- Clark SD, Martin F, McGowan RT i in. (2020) Physiological state of therapy dogs during animal-assisted activities in an outpatient setting. *Animals*, 10(5), 819.
- Clark, SD, Smidt JM, Bauer BA (2019) Welfare considerations: Salivary cortisol concentrations on frequency of therapy dog visits in an outpatient hospital setting: A pilot study. *Journal of veterinary behavior*, 30, 88-91.
- d'Angelo D, d'Ingeo S, Ciani F i in. (2021) Cortisol levels of shelter dogs in animal assisted interventions in a prison: an exploratory study. *Animals*, 11(2), 345.
- de Carvalho IR, Nunes T, de Sousa L i in. (2020) The combined use of salivary cortisol concentrations, heart rate, and respiratory rate for the welfare assessment of dogs involved in AAI programs. *Journal of veterinary behavior*, 36, 26-33.
- Fatjó J, Bowen J, Calvo P (2021) Stress in therapy animals. In *The welfare of animals in animal-assisted interventions: Foundations and best practice methods* (pp. 91-121). Cham: Springer International Publishing.
- Feng Y, Lin Y, Zhang N i in. (2021) Effects of animal-assisted therapy on hospitalized children and teenagers: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Pediatric Nursing*, 60, 11-23.
- Glenk LM, Kothgassner OD, Stetina BU i in. (2014) Salivary cortisol and behavior in therapy dogs during animal-assisted interventions: A pilot study. *Journal of Veterinary Behavior*, 9(3), 98-106.

- Glenk LM, Kothgassner OD, Stetina, BU i in. (2013) Therapy dogs' salivary cortisol levels vary during animal-assisted interventions. *Animal Welfare*, 22(3), 369-378.
- Gut W, Crump L, Zinsstag J i in. (2018) The effect of human interaction on guinea pig behavior in animal-assisted therapy. *Journal of veterinary behavior*, 25, 56-64.
- Haubenhofer DK i Kirchengast S (2006) Physiological arousal for companion dogs working with their owners in animal-assisted activities and animal-assisted therapy. *Journal of applied animal welfare science*, 9(2), 165-172.
- Haubenhofer DK, Kirchengast S (2007) 'Dog handlers' and dogs' emotional and cortisol secretion responses associated with animal-assisted therapy sessions. *Society & Animals*, 15(2), 127-150.
- King C, Watters J, Mungre S (2011) Effect of a time-out session with working animal-assisted therapy dogs. *Journal of Veterinary Behavior*, 6(4), 232-238.
- Kruger K, Serpell, J (2006) Animal-Assisted Interventions in Mental Health: Definitions and Theoretical Foundations. Teoksessa Fine, A.(toim.) *Handbook on Animal-Assisted therapy, theoretical foundations and guidelines for practice*.
- Marinelli L, Mongillo P, Salvadoretti M i in. (2009) Welfare assessment of dogs involved in animal assisted activities. *Journal of Veterinary Behavior*, 4, 84-85.
- Marinelli L, Normando S, Siliprandi C i in. (2009) Dog assisted interventions in a specialized centre and potential concerns for animal welfare. *Veterinary research communications*, 33, 93-95.
- McCullough A, Jenkins MA, Ruehrdanz A i in. (2018) Physiological and behavioral effects of animal-assisted interventions on therapy dogs in pediatric oncology settings. *Applied Animal Behaviour Science*, 200, 86-95.
- Melco, AL, Goldman L, Fine AH. i in. (2020) Investigation of physiological and behavioral responses in dogs participating in animal-assisted therapy with children diagnosed with attention-deficit hyperactivity disorder. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 23(1), 10-28.
- Ng ZY, Pierce BJ, Otto CM i in. (2014) The effect of dog-human interaction on cortisol and behavior in registered animal-assisted activity dogs. *Applied Animal Behaviour Science*, 159, 69-81.
- Nimer J, Lundahl B (2007) Animal-assisted therapy: A meta-analysis. *Anthrozoös*, 20(3), 225-238.
- Pirrone F, Ripamonti A, Garoni EC i in (2017) Measuring social synchrony and stress in the handler-dog dyad during animal-assisted activities: A pilot study. *Journal of Veterinary Behavior*, 21, 45-52.
- Suba-Bokodi É, Nagy I, Molnár M (2022) Changes in the stress tolerance of dwarf rabbits in animal-assisted interventions. *Applied Sciences*, 12(14), 6979.

6. Grafen - nowe możliwości w medycynie

Graphene - new opportunities in medicine

Piechaczek Karolina^(1,2), Koch Milena^(1,2), Kempys Karolina^(1,2), Korzonek Kamila^(1,2), Janikowska Grażyna⁽³⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Chemii Analitycznej,

⁽²⁾ Młoda Farmacja Sosnowiec,

⁽³⁾ Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec

Piechaczek Karolina: s84224@365.sum.edu.pl

Słowa kluczowe: tlenek grafenu, nośnik leku, nanomateriał, onkologia, medycyna regeneracyjna

Streszczenie

Grafen to odmiana alotropowa węgla, mająca postać pojedynczej warstwy atomów węgla o hybrydyzacji sp² ułożonych regularnie w sześciokąty, które przypominają plastry miodu. Dzięki swojej budowie, grafen, jak i jego związki, mogą być zastosowane w różnych dziedzinach medycyny. Dotychczas najszerzej przebadanym związkiem grafenu jest jego tlenek, otrzymywany wieloma metodami. Ze względu na swoją uniwersalność, związek ten może być częścią systemów wielowarstwowych, w których pełni rolę nanocząsteczki. Obecne w strukturze tlenu grafenu komponenty aromatyczne, wskazują na dobrą biokompatybilność oraz zastosowanie go jako nośnika innych cząsteczek, najczęściej substancji leczniczych. Głównym obszarem wykorzystania związku w medycynie jest onkologia. Wykazano, że cząsteczki takich substancji jak doksorubicyna oraz paklitaksel ulegają adsorpcji na powierzchni filmów zawierających tlenek grafenu, a następnie poprzez określone mechanizmy ulegają uwolnieniu. Grafen i jego pochodne mogą być również wykorzystane w medycynie regeneracyjnej. Dowiedziono, że mają one wpływ na proces regeneracji kości i chrząstki stawowej, poprzez wpływ na przyspieszenie różnicowania i dojrzewania komórek. Systemy dostarczania leków na bazie grafenu lub w połączeniu z nanobiomateriałami kreują obszar alternatywnych metod o rewolucyjnym potencjale w zakresie opracowywania zindywidualizowanych nanonośników stosowanych w leczeniu niezwykle trudnych chorób. Połączenie grafenu i polimerów zapewnia taką przewodność elektryczną ich rusztowań, która pozwala im być idealnymi materiałami w bioinżynierii serca i/lub tkanki nerwowej.

1. Wstęp

W ostatnich latach dynamicznie rozwijające się nanotechnologie dają coraz szersze perspektywy w dziedzinie biomedycyny. Nanomateriały o drobnej biokompatybilności i stabilności fizjologicznej, odpowiednich właściwościach fizycznych i chemicznych oraz wysokiej wydajności biomedycznej są pilnie potrzebne w rozwoju medycyny celowanej i medycyny przyszłości. Tradycyjne nanocząstki mają strukturę trójwymiarową, a ich właściwości mechaniczne i elektrochemiczne mogą się różnić w zależności od rozmiaru czy kształtu cząstek. W przeciwieństwie do materiałów tradycyjnych opracowano dwuwymiarowe nanomateriały o strukturze 2D, które wykazują duży potencjał stosowania biomedycznego, ze względu na ich unikalne właściwości. Cechuje je wysoka stabilność w środowisku fizjologicznym, dobra biokompatybilność, łatwość modyfikowania i wielofunkcyjność. Do takich nowoczesnych nanomateriałów należy między innymi grafen, dwuwymiarowy związek o strukturze jednowarstwowej węgla. Wykazuje on unikalne właściwości elektryczne, optyczne, mechaniczne i termiczne, dzięki czemu materiały na bazie grafenu odznaczają się dobrą biokompatybilnością i szerokimi możliwościami do modyfikacji biomolekułami.

Materiały grafenowe (grafen, nanopłytki grafenu, nanorurki grafenu) obejmują różne związki, których modyfikacja powierzchni ma istotne znaczenie dla zastosowania biomedycznego. Wśród materiałów z rodziny grafenu szczególne znaczenie zyskują pochodne oksydacyjne: tlenek

grafenu (GO) oraz zredukowany tlenek grafenu (rGO). Wysoka zawartość grup z reaktywnym tlenem zwiększa kompatybilność tych związków z różnymi materiałami. Odnaczają się one bardzo dobrą hydrofilowością, stabilnością w środowisku fizjologicznym oraz szerokimi możliwościami do modyfikacji ich właściwości powierzchniowych. Tlenki grafenu początkowo były wykorzystywane jedynie jako wysokowydajne nośniki dla leków przeciwnowotworowych. Z biegiem lat zastosowanie tych związków stało się coraz szersze, stosuje się je w przypadkach konieczności miejscowego dostarczenia leków przeciwdrobnoustrojowych i przeciwwirusowych, a także między innymi w medycynie regeneracyjnej do odbudowy zniszczonych tkanek stosując tak zwaną inżynierię tkankową.

2. Właściwości fizykochemiczne i modyfikacje tlenku grafenu

Tlenek grafenu (GO) to utleniona forma grafenu. W celu jego otrzymania proszek grafitowy poddaje się działaniu bezwodnej mieszaniny silnych utleniaczy, takich jak: kwas siarkowy, azotan sodu czy nadmanganian potasu. Najpopularniejszą metodą jego syntezy jest metoda Hummera. Polega ona na wkraplaniu nadmanganianu potasu do zawiesiny tlenku grafenu z kwasem siarkowym, rozcieńczeniu jej wodą, a następnie dodaniu nadtlenu wodoru. Mieszaninę odwirowuje się i przemywa kwasem solnym i wodą. Na koniec następuje filtracja i liofilizacja otrzymanego materiału (Priyadrasini 2018; Manousi 2020). Wraz ze wzrostem poziomu utlenienia struktura tlenku grafenu zmienia się z kruchej na ciągliwą. GO posiada dwuwymiarową strukturę (2D), o dużej powierzchni, w skład której wchodzi grupy hydroksylowe, karboksylowe i epoksydowe, nadające mu charakter polarny, jednocześnie powodując zmniejszenie jego przewodności elektrycznej (Petrucci 2019). Ponadto grupy tlenowe umożliwiają unieruchomienie cząsteczek na powierzchni GO, co pozwala na zastosowanie tego materiału jako nośnika leków i umożliwia tworzenie komponentów z licznymi polimerami. Dzięki płaskiej budowie charakteryzuje się on dużą pojemnością sorpcyjną i jest dobrym sorbentem do ekstrakcji w fazie stałej. W związku z obecnością atomów tlenu z wolną parą elektronów może stanowić materiał do wiązania jonów metali zarówno poprzez oddziaływanie jonowe, jak i koordynacyjne (Manousi 2020). Tlenek grafenu charakteryzuje się również wysoką wytrzymałością na rozciąganie, dobrą biokompatybilnością oraz dyspersją w wodzie i biomedium, a także dobrymi właściwościami optycznymi i fototermicznymi (Oliveira i in. 2022). W celu zwiększenia zakresu stosowania tlenku grafenu proponuje się szereg modyfikacji w jego budowie. Dzięki modyfikacjom nanomateriały na bazie GO nie stanowią jedynie systemów dostarczania leków, ale mogą być także użyte do produkcji membran gojących rany, tkanin chroniących przed ukąszeniami owadów, soczewek kontaktowych lub biosensorów do śledzenia chorób niezakaźnych. Przykładami funkcjonalizacji tego materiału są: PEG-ylacja poprawiająca biokompatybilność, rozpuszczalność i stabilność w warunkach fizjologicznych, podwójne utlenianie grafenu zapewniające stabilizację elektrostatyczną czy też użycie kopolimeru gwarantujące stabilizację steryczną. Niekowalencyjne oddziaływanie (interakcja π - π) z aromatycznymi cząsteczkami organicznymi (np. 1-pirenomaślanem) zwiększa jego stabilność w wodzie, natomiast zastosowanie syntetycznych peptydów (poli-L-lizyna) służy poprawie aktywności biologicznej GO (Oliveira i in. 2022).

3. Wykorzystanie związków grafenu jako nanonośników w medycynie

Nanomateriały grafeneowe znajdują potencjalne zastosowanie w różnych działach medycyny. Pochodne grafenu są uniwersalnymi materiałami, które mogą być częścią systemów wielowarstwowych stosowanych w systemach dostarczania leków (ang. *drug delivery system*, DDS) lub w biosensorach. Po 2004 r., gdy Geim i Novoselov wyizolowali grafen z grafitu, badania nad grafenem zaczęły nabierać tempa i rozpoczęto intensywne prace badawcze nad nanomateriałami grafenu 2D i potencjalnym ich wykorzystaniem (Geim i Novoselov 2007). Pierwsze zastosowanie grafenu w wymiarze nano jako skutecznego nośnika do dostarczania leków zgłosiła grupa profesora Dai z Uniwersytetu Stanforda w 2008 roku. Ten zespół badawczy zastosował nanostrukturalny grafen jako nośnik do dostarczania leków przeciwnowotworowych, co otworzyło nowe możliwości badań w dziedzinie biomedycyny i stosowania materiałów opartych na grafenie (Liu, Dai i in.

2008). Badania z ostatnich lat pokazują, że grafen daje dobre wyniki jako nanoonośnik różnorodnych grup leków oraz w kontrolowaniu uwalniania leków z systemów terapeutycznych, w tym DDS (Oliveira i in. 2022). Znajdują one także zastosowanie jako biosensory do wykrywania glukozy, nadtlenu wodoru, cholesterolu, jak również biomarkerów raka, patogenów i toksyn żywnościowych, jonów i pestycydów (Krishnan i Singh 2019).

Tlenek grafenu jest skutecznym nanoonośnikiem do ukierunkowanego dostarczania i kontrolowanego uwalniania leków przeciwnowotworowych o dużej wydajności, takich jak doksorubicyna czy paklitakselu.

Doksorubicyna jest powszechnie stosowanym lekiem przeciwnowotworowym, który prowadzi do interkalacji z DNA i śmierci komórki. Lek ten działa dopiero po przetransportowaniu do jądra komórek nowotworowych. Kompleks przeciwciała monoklonalnego integryny $\alpha V\beta 3$ z tlenkiem grafenu i polielektrolitem reagującym na pH może stanowić skuteczny nośnik doksorubicyny do określonych komórek nowotworowych. Doksorubicyna uwolniona z nanoonośników w cytoplazmie zostaje przeniesiona do jądra za pomocą polielektrolitu z odwróceniem ładunku (Zhou i in. 2014).

Paklitaksel jest jednym z najważniejszych leków przeciwnowotworowych, który wiąże się z mikrotubulami podczas metafazy i anafazy mitotycznej, zapobiegając segregacji chromosomów, co blokuje prawidłowy przebieg cyklu komórkowego (Kaur 2016). Funkcjonalizowane nanoarkusze grafenu użyto jako nośnik wysoce hydrofobowego paklitakselu, co umożliwiło wyższą aktywność przeciwnowotworową tego leku przy zastosowaniu niższych dawek (Kansara 2019).

Nanomateriały grafenowe mogą być stosowane w dostarczaniu genów do konkretnych miejsc, gdzie ich zwiększona ekspresja jest niezbędna, a także do miejscowego dostarczania leków przeciwdrobnoustrojowych, czy przeciwwirusowych (np. w przypadku HIV) oraz wielu innych chorób.

Między wielu innymi podobnymi badaniami z udziałem nanoonośników GO oceniano skuteczność terapeutyczną TNF- α _siRNA stosując modele mysie *in vitro* przewlekłego zapalenia jelit (IBS) generowane czynnikami zapalnymi IL-1 β , TNF- α i LPS otrzymując zadawalające wyniki (Sakib i Zou 2024).

Natomiast wykorzystanie GO z cyprofloksacyną i metronidazolem w formie podwójnej pasty dało dobre skutki w zwalczaniu zakażeń bakteriami Gram-dodatnimi (*Staphylococcus aureus* i *Enterococcus faecalis*), Gram-ujemnymi (*Escherichia coli* i *Salmonella typhi*), a także oportunistycznymi drożdżakami (*Candida albicans*) (Eskandari 2023).

Zredukowany GO wykazuje zdolność do absorpcji energii w widmie bliskiej podczerwieni (700-1100 nm). Wyemitowane ciepło prowadzi do termicznej ablacji tkanek. Wytworzone zostają reaktywne formy tlenu, dochodzi do aktywacji kaspaz, depolaryzacji błony mitochondrialnej, a także fragmentacji DNA, co zostało wykorzystane również w niwelowaniu komórek nowotworowych. Wykazano, że tlenek grafenu może pochłaniać promieniowanie o małej mocy, przez co zdrowe tkanki nie są narażone (Bitounis 2013). Związek grafenu wykorzystuje się w terapii glejaka wielopostaciowego – pierwotnego guza mózgu o wysokiej złośliwości. Może być zastosowany jako nośnik, jednak sam wykazuje też działanie antynowotworowe. Wykazano, że GO, jak i jego postać zredukowana, wstrzyknięte do guzów glejaka wielopostaciowego zmniejszyły masę i objętość nowotworów. Główne mechanizmy toksyczności materiałów grafenopodobnych są związane ze stresem oksydacyjnym, genotoksycznością i aktywacją odpowiedzi immunologicznej. GO prowadzi do cytotoksyczności poprzez zwiększoną produkcję reaktywnych form tlenu i wywołując apoptozę. Następuje degradacja mitochondriów. Nanopłytki grafenu mechanicznie niszczą błonę plazmatyczną (Jaworski 2015).

4. Wykorzystanie związków grafenu w inżynierii tkankowej

Procesy regeneracyjne organizmu, w tym tkanki kostnej stanowią jeden z wielu przedmiotów badań współczesnej medycyny. Głównym ich celem jest stworzenie komponentów, które będą wprowadzane do organizmu w sposób jak najmniej inwazyjny, będą zapewniać szybką regenerację tkanki, ulegać samoistnej degradacji, przy jak najmniejszej toksyczności. Dzięki swoim specyficznym właściwościom fizykochemicznym, takim jak aromatyczność oraz posiadanie

hybrydyzacji sp^2 , grafen jak i inne jego związki chemiczne charakteryzują się wysoką stabilnością i wytrzymałością mechaniczną, przez co mogą być wykorzystywane do wspomagania procesów regeneracyjnych kości (Wright 2019).

Obecnie w medycynie regeneracyjnej i rekonstrukcyjnej kośćca wykorzystuje się implanty wykonane z tytanu lub przeprowadza się zabiegi przeszczepu kości. W najnowszych badaniach z tej dziedziny idzie się w kierunku stworzenia sztucznych rusztowań o właściwościach fizykochemicznych naśladujących macierz zewnątrzkomórkową, co mogłyby stymulować wewnętrzne procesy regeneracji kośćca (Maleki 2020). W tym przypadku poświęcono również uwagę grafenowi i jego związkom chemicznym, gdyż mogą one posiadać właściwości osteogenne. Dzięki dużej ilości potencjalnych miejsc wiązania innych cząsteczek oraz dzięki możliwości tworzenia różnorodnych typów wiązań chemicznych i oddziaływań elektrostatycznych, grafen może zostać utleniony do GO. Pojedyncze warstwy GO posiadają wartości modułu Younga, porównywalne do wartości stali, co świadczy o niskim odkształceniu wykonanych z niego materiałów. GO dzięki swojej strukturze jest amfifilowy oraz łatwo dysperguje w wodzie i może być chemicznie modyfikowany przez połączenia z innymi biopolimerami, tworząc tzw. funkcjonalne materiały grafenowe (Maleki 2020). Jednym z takich biokompatybilnych do niego polimerów jest chitozan – organiczna pochodna chityny o właściwościach antybakteryjnych i przyspieszających regenerację tkanek. Przeprowadzono badania, w wyniku których wykazano, że kowalencyjne połączenia GO i chitozanu posiadają większą wytrzymałość mechaniczną, aniżeli sam chitozan. Ponadto, takie koniugaty zintensyfikowały podział i wzrost osteoblastów (Maleki 2020). W innych badaniach przeprowadzonych na zwierzętach dowiedziono, że wszczepione podskórnio koniugaty GO i chitozanu zmniejszały reakcję zapalną. Może to wynikać z efektywniejszej interakcji pomiędzy grupami amidowymi, a płynami międzykomórkowymi (Valencia 2021).

Jednym z nieorganicznych składników kości jest hydroksyapatyt (HA), który gwarantuje odpowiednią ich wytrzymałość mechaniczną. Powłoki wykonane z koniugatów HA i GO mogą wykazywać większą siłę adhezji do tkanek, niż powłoki wykonane z samego HA. Dodatkowo dowiedziono, że HA w połączeniu z rGO może odznaczać się wyższą odpornością na pęknięcie i siły sprężystości. Pozytywne działanie związków grafenowych w tego typu połączeniach może wynikać z tego, że dodatek GO/rGO może wzmacniać kryształy hydroksyapatytu, tworząc dla nich jądra krystalizacyjne, co powstrzymuje ich nadmierny wzrost. Ponadto, nanoarkusze tych koniugatów, posiadają dużą powierzchnię, przez co powierzchnia kontaktu z matrycą jest o wiele większa, co prowadzi do zwiększonej siły adhezji do matrycy. Związki grafenu jak zaznaczono wcześniej charakteryzuje także wysoka wartość modułu Younga i co za tym idzie, wytrzymałość powłok koniugatów jest większa. Wyniki badań przeprowadzonych na gryzoniach, wykazały, że koniugaty HA i rGO przyspieszają procesy budowy kośćca, przy czym pomiary histometryczne nowo powstałych kości dowiodły, iż posiadają one znacznie większą gęstość (Li i in. 2019). Analizom poddano też możliwość tworzenia komponentów związków grafenu z fosforem. W tym celu wykorzystano reakcję Arbuzowa z udziałem GO w wyniku czego stworzono grafen fosforanowy (PG), którego powierzchnia przypomina swoją strukturą materiały hydroksyapatytowe. Wykazano, że PG oraz PG z dodatkiem jonów wapnia, mają właściwości osteoindukcyjne, gdyż w środowisku wodnym mogą eluować małe jony sygnalizacyjne takie jak PO_4^{3-} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , które wpływają na różnicowanie komórek macierzystych w kierunku tkanki kostnej (Arnold 2019). GO tworzy z kolagenem typu I rusztowania o charakterze aerożeli. Badania przeprowadzone na gryzoniach udowodniły, że tego typu materiały odznaczają się efektywniejszym wpływem na proces naprawy kości. Wyniki badań przeprowadzonych *in vivo*, wskazują na osteogenne działanie tego typu rusztowań, przy czym nie wymaga ono obecności czynników wzrostu. Ponadto charakteryzuje je wysoka szybkość mineralizacji i dobra biokompatybilność (Bahrami 2021).

5. Podsumowanie

W oparciu o dotychczasowe badania związki grafenu, w szczególności tlenek grafenu, dają bardzo obiecujące wyniki w różnych dziedzinach nauki, w tym w biomedycynie. Rozwój zastosowania klinicznego grafenu wykorzystuje jego unikalne właściwości elektrochemiczne, termiczne, optyczne i mechaniczne. Wraz z szybko rosnącym zapotrzebowaniem na materiały

biomedyczne, grafen i jego pochodne wydają się dawać świetne rokowania w dostarczaniu leków, terapii nowotworowej oraz medycynie regeneracyjnej i rekonstrukcyjnej. W perspektywie prężnego rozwoju nanomateriałów, nanotechnologii i nanobiomedycyny będą odgrywać coraz bardziej znaczącą rolę w diagnostyce i terapii chorób. Wciąż istnieją niepewności w związku z bezpieczeństwem biologicznym stosowania nanomateriałów grafenowych, zwłaszcza długoterminowo oraz metodami syntezy i modyfikacji związków grafenu, co jest przedmiotem licznych badań z zakresu medycyny celowanej. Kontrowersyjne wyniki uzyskane w nielicznych badaniach cytotoksycznych stwierdzających ich toksyczność *in vivo* wymagają dalszego wyjaśnienia, aby proponowane zastosowania mogły być wdrożone jako codzienne narzędzia opieki zdrowotnej.

6. Literatura

- Arnold AM, Holt BD, Daneshmandi L, i in. (2019). Phosphate graphene as an intrinsically osteoinductive scaffold for stem cell-driven bone regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(11): 4855-4860.
- Bahrami S, Baheiraei N, Shahrezaee M (2021). Biomimetic reduced graphene oxide coated collagen scaffold for *in situ* bone regeneration. *Scientific Reports*, 11(1): 16783.
- Bitounis D, Ali-Boucetta H, Hong BH, i in. (2013) Prospects and challenges of graphene in biomedical applications. *Advanced Materials*, 25(16): 2258-2268.
- Eskandari F, Ghahramani Y, Abbaszadegan A, Gholami A (2023). The antimicrobial efficacy of nanographene oxide and double antibiotic paste per se and in combination: part II. *BMC Oral Health*. 23(1):253.
- Geim AK, Novoselov KS (2007) The rise of graphene. *Nature materials*, 6(3): 183–191.
- Jaworski S, Sawosz E, Kutwin M i in. (2015). *In vitro* and *in vivo* effects of graphene oxide and reduced graphene oxide on glioblastoma. *International journal of nanomedicine*, 10: 1585–1596.
- Kansara V, Patil R, Tripathi R, i in. (2018) Functionalized graphene nanosheets with improved dispersion stability and superior paclitaxel loading capacity. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 173: 421-428.
- Kaur S, Kumar M, Satwinderjeet K (2016) Role of phytochemicals in MAPK signaling pathway-mediated apoptosis: A possible strategy in cancer chemoprevention. *Studies in Natural Products Chemistry* 50: 159-178.
- Krishnan SK, Singh E, Singh P, i in. (2019). A review on graphene-based nanocomposites for electrochemical and fluorescent biosensors. *RSC advances*, 9(16): 8778-8881.
- Li M, Xiong P, Yan F, i in. (2018). An overview of graphene-based hydroxyapatite composites for orthopedic applications. *Bioactive materials*, 3(1): 1-18.
- Liu Z, Robinson JT, Sun X, Dai H (2008). PEGylated nanographene oxide for delivery of water-insoluble cancer drugs. *Journal of the American Chemical Society*, 130(33), 10876-10877.
- Maleki M, Zarezadeh R, Nouri M, i in. (2020). Graphene oxide: a promising material for regenerative medicine and tissue engineering. *Biomolecular Concepts*, 11(1) : 182-200.
- Manousi N, Rosenberg E, Deliyanni EA, Zachariadis GA (2020) Sample Preparation Using Graphene-Oxide-Derived Nanomaterials for the Extraction of Metals. *Molecules*, 25(10):2411.
- Oliveira AML, Machado M, i in. (2022). Graphene Oxide Thin Films with Drug Delivery Function. *Nanomaterials*, 12(7): 1149.
- Petrucchi R, Chiarotto I, Mattiello L, i in. (2019) Graphene oxide: A smart (starting) material for natural methylxanthines adsorption and detection. *Molecules*, 24(23): 4247.
- Priyadarsini S, Mohanty S, Mukherjee S, i in. (2018). Graphene and graphene oxide as nanomaterials for medicine and biology application. *J Nanostruct Chem* 8: 123–137.
- Sakib S, Zou S (2024). Attenuation of chronic inflammation in intestinal organoids with graphene oxide-mediated tumor necrosis factor- α small interfering RNA delivery. *Langmuir*, 40(7):3402.
- Song S, Shen H, Wang Y, i in. (2020) Biomedical application of graphene: From drug delivery, tumor therapy, to theranostics. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 185, 110596.

Valencia AM, Valencia CH, Zuluaga F, Grande-Tovar CD (2021). Synthesis and fabrication of films including graphene oxide functionalized with chitosan for regenerative medicine applications. *Heliyon*, 7(5).

Wright ZM, Arnold AM, Holt BD, i in. (2019). Functional graphenic materials, graphene oxide, and graphene as scaffolds for bone regeneration. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*, 5: 190-209.

Zhou T, Zhou X, Xing D (2014) Controlled release of doxorubicin from graphene oxide based charge-reversal nanocarrier. *Biomaterials*, 35(13): 4185-4194.

7. Zastosowanie i możliwości *Helichrysum sp.* Mill. jako cennych roślin leczniczych i kosmetycznych

The use and capabilities of *Helichrysum sp.* Mill. as valuable medicinal and cosmetic plants

Piechaczek Karolina, Kempys Karolina, Koch Milena

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej i Zielarstwa,
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Opiekun naukowy: dr n. farm. Barbara Bacler-Żbikowska

Karolina Piechaczek: s84224@365.sum.edu.pl

Słowa kluczowe: *Asteraceae*, nieśmiertelnik, flawonoidy, medycyna, kosmetologia

Streszczenie

Kocanki piaskowe *Helichrysum arenarium* (L.) Moench oraz kocanki włoskie *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don to rośliny naczyniowe należące do rodziny astrowatych *Asteraceae*. Kocanki piaskowe występują dziko w większości krajów Europy, w tym w Polsce. Z kolei kocanki włoskie związane są z obszarami o klimacie ciepłym, przede wszystkim w obszarze basenu Morza Śródziemnego i w Azji Środkowej. Żółte kwiaty zebrane w koszyczki a te w baldachogrona cechuje słaby, charakterystyczny zapach.

Helichrysum arenarium jest uznaną rośliną leczniczą. Farmakopea Polska zawiera monografię kwiatów kocanek *Helichrysi flos*. Surowiec standaryzowany jest na zawartość flawonoidów (nie mniej niż 0,5% w przeliczeniu na kwercetynę). Wykazuje przede wszystkim działanie żółciopędne i żółciotwórcze. Pobudza także wydzielanie i pracę żołądka. Działa rozkurczowo i przeciwbakteryjnie. W farmakoterapii bywa stosowany m.in. w kolkach, bólach brzucha, niestrawności czy kamicy żółciowej. W ostatnim czasie dużą popularnością w branży kosmetycznej cieszą się kocanki włoskie *Helichrysum italicum*. Ekstrakty i olejek eteryczny z *H. italicum* wykazują działanie przeciwutleniające i przeciwbakteryjne. Mają zdolność do łagodzenia podrażnień skóry.

1. Wstęp

Kocanki, znane również jako nieśmiertelniki, od lat są cenionymi roślinami leczniczymi i kosmetycznymi. Gatunki z rodzaju *Helichrysum*. należą do rodziny astrowatych *Asteraceae*. Obecnie w lecznictwie i kosmetyce wykorzystywane są głównie dwa gatunki: kocanki piaskowe *Helichrysum arenarium* oraz kocanki włoskie *Helichrysum italicum*. Kocanki są także popularnym dodatkiem do wianków i bukietów, dzięki swoim charakterystycznym żółtym koszyczkom, które długo zachowują naturalny kolor nawet po wysuszeniu. Cechy te stanowią jednak główne zagrożenie dla gatunku, ze względu na niekontrolowane pozyskiwanie roślin z siedlisk naturalnych w celach leczniczych oraz dekoracyjnych.

Na świecie opisano 563 gatunki *Helichrysum sp.* (POWO 05.2024). Co ciekawe, we wczesnych opisach ten złożony rodzaj często bywał opisywany „kocanka”, jako całość, ze względu na bardzo duże podobieństwo między gatunkami (Antunes Viegas i in. 2014). Kocanki piaskowe występują pospolicie w środkowej Europie i Azji oraz w rejonach południowej i wschodniej Afryki. W Europie w sumie zidentyfikowano 5 gatunków, które zgodnie z klasyfikacją IUCN (International Union for Conservation of Nature) posiadają status bliskie zagrożenia (near threatened). Kocanki włoskie występują w stanie naturalnym tylko we wschodniej i południowej Europie. W Polsce naturalnie występującym gatunkiem są jedynie kocanki piaskowe *H. arenarium*, spotykane pospolicie na całym niżu, na obszarach suchych i piaszczystych. Objęte są ochroną częściową (POWO 2024).

Kocanki piaskowe *Helichrysum arenarium* (Rys.1) to niewielka wieloletnia bylina, osiągnąca wysokość do 30 cm, szeroko rozpowszechniona w Europie, szczególnie w regionach o piaszczystych i suchych glebach. Jest rośliną odporną, z dobrze rozwiniętym systemem

korzeniowym. Łodyga jest zwykle rozgałęziona w górnej części, z naprzemianlegle ułożonymi liśćmi. Dolne liście rozety są odwrotnie jajowate, podczas gdy górne są lancetowate. Zarówno łodyga, jak i liście pokryte są wełnistymi włoskami. Kwiatostan stanowią liczne główkowate kwiaty, zebrane w baldachogrona. Korona kwiatów jest żółta lub żółtopomarańczowa, rozszerzona dzwinkowato, zakończona 5 ząbkami. Kwiatostany brzeżne są zazwyczaj żeńskie, a wewnętrzne obupłciowe. Pokryte są puchem kielichowym i zapylane przez owady, a kwitnienie ma miejsce zazwyczaj w okresie od lipca do września (Pljevljakušić i in. 2018).

Kocanki włoskie *Helichrysum italicum* (Rys.2) to wieloletni krzew, dorastający do wysokości 30-70 cm. Preferuje stanowiska suche, dobrze nasłonecznione, z przepuszczalną glebą. Charakteryzuje się małymi żółtymi kwiatkami oraz silnym i trwałym zapachem. Kocanki włoskie są endemicznym gatunkiem krajów śródziemnomorskich (Furlan i in. 2023). Pędy są wzniesione, ulistnione i owłosione na całej długości. Dolne i przyśrodkowe liście rośliny są wydłużone, na górnej powierzchni zielone, a na dolnej srebrzystoszare, co zawdzięcza obecności włosków. Kwitnienie następuje w okresie letnim, zwykle od lipca do października (Nincevic i in. 2019).

Z obu gatunków pozyskiwanym surowcem są kwiaty *flos*.



Rys. 1. Kwiatostany kocanek piaskowych (Zbiory własne Katedry i Zakładu Botaniki Farmaceutycznej i Ziellarstwa, SUM, WNF Sosnowiec. Zdjęcie: Barbara Bacler-Żbikowska).



Rys. 2. Kwiatostany kocanek włoskich (Zbiory własne Katedry i Zakładu Botaniki Farmaceutycznej i Ziellarstwa, SUM, WNF Sosnowiec. Zdjęcie: Barbara Bacler-Żbikowska).

2. Wykorzystanie *Helichrysum arenarium*

Kwiatostany kocanek piaskowych są stosowane od wielu lat i pełnią ważną rolę w medycynie tradycyjnej. Są dostępne w postaci mieszanek herbacianych, produktów leczniczych OTC oraz suplementów diety, a także jako dodatek do potraw. Kwiatostany kocanek piaskowych są szczególnie bogatym źródłem substancji aktywnych, takich jak flawonoidy: chalkony (izosalipurpozyd), flawanony (glikozydy naryngeniny), flawonole (glikozydy kemferolu i kwercetyny), flawony (glikozydy apigeniny i luteoliny). Zawierają również kwasy fenolowe,

garbniki, fitosterole, hydroksykumaryny, olejek eteryczny, barwniki, ftalidy czy triterpeny (Pljevljakušić i in. 2018).

Kwiat kocanek piaskowych *Helichrysi flos* jako cenny surowiec leczniczy wykazuje przede wszystkim działanie cholereetyczne i cholekinetyczne, za co odpowiedzialne są flawonoidy. Pobudza wydzielanie soku trzustkowego i żołądkowego, a także pracę żołądka. Działa spazmolitycznie, za co przede wszystkim odpowiedzialne są związki flawonoidowe (apigenina) (Dănăilă-Guidea i in. 2018). W modelach *in vivo* wykazano działanie hepatoprotekcyjne. Potwierdzono również działanie antyoksydacyjne, co wskazuje na potencjalne zastosowanie kwiatostanów kocanek piaskowych w zaburzeniach związanych ze stresem oksydacyjnym. W badaniach wykazano działanie przeciwbakteryjne, przede wszystkim na bakterie Gram-dodatnie (*Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus*) (Badalyan i in. 2024). Udowodniono, że ekstrakty roślinne z kocanek piaskowych działają przeciwpalnie poprzez hamowanie ekspresji białka C-reaktywnego (CRP), czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) i kinaz aktywowanych mitogenem (MAP, szczególnie N-końcowa kinaza c-Jun JNK2, p38) (Mao i in. 2017). W farmakoterapii *Helichrysi flos* bywa stosowany m.in. w zaburzeniach trawienia z uczuciem pełności i wzdęciami, w kolkach, bólach brzucha czy w kamicy żółciowej (Bacler-Żbikowska i Stebel 2023; Krauze-Baranowska i in. 2024). Tradycyjnie zastosowanie znajduje w astmie i stanach zapalnych skóry (Badalyan i in. 2024).

3. Wykorzystanie *Helichrysum italicum*

Ze względu, na coraz szersze zainteresowanie branży beauty wykorzystywaniem substancji roślinnych w kosmetykach, zaczęto prowadzić badania w kierunku wykorzystania kosmetycznego kocanek. Obecnie z kocanek włoskich pozyskiwany jest olejek eteryczny, hydrolat oraz ekstrakt.

Ekstrakty kocanek zawierają znaczące ilości związków fenolowych - kwasów fenolowych oraz flawonoidów (Jakupović i in. 2023). Przeprowadzone badania *in vitro* z udziałem linii ludzkich komórek skóry, dowodzą, że ekstrakty z kocanek włoskich powodują wzrost ekspresji kluczowych genów dla odnowy i stanu ludzkiego naskórka. Pierwszym z nich jest FGF2 - czynnik wzrostu fibroblastów, stymulujący syntezę makrocząstek macierzy komórkowej. Drugi natomiast to HAS2 - gen syntazy hialuronowej 2. Jego zwiększona ekspresja, a w konsekwencji synteza tego enzymu, zapobiega apoptozie fibroblastów indukowaną promieniowaniem UV-B oraz powoduje migrację keratynocytów, ważną dla rekonstrukcji nabłonka skóry. Ponadto produkt działania tego enzymu, kwas hialuronowy, odpowiada za wiązanie wody i nadanie skórze właściwej objętości i sprężystości (Pekmezci i in. 2023).

Olejek eteryczny kocanek włoskich to bogate źródło mono- i seskwiterpenów. Główną substancją czynną olejku eterycznego kocanek jest γ -kurkumen. W mniejszych ilościach zawiera on octan nerylu, β -selinen, trans- β -kariofilen α -selinen i α -pinen (Bezek i in. 2022). Olejek eteryczny z kocanek włoskich wykorzystywany jest do leczenia ostrych oraz krwawiących ran. Coraz częściej wykorzystywanym rozwiązaniem w zakresie problematyki gojenia się ran skóry jest stosowanie olejku eterycznego z kocanek w oleju kokosowym z pierwszego tłoczenia. Przypadki kliniczne sygnalizują o wysokiej skuteczności tego połączenia ze względu na różnorodność fitochemiczną olejku kocanek oraz własne działanie przeciwdrobnoustrojowe oleju kokosowego, przez co osiągnięte jest działanie synergistyczne. Dodatkowo rzadziej u pacjentów, którzy stosują takowe połączenie, występuje wtórne zakażenie ran (Wijayadi i in. 2024).

Produktem ubocznym destylacji olejku eterycznego kocanek jest hydrolat, który zawiera lotne składniki rośliny mniej lub bardziej rozpuszczalne w wodzie. Wykazują one istotne działanie zarówno przeciwutleniające, jak i przeciwbakteryjne przeciwko szczepom *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dzięki czemu wspomniany wcześniej hydrolat może stanowić dodatkową formę dezynfekcji powierzchni skóry (Bezek i in. 2022).

Rosnące zainteresowanie dziedziną nanochemii skłania ku poszukiwaniu alternatywnych metod aplikacji substancji, również tych wykorzystywanych w kosmetyce. Wadą wcześniej wspomnianego olejku eterycznego jest jego bardzo ograniczona rozpuszczalność w wodzie oraz lotność. Ciekawą alternatywą są połączenia nanocząsteczek chitozanu „naładowanych” kroplami olejku eterycznego z kocanek. Tak przygotowane połączenie dodaje się do formulacji żelowej i następnie aplikuje się na skórę. Oprócz pożądaných właściwości reologicznych, preparat pozwala

utrzymać pożądane nawilżenie skóry nawet do 60 minut po aplikacji. Co istotne, nie narusza on bariery hydrolipidowej, przez co może być stosowany na powierzchnię wrażliwej skóry (Saraiva i in. 2023).

Kocanki włoskie wykazują korzystne działania zdrowotne i mają potencjał do zastosowania w medycynie. Zawierają substancje o udowodnionym działaniu przeciwbakteryjnym, szczególnie w stosunku do bakterii Gram-dodatnich, przeciwwirusowym, owadobójczym, przeciwgrzybiczym (Furlan i Bren 2023). Tradycyjne zastosowanie kwiatostanów kocanek włoskich jest związane z chorobami zapalnymi układu oddechowego, trawiennego i stanami zapalnymi skóry. *H. italicum* hamują szlak metabolizmu kwasu arachidonowego, przez co łagodzą stany zapalne i alergiczne, takie jak astma, katar sienny czy stany zapalne skóry (Antunes Viegas i in. 2014). W ostatnich latach rośnie zainteresowanie nowo odkrywanymi właściwościami kocanek włoskich. Niektóre badania wykazują potencjał prebiotyczny naparu z kwiatów *Helichrysum italicum*. Stwierdzono, że znacząco obniża poziom prozapalnej interleukiny 1 β i może działać korzystnie na mikrobiotę jelitową. Badano także ekstrakty alkoholowe z kwiatów *Helichrysum italicum* pod kątem zdolności wymiatania wolnych rodników. Wykazano, że 96% etanolowy ekstrakt posiadał wysoką aktywność antyoksydacyjną, związaną z wysoką zawartością fenoli. Ponadto sugerowano, że zbadany ekstrakt dietylowy może być skuteczny przeciwko wirusowi opryszczki pospolitej HSV, za co odpowiadają mają głównie flawonoidy (Furlan i Bren 2023).

Kwiaty *Helichrysum italicum* są wykorzystywane również do przyprawiania i aromatyzowania żywności. Stosowane są jako naturalne dodatki do pieczywa, napojów bezalkoholowych lub jako konserwanty, wykorzystując także ich właściwości przeciwbakteryjne. Szczególnie atrakcyjne walory kocankom włoskim nadaje silny i trwały zapach, podobny do curry, za który odpowiadają rozpuszczalne w tłuszczach lotne ciecze. Olejki eteryczne z *H. italicum* w wyższych stężeniach (20-70%) stosowane są także w celach aromatyzujących (Furlan i Bren 2023).

4. Potencjał leczniczy innych gatunków z rodzaju *Helichrysum*

Niektóre gatunki z rodzaju *Helichrysum* mogą być stosowane w leczeniu schorzeń spowodowanych infekcjami wirusowymi. W badaniu dotyczącym aktywności przeciw wirusowi HIV-1 (ludzki wirus niedoboru odporności) gatunków *Helichrysum*, m.in. *H. italicum* oraz *Helichrysum cymocum*, wykazano, że kwasy chlorogenowe, związki z cynamioilowymi grupami funkcyjnymi i kwas chinowy są najważniejszymi związkami tego gatunku o działaniu przeciw wirusowi HIV. Kwasy chlorogenowe i kwas chinowy mogą być stosowane jako biomarkery aktywności przeciw wirusowi HIV (Emamzadeh Yazdi i in. 2022).

Helichrysum stoechas (L.) Moench może być wykorzystywany w leczeniu schorzeń układu sercowo-naczyniowego. Wykazuje działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwdrobnoustrojowe, antyproliferacyjne oraz przeciwcukrzycowe. Badania dowiodły, że metanolowy ekstrakt *H. stoechas* wykazuje zdolność do rozluźniania pierścienia aorty szczura, co zależało od aktywacji szlaku NO/PKG/cGMP, otwarcia kanałów potasowych, a także hamowania sygnalizacji jonów wapnia. Poprzez swoje właściwości relaksacyjne na poziomie śródbłonna i mięśni gładkich roślina mogłaby być stosowana w nadciśnieniu tętniczym (Valero i in. 2022).

5. Podsumowanie

Rośliny z rodzaju *Helichrysum*, m.in. *Helichrysum arenarium*, *Helichrysum italicum*, a także *Helichrysum cymocum* oraz *Helichrysum stoechas*, wykazują ogromny potencjał w medycynie i kosmetologii. Szczególną uwagę dotychczas skupiano na *H. arenarium* oraz *H. italicum*, jednak obiektem badań naukowców stają się także inne gatunki z tego rodzaju roślin astrowatych. Bogaty skład chemiczny i szerokie spektrum działania farmakologicznego czynią kocanki cennymi surowcami w produkcji preparatów zdrowotnych i pielęgnacyjnych. Jak wykazano w niniejszej pracy, kwiaty *Helichrysum arenarium* wykazują głównie działanie lecznicze. *Helichrysum italicum* ma szersze zastosowanie, wykorzystywane w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i spożywczym. Mimo, że tradycyjne zastosowania kocanek są dobrze udokumentowane, wciąż istnieje potrzeba dalszych badań naukowych, które pozwolą lepiej zrozumieć mechanizmy ich

działania oraz potwierdzić ich skuteczność w nowoczesnych zastosowaniach terapeutycznych i kosmetycznych. Przeprowadzone badania wskazują na obecność wielu bioaktywnych związków w kwiatach kocanek, co skłania naukowców do badań nad wykorzystaniem ich w leczeniu różnych dolegliwości oraz w pielęgnacji skóry. W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie badaniami nad farmakologicznymi i kosmetycznymi właściwościami kocanek, co skłania do dalszego eksplorowania potencjału tych roślin.

6. Literatura

- Antunes Viegas D, Palmeira-de-Oliveira A, Salgueiro L, et al. (2014) *Helichrysum italicum*: from traditional use to scientific data. *J Ethnopharmacol.* 151(1): 54-65.
- Bacler-Żbikowska B, Stebel A. (2023) Katalog roślin leczniczych aktualnie dopuszczonych do stosowania w medycynie konwencjonalnej w Polsce: różnorodność gatunkowa, pochodzenie, zastosowanie, problemy zrównoważonego pozyskiwania i ochrona. „Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach” 46: 94
- Badalyan, A, Abrahamyan S, Abovyan A, et al. (2024). *Helichrysum arenarium* as a source of flavonoids: Evaluation of antimicrobial activity and flavonoid content of extracts of *Helichrysum* flowers in vitro. *Functional Foods in Health and Disease.* 14(1): 51-61.
- Bezek K, Kramberger K, Barlič Maganja D. (2022) Antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don hydrosol. *Antibiotics.* 11(8): 1017
- Dănăilă-Guidea SM, Eremia MC, Dinu LD, et al. (2022) *Helichrysum arenarium*: From Cultivation to Application. *Applied Sciences.*; 12(20): 10241.
- Emamzadeh Yazdi S, Heyman HM, Prinsloo G, et al. (2022) Identification of Anti-HIV Biomarkers of *Helichrysum* Species by NMR-Based Metabolomic Analysis. *Front Pharmacol.* 13: 904231.
- Farmakopea Polska wyd. XIII (2023) tom III Monografie Narodowe: 4836-4837 (ISBN 978-83-961027-5-1)
- Furlan V, Bren U. (2023). *Helichrysum italicum*: From Extraction, Distillation, and Encapsulation Techniques to Beneficial Health Effects. *Foods (Basel, Switzerland),* 12(4): 802.
- Jakupović L, Bačić I, Jablan J, et al. (2023) M. Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Based *Helichrysum italicum* Extracts: Antioxidant and Cosmeceutical Activity and Biocompatibility. *Antioxidants.* 12(4): 855.
- Krauze-Baranowska M, Rydzewska G, Drobnik J i in. (2024) The use of herbal medicines in the gastrointestinal tract diseases – the statement of experts from the Polish Society of Phytotherapy – STANFITO – Gastro. Part I. *Lekarz POZ.* 2024;10(1):13-22.
- Mao Z, Gan C, Zhu J, et al. (2017) Anti-atherosclerotic activities of flavonoids from the flowers of *Helichrysum arenarium* L. MOENCH through the pathway of anti-inflammation. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* vol. 27,12: 2812-2817.
- Ninčević T, Grdiša M, Šatović Z., et al. (2019). *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Taxonomy, biological activity, biochemical and genetic diversity. *Industrial crops and products,* 138: 111487.
- Pekmezci E, Türkoğlu M. (2023) The Effects of *Helichrysum italicum* Extract on the Extracellular Matrix of the Skin. *Acta Medica Academica;* 52(3): 182-187
- Pljevljakušić D, Bigović D, Janković T, et al. (2018) Sandy Everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): Botanical, Chemical and Biological Properties. *Frontiers in plant science,* 9, 1123.
- POWO (2024). *Plants of the World Online.* Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.plantsoftheworldonline.org/> Dostęp: 30.04.2024 r.
- Saraiva SM, Crespo AM, Vaz F, et al. (2023) Development and Characterization of Thermal Water Gel Comprising *Helichrysum italicum* Essential Oil-Loaded Chitosan Nanoparticles for Skin Care. *Cosmetics* 10(1):8.
- Valero MS, Nuñez S, Les F, et al.(2022) The Potential Role of Everlasting Flower (*Helichrysum stoechas* Moench) as an Antihypertensive Agent: Vasorelaxant Effects in the Rat Aorta. *Antioxidants (Basel).* 11(6): 1092.
- Wijayadi LJ, Pratiwi D. (2024) Effectiveness of application of *Helichrysum italicum* essential oil in wound healing: report of 3 cases. *Journal of Midwifery and Nursing;* 6(2): 411-416

8. Wpływ stosowania probiotyków i prebiotyków na profil mikroflory jelitowej

The effect of using probiotics and prebiotics on the profile of intestinal microflora

Sikora Wiktoria⁽¹⁾, Grzegorzek Maria⁽¹⁾, Wolska Natalia⁽¹⁾, Janas Kinga⁽¹⁾, Karolina Wengerska⁽²⁾, Drabik Kamil⁽²⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe Biologii, Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾ Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun naukowy: dr inż. Kamil Drabik

Sikora Wiktoria: wdsikora@gmail.com

Streszczenie

Prebiotyki i probiotyki stanowią jedne z najczęściej stosowanych dodatków paszowych w przemyśle drobiarskim. Mimo podobnych nazw związki te pełnią równią się od siebie. Prebiotyki stanowią pożywe dla korzystnych bakterii jelitowych, pomagając w utrzymaniu zdrowej mikroflory, natomiast probiotyki, będące żywymi mikroorganizmami, mają na celu przywrócenie równowagi mikroflory jelitowej. Oba z wymienionych dodatków mają korzystny wpływ na zdrowie i wydajność brojlerów poprzez modyfikację mikroflory jelitowej oraz wspieranie układu kostnego i immunologicznego. W celu osiągnięcia satysfakcjonujących wyników produkcyjnych ważny jest odpowiedni dobór zarówno pro- jak i prebiotyków i ich właściwe zastosowanie w diecie ptaków, aby w pełni wykorzystać ich potencjał. Celem pracy było przybliżenie informacji na temat mikroflory jelit ptaków oraz wpływu stosowania prebiotyków i probiotyków na jelita, zdrowie i produktywność brojlerów.

1. Wstęp

Prawidłowe funkcjonowanie jelit istotnie wpływa na stan zdrowia zwierząt, ponieważ to właśnie w jelitach większość składników odżywczych zostaje przyswojona. Zachowanie równowagi pomiędzy znajdującymi się w przewodzie pokarmowym potencjalnie patogennymi i potencjalnie probiotycznymi bakteriami jest kluczowe do uzyskania wysokiej wydajności produkcyjnej stad towarowych. W tym celu, do diety, jako suplementacje zaczęto wprowadzać probiotyki i prebiotyki, które w połączeniu zyskują miano synbiotyków. Ich stosowanie poprawia stan mikroflory jelit, która ma istotną rolę w modulacji układu odpornościowego, wpływa korzystnie na przyswajanie składników odżywczych oraz reguluje funkcjonowanie jelit. Prebiotyki to zwykle oligosacharydy, które nie są trawione przez organizm gospodarza – trafiają do dolnych części jelit, a tam pomagają we wzroście i namnażaniu obecnej mikroflory. Probiotyki z kolei są żywymi drobnoustrojami, które mają zdolność do zasiedlania wielu środowisk. Celem niniejszej pracy było przybliżenie informacji na temat mikroflory jelit ptaków oraz wpływu stosowania prebiotyków i probiotyków na jelita, zdrowie i produktywność brojlerów.

2. Rola mikroflory jelitowej w zdrowiu i produktywności brojlerów kurzych

Głównymi celami w hodowli drobiu mięsnego jest poprawa wykorzystania paszy oraz zwiększenie przyrostów masy ciała. Aby osiągnąć najbardziej optymalną wydajność ptaków należy uwzględnić wiele czynników, zarówno genetycznych jak i środowiskowych tj. jakość diety, warunki mikroklimatyczne, etc. Jednym z czynników gwarantujących sukces podczas tuczu ptaków, wpływającym znacząco na produktywność drobiu jest mikroflora jelitowa i zdrowie jelit, gdyż jelita odgrywają kluczową rolę w wykorzystywaniu składników pokarmowych (Rinttilä i Apajalahti 2013; Yegani i Korver 2008). Komensalne bakterie jelitowe stanowiące naturalną florę bakteryjną mają duże znaczenie w procesach trawienia i produkcji związków pokarmowych, a także biorą udział w rozwoju przewodu pokarmowego. Pełnią również istotną rolę w regulacji wzrostu nabłonka

jelitowego, metabolizmie energetycznym gospodarza oraz syntezie witamin (Kogut 2013; Rinttilä i Apajalahti 2013). Dodatkowo wpływają one również na aktywność enzymów trawiennych i morfologię błony śluzowej kurcząt, umożliwiając tym samym prawidłowe przyswajanie substancji pokarmowych (Lan i in. 2005). Do najczęstszych objawów zaburzenia pracy jelit zaliczamy objawy takie jak osłabione trawienie i zmniejszone wchłanianie składników odżywczych, co stanowi zagrożenie dla zdrowia drobiu a tym samym skutkuje obniżeniem wyników produkcyjnych (Sugiharto 2016). Aby zachować właściwe funkcjonowanie i barierę śluzówkową jelit, ważna jest równowaga pomiędzy warstwą śluzu, komórkami nabłonka, mikrobiotą oraz komórkami odpornościowymi w jelicie (Schenk i Mueller 2008). Na profil mikrobiologiczny jelit w dużej mierze oddziałuje dieta, której modyfikacje mogą powodować zmiany składu mikroflory (Yegani i Korver 2008). W skład mikroflory jelitowej wchodzi zarówno bakterie korzystne dla zdrowia (np. Gram-dodatnie pałeczki kwasu mlekowego, bifidobakterie), jak i potencjalnie chorobotwórcze tj. *Clostridium spp.*, *Salmonella spp.* i *Escherichia coli* (Choct 2009). Przy użyciu odpowiednich dodatków paszowych można regulować populację mikroorganizmów w jelitach, modulując odpowiednio liczbę korzystnych bakterii (Adil i Magray 2012). Szacuje się, że odpowiednia równowaga pomiędzy liczbą korzystnych a szkodliwych bakterii w jelitach kurcząt powinna stanowić kolejno co najmniej 85% bakterii korzystnych i do 15% bakterii szkodliwych.

Mikroflora jelitowa współistniejąca z organizmem odgrywa istotną rolę we wrodzonych mechanizmach obronnych, jak i adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej u kurcząt (Muir i in. 2000). Dlatego też, zachowanie równowagi w mikroflorze jelitowej ma kluczowe znaczenie dla osiągnięcia maksymalnego wzrostu u kurcząt (Kabir 2009). Znaczące zmiany mikrobioty mogą negatywnie wpływać na morfologię ściany jelita i wywoływać obciążające energetycznie reakcje immunologiczne, co z kolei może wpływać niekorzystnie na wzrost kurcząt (Humphrey i Klasing 2004). Równie niebezpieczna okazuje się kolonizacja jelit przez patogeny. Wywołana przez nie odpowiedź immunologiczna mocno nadużywa energii i składniki odżywcze, co osłabia wzrost, a finalnie prowadzi do śmierci osobnika (DiAngelo i in. 2009).

3. Mechanizm działania prebiotyków i probiotyków

Probiotyki, jak i prebiotyki stały się potencjalnymi dodatkami paszowymi, które poprzez różne mechanizmy działania poprawiają działanie układu odpornościowego, mikroflorę jelit, oraz poprawiają wydajność wzrostu kurcząt. Badania przeprowadzone na ludziach i gryzoniach wskazują, że stosowanie probiotyków i prebiotyków prowadzi do zmniejszenia obecności patogenów, zmian w składzie mikroflory, wzmocnienia układu odpornościowego, zapobiegania nowotworom oraz obniżenia poziomu trójglicerydów, cholesterolu oraz emisji gazów z pomiotu (takich jak amoniak, skatol, indol, p-krezol i fenol) (Patterson i Burkholder 2003).

4. Probiotyki

Organizacja ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) i Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) w 2002 roku wypracowały uniwersalną definicję probiotyków, które określają się jako „żywe szczepy, określonych drobnoustrojów, które podawane w odpowiednich ilościach modulują równowagę bakteryjną flory jelitowej i wywierają korzystny wpływ na zdrowie konsumenta” (Corcionivoschi i in. 2010) Probiotyczne bakterie naturalnie wspierają rozwój GALT (ang. gut-associated lymphoid tissue), czyli tkanki limfatycznej występującej w obrębie układu pokarmowego, wzmacniają układ odpornościowy i przygotowują go do odpowiedzi adaptacyjnej. Probiotyki pobudzają odporność zarówno humoralną, jak i komórkową, co skutkuje zwiększeniem liczby leukocytów, limfocytów T i B, komórek CD⁺ (posiadających specyficzne markery powierzchniowe z rodziny Cluster of Differentiation, które rozpoznają i eliminują patogeny, produkują przeciwciała oraz fagocytują) oraz zwiększają wydzielanie immunoglobulin IgA, IgG i IgM (Mroczyńska i in. 2011). Oprócz pobudzania odpowiedzi immunologicznej, probiotyki wpływają na rozwój narządów układu odpornościowego oraz na ekspresję genów odpowiedzialnych za jego funkcjonowanie. Probiotyki są także znane z tego, że poprawiają wydajność zwierząt, wspomagając procesy metaboliczne organizmu oraz usprawniając trawienie i wchłanianie składników odżywczych. Zwiększają biodostępność kluczowych minerałów i elektrolitów, w tym sodu, wapnia, magnezu i potasu (Younis i in. 2013).

5. Prebiotyki

Prebiotyki to niestrawne składniki pokarmowe, które korzystnie wpływają na organizm gospodarza poprzez selektywne stymulowanie aktywności bakterii w jelicie grubym (Adhikari i in. 2016). By dana substancja mogła zostać uznana za prebiotyk musi ona spełniać kilka kluczowych kryteriów: nie powinna być wchłaniana w górnej części przewodu pokarmowego, musi być odporna na kwaśne środowisko, powinna wspierać namnażanie korzystnych bakterii, oraz modulować system odpornościowy gospodarza. Do głównych prebiotyków stosowanych w żywieniu kurcząt zaliczają się różne rodzaje oligosacharydów, takie jak fruktooligosacharydy (FOS), inulina, mannanoligosacharydy (MOS) i ksylooligosacharydy (Patterson i Burkholder 2003).

Prebiotyki wywierają swoje działanie na strukturę i funkcję jelit zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio. Wpływ pośredni prebiotyków polega na regulowaniu mikrobioty jelitowej gospodarza. Przykładem pośredniej regulacji jest działanie prebiotyków na enteropatogeny wyposażone w fimbrie typu I. Inulina jest prebiotykiem, który wspiera wzrost korzystnych bakterii jelitowych, takich jak *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. Te korzystne bakterie konkurują z enteropatogenami, takimi jak *Escherichia coli*, które posiadają fimbrie typu I (Gibson i in. 2007). Patogeny te wykazują powinowactwo do mannozy, kluczowego składnika MOS, dzięki temu, mogą one przyczepić się do nabłonka jelit poprzez adhezję, co umożliwia im kolonizację przewodu pokarmowego gospodarza. Prebiotyki, konkurując o miejsca receptorowe z patogenami, hamują ich adhezję do nabłonka jelit poprzez wiązanie się z fimbriami bakterii. Następnie, razem z bakteriami, prebiotyki są eliminowane z organizmu przez proces wydalania kałem.

Bezpośredni wpływ prebiotyków obejmuje ich oddziaływanie z komórkami nabłonka jelitowego oraz komórkami układu odpornościowego. Skutkuje to wzmocnieniem integralności bariery śluzówkowej jelit, co w konsekwencji poprawia ogólną funkcję bariery jelitowej i zapewnia ochronę przed przenikaniem szkodliwych mikroorganizmów i toksyn do krwiobiegu (Hajati i in. 2010). Badania wykazały, że prebiotyki w postaci galaktooligosacharydów (GOS) zwiększają liczbę pozytywnych bakterii, takich jak LAB, *Bifidobacteria* lub ich produkty fermentacji. Produkcja krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA), zwłaszcza maślanu, propionianu i octanu, w trakcie procesu fermentacji wyżej wymienionych bakterii, stanowi jedno z głównych działań prebiotyków (Adhikari i Kim 2016). Prebiotyki mogą również modulować proces fermentacji w przewodzie pokarmowym poprzez promowanie wzrostu bakterii fermentujących. Ta zmiana w aktywności fermentacyjnej prowadzi do produkcji krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz innych metabolitów, które tworzą środowisko nieprzyjazne dla *Salmonelli*. Poprzez ten mechanizm, prebiotyki ograniczają zdolność *Salmonelli* do kolonizacji jelitowej, co przyczynia się do utrzymania homeostazy mikrobioty jelitowej (Adhikari i Kim 2016).

6. Efekty stosowania probiotyków i prebiotyków na produktywność brojlerów kurzych

Mohammed i in. (2020) przeprowadzili badania nad wpływem probiotyku *Bacillus subtilis* na masę kostną i jakość mięsa brojlerów. Wyniki wykazały, że zwierzęta karmione probiotykiem cechowały się lepszą jakością mięsa, które było smaczniejsze, wykazywało większą zdolność do zatrzymywania wody oraz osiągało korzystniejsze cechy sensoryczne i pH w porównaniu do próby kontrolnej. Suplementacja zwiększyła również ilość wapnia i fosforu w tkance kostnej, co spowodowało wydłużenie i wzmocnienie kości piszczelowej utrzymywanych ptaków. Skutkiem mocniejszego układu ruchowego była mniejsza tendencja do chorób kończyn oraz pozytywny wpływ na jakość mięsa. Badania wykazały również zależność między wzrostem korzystnych parametrów a dawką suplementacji, największa ilość *Bacillus subtilis* powodowała najkorzystniejsze wyniki. Wpływ *Bacillus subtilis* na utrzymywanie drobiu zbadali również Tang i in. (2021), którzy przeprowadzili badania na samcach brojlerów. Przez 42 dni, zaczynając od pierwszego dnia życia, ptaki były karmione dietą bez probiotyków lub dietą suplementowaną *Bacillus subtilis*. Analiza mięsa wykazała, że probiotyk korzystnie wpłynął na pH mięsa, jego jakość i smak poprzez polepszenie profilu aminokwasowego i kwasów tłuszczowych. Autorzy wykazali również zwiększenie udziału mięśni piersiowych i zmniejszenie tłuszczu brzusznoego ptaków.

Sayed i in. (2023) zbadali wpływ suplementowania diety prebiotykiem Hydrostar firmy EGYEURO na brojlery utrzymywane w warunkach narażających je na stres cieplny. Ich wyniki

wykazały korzystny wpływ na wydajność ptaków zarówno w grupach utrzymywanych w warunkach normalnych i narażających na stres cieplny. Udowodniono poprawę zdolności żywieniowych ptaków w końcowym okresie obserwacji (piąty tydzień eksperymentu), dodatek prebiotyku spowodował wzrost apetytu, poprawił pracę jelit i zwiększył spożycie paszy przez badane brojlery.

Chervonova i in. (2021) badając wpływ prebiotyku składającego się z laktulozy i ligniny udowodnili wpływ prebiotyku na tempo wzrostu utrzymywanych brojlerów. Zwierzęta karmione suplementowaną dietą wykazywały większy przyrost masy ciała niż zwierzęta z próby kontrolnej przez cały okres tuczu. Ptaki cechowały się większą masą przedubojową i zwiększoną ilością części jadalnych, co ma pozytywnie wpłynęło na wyniki ekonomiczne chowu brojlerów.

Suplementacja probiotykami ma pozytywny wpływ na ekonomiczny aspekt utrzymywania drobiu. Hodowla nakierowana na szybki przyrost masy ciała i zwiększoną tkankę mięśniową często powoduje brak równowagi między dużym rozmiarem zwierzęcia a utrzymującym go szkieletem kostnym. Sprawia to, że ptaki są podatne na choroby układu ruchowego, co skutkuje zwiększoną podatnością na stres. Wsparcie tkanki kostnej przez probiotyki zwiększa odporność na urazy i zniekształcenia kończyn dolnych oraz ogranicza stres, tym samym zapobiega stratom w utrzymywaniu i produkcji (Mohammed i in. 2020). Z badań przeprowadzonych przez Ghasem i in. (2020) w których analizowano wpływ probiotyku złożonego z 4 gatunków bakterii (*Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici*, *Bacillus subtilis* i *Bacillus licheniformis*) w różnych dawkach i prebiotyku składającego się z hydrolizowanych drożdży wynika, że suplementowanie diety ma znaczący wpływ na ptaki utrzymywane w warunkach stresujących, o dużym zagęszczeniu, narażonych na stres cieplny czy też choroby. Zastosowanie tego typu suplementacji w warunkach korzystnych dla ptaków nie poprawia znacząco jakości produkcyjnej brojlerów. W obu przypadkach wywarło jednak pozytywny wpływ na zdrowie organizmów i układ immunologiczny. Wyniki udowodniły też szybszy wzrost brojlerów w fazie startowej (od 1 do 10 dnia życia) wynikający ze stymulacji odpowiednich bakterii w organizmach karmionych suplementowanymi dietami. Badania przeprowadzone przez Poberezhets i in. (2021) analizujące wpływ probiotyku na bazie bakterii kwasu mlekowego wykazały pozytywny wpływ na wydajność karmienia brojlerów. Ptaki karmione dietą suplementowaną cechowały się większą stawnością suchej masy i włókna surowego i aminokwasów w porównaniu do zwierząt z próby kontrolnej, niezawierającej probiotyku. Spowodowało to zmniejszenie zużycia paszy, czego skutkiem jest zwiększenie produktywności utrzymania brojlerów.

Według badań przeprowadzonych przez Abdel-Raheema i Abd-Allaha (2011) suplementacja probiotykami i prebiotykami miała korzystny wpływ na wykorzystanie paszy przez ptaki. Ustalili iż większe spożycie paszy jest spowodowane szybszym opróżnianiem żołądka, na co miały wpływ probiotyki. Jednakże Falaki i in. (2011) w swoich badaniach stwierdzili, że w trakcie suplementacji prebiotykami, spożycie paszy uległo pogorszeniu. Amerah i in. (2013) doszli do tego samego wniosku, tyle że w trakcie suplementacji probiotykami, z kolei Chena i in. (2015) zaobserwowali zmniejszenie spożycia paszy przy stosowaniu jednocześnie prebiotyków i probiotyków. Ferreiry i Kussakawy (1999) doszli do wniosku, że przyczyną takich różnic, może się wiązać kilka czynników, do których zaliczamy: płeć ptaków, szereg probiotyczny oraz użyta dawka.

7. Podsumowanie

Stosowanie probiotyków i prebiotyków ma korzystny wpływ na zdrowie i wydajność brojlerów. Wprowadzanie ich do diety wiąże się z korzystną modyfikacją mikroflory jelitowej wpływając także na układ kostny i układ immunologiczny, a podanie ich w początkowej fazie tuczu, może powodować szybszy wzrost ptaków. Jednak w celu prawidłowego wykorzystania potencjału tych dodatków paszowych należy pamiętać o właściwym ich doborze oraz właściwym momencie włączenia go do diety ptaków.

8. Literatura

Adhikari PA, Kim WK (2017) Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity—a review. *Annals of animal science* 17(4): 949-966.

- Adil S, Magray SN (2012) Impact and manipulation of gut microflora in poultry: a review. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11(6): 873-877.
- Chervonova I (2021) Influence of probiotic and prebiotic on meat quality of broiler chicken carcasses. *BIO Web of Conferences* 32: 04009.
- Choct M (2009) Managing gut health through nutrition. *British Poultry Science* 50(1): 9-15.
- Corcionivoschi N, Drinceanu D, Stef L i in. (2010) Probiotics – identification and ways of action. *Innovations in Romanian Food Biotechnology* 6 (3): 1 – 11.
- Mroczyńska M, Libudzisz Z, Gałęcka M i in. (2011) Mikroorganizmy jelitowe człowieka i ich aktywność metaboliczna. *Przegląd Gastroenterologiczny* 6 (4): 1 – 7.
- DiAngelo JR, Bland ML, Bambina S i in. (2009) The immune response attenuates growth and nutrient storage in *Drosophila* by reducing insulin signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(49): 20853-20858.
- Ghasemi R, Sedghi M, Mahdavi AH (2020) Evaluation of probiotic, prebiotic, and synbiotic on performance, immune responses, and gastrointestinal health of broiler chickens. *Poultry Science Journal* 8(2): 175-188.
- Hajati H, Rezaei M (2010) The application of prebiotics in poultry production. *International Journal of Poultry Science* (9): 298-304.
- Humphrey BD, Klasing KC (2004) Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. *World's Poultry Science Journal* 60(1): 90-100.
- Kabir SM (2009) The role of probiotics in the poultry industry. *International journal of molecular sciences* 10(8): 3531-3546.
- Kogut MH (2013) The gut microbiota and host innate immunity: Regulators of host metabolism and metabolic diseases in poultry? *Journal of Applied Poultry Research* 22(3): 637-646.
- Lan YMWA, Verstegen MWA, Tamminga S i in. (2005) The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, 61(1): 95-104.
- Mohammed AA, Zaki RS, Negm EA i in. (2021) Effects of dietary supplementation of a probiotic (*Bacillus subtilis*) on bone mass and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science* 100(3): 100906.
- Muir WI, Bryden WL, Husband AJ (2000) Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. *Developmental & Comparative Immunology* 24(2-3): 325-342.
- Patterson J, Burkholder K (2003) Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science* 82(4): 627–631.
- Poberezhets J, Chudak R, Kupchuk I i in. (2021) Effect of probiotic supplement on nutrient digestibility and production traits on broiler chicken. *Journal of Agricultural Science*, 296-302.
- Rintilä T, Apajalahti J (2013) Intestinal microbiota and metabolites—Implications for broiler chicken health and performance. *Journal of Applied Poultry Research* 22(3): 647-658.
- Sayed Y, Hassan M, Salem HM i in. (2023) Prophylactic influences of prebiotics on gut microbiome and immune response of heat-stressed broiler chickens. *Scientific Reports* 13(1): 1-17.
- Schenk M, Mueller C (2008) The mucosal immune system at the gastrointestinal barrier. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 22(3): 391-409.
- Sugiharto S (2016) Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 15(2): 99-111.
- Tang X, Liu X, Liu H (2021) Effects of dietary probiotic (*Bacillus subtilis*) supplementation on carcass traits, meat quality, amino acid, and fatty acid profile of broiler chickens. *Frontiers in Veterinary Science* 8, 1-10.
- Yegani M, Korver DR (2008) Factors affecting intestinal health in poultry. *Poultry Science* 87(10): 2052-2063.
- Younis TM, El – Shafei AA, Al – Gamal MA i in. (2013) Effects of commercial probiotics on productive and physiological performance of broiler chickens. *Journal of Applied Science Research* 9 (13): 6643 – 6654.

9. Mikrotafonomia kości kredowych dinozaurów z Pustyni Gobi

Microtaphonomy of the Cretaceous dinosaur bones from the Gobi Desert

Alicja Staniek

Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Opiekun naukowy: dr Dawid Surmik

Alicja Staniek: alicjapatrycjastaniek@gmail.com

Słowa kluczowe: paleontologia, tafonomia, demineralizacja, mikroskopia, SEM

Streszczenie

Pomimo postępów w badaniach paleontologicznych i rozwoju metod analitycznych, wdrażanych w paleontologii kręgowców, w środowisku naukowym wciąż trwają spory dotyczące natury fosylizacji części miękkich. Główne pytania dotyczą tego, czy struktury przypominające naczynia krwionośne, komórki kostne i macierz pozakomórkową, obserwowane po rozpuszczeniu apatytowego składnika kości, są zachowanymi pierwotnymi składnikami miękkimi, czy też są wynikiem kontaminacji. Badaniom poddano produkty demineralizacji kości dwóch dinozaurów z Pustyni Gobi. Komórki kostne *Tarbosaurus bataar* były zachowane perfekcyjnie, wraz z cytoplazmatycznymi wypustkami, a ściany naczyń krwionośnych zawierały odciski wiązek włókien kolagenowych i miejsca zakotwiczenia osteocytów. Analiza chemiczna wykazała dominującą rolę tlenków żelaza w procesie mineralizacji tych struktur. Natomiast w przypadku *Saurolophus angustirostris*, demineralizacja ujawniła zmineralizowane strzępki grzybni oraz amorficzne tlenki żelaza i manganu, sugerujące obecność skamieniałych biofilmów bakteryjnych. Dokumentacja tych dwóch stanów mikrostrukturalnego zachowania części miękkich pokazuje, że skamieniałe kości mogą zawierać zarówno struktury pochodzenia pierwotnego (endogenne) i wtórnego (egzogenne), w zależności od warunków środowiskowych krótko po śmierci zwierzęcia. Mineralizacja tlenkami żelaza odgrywa kluczową rolę w fosylizacji części miękkich.

1. Wstęp

Podczas gdy współczesna nauka rozwija się dynamicznie w zakresie miniaturyzacji i nanotechnologii, tak wydawało się że w paleontologii wszystko już zostało odkryte i możemy co najwyżej poszukiwać kolejnych skamieniałych gatunków, bo jeśli czegoś nie odkryto - znaczy, że nie istnieje. Dlatego tak wielu paleontologów podchodzi sceptycznie do paleontologii molekularnej. Ta najnowsza gałąź paleontologii, zajmująca się tkankami miękkimi zachowanymi w zapisie kopalnym, znacząco może wzbogacić naszą wiedzę o anatomii i fizjologii kopalnych kręgowców. Dziś mamy pewność, że zachowaniu ulegają narządy wewnętrzne, naczynia krwionośne, a nawet pojedyncze komórki je budujące i jest to zjawisko wcale nierzadkie. Interdyscyplinarne podejście naukowców, coraz bardziej wyrafinowany sprzęt laboratoryjny, a przede wszystkim otwarte umysły młodych badaczy, dają nadzieję na świetlaną przyszłość tej dziedziny. Polski naukowiec, Roman Pawlicki już w 1966 roku dał podwaliny pod tą gałąź nauki opisując komórki kostne i naczynia krwionośne ze skamieniałej kości dinozaura z pustyni Gobi. To dzięki niemu dotąd ignorowane struktury przyciągnęły uwagę naukowców.

W niniejszej pracy przedstawiam wyniki badań, ukazujące dwa stany zachowania i obecności pierwotnych składników miękkich kości oraz inwazji mikrobialnej w tkance kostnej późnokredowych dinozaurów z pustyni Gobi. Charakterystykę badanych struktur i ich składu chemicznego przeprowadzono za pomocą mikroskopu optycznego i elektronowego skaningowego z analizą składu pierwiastkowego (EDS).

2. Materiały i metody

Analizowany materiał stanowią fragment kości późnokredowych dinozaurów z Pustyni Gobi w Mongolii centralnej: *Saurolophus angustirostris* (Rozhdestvensky 1952), ZPAL MgD-I/167 o wadze 1,8824 gramy, oraz fragment kości *Tarbosaurus bataar* (Maleev 1955), ZPAL MgD-I/4.

Akronim instytucyjowy: ZPAL (Instytut Paleobiologii PAN w Warszawie, Polska).

Próbki kości przed badaniami poddano demineralizacji w celu uzyskania uwolnionych komórek kostnych oraz naczyń krwionośnych z macierzy kostnej.

2.1 Demineralizacja próbki

Demineralizację próbek przeprowadzono w laboratorium paleontologii Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach zgodnie z protokołem demineralizacji (patrz Surmik i in. 2016). Fragmenty kości o wadze 0,7228 i 1,1596 g, z osobna umieszczono na szczycie zestawu do filtracji próżniowej i zalano 0,5 M EDTA o pH 8,0, z codziennymi zmianami reagenta, aż do usunięcia całego fosforanu z kości. Produkty demineralizacji pod postacią rdzawego osadu, wielokrotnie przepłukano wodą dejonizowaną (przewodnictwo: 0,05 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Woda oraz reagent odprowadzone zostały za pomocą automatycznej pompy o mocy 2 bar. Otrzymany uzysk w procesie demineralizacji wysuszono w hermetycznym eksykatorze z pochłaniającym wilgoć żelalem krzemionkowym, w temperaturze pokojowej.

2.2 Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)

Próbki otrzymane w procesie demineralizacji badano skaningowym mikroskopem elektronowym FEI Quanta 250, z detektorem analitycznym EDS służącą do analizy składu chemicznego – pierwiastkowego, w pracowni Skaningowej Mikroskopii Elektronowej Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Obserwacje zostały przeprowadzone na próbkach napylanych złotem w wysokiej próżni i napięciu przyspieszającym 15 kV.

3. Wyniki

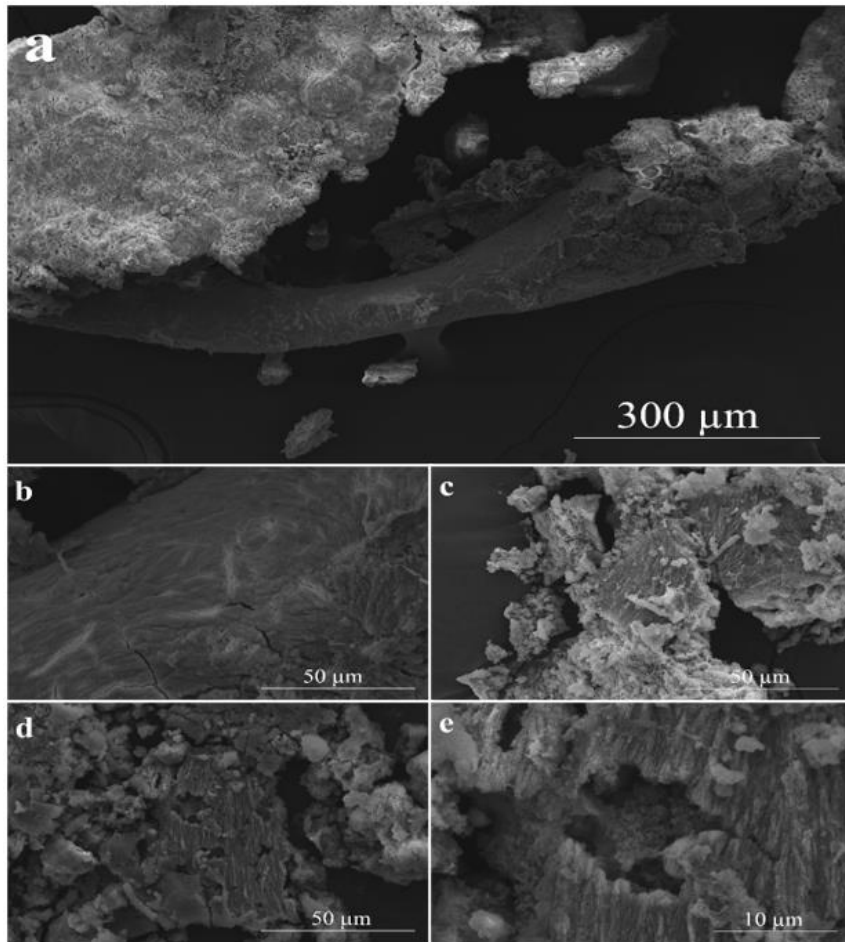
3.1 *Saurolophus angustirostris*

W osadzie otrzymanym po demineralizacji fragmentu kości *Saurolophus angustirostris* (ZPAL MgD-I/167) zaobserwowano licznie występujące elementy, przypominające fragmenty ścian naczyń krwionośnych (Rys. 1a). Znaczna większość tych struktur uległa spękaniu w wyniku wysuszenia (Rys. 1b). W próbce zaobserwowano liczne pałeczkowate ciała, które prawdopodobnie są strzępkami grzybni (Rys. 1c), dlatego też w próbce znaleziono niewiele elementów pochodzenia pierwotnego, zachowanych głównie jako mocno zdegradowane i rozpuszczone (Rys. 1d-e), najpewniej wskutek działania enzymów mikroorganizmów, które zaatakowały kość.

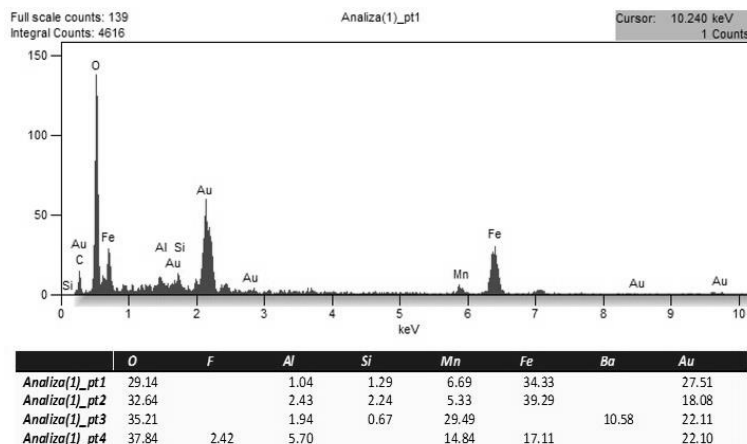
Widma EDS uzyskane w czasie badania próbki pokazują przewagę tlenu, żelaza, węgla oraz manganu. Tlen i żelazo występują jako główny składnik skamieniałych części miękkich (Rys. 2). Reprezentuje to typową kompozycję mikrostruktur przypominających fragmenty ścian naczyń krwionośnych, które zostały zmineralizowane tlenkiem żelaza (Schweitzer i in., 2014; Surmik i in., 2017).

3.2 *Tarbosaurus bataar*

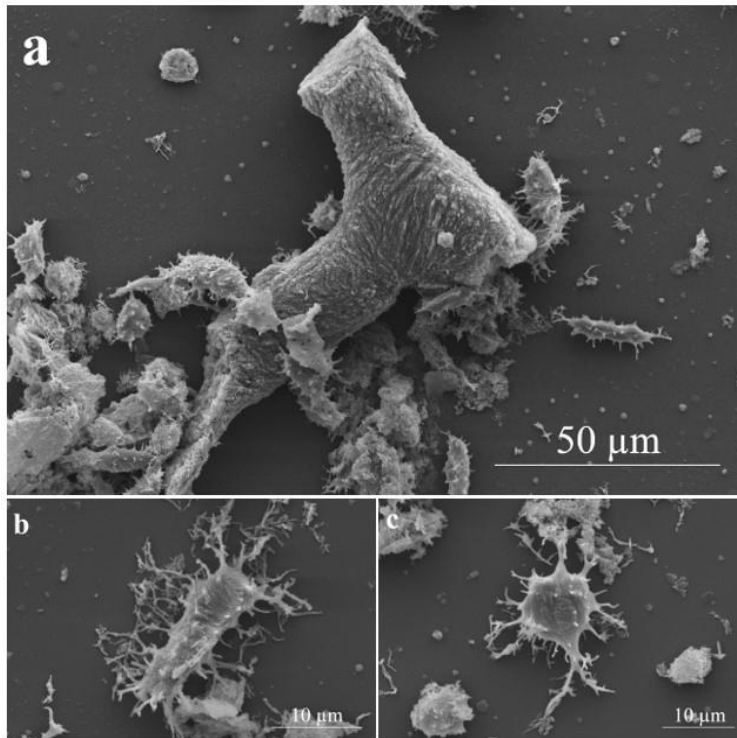
W przebadanej próbce *Tarbosaurus bataar* (ZPAL MgD-I/4), oprócz fragmentów naczyń krwionośnych, zaobserwowano licznie występujące mikrostruktury, które pod względem morfologicznym i wielkościowym najbardziej przypominają komórki kostne (osteocyty, Rys. 3a; patrz również Pawlicki, 1966 i 1978; Cadena i Schweitzer, 2012; Surmik i in., 2019). W próbce nie stwierdzono ognisk destrukcyjnych ani śladów działalności mikrobialnej. Wielkości wyekstrahowanych osteocytów wahała się od 5 do 30 μm długości i od 3 do 10 μm szerokości. Wytypowano trzy przedziały wielkości komórek kostnych, gdzie w pierwszym średnia wielkość osteocytów wynosi 9,47 μm długości i 7,94 μm szerokości. Średnie wielkości w drugim przedziale wynoszą 16,40 μm długości i 6,39 μm szerokości, a w trzecim przedziale wynoszą one 22,36 μm długości i 5,32 μm szerokości. Zauważyć można wyraźny spadek szerokości w stosunku do rosnącej długości osteocytów. Wyróżniono dwa typy morfologiczne tych komórek. Pierwszy typ, stanowiący około 90% wszystkich komórek, był wydłużony i elipsoidalny (Rys. 3b). Drugi typ to komórki o prawie izometrycznym pokroju, z niewielką różnicą szerokości do długości (Rys. 3c)



Rys. 1 Przykłady struktur przypominających fragmenty ścian naczyń krwionośnych wyekstrahowanych ze zdemineralizowanej próbki ZPAL MgD-I/167; a) fragment naczynia krwionośnego; b) ślady z wysychania widoczne na ścianie naczynia; c) fragment ściany naczynia z pałeczkowatymi strukturami, prawdopodobnie strzępkami grzybni; d-e) fragment ściany naczynia nadtrawiony przez mikroorganizmy.

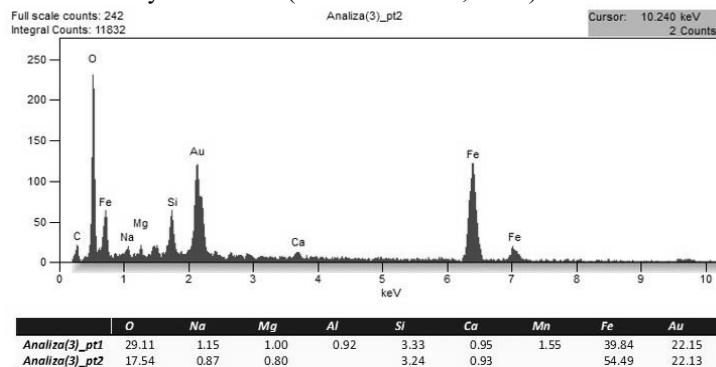


Rys. 2. Widmo EDS i procentowy udział pierwiastków w próbce ZPAL MgD-I/167.



Rys. 3. Komórki kostne z próbki ZPAL MgD-I/4: a) osteocyty wraz z fragmentem naczynia krwionośnego w skaningowym mikroskopie elektronowym; b-c) obrazy dobrze zachowanych osteocytów z próbki kości.

Analiza EDS mikrostruktur przypominających osteocyty wykazała, że komórki te zostały zmineralizowane tlenkami żelaza (Rys. 4). Większość żelaza odpowiedzialnego za utrwalenie części miękkich jest pochodzenia endogennego (Schweitzer i in., 2014). Zdecydowana jego większość pochodzi z rozkładu czerwonych krwinek (Schweitzer i in., 2014).



Rys. 4. Procentowy udział pierwiastków w próbce ZPAL MgD-I/4. Widma EDS pokazujące skład chemiczny pojedynczego osteocytu (tlen i żelazo są pierwiastkami dominującymi).

4. Dyskusja

Na podstawie zebranych wyników z analizy produktów demineralizacji dwóch fragmentów kości kredowych dinozaurów można zauważyć elementy zarówno pierwotne jak i wtórne, a także struktury o pochodzeniu czysto chemicznym, powstałe z precipitacji roztworu. Struktury endogenne, takie jak naczynia krwionośne czy komórki kostne, charakteryzują się dobrze widocznymi detalami

budowy. Komórki kostne są perfekcyjnie zachowane przestrzennie, z widocznymi licznymi rozgałęzieniami cytoplazmatycznych wypustek, służących do komunikacji ze sobą i otoczeniem w czasie życia zwierzęcia. Podobnie ściany naczyń krwionośnych, na których widoczne są odciski pierwotnych wiązek włókien kolagenowych oraz domniemanych miejsc zakotwiczenia osteocytów na swoich powierzchniach (D. Surmik, informacja ustna). Badania składu chemicznego pokazują dominującą rolę tlenu oraz żelaza w procesie utrwalania części miękkich. Większość naukowców potwierdza hipotezę o endogennym pochodzeniu żelaza odpowiedzialnego za utrwalenie skamieniałych części miękkich (Schweitzer i in., 2014; Lee i in., 2017). Żelazo w organizmie jest stabilizowane przez białka hemowe (np. hemoglobinę), białka żelaza nie-hemowego i ferrytynę (białko magazynujące żelazo). Po śmierci zwierzęcia wiązanie żelaza przez białka zostaje przerwane. Ferrytyna jest stabilnym białkiem które zachowuje aktywność nawet po śmierci i wychwytuje ona uwolnione przez inne białka żelazo. Ulega ono następnie związaniu w biominerały żelaza i w postaci stabilnych wodorotlenków żelaza, jak np. goethyt (Schweitzer i in., 2014), osadza je w otaczających tkankach pod postacią kryształów. Niemniej jednak część żelaza ucieka, przyczyniając się do powstawania rodników tlenowych, które zwiększają trwałość biomolekuł na trawienie enzymatyczne i mikrobiologiczne. Struktury wtórne, takie jak zmineralizowane strzępki grzybni, którym towarzyszą liczne amorficzne tlenki żelaza i manganu, które przynajmniej częściowo mogą być skamieniałym biofilmem bakteryjnym, mają wiele zatartych cech budowy. Sporadycznie w preparacie występują fragmenty pierwotnych ścian naczyń krwionośnych, jednak zawierają one ślady strefowego rozpuszczenia, najpewniej w skutek działalności enzymów bakteryjnych.

5. Wnioski

Wyniki niniejszych badań, obrazujące dwa stany zachowania mikrostrukturalnego części miękkich w obrębie kości pokazują, że w zależności od warunków środowiskowych w których szczątki zostały zdeponowane, zwłaszcza w krótkim czasie od śmierci zwierzęcia, kopalna kość może zawierać zarówno pierwotne struktury organiczne (np. komórki), jak i wtórne części miękkie, w tym mikroskopijne grzybnie oraz bakterie. Tak przetworzone kości (ang. *reworked*) są również cennym źródłem informacji mikrotafonomicznych, dotyczących w szczególności późniejszych losów szczątków organizmów do momentu pogrzebienia ich w osadzie. W obu przypadkach skamieniałe części miękkie uległy mineralizacji tlenkami żelaza, co wskazuje na duże znaczenie jonów żelaza jako czynnika sprzyjającego fosylizacji części miękkich.

6. Literatura

- Cadena EA, Schweitzer MH (2012) Variation in osteocytes morphology vs bone type in turtle shell and their exceptional preservation from the Jurassic to the present. *Bone* 51(3): 614–620
- Lee YC, Chiang CC, Huang PY i in. (2017) Evidence of preserved collagen in an Early Jurassic sauropodomorph dinosaur revealed by synchrotron FTIR microspectroscopy. *Nature Communications* 8(1): 14220.
- Pawlicki R, Korhel A, Kubiak H (1966) Cells, collagen fibrils and vessels in dinosaur bone. *Nature* 211: 655–657.
- Pawlicki R (1978) Morphological differentiation of the fossil dinosaur bone cells. Light, transmission electron-, and scanning electron-microscopic studies. *Acta Anatomica* 100(4): 411–418.
- Schweitzer MH, Zheng W, Cleland TP i in. (2014) A role for iron and oxygen chemistry in preserving soft tissues, cells and molecules from deep time. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281: 20132741.
- Surmik D, Boczarowski A, Balin K i in. (2016) Spectroscopic studies on organic matter from triassic reptile bones, upper Silesia, Poland. *PLoS One* 11(3).
- Surmik D, Rotschilda BM, Pawlicki R (2017) Unusual intraosseous fossilized soft tissues from the Middle Triassic *Nothosaurus* bone. *The Science of Nature* 104(3): 25.
- Surmik D, Dulski M, Kremer B i in. (2019) Iron-mediated deep-time preservation of osteocytes in a Middle Triassic reptile bone. *Historical Biology* 31(2): 186–193.

10. Decelularyzacja kości konia, nowe horyzonty badawcze wykorzystania kostnej macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM-BM) w hipologii klinicznej

Decellularization of Equine Bone: New Research Frontiers for the Application of Bone Extracellular Matrix (ECM-BM) in Clinical Hippology

Tomańska Anna

Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Kozuchowska 1, 51-631 Wrocław, Polska.

Tomańska Anna: anna.tomanska@upwr.edu.pl

Słowa kluczowe: inżynieria tkankowa, rusztowania biologiczne, transplantacja kości, biomateriały

Streszczenie

Badania nad wykorzystaniem decelularyzowanej macierzy kostnej koni w terapiach regeneracyjnych stanowią obszar o rosnącym znaczeniu w hipologii klinicznej. Proces decelularyzacji usuwa komórki dawcy, pozostawiając strukturę macierzy zewnątrzkomórkowej, co otwiera nowe perspektywy terapeutyczne. W kontekście licznych urazów układu kostnoszkieletowego u koni, ta metoda może przynieść istotne korzyści. Przegląd literatury oraz badania wskazują na obiecujący potencjał tej technologii, jednak konieczne są dalsze badania nad optymalizacją procesu decelularyzacji i reakcji organizmu gospodarza. Eksploracja różnych rodzajów rusztowań oraz badania nad rolą pęcherzyków wewnątrzkomórkowych i zewnątrzkomórkowych otwierają nowe możliwości w dziedzinie terapii regeneracyjnych układu kostnego. Doskonalenie tych technologii może prowadzić do poprawy zdrowia i kondycji koni oraz innych gatunków, a także potencjalnie znaleźć zastosowanie u ludzi.

1. Wstęp

Badania nad wykorzystaniem decelularyzowanej macierzy kostnej koni oraz jej potencjalnego zastosowania w terapiach regeneracyjnych stanowią obszar o rosnącym znaczeniu w hipologii klinicznej. Tkanka kostna, pełniąca kluczową rolę w układzie kostnym, może być poddana decelularyzacji w celu usunięcia komórek dawcy, pozostawiając jedynie strukturę macierzy zewnątrzkomórkowej. Proces ten ma na celu optymalizację materiału do dalszych zastosowań terapeutycznych, jednak wymaga precyzyjnej kontroli parametrów trawienia enzymatycznego. Wyniki badań sugerują, że decelularyzacja kości konia może otworzyć nowe perspektywy w terapiach regeneracyjnych układu kostnego, co może mieć istotne znaczenie dla leczenia różnorodnych schorzeń ortopedycznych oraz urazów układu kostnoszkieletowego u koni.

Można uznać, że w niedalekiej przyszłości poruszany temat stanie się obszarem intensywnych badań naukowych, zmierzających do opracowania skutecznych metod leczenia układu kostnoszkieletowego koni. Jednym z obiecujących kierunków tych badań jest wykorzystanie pochodzącej od nich decelularyzowanej macierzy kostnej, która otwiera nowe perspektywy w terapiach regeneracyjnych również dla innych gatunków. Proces decelularyzacji kości konia polega na usunięciu komórek dawcy z tkanki kostnej, pozostawiając jedynie strukturę macierzy zewnątrzkomórkowej – samego „rusztowania”. Sama metoda jej uzyskiwania wymaga przeprowadzenia wielokierunkowych badań. Biorąc jednak pod uwagę, że rozwój technologii w zakresie inżynierii tkankowej oraz większy dostęp do specjalistycznej wiedzy umożliwiają uzyskanie bardziej precyzyjnej kontroli procesu decelularyzacji, co może przyczynić się do dynamicznego rozwoju terapii regeneracyjnych w ortopedii w ogóle. W tym kontekście, badania nad wykorzystaniem decelularyzowanej macierzy kostnej koni oraz analiza jej potencjalnego zastosowania w leczeniu różnorodnych schorzeń ortopedycznych nabierają innego znaczenia. Dalsze eksplorowanie tej tematyki może przynieść nowe odkrycia, które będą miały ważne znaczenie dla praktyki weterynaryjnej i nie tylko.

Konie, zwłaszcza te używane do ujeżdżania, skoków przez przeszkody oraz rekreacji, są narażone na różnorodne urazy układu kostnoszkieletowego. Problemy ortopedyczne, takie jak urazy kończyn przednich, są częste u tych zwierząt i stanowią wyzwanie kliniczne. Trudności w leczeniu koni wynikają z ich fizjologicznej budowy oraz dużych obciążeń stawów i kości podczas treningów i innej aktywności. Odmienny związek konia z człowiekiem oraz jego użytkitarne użytkowanie sprawiają, że ustalany jest inny priorytet jego leczenia, co decyduje o jego ekonomicznej opłacalności. Sam rozwój skutecznych metod terapii bezkomórkowych, takich jak wykorzystanie decelularyzowanej macierzy kostnej koni, ma kluczowe znaczenie dla poprawy zdrowia i kondycji tych zwierząt oraz dla utrzymania ich aktywności sportowej, czy samej opłacalności hodowli.

Praca przeglądowa została zainicjowana po przeanalizowaniu aktualnych badań z zakresu hipologii klinicznej i inżynierii tkankowej, stanowiąc przegląd systematyczny literatury naukowej. Zauważono rosnące zainteresowanie zastosowaniem decelularyzowanej macierzy kostnej koni w terapiach regeneracyjnych, co skłoniło do potrzeby zebrania i podsumowania istniejącej wiedzy na ten temat. Przeszukiwanie literatury zostało przeprowadzone w bazach danych naukowych, takich jak Google Scholar, PubMed, Scopus i Academia, korzystając z odpowiednich słów kluczowych. Wybrane artykuły zostały dokładnie przeanalizowane, a ich wyniki i wnioski zostały podsumowane, aby zaprezentować aktualny stan wiedzy na temat zastosowania decelularyzowanej macierzy kostnej koni w terapiach regeneracyjnych. Analiza uwzględniła różne aspekty, takie jak skuteczność decelularyzacji, możliwe zastosowania terapeutyczne oraz kierunki przyszłych badań.

2. Biologiczny kontekst pracy

Tkanka kostna stanowi istotny element układu kostnego, pełniąc rolę strukturalną i podporową, magazynującą minerały i homeostatyczną układu krwiotwórczego. Głównym składnikiem tkanki kostnej jest zmineralizowana macierz, w której dominuje kolagen oraz różnorodne białka niekolagenowe. Skład chemiczny tkanki kostnej wyznacza jej właściwości biologiczne, takie jak wytrzymałość i elastyczność. W miarę upływu czasu, zwłaszcza w procesie starzenia się organizmu, obserwuje się fizjologiczne zmiany w składzie tkanki kostnej. Białka niekolagenowe odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu struktury i funkcji tkanki kostnej. Zmiany w ilości tych białek mogą mieć istotny wpływ na stan zdrowia kości. Przykładowo, zauważalne zmiany w stężeniu białek niekolagenowych obserwuje się w chorobach zwyrodnieniowych stawów, osteopenii oraz w wrodzonej łamliwości kości. Badania nad tymi zmianami są niezwykle istotne dla zrozumienia procesów fizjologicznych zachodzących w organizmie, jak również dla rozwoju metod diagnostycznych i terapeutycznych w przypadku chorób tkanki kostnej. Świadomość wpływu składu chemicznego na funkcje tkanki kostnej może prowadzić do doskonalenia procesów leczenia i poprawy jakości życia osób dotkniętych schorzeniami układu kostnego (Aerssens i in. 1994). Funkcją struktur fibrylarnych kolagenu w tkankach jest zapewnienie im wytrzymałości, sprężystości oraz integralności strukturalnej komórek. Dzięki postępom w naukach o identyfikacji różnorodności macierzy tkankowych, zdobyliśmy lepsze zrozumienie ich struktury, funkcji i znaczenia biologicznego. To z kolei skłoniło do większego zainteresowania produkcją syntetycznych biomateriałów, które imitują naturalne tkanki. Współcześnie takie biomateriały są uznawane za niezwykle przydatne w biomedycynie, ponieważ posiadają wiele zalet, w tym przede wszystkim wysoką biozgodność oraz minimalną odpowiedź immunologiczną (Czubak i Żbikowska 2014).

3. Macierz zewnątrzkomórkowa (ECM-BM) kości – potencjał zastosowania u koni

Leczenie koni, będące tradycyjnym aspektem praktyki weterynaryjnej, ma głębokie korzenie i stanowi istotny element relacji międzygatunkowej między ludźmi a tymi zwierzętami (Janeczek i in. 2009). Współczesne postępy w terapiach komórkowych otworzyły nowe horyzonty w leczeniu różnorodnych schorzeń, w tym problemów układu kostnego u koni. Pomimo tych osiągnięć, nadal istnieją wyzwania związane z kompleksowym wypełnieniem ubytków tkanki kostnej oraz skutecznym związaniem transplantu z miejscową tkanką (Drewnowska i Turek 2013).

W dziedzinie inżynierii tkankowej dokonano znacznego postępu w wykorzystywaniu tkanek do tworzenia rusztowań dla komórek, przyspiesza to rozwój metod rekonstrukcji uszkodzonych

tkanek w żywych organizmach. Rusztowania pozbawione komórek dawcy stają się coraz bardziej atrakcyjnym materiałem transplantacyjnym, na którym możliwe jest hodowanie komórek autologicznych biorcy w warunkach *in vitro*. Kluczowe jest, aby macierz zewnątrzkomórkowa (ECM) charakteryzowała się cechami biodegradowalności, bioresorbowalności oraz biozgodności. Dostępne są liczne materiały syntetyczne i naturalne, które posiadają różnorodne właściwości i mają za zadanie zapewnić optymalne warunki dla regeneracji ubytków tkankowych (Gadomska-Gajadur i in. 2018). Przygotowanie materiału w dużym stopniu wpływa na jego ultrastrukturę oraz reakcje gospodarza na wszczepiony materiał. Właściwie przygotowana macierz może być dobrze tolerowana nawet w przypadku przeszczepów ksenogenicznych. Metoda decelularyzacji może bezpośrednio przyczynić się do zwiększenia zastosowania materiału u biorcy, chociaż substancje chemiczne używane w tym procesie mogą wykazywać toksyczność wobec tkanek biorcy. Dlatego też coraz częściej wykorzystuje się połączenie różnych metod usuwania komórek z rusztowania, włączając w to techniki fizyczne, enzymatyczne i chemiczne (Gilbert i in. 2006). Tworzenie biomateriałów w inżynierii tkankowej układu szkieletowego stawia przed naukowcami wiele obiecujących perspektyw. Jednakże, wykorzystanie kliniczne w rutynowych zabiegach medycyny regeneracyjnej u ludzi nadal pozostaje poza zasięgiem medycyny. W przyszłości, oprócz pełnych rusztowań, istnieje możliwość wykorzystania na przykład hydrożeli (Chen i Lv 2017), granulatów, czy chipsów (Chen i Lv 2017), opartych na tkance kostnej, co otwiera nowe możliwości w dziedzinie terapii regeneracyjnych. Zainteresowanie inżynierią tkankową układu szkieletowego jest tym większe, że na wartość światowego rynku transplantów kości do końca 2023 roku osiągnie 3,48 miliarda dolarów (Lee et al. 2016). Niektóre dane wskazują na jeszcze większy wzrost tych kosztów w latach 2024-2030, co dodatkowo stymulowane jest rosnącą częstotliwością wypadków drogowych i kontuzji sportowych (Grandviewresearch.com).

Przeszczep kości pozbawionej komórek dobrze opracowano na modelu świni domowej (Chen et al. 2021), chociaż w weterynarii wykorzystanie macierzy uznaje się za bardziej perspektywiczne u koni, zwłaszcza tych przeznaczonych do sportów, ponieważ są one bardziej narażone na urazy układu kostnoszkieletowego. Dotyczy to przede wszystkim koni używanych do ujeżdżania, skoków przez przeszkody oraz rekreacji ponieważ to one są predysponowane do urazów układu kostnoszkieletowego (Jackson i in. 2007). Problemy ortopedyczne najczęściej dotyczą u nich kończyn przednich (Kovač i in. 2002). Wartość tych badań podkreśla fakt, że selekcja koni, zwłaszcza sportowych, wykracza już poza ich fizjologiczne optimum bytowe, co uwydatnia się w barierach zdrowotnych u tych zwierząt. Przykładem tego jest obciążenie 30% populacji koni sportowych osteochondrozą (Lewczuk i Berezowski 2016).

Materiały rusztowania o wysokiej biokompatybilności, zbliżone do naturalnych, charakteryzują się większą zdolnością do hamowania adhezji drobnoustrojów, co wynika z naturalnej struktury powierzchni ECM (Różalska i in. 2015). Stworzenie rusztowania o dowolnym kształcie i wymiarach, oraz precyzyjna regulacja jego właściwości mechanicznych i biochemicznych, sprawiają, że jest ono cenne ze względu na szerokie spektrum potrzeb związanych z odtwarzaniem i regeneracją kości. Na przykład, jest to istotne w przypadku utraconej tkanki kostnej z powodu urazu, złamania, zmian nowotworowych lub wad wrodzonych – a wszystko to wpływa na funkcjonalną wartość dojrzałej kości. Dodatkowo, urazy dużych kości, takich jak końskie, sprawiają, że obszar gojenia się samoistnego osteoblastów może być większy niż zdolności regeneracyjne tkanki. Zastosowanie ECM-BM z tego samego gatunku sprzyja zapewnieniu w środowisku kości unikalnej typologii i składu macierzy będącej podstawą funkcjonowania komórek kostnych, co wpływa na utrzymanie homeostazy i jej przywracanie w miejscu uszkodzenia (Lin i in. 2020). Same osteoblasty posiadają zdolność migracyjną, która może być różna w zależności od materiału membrany (Takata i in. 2001), pozwala im to na aktywne kolonizowanie różnych miejsc w przestrzeniach ECM-BM, co jest niezbędne do skutecznej odbudowy uszkodzonej tkanki. Zdolność migracyjna osteoblastów stanowi też ten element mechanizmu, który zapewnia możliwość gojenia tkanki kostnej w oparciu o wytwarzanie przez te komórki kolagenu i substancji mineralnych przez sam organizm. Kluczowy jest jednak fakt odpowiedzi immunologicznej dla samego transplantu, porównywalnej do przeszczepu autologicznego (Mansour i in. 2017).

W 2021 roku przeprowadzono interesujące badanie mające na celu zbadanie wpływu rusztowania zawierającego poliuretan, hydroksyapatyt oraz bezkomórkowe cząstki kości na proces gojenia się ubytków kostnych *in vivo* u pięciu dorosłych klaczy. W ramach oceny procesu regeneracyjnego przeprowadzono analizę termograficzną, ultrasonograficzną, radiograficzną, tomograficzną oraz histologiczną, poprzedzoną pobraniem biopsji. Warto zaznaczyć, że badanie nie było prowadzone na czystym implancie opartym na 100% naturalnej kości, lecz na rusztowaniu, które dodatkowo zawierało poliuretan i hydroksyapatyt. Wyniki badań wykazały, że dodatek rusztowania zewnątrzkomórkowego do struktury implantu spowodował większe wypełnienie ubytku oraz wzrost gęstości tkanki. Badania histologiczne potwierdziły przewagę regeneracji tkanki kostnej nad tkanką łączną w obszarze, gdzie zastosowano autorskie rusztowanie (Grześkowiak i in. 2021).

Badanie wpływu pęcherzyków wewnątrzkomórkowych i zewnątrzkomórkowych na procesy różnicowania i regeneracji tkanki kostnej stanowi równie ciekawe podejście badawcze, otwierające nowe możliwości w zrozumieniu mechanizmów odpowiedzialnych za te procesy. Rola tych struktur w mechanizmach różnicowania komórek została już dość dobrze zbadana, lecz dodatkowo autorzy podkreślają istnienie specyficznych pęcherzyków w macierzy pozakomórkowej, które zawierają różnorodne klasy bioaktywnych cząsteczek, w tym materiał pochodzący z tkanki dawcy. Właściwości tych mikropęcherzyków mogą prowadzić nie tylko do rozwoju terapii regeneracyjnych, lecz także do monitorowania procesów naprawczych oraz śledzenia progresji choroby. Fizjologicznie, pęcherzyki te są wydzielane przez osteoblasty, jednak badania *in vitro* wykazały, że ich obecność w kolagenowym szkielecie powoduje jego wiązanie i tworzenie apatytu w ciągu kilku godzin, przy obecności wapnia i fosforanu (Strzelecka-Kiliszek i in. 2018). Te doniesienia sugerują, że pęcherzyki wewnątrzkomórkowe i zewnątrzkomórkowe mogą odgrywać istotną rolę nie tylko w fizjologii, ale także w patologii układu kostnego, co stawia przed nauką nowe wyzwania i perspektywy badań w tej dziedzinie.

Wszystkie prace nad nowymi metodami terapii regeneracyjnych w weterynarii otwierają perspektywy na skuteczniejsze leczenie schorzeń układu kostnoszkieletowego u koni i innych zwierząt. Badania nad biomateriałami, rusztowaniami oraz mechanizmami regeneracji tkankowej pozostają kluczowym obszarem zainteresowania naukowców i weterynarzy, dążących do poprawy jakości życia i zdrowia zwierząt, mogą mieć wpływ na łatwiejszą i szybszą translację wyników badań na inne gatunki poza koniem.

4. Wnioski

Wnioski z przeprowadzonych badań wskazują na obiecujący potencjał wykorzystania decelularyzowanej macierzy kostnej koni w terapiach regeneracyjnych. Efektywność procesu decelularyzacji oraz jego optymalizacja są kluczowe dla dalszych badań i rozwoju terapii opartych na tym biomateriale. Badania histologiczne oraz ocena procesu regeneracji tkanki kostnej pozwalają na zidentyfikowanie korzyści z zastosowania rusztowania zewnątrzkomórkowego w strukturze implantu ze struktur zewnątrzkomórkowych. Warto podkreślić, że badania te otwierają nowe perspektywy dla hipologii klinicznej, sugerując potencjał wykorzystania decelularyzowanej macierzy kostnej koni w leczeniu różnorodnych schorzeń ortopedycznych oraz urazów układu kostnoszkieletowego u tych zwierząt. Jednakże konieczne są dalsze badania kliniczne oraz optymalizacja procesów wytwarzania i stosowania tego materiału w celu pełnego wykorzystania jego potencjału terapeutycznego.

Wyniki przeglądu literatury zostały ukazane w formie kompleksowej analizy, uwzględniając istotne aspekty właściwości biologicznych, wyniki badawcze różnych autorów oraz praktyczne implikacje kliniczne. Wnioski z przeprowadzonej analizy zostały sformułowane w celu syntetyzowania aktualnej wiedzy na temat wykorzystania decelularyzowanej macierzy kostnej koni zarówno w kontekście hipologii klinicznej, jak i postępu samej inżynierii tkankowej.

Ta praca stawia przed badaczami szereg kierunków badań oraz perspektyw w obszarze inżynierii tkankowej układu kostnego i terapii regeneracyjnych, w szczególności u koni. Poniżej przedstawiono kilka istotnych obszarów badawczych i perspektyw wynikających z przedstawionego tekstu. Pierwszym z nich jest doskonalenie procesu decelularyzacji, co mogłoby doprowadzić do opracowania bardziej efektywnych i bezpiecznych metod eliminacji komórek z macierzy kostnej

koni. Proces ten stanowi kluczowy punkt w produkcji rusztowań biologicznych, a jego optymalizacja może przyczynić się do uzyskania materiałów o lepszych właściwościach biologicznych i mechanicznych. Drugim obszarem są badania nad reakcją organizmu gospodarza na wszczepione materiały, co może prowadzić do ulepszenia strategii transplantacyjnych i minimalizacji reakcji immunologicznych. Zrozumienie interakcji między wszczepionymi materiałami a tkankami gospodarza jest kluczowe dla zapewnienia skuteczności i bezpieczeństwa terapii regeneracyjnych. Trzecim obszarem jest eksploracja różnych rodzajów rusztowań, w tym tych zawierających dodatkowe składniki jak poliuretan, czy hydroksyapatyt, co mogłoby doprowadzić do identyfikacji najlepszych materiałów oraz ich proporcji, do zastosowań w regeneracji tkanki kostnej u koni. Opracowanie rusztowań o optymalnych właściwościach biomechanicznych i biologicznych może znacząco poprawić skuteczność terapii regeneracyjnych lub przesądzać o istnieniu takich możliwości. Czwartym obszarem są badania nad rolą pęcherzyków wewnątrzkomórkowych i zewnątrzkomórkowych w procesach różnicowania i regeneracji tkanki kostnej, ich identyfikacja i charakterystyka mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów odpowiadających za udział tych struktur w procesach odbudowy kości oraz do opracowania nowych produktów leczniczych lub rusztowań naturalnych wzbogacanych o mikropecherzyki. Zbadanie roli tych struktur w dynamice procesów naprawczych może również otworzyć nowe możliwości ich samodzielnego zastosowania terapeutycznego w miejscu uszkodzenia tkanki kostnej. Piątym obszarem są kontynuowane badania nad różnymi rodzajami biomateriałów, zarówno syntetycznymi, jak i naturalnymi, co może prowadzić do opracowania materiałów o lepszych właściwościach biologicznych i mechanicznych. Mogą one przyczynić się do większej biokompatybilności z tkankami gospodarza i wykazywania wyższej skuteczności terapeutycznej. Te sugestie zawarte w szeregu kierunków badań mogą przyczynić się do dalszego rozwoju terapii regeneracyjnych i inżynierii tkankowej układu kostnego u koni, a także potencjalnie przyczynić się do poprawy jakości życia i ustalenia nowych możliwości leczenia dla innych gatunków, a nawet człowieka.

5. Literatura

- Aerssens J, Dequeker J, Mbuyi-Muamba JM (1994) Bone tissue composition: biochemical anatomy of bone, *Clinical Rheumatology* 13: 54-62.
- Chen G, Lv Y (2017) Decellularized bone matrix scaffold for bone regeneration, *Methods in Molecular Biology* vol. 1577: 239-254.
- Chen YW, Hsieh DJ, Periasamy S i in. (2021) Development of a decellularized porcine bone graft by supercritical carbon dioxide extraction technology for bone regeneration, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 15,4: 401-414.
- Czubak KA, Żbikowska HM (2014) Struktura, funkcja i znaczenie biomedyczne kolagenów, *Annales Academiae, Medicae Silesiensis* 68,4: 245-254.
- Drewnowska O, Turek B (2013) Ubytki tkanki chrzęstnej i ich regeneracja w stawach u koni, *Życie Weterynaryjne* 88(3): 204-206.
- Gadomska-Gajadur A, Łojek K, Szymaniak M i in. (2018) Materiały porowate do regeneracji tkanki chrzęstnej i kostnej, *Inżynieria Tkankowa* 3: 51-58.
- Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF (2006) Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials* 27,19: 3675-3683.
- Grandviewresearch.com
- Grześkowiak RM, Alghazali KM, Hecht S i in. (2021) Influence of a novel scaffold composed of polyurethane, hydroxyapatite, and decellularized bone particles on the healing of fourth metacarpal defects in mares, *Veterinary Surgery* 50,5: 1117-1127.
- Jackson M, Fürst A, Hässig M (2007) Splint bone fractures in the horse: a retrospective study, 1992-2001, *Equine Veterinary Education* AE: 329-334.
- Janeček M, Chrószcz A, Ožóg T (2009) Via punica et via hellenic incognito? Transfer wiedzy w świecie antycznym. *Medycyna Weterynaryjna* 65(6): 427-430.
- Kovač M, Nowak M, Silke K i in. (2002) Retrospektivno ispitivanje učestalosti pojavljivanja ortopedskih oboljenja konja, *Stručni Rad* 56(5-6): 307-319.

- Lee DJ, Diachina S, Ko Ch-Ch i in. (2016) Decellularized bone matrix grafts for calvaria regeneration, *Journal of Tissue Engineering* 7: NA.
- Lewczuk D, Berezowski A (2016) Problem osteochondrozy u koni – definicje i znaczenie hodowlane, *Przegląd hodowlany* 3: 18-20.
- Lin X, Patil S, Gao Y-G I in. (2020) The bone extracellular matrix in bone formation and regeneration. *Frontiers in Pharmacology* 11: 1-15.
- Mansour A, Amine Mezour M, Badran Z i in. (2017) Extracellular Matrices for Bone Regeneration: A Literature Review [in:] red. Mikos AG, Fisher JP, *Tissue Engineering, Part A* 23, 23-24: NA.
- Różalska B i in. (2015) Inżynieria tkankowa w medycynie regeneracyjnej, *Forum Zakażeń* 6,5: 291.
- Strzelecka A i in. (2018) Vesicles of the intracellular and extracellular transport – key structures in the process of tissue differentiation towards bone and cartilage, *Postępy Biochemii* 64 (2-3): 253-260.
- Takata T, Miyauchi M, Wang HL (2001) Migration of osteoblastic cells on various Guidem bone regeneration membranes. *Clinical Oral Implants Research* 12,4: 332-338.
- Idataresearch.com

11. Problem narastania antybiotykooporności patogenów ryb na przykładzie *Aeromonas* spp.

Antibiotic resistance emergence in fish pathogens illustrated by *Aeromonas* spp.

Tomańska Anna

Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Kozuchowska 1, 51-631 Wrocław, Polska.

Tomańska Anna: anna.tomanska@upwr.edu.pl

Słowa kluczowe: zdrowie publiczne, akwakultura, geny oporności

Streszczenie

Wzrost oporności na antybiotyki wśród organizmów jest jednym z kluczowych problemów zdrowia publicznego i higieny weterynaryjnej. Zyskał on uwagę instytucji międzynarodowych, w tym Światowej Organizacji Zdrowia. W ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się badaniom genów oporności u patogenów obecnych u ryb i innych organizmów żyjących w środowisku wodnym oraz samemu monitorowaniu środowiska pod kątem różnych zanieczyszczeń. Za rezerwuar oporności na antybiotyki uznano naturalne i sztuczne zbiorniki wodne oraz oczyszczalnie ścieków. Różnorodność gatunków ryb w ekosystemach wodnych jest kluczowym czynnikiem zachowania bioróżnorodności, a jednocześnie stanowi istotny surowiec zarówno w kontekście produkcji, jak i konsumpcji dla ludzi i zwierząt. Jednakże, ze względu na ryzyko transferu genów oporności, ryby mogą stanowić też potencjalne zagrożenie dla zdrowia innych zwierząt i człowieka.

Celem pracy jest wskazanie istoty opisywanego zjawiska na przykładzie *Aeromonas* spp. Poprzez przegląd i analizę dostępnego piśmiennictwa, omówiono problem narastającej odporności mikroorganizmów w środowisku wodnym, co może negatywnie wpływać na zdrowie zarówno zwierząt, jak i ludzi.

1. Wstęp

Niektóre drobnoustroje mają szczególne znaczenie w kontekście zdrowia publicznego, weterynarii i medycyny środowiskowej. Zauważalny ogólny wzrost antybiotykooporności różnych mikroorganizmów w polowych próbkach materiału biologicznego sprawia, że badacze przyjmują szerszą perspektywę w kontekście ich roli w różnych niszach ekologicznych i ich rozprzestrzenianiu się w przyrodzie. Choroby za które odpowiadają patogeny zdolne do przeżycia lub rozwoju w standardowych dawkach chemioterapeutyków, identyfikuje się jako zakaźne choroby przenośne, potencjalnie niebezpieczne w ogólnym kontekście przyszłości zdrowia. Miejscem akumulacji genów oporności, nie tylko istotnego dla organizmów typowo wodnych lub wodno-łądowych, są zbiorniki wodne. Cyrkulacja wody i ogólna pula zanieczyszczeń biologicznych, do niej przekazywana, umożliwiają większy transfer materiału genetycznego między różnymi typami drobnoustrojów. Niektóre odporne serotypy ze środowisk wodnych rejestruje się także u dzikich ssaków i owadów mających kontakt z wodą. Problem antybiotykooporności u organizmów wodnych jest tym większy, ponieważ ryby, podobnie jak ssaki, mogą wydalac antybiotyki przyjmowane wraz z paszą do środowiska (Trusczyński i Pejsak 2013) nie zawsze je optymalnie metabolizując a nawet je akumulując, podobnie jak rośliny (Baus i Michalska 2019).

Za wzrost oporności na leki i substancje o charakterze antybiotyków odpowiadają ruchliwe składniki genomu (MGE – *mobile genetic elements*). Zakażenia wywołane przez takie drobnoustroje wykazują cięższe objawy, dłuższe leczenie, a nawet stanowią o wyższym stopniu śmiertelności (Buczek i Marć 2009). Niektóre infekcje w zupełności nie poddają się leczeniu, są wywoływane przez tzw. superbakterie, szczepy wielolekooporne (MDR – *multidrug resistance*). Dużym rezerwuarem takich genów oporności są m.in. oczyszczalnie ścieków. Kluczowym czynnikiem, który ma wpływ na przetrwanie genów w środowisku jest zaś czas degradacji antybiotyków. W większości stosowane leki są metabolizowane częściowo lub wydalane w stanie

niezmienionym a ich inaktywacja w środowisku jest niemożliwa. Wśród antybiotyków, które mają najniższe tempo lub najdłuższy czas degradacji wyróżnia się: tetracykliny (chlorotetracyklinę, tetracyklinę i oksytetracyklinę), polipeptydy (bacytracynę, virginiamycynę), fosfolipoglikozydy (flawomycynę, flawofosfolipol), a w dalszej kolejności: fluorochinolony (enfloksacynę, ciprofloksacynę, sarafloksacynę), imidazole (metronidazol), polietery (np. monensin) oraz sulfonamidy (sulfadiazynę, trimetoprim, sulfabenzamid) a także aminoglikozydy (streptomycynę) (Popowska 2017). Pomimo różnych strategii ograniczenia stosowania antybiotyków, u ryb na świecie wykorzystuje się różne z nich. W Europie do 2030 r. środki te mają być w połowie ograniczane, w sposób zrównoważony dla akwakultury na równi z regulacjami dla warunków fermowych. Z antybiotyków u ryb (karpi i pstrągów) można stosować zgodnie z przeznaczeniem oksytetracyklinę, reszta z leków znajduje się poza wykazem produktów leczniczych weterynaryjnych i jest stosowana zgodnie z zasadą kaskady (Dz. U. z 2003 r. poz. 1223). Los degradacji oksytetracykliny w środowisku budzi ogromne obawy, również ze względu na niszczenie naturalnej mikroflory siedlisk (Zhao-jun i in. 2019).

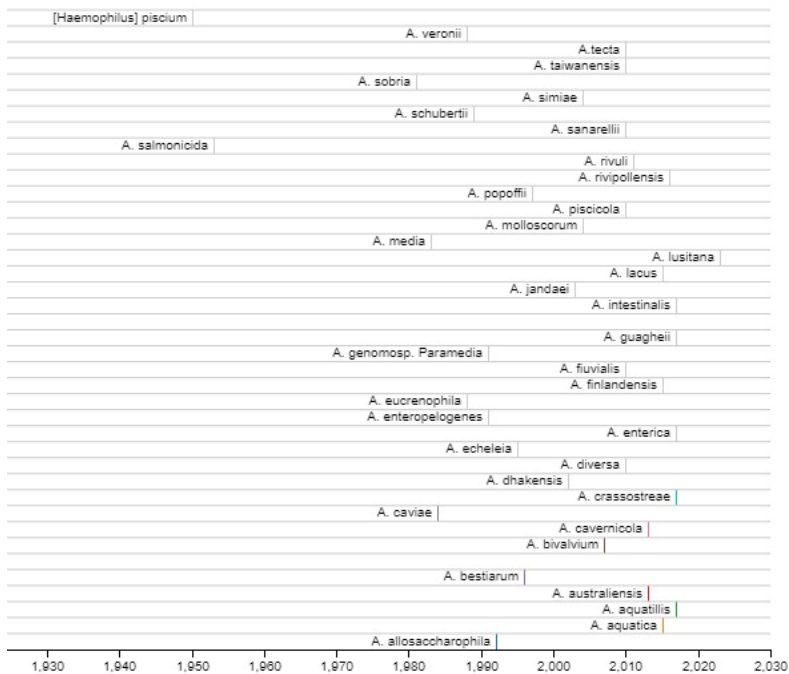
Problem antybiooporności zyskał kluczowe znaczenie ze względu na globalny charakter, z tego względu zainteresowała się nim Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) (Truszczyński i Pejsak 2013). Tendencja do zaostrzania przepisów wykorzystania jest tym istotniejsza w rybactwie, gdyż antybiotyki pozostają w środowisku wodnym w dawkach niższych od terapeutycznych co sprzyja utrzymaniu i powstawaniu genów oporności. Dlatego poszukując możliwości leczenia wielu chorób w akwakulturze zwraca się coraz większą uwagę na wykorzystanie innych, niestandardowych leków oraz metod leczenia. Wielu hodowców poprzez dbałość o higienę rozumie stosowanie środków biobójczych. Ich wykorzystanie zapewnia opłacalność hodowli jednak obecnie wiemy, że należy poszukiwać optymalnych rozwiązań nie tylko dla ryb, ale i przyjaznych środowisku. Przykładem mogą być środki oparte na kwasach organicznych. Mogą one wykazywać całkowitą biodegradowalność oraz skuteczność w niskiej temperaturze i wobec opornych drobnoustrojów na antybiotyki randomowo stosowane w gospodarstwach rybackich (Terech-Majewska i in. 2017). Wiele badań poświęcono wykorzystaniu i wpływowi probiotyków na nieswoistą odporność komórkową i humoralną u ryb (Kazuń i Kazuń 2014), a także innych środków, które mogłyby stymulować układ odpornościowy zwierząt. Jednym z nich jest Aquasan Immuno, który w środowisku szybko się rozkłada i jest nietoksyczny. Określono go mianem wynalazku i objęto licencją oraz ochroną patentową, jest to jeden z przykładów innowacyjnych technologii, które skomercjalizowano do powszechnego użycia w akwakulturze (Bartoszewicz i in. 2019).

2. *Aeromonas* spp.

Aeromonas spp. (z rodziny *Aeromonadaceae*, klasy Gammaproteobakterii) to gram-ujemna, fakultatywnie beztlenowa bakteria w kształcie pałeczki, występująca u ludzi i zwierząt (zarówno poikilotermicznych jak i endotermicznych), występująca kosmopolitycznie we wszystkich z środowisk wodnych, zarówno wód słodkich jak i słonych. Liczne izolaty tego drobnoustroju zostały opisane u człowieka, w literaturze od lat 90-tych wskazującej na występowanie zakażeń oportunistycznych i jej rosnącego potencjału chorobotwórczego (Merino i in. 1995). Zakażenia powiązano z incydentami wypadków wędkarskich, w tym ran powstałych na skutek wbicia haczyków; podczas pływania czy w wyniku ugryzienia przez zwierzęta zamieszkujące zbiorniki wodne. Bakterie te odpowiadają także za ostre biegunki, które mogą przybierać krwistą postać z silnym bólem brzucha (Murray i in. 2011; Huddleston i in. 2006). Ogólnie rodzaj *Aeromonas* spp. jest reprezentowany przez 40 gatunków (National Center for Biotechnology Information, dane z 04.05.2024r., National Library of Medicine, ncbi.nlm.nih.gov, Rys. 1).

Aeromonas spp. izolowane od ryb są reprezentowane głównie przez: *A. salmonicida*, *A. piscicola*, *A. bestiarum*, *A. sobria*, *A. media* oraz *A. hydrophila* i *A. tecta* (Beaz-Hidalgo i in. 2010), *A. caviae*, *A. eucrenophila*, *A. veronii* (biowaru *Sobria* i *Veronii*), *A. jandaei*, *A. schuberti*, *A. allosaccharophila*, *A. echeleia*, *A. popoffi*. Opisano także ostatnie przypadki izolacji *A. culicicola*, *A. simiae*, *A. bivalvium* (Martinez-Murcia i in. 2008). Bakteria ta została wyizolowana nie tylko od ryb, ale także z ikry oraz od krewetek i z próbek wody. Wskazuje to na możliwość przechodzenia i kontaminacji drobnoustrojem jaj oraz owoców morza, które mogą stanowić produkty

przeznaczonego do spożycia przez człowieka (Rahman i in. 2002). Zakażenie może występować masowo prowadzić do zagrożenia konsumenta o czym świadczy stosunkowo wysoka prevalencja w uzyskiwanych wynikach identyfikacji. W Malezji wyniosła ono kolejno 69%, 55% i 2,3%. Szczepy zróżnicowane były pod kątem aktywności hemolitycznej oraz wykazywały oporność na trzy lub więcej badanych antybiotyków (Radu i in. 2003). *Aeromonas* spp. może stanowić duże wyzwanie w czasie hospitalizacji osób o obniżonej odpowiedzi immunologicznej i z chorobami współistniejącymi. Z tego względu u osób tych całkowicie przeciwwskazane powinno być stosowanie pijawek w celach terapeutycznych. Wykazano bowiem, że pijawki są potencjalnymi nosicielami tych bakterii. Zamieszkują one nabłonek ich jelit, a wytwarzane przez nie enzymy są wykorzystywane w proteolitycznym trawieniu krwi przez te zwierzęta. Najwięcej wyników z prób izolacji drobnoustrojów *Aeromonas* spp. zebrano w ciepłych miesiącach lata, przez co należy szczególną ostrożność zachować także w trakcie kąpieli w naturalnych zbiornikach wodnych. Wykorzystanie terapeutyczne pijawek w medycynie odbywa się m.in. w celu poprawy przyjęcia przeszczepu skóry, zwiększają one miejscowo ukrwienie, co równocześnie może potencjalnie doprowadzić do zakażenia przyranego przez *Aeromonas* spp. W leczeniu powstałych zakażeń czy niegojących się ran, jak i przewlekłych biegunek stosuje się antybiotykoterapię. Rodzaj *Aeromonas* spp. powinien odpowiadać na leczenie z zastosowaniem gentamycyny, amikacyny, i sulfametaksazolu z trimetoprimem, podczas gdy nie jest wrażliwy na penicyliny, erytromycynę i cefalosporyny (Murray i in. 2011). Oporność różni się procentowo w zależności od miejsca pochodzenia próby i stanu ekspozycji środowiska na chemioterapeutyki; ampicylina, karbenicylina i amoksyacylina są kolejnymi nieskutecznymi antybiotykami w leczeniu zakażenia *Aeromonas* spp. Wysoką oporność ustalono również dla cefalosporyn I i II generacji (cefoksytyny, cefalotyny), połowa izolatów była też oporna na tobramycynę. (Martinez-Murcia i in. 2008) podczas gdy wyizolowane szczepy z dwóch europejskich rzek wykazywały niższą oporność na tobramycynę czy kotrimokazol, to niepokojąco wysoką oporność cechował je kwas nalidyksowy, tetracyklina; z czego sama ta właściwość była też zależna od konkretnego szczepu (Goñi-Urriza i in. 2000).



Rys. 1. Historia klasyfikacji zgodna z datą pierwszego opisanie poszczególnych gatunków *Aeromonas* spp., na podstawie danych National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (ncbi.nlm.nih.gov), RAWGraphs 2.0

Różne szczepy *Aeromonas spp.* są przyczyną infekcji ryb hodowlanych i ozdobnych, a także dotyczą występowania zachorowań zoonotycznych u hodowców i rybaków. Infekcje oportunistyczne są częstym wynikiem mieszania ryb różnego pochodzenia w jednym zbiorniku, a także występowanie innych, współistniejących infekcji i chorób (Martinez-Murcia i in. 2008). Badacze w 2008 roku, analizując wyniki badań fenotypowych i genetycznych pobranych wymazów od ryb oraz próbek wody, zwrócili uwagę na konieczność wyodrębnienia nowego gatunku bakterii, dla którego zaproponowali nazwę *Aeromonas aquariorum sp. nov.* Ta bakteria jest typowa dla środowiska akwariowego i stanowi częsty rezultat mieszania ryb różnego pochodzenia w jednym zbiorniku, a także współistnienia innych infekcji i chorób w populacji. *A. aquariorum sp. nov.* jest bakterią wyposażoną w polarną wic umożliwiającą jej czynny ruch. Charakteryzuje się ona zdolnością do redukcji azotanów i daje pozytywne wyniki testów biochemicznych na obecność oksydazy i katalazy. Jej metabolizm obejmuje zarówno oksydacyjne, jak i fermentacyjne procesy, a wzrost zachodzi w obecności 0-3% NaCl. Dodatni wynik testów wykazuje również obecność argininy i żelatyny, eskuliny i skrobi, a negatywny dla ornityny, ureazy i tryptofanu. Dodatkowo, bakteria ta wydziela siarkowodor i indol. Optymalne warunki temperaturowe dla wzrostu *A. aquariorum sp. nov.* mieszczą się w przedziale od 30 do 37°C. Jej szczep jest oporny na wiele antybiotyków, w tym na ampicylinę, karbenicylinę, amoksycylinę, amoksycylinę z kwasem klawulanowym, tikarcynę, piperacylinę, piperacylinę z tazobaktanem, cefalotyne, cefoksytynę, tobramycynę oraz erytromycynę. Bakteria wykazuje także średnią oporność na tikarcynę z kwasem klawulanowym i kanamycynę (Martinez-Murcia i in. 2008).

W krajach o klimacie sprzyjającym częstszym przypadkom epizoocji zwierząt akwakultury, przeprowadzono bardziej szczegółowe badania mające na celu izolację szczepów bakterii z rodzaju *Aeromonas spp.* Przykładowo, w Bangladeszu zaobserwowano występowanie epizoocji ryb z zespołem wrzodziejącym, co stanowi potencjalne zagrożenie dla przeniesienia tych drobnoustrojów na ludzi (Rahman i in. 2002). W związku z różnorodnością genów odpornościowych na standardowe leki, istotne jest właściwe sklasyfikowanie szczepów bakterii *Aeromonas spp.* do konkretnych gatunków i szczepów. Taka klasyfikacja umożliwi lepsze monitorowanie rozprzestrzeniania się oporności oraz ognisk chorób, co z kolei przyczyni się do skuteczniejszego zarządzania ryzykiem zdrowotnym. Dlatego też przeprowadzanie dokładnych badań nad tymi bakteriami w różnych regionach świata ma kluczowe znaczenie dla zrozumienia ich roli w kontekście zdrowia publicznego i ochrony środowiska. Jest to niezwykle ważne ponieważ wiele chorób zakaźnych ryb może przebiegać bez widocznych i charakterystycznych objawów, co utrudnia ich diagnozę i wymaga przeprowadzenia szczegółowych badań. Jedną z chorób wywoływanych przez bakterię *A. hydrophila* jest posocznica krwotoczna, znana także jako MAS (Motile Aeromonas Septicemia), oraz zespół wrzodziejący, określane również jako czerwona opryszczka. Istnieje wiele synonimów nazw tej choroby, odnoszących się do objawów posocznicy, efektów uszkadzających działania bakterii lub jej toksyn, które powodują zmiany na narządach i owrzodzenia skóry. U ryb zakażonych *A. hydrophila* może wystąpić nagłe śnięcie, a różnorodność objawów, zależna od wielu czynników, uniemożliwia jednoznaczne postawienie diagnozy na ich podstawie. Zakażone ryby mogą wykazywać zaburzenia pływania, błądzenie oraz wzdęcia. Owrzodzenia mogą występować w różnych miejscach ciała i są zazwyczaj otoczone jasną obwódką, co wskazuje na stan zapalny. Najczęściej dotkniętymi narządami są skrzela, nerki, wątroba, śledziona, trzustka oraz mięśnie (Swann i White 1914).

Z powyższych rozważań można wskazać na konieczność ciągłego monitorowania i analizy rozprzestrzeniania się oporności bakterii, takich jak *Aeromonas spp.*, w środowisku wodnym. Tylko w ten sposób możliwe będzie skuteczne zarządzanie ryzykiem zdrowotnym zarówno dla ludzi, jak i dla zwierząt, oraz ochrona bioróżnorodności ekosystemów wodnych.

3. Wnioski

Antybiotykooporność patogenów ryb, w tym szczególnie *Aeromonas spp.*, stanowi istotne wyzwanie w zakresie zdrowia publicznego i higieny weterynaryjnej. Praca wyeksponowała różnorodne aspekty tego problemu, ukazując jego rosnące znaczenie oraz konieczność podjęcia skutecznych działań zaradczych. Analiza dostępnej literatury wskazała na pilną potrzebę monitorowania jakości wód w akwakulturze oraz implementacji zrównoważonych strategii

stosowania antybiotyków. Jednocześnie badania nad genetyczną różnorodnością bakterii *Aeromonas* spp. i poszukiwanie alternatywnych terapii, takich jak probiotyki, są kluczowe dla skutecznego zwalczania oporności. Zintegrowane podejście do zarządzania ryzykiem zdrowotnym w akwakulturze wymaga współpracy między hodowcami, badaczami oraz organami regulacyjnymi, aby zagwarantować bezpieczeństwo zarówno dla zwierząt, jak i ludzi. Warto również zauważyć, że presja selekcyjna na ryby w warunkach hodowlanych może sprzyjać rozwojowi oporności, co podkreśla potrzebę bardziej zrównoważonego podejścia do gospodarki antybiotykami w środowisku naturalnym. Ponadto, ogólne zanieczyszczenie środowiska wodnego substancjami chemicznymi, w tym antybiotykami, może tworzyć warunki sprzyjające rozwojowi oporności u bakterii w środowisku naturalnym, co stanowi dodatkowe zagrożenie dla zdrowia publicznego. Jednocześnie, przeglądając omówione zagadnienia, widać, że połączenie działań prewencyjnych, jak również bardziej precyzyjna klasyfikacja szczepów bakterii *Aeromonas* spp., może przyczynić się do skuteczniejszej kontroli rozprzestrzeniania się oporności na antybiotyki.

4. Literatura

- Bartoszewicz R, Małek-Ziętek K, Kącki M i in. (2019) Czy gospodarce potrzebny jest broker innowacji... czyli o transferze technologii i wiedzy słów kilka, Praktyka Teoretyczna Informatyki, Nauk i Technologii XXVII(1), 3-12.
- Baus T, Michalska A (2019) Obecność farmaceutyków w środowisku wodnym na przykładzie antybiotyków i ich wpływ na ekosystemy, Inżynieria i Ochrona Środowiska T22, 1: 89-99.
- Beaz-Hidalgo R et al. (2010) Comparison of phenotypical and genetic identification of *Aeromonas* strains isolated from diseased Fish, Systematic and Applied Microbiology 33(3): 149-153.
- Buczek K, Maré M (2009) Antybiotykooporność bakterii – przyczyny i skutki, Annales UMCS, LXIV(3): 1-4.
- Goñi-Urriza M, Pineau L, Cadeputy M I in. (2000) Antimicrobial resistance of mesophilic *Aeromonas* spp. Isolated from two European rivers, Journal of Antimicrobial Chemotherapy 46,2: 297-301.
- Hänninen M, Oivanen P, Hirvelä-Koski V (1997) *Aeromonas* species in Fish, Fish- eggs, shrimp and freshwater, International Journal of Food Microbiology 34(1): 17-26.
- Huddleston JR, Zak JC, Jeter RM (2006) Antimicrobial Susceptibilities of *Aeromonas* spp. Isolated from Environmental Sources, Applied and Environmental Microbiology: 72.
- Kazuń B, Kazuń K (2014) Probiotyki w akwakulturze, Medycyna Weterynaryjna 70(1): 25-29.
- Martinez-Murcia AJ (2008) *Aeromonas* aquariorum sp. nov., isolated from aquaria of ornamental fish, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 58(5): 1169- 1176.
- Merino S, Rubires X, Knøchel S i in. (1995) Emerging pathogens: *Aeromonas* spp., International Journal of Food Microbiology 28,2: 157-168.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA (2011) Mikrobiologia, Wyd. Edra Urban & Partner, Wrocław: 314-315.
- Obwieszczenie Prezesa Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych z dnia 18 grudnia 2023r. (Dz.U. z 2023r. poz. 1223).
- Popowska M. (2017) Antybiotykooporność w środowisku naturalnym – przyczyny i konsekwencje, Kosmos Ser A, 66(1): 81-91.
- Radu S, Ahmad N, Hooi Ling F, Reezal A (2003) Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail Fish in Malaysia, International Journal of Food Microbiology 81(3): 261-266.
- Rahman M, Colque-Navarro P, Kühn I i in. (2002) Identification and Characterization of Pathogenic *Aeromonas veronii* Biovar *Sobria* Associated with Epizootic Ulcerative Syndrome in Fish in Bangladesh, Applied and Environmental Microbiology 88(2): 650- 655.
- Swann L (1914) White M., Diagnosis and Treatment of „*Aeromonas hydrophila*” Infection of Fish, Aquaculture Extension. Fact Sheet As-461. Diseases, Acts of Congress of May 8 and June 30, Illinois: 1-2.
- Terech-Majewska E, Płowiec A, Gołaś I i in. (2017) Ocena skuteczności Steridialu W-15 na wybrane drobnoustroje izolowane z ryb oraz ze środowiska wodnego, Drobnoustroje –

- osiągnięcia i wyzwania, IX Ogólnopolska Konferencja Hydromikrobiologiczna w Olsztynie – Książka Abstraktów. HYDROMICRO, Olsztyn: 27.
- Truszczyński M, Pejsak Z (2013) Zalecenia Światowej Organizacji Zdrowia i Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt dotyczące stosowania antybiotyków u zwierząt, *Życie Weterynaryjne* 88(3): 189-191.
- Truszczyński M, Pejsak Z (2013) Źródła i drogi szerzenia się antybiooporności bakterii, *Medycyna Weterynaryjna* 68(4): 203-207.
- Zhao-jun LI, Wei-ning QI, Yao F i in. (2019) Degradation mechanisms of oxytetracycline in the environment, *Journal of Integrative Agriculture* 18(9): 1953-1960.

12. Zaburzenia behawioralne drobiu i ich wpływ na dobrostan i zdrowotność ptaków

Behavioral disorders of poultry and their impact on bird welfare and health

Trzybiński Marcin⁽¹⁾, Grzegorzek Maria⁽¹⁾, Madzula Wojciech⁽¹⁾, Janas Kinga⁽¹⁾, Drabik Kamil⁽²⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe Biologii, Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾ Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun naukowy: dr inż. Kamil Drabik

Trzybiński Marcin: marcintrzybinski3@gmail.com

Streszczenie

Warunki zdrowia i środowiska wpływają na utrzymywanie zwierząt. Ich utrzymanie na właściwym poziomie rzutuje na dobrostan, produktywność oraz kondycję zwierząt. Od dawna obiektem zainteresowania hodowców jest wpływ tych czynników na pojawianie się schorzeń i patologii behawioralnych u ptaków. Wzrost świadomości i wiedzy na temat behawioru i potrzeb ptaków w tym zakresie może korzystnie wpłynąć na warunki chowu, produktywność i dobrostan zwierząt. Warunki chowu, jakość paszy, rodzaj naświetlenia czy sposób kojarzenia ze sobą drobiu może zwiększyć prawdopodobieństwo powstawania pterofagii, a w jej efekcie kanibalizm. Każde zaburzenie na podłożu behawioru może mieć wpływ na jakość produktów pochodzenia utrzymywanych zwierząt. Celem pracy było przybliżenie najczęstszych zaburzeń behawioralnych u ptaków oraz ich wpływu na efektywność prowadzonej produkcji.

1. Wymagania behawioralne drobiu i wpływ środowiska na ich utrzymanie

Sposób prowadzonych chowu i hodowli ptaków ma znaczący wpływ na produktywność drobiu. Umożliwienie spełniania potrzeb behawioralnych ptaków wpływa na utrzymanie wysokiej produktywności i pełną realizację potencjału genetycznego. Wraz z korzyściami ekonomicznymi w parze idzie poprawa smakowitości i jakości produktów pochodzenia utrzymywanych zwierząt. W przypadku ptaków często tzw. syndrom stresowy (ang. *porcine stress syndrome*, PPS) przekłada się na brak zapachu i smakowitości mięsa z mięśnia piersiowego w porównaniu do mięśnia udowego zwierzęcia (Szkucik i in. 2007). Na stan zdrowia wpływa system żywienia, mikroklimat i środowisko bytowania drobiu. Modyfikując cykl dobowych zmian światła, rodzaj mieszanki paszowej, temperaturę oraz jakość ściółki producenci mogą oddziaływać na zachowania takie jak: potrzebę grzebania w ściółce czy kąpiele piaskowe. W przypadku ściółki spełnia ona też inne kluczowe potrzeby oraz utrzymuje prawidłową wilgoć i środowisko pod względem aktywności mikrobiologicznej (Malone 2006). Podczas obserwacji ptaków można dostrzec zachowania świadczące o stresie. Przykładem takich zachowań jest stroszenie piór oraz drżenie mięśni występujące w przypadku zbyt niskich temperatur, z kolei zbyt wysokie temperatury powodują rozkładanie skrzydeł w celu schłodzenia organizmu. Poza wskaźnikami produkcyjnymi warto obserwować takie zachowania w celu przedwczesnego wykrycia nieprawidłowości w stadzie utrzymywanych ptaków (Herbut i in. 1992). Aby móc ocenić czy dane zaburzenie ma podłoże behawioralne należy stale obserwować stada i w przypadku ewentualnych niekorzystnych zmian szybko reagować i dostosowywać warunki do aktualnych potrzeb ptaków. W przypadku drobiu utrzymwanego w dużych stadach ptaki są narażone na wysoką temperaturę otoczenia. Wzrost temperatury oddziałującego na ptaki zwiększa ich pragnienie co wymusza potrzebę dostarczania większych ilości wody pitnej przez producentów (Herbut i in. 2002). Ponadto w przypadku wysokiego zagęszczenia występującego np. w chowie towarowym broilerów kurzych, dostęp do poideł, a właściwie jego ograniczenie może stanowić dodatkowy czynnik stresowy. Istotnym aspektem jest też rodzaj i struktura podawanej paszy (Kjaer i Bessei 2013). Ptaki żerują do momentu zaspokojenia potrzeb fizjologicznych. Zatem stosowanie mieszanek paszowych w formie granulowanej pozwala na szybsze zaspokojenie tych potrzeb. W efekcie finalnym ptaki nadal dziobią,

ale ukierunkowują te działania nie na pobieranie paszy, co z kolei może powodować wzrost zachowań agresywnych i rozwój dalszych zaburzeń.

Na występowanie, a właściwie częstotliwość występowania zaburzeń na tle behawioralnym, mają wpływ również urozmaicenia w środowisku bytowania ptaków. Badania dowodzą, że ich zastosowanie może pozytywnie wpływać na redukcję zachowań związanych z pterofagią u kur nieśnych (Gilani i in. 2014). Środowisko wzbogacone w rozrzucone ziarna owsa czy dodatkowa ilość ściółki wpływa zachęcająco na zwierzęta zwiększając częstotliwość zachowań związanych z eksploracją otoczenia i poszukiwaniem pokarmu. Zapewnienie realizacji podstawowych potrzeb behawioralnych ptaków nie likwiduje całkowicie prawdopodobieństwa wystąpienia zaburzeń na podłożu behawioralnym. Predyspozycje genetyczne, wiek czy płeć osobnika również odgrywają istotną rolę w procesie powstawania tych zaburzeń. Badania wskazują na zwiększone szanse wystąpienia zaburzeń u zwierząt wysokoprodukcyjnych, charakteryzujących się szybkim tempem wzrostu i osiągających dużą masę w bardzo młodym wieku (Guemene i in. 2006).

2. Zaburzenia behawioralne i ich skutki

Pojawienie się zaburzeń behawioralnych wpływa na kondycję i produktywność ptaków obarczonych tym problemem oraz na całe stado. Najczęściej schorzenia o podłożu behawioralnym wynikają z nieprawidłowego dostosowania środowiska bytowania ptaków uniemożliwiają spełnianie im ich behawioralnych potrzeb. Popularnie występującym zaburzeniem behawioralnym jest wydziobywanie piór (pterofagia), które z czasem może przekształcić się w kanibalizm. Może on występować u kur, indyków, kaczek, przepiórek i bażantów. Zaburzenie to może pojawiać się ze zwiększoną intensywnością w warunkach nadmiernej gęstości obsady w wyniku pojawiania się agresji zwierząt wobec siebie (Scheideler i Shields 2007). Występowanie tych zaburzeń ma dość złożoną etiologię. Wpływają na nie między innymi czynniki środowiskowe, obecność agresywnych osobników w stadzie, pasożyty zewnętrzne i wewnętrzne, oraz predyspozycje genetyczne. Istotnym aspektem jest fakt, że wyjątkowo jasne oświetlenie o niewłaściwej barwie lub intensywności zwiększa ich agresję wobec siebie. W podobny sposób wpływa zbyt wysoka temperatura otoczenia. Innymi objawami zaburzeń behawioralnych może być apatia i rezygnacja z poszukiwania pokarmu, co w efekcie może prowadzić do osłabienia ptaków, a w efekcie finalnym do ich śmierci. Powodem braku chęci pobierania pokarmu mogą być czynniki fizyczne wynikające z trudności poruszania na przykład w przypadku nadmiernej masy ciała czy schorzeń narządu ruchu. Częstym problemem powodującym te zaburzenia jest niewłaściwie dobrana pasza, brak składników pokarmowych lub elementów umożliwiających ich trawienie i wchłanianie (Maselyne i in. 2015). Niedobór mikro- i makroelementów w organizmach utrzymywanych ptaków powoduje zaburzenia homesotazy co przekłada się na zmiany behawioru ptaków. Dieta ma ogromne znaczenie dla życia, w przypadku niewystarczających ilości aminokwasów w diecie drobiu takich jak tyrozyna i tryptofan uniemożliwione jest prawidłowe syntetyzowanie serotoniny wywołując u hodowanych ptaków zachowania agresywne (Ledger 2012).

3. Pterofagia i kanibalizm

Zarówno pterofagia jak i kanibalizm stanowią poważne zaburzenia behawioralne obserwowane u drobiu. Dotyczą one zarówno młodych kur, kurcząt, jak i dorosłych kur niosek (Bestman i in. 2009). Problemy te obserwowane są u drobiu we wszystkich możliwych systemach utrzymywania (Nicol i in. 2013; Rodenburg i in. 2013). Należy jednak zwrócić uwagę na systemy bezklatkowe w których występuje większa częstotliwość wydziobywania piór powodując również wzrost śmiertelności ptaków (Heerkens i in. 2015). Pterofagia jest zachowaniem przeniesionym, a jego genezą jest brak możliwości przejawiania naturalnego zachowania zbierania pokarmu z podłoża (Huber-Eicher i Wechsler 1997). Jest to zgodne z badaniami sprawdzającymi wpływ występujących urozmaiceń na pojawianie się agresywnych zachowań w stadzie. Wzbogacenie środowiska materiałami których celem jest zachęcić ptaki do żerowania korzystnie wpływa na zmniejszenie intensywności pterogafii (Gilani i in. 2013; Daigle i in. 2014; Zepp i in. 2018). Mimo że, systemy wolierowe oferują większe możliwości dla ptaków do przejawiania ich naturalnych

zachowań w porównaniu do systemów klatkowych, nadal mogą w nich występować zaburzenia behawioru ptaków wpływające na ich dobrostan (Blokhuys i in. 2007). Pterofagia definiowana jest jako dziobanie piór (w tym również ich wrywanie) innych osobników. Zaburzenie to rozwija się w stadzie, w różnym tempie, jednak jego skutki mogą znacząco pogarszać efekty produkcyjne i wpływać na obniżenie przeżywalności. W efekcie wrywania piór mogą powstawać drobne rany, uszkodzenia naturalnych otworów ciała, oczu czy skóry (Rodenburg i in. 2013; Daigle i in. 2014). Rany tego typu mogą być potencjalnym miejscem wniknięcia patogenów prowadząc do pojawienia się wielu chorób. Zaburzenie może występować w postaci łagodnej lub ostrej. Postać łagodna przejawia się wydziobywaniem jedynie końcówek piór i uszkodzaniu ich struktury. Natomiast ostra postać polega na silnym dziobaniu, ciągnięciu lub nawet usuwaniu całych piór (Savory 1995). Agresywne dziobanie stanowi w dużej mierze sposób na okazanie dominacji w stadzie (Appleby i Hughes 1991), wiąże się bardzo często z bólem i powoduje wokalizację lub wycofywanie się słabszych osobników, ale zwykle nie prowadzi do dużych uszkodzeń piór (Savory 1995). Pterofagia ma bardzo zróżnicowane podłoże ale do najważniejszych czynników można zaliczyć m.in.: nieprawidłowe żywienie (Van Krimpen i in. 2005), warunki oświetleniowe, ogólna czystość kurnika (Drake i in. 2010), czy gęstość obsady na jednostkę powierzchni (Hansen i Braastad 1994). Niedobór w diecie białka surowego, aminokwasów czy minerałów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania ptaków wpływa nasilająco na pojawianie się agresywnych zachowań, co w przypadku dalszego ich rozwoju może doprowadzić do wystąpienia kanibalizmu (Kjaer i Bessei 2013). Wiele badań sprawdzających wpływ światła na zachowania ptaków potwierdza pojawianie się agresji w przypadku zwiększonego natężenia wykorzystywanego w budynkach inwentarskich światła. Na przykładnie kur utrzymywanych w kurniku oświetlanym światłem o natężeniu 30lx obserwowane były intensywniejsze akty pterofagi niż w przypadku natężenia światła na poziomie 10 lx (Kjaer i Vestergaard 1999). Nasilona, nieleczone pterofagia może prowadzić do rozwoju kanibalizmu (Gunnarsson 1999; Rodenburg i in. 2013). Powstające przez wydziobywanie piór, tyse plamy na ciele kur indukują dziobanie skóry, prowadzące do powstawania ran. Tego typu dziobanie może być przyczyną zwiększonej śmiertelności przez znaczną utratę krwi. Dowiedziono również, że zachowania kanibalistyczne mogą wynikać z niezaspokojonego naturalnego instynktu grzebania i poszukiwania pokarmu. Dziobanie przekierowane jest na inne osobniki w stadzie powodując uszkodzenie ich zdrowia (Cloutier i in. 2002). Zachowania kanibalistyczne wśród drobiu stanowią duże zagrożenie i wciąż odnotowuje się wysoki procent ginących przez nie kur (Sun i in. 2014). Inną przyczyną pojawienia się kanibalizmu jest wystąpienie roztoczy. Ptaszyniec kurzy (*Dermanyssus galinae*) jest roztoczem niewielkich rozmiarów występującym w ciepłych miejscach takich jak kurniki. Pojawienie się ptaszynca w stadzie powoduje u ptaków niepokój i rozdrażnienie oraz zwiększa częstość wydziobywania piór (Kowalski i Sokół 2006). Wzrasta również liczba przypadków kanibalizmu a także licznych przypadków śmierci do nawet 8% (Pilarczyk i in. 2004). W związku z tym należy dbać o zachowanie właściwego poziomu higieny i stale monitorować stan zdrowia ptaków oraz ich zachowanie aby w porę wprowadzić odpowiednie działania zaradcze.

4. Regulacja i zapobieganie zaburzeniom behawioralnym

Behawioralne zaburzenia drobiu najczęściej są skutkiem nieprawidłowego otoczenia zapewnianego przez osoby odpowiedzialne za ich dobrostan. Część przypadków ma podłoże genetyczne jak w przypadku występowania genu PMEL17QTL wpływającego na białe upierzenie u kur rasy White Leghorn. Osobniki dziedziczące heterozygotyczność są bardziej podatne na wydziobywanie piór w przypadku pterofagii w przeciwieństwie do osobników homozygotycznych dominujących (Jensen i in. 2003). W takim przypadku powinno się właściwie prowadzić proces pracy hodowlanej, tak aby geny te nie były powielane w populacji. To samo tyczy się apatycznych i depresyjnych zaburzeń powstających w wyniku wsobnego kojarzenia (Kokko i Ots 2006).

Dopasowanie środowiska hodowlanego do potrzeb konkretnej rasy czy typu użytkowego ptaków jest kluczowym środkiem zapobiegania zaburzeniom behawioralnym. Umożliwienie ptakom grzebania w odpowiednio przygotowanej ściółce może znacząco zmniejszyć stres oraz potencjalne zachowania agresywne. Zapewnienie możliwości grzebania we właściwych warunkach poprawia

samopoczucie ptaków i przyczynia się do redukcji występowania zaburzeń behawioralnych w całym stadzie.

Wczesny dostęp do właściwie dobranej ściółki ogranicza występowanie uszkodzeń piór i ostrego dziobania w późniejszym wieku. Dobrze dobrana dieta dostosowana do wymogów ptaków a także kierunku ich wykorzystania pozwala na znaczącą redukcję zachowań niepożądanych. Pasze bogate w nierozpuszczalne nie skrobiowe polisacharydy takie jak celuloza czy hemiceluloza może zmniejszać występowanie kanibalizmu. Co ciekawe stosowanie diety z łusek ryżowych w chowie kur niosek zmniejsza śmiertelność powodowanych kanibalizmem i pterofagią o 13% w porównaniu do pożywienia zawierającego lucernę wpływającego na redukcje zgonów od 2% do 3% (Hartini i Choct 2011). Alternatywą jest również dodawanie probiotyków do pasz. Dotychczasowe badania wykazują, że włączenie ich do diety ma pozytywny wpływ na zmniejszenie występowania zachowań agonistycznych u kur niosek (Hu i in. 2018). Poza jakością paszy istotna jest również jej dostępność. Zbyt duże dawki pokarmowe mogą powodować nadwagę z kolei małe ilości nie dowagę sprzyjającą agresywności (Huse i Kuźniacka 2015)

W celu zmniejszenia występowania kanibalizmu należy kontrolować stada produkcyjne co najmniej dwa razy dziennie. Kolejnym istotnym aspektem w celu zapobiegania kanibalizmu jest stosowanie urozmaiceń bytowania ptaków. Oczywiście na skalę przemysłową istnieją nieco inne rozwiązania problemu pterofagii i kanibalizmu. Zgodnie z Dyrektywa Rady 2007/43/WE z dnia 28 czerwca 2007 dopuszczalne jest przycinanie i formowanie dziobów aby zredukować prawdopodobieństwo wystąpienia pterofagii. Zabieg ten przeprowadza się na pisklętach w bardzo młodym wieku. Właściwa korekta dzioba pozwala ptakom na normalne pobieranie pokarmu, jednak z uwagi na zmieniony kształt dzioba uniemożliwia chwytanie i wrywanie piór innych osobników.

5. Podsumowanie

Podsumowując, sposób prowadzenia chowu i warunki środowiskowe mają kluczowe znaczenie dla zdrowia, dobrostanu i produktywności drobiu. Zapewnienie ptakom możliwości realizacji ich naturalnych potrzeb behawioralnych, takich jak grzebanie w ściółce, ma istotny wpływ na ich samopoczucie oraz jakość i smakowitość produktów pochodzenia zwierzęcego. Niewłaściwe warunki mogą prowadzić do stresu i zaburzeń behawioralnych, takich jak pterofagia i kanibalizm, które negatywnie wpływają na zdrowie całego stada. Skuteczne zapobieganie tym problemom wymaga odpowiedniego dostosowania diety, warunków środowiskowych, a także regularnej kontroli stada. Wzbogacanie środowiska oraz stosowanie odpowiednich praktyk hodowlanych czy zootechnicznych może znacząco zmniejszyć ryzyko wystąpienia zaburzeń behawioralnych i poprawić ogólny dobrostan drobiu.

6. Literatura

- Appleby MC, Hughes BO (1991) Welfare of laying hens in cages and alternative systems: Environmental, physical, and behavioural aspects. *World's Poultry Science Journal*, 47, 109–128.
- Bestman M, Koene P, Wagenaar JP (2009) Influence of farm factors on the occurrence of feather pecking in organic reared hens and their predictability for feather pecking in the laying period. *Applied Animal Behaviour Science*, 121(2): 120–125.
- Blokhuis HJ, Van Niekerk TF, Bessei W i in. (2007) The LayWel project: welfare implications of changes in production systems for laying hens. *World's Poultry Science Journal*, 63(1): 101–114.
- Cloutier S, Newberry RC, Honda K i in. (2002) Cannibalistic behaviour spread by social learning. *Animal Behaviour*, 63(6): 1153–1162.
- Daigle CL, Rodenburg TB, Bolhuis JE i in. (2014) Use of dynamic and rewarding environmental enrichment to alleviate feather pecking in non-cage laying hens. *Applied Animal Behaviour Science*, 161, 75–85.
- Drake KA, Donnelly CA, Dawkins MS (2010) Influence of rearing and lay risk factors on propensity for feather damage in laying hens. *British Poultry Science*, 51(6): 725–733.

- Dyrektywa Rady 2007/43/WE z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie ustanowienia minimalnych zasad dotyczących ochrony kurcząt utrzymywanych z przeznaczeniem na produkcję mięsa. OJ L 182, 12.7.2007, 19.
- Gunnarsson S (1999) Effect of rearing factors on the prevalence of floor eggs, cloacal cannibalism and feather pecking in commercial flocks of loose housed laying hens. *British Poultry Science*, 40(1): 12–18.
- Hansen I, Braastad BO (1994) Effect of rearing density on pecking behaviour and plumage condition of laying hens in two types of aviary. *Applied Animal Behaviour Science*, 40(3-4): 263–272.
- Hartini S, Choct M (2011) Effect of mash dietary fiber on performance and cannibalism in laying hens. *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 36, 50–54.
- Herbut E, Pietras M, Sokołowicz Z (1992) Wpływ zróżnicowanych warunków termicznych na produkcję ciepła kurcząt i zużycie paszy. *Roczniki Naukowe Zootechniki Monografie i Rozprawy*, 31, 293–301.
- Herbut E, Sosnówka-Czajka E, Rychlik i in. (2002) Welfare of chickens reared under different thermal conditions. *Annals of Animal Science Supplement*, 1, 71–74.
- Hu JY, Rieger MA, Siegel PB (2018) The influence of probiotics on the behavior of laying hens. *Poultry Science*, 97(1): 154–161.
- Huber-Eicher B, Wechsler B (1997) Feather pecking in domestic chicks: its relation to dustbathing and foraging. *Animal Behaviour*, 54(4): 757–768.
- Huse I, Kuźniacka J (2015) Effect of feeding management on feather pecking and cannibalism in laying hens. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*, 14(1): 21–30.
- Jensen P, Keeling L, Schütz K i in. (2003) Feather pecking in poultry – phenotypic correlations and QTL-analysis in F2-intercross between red jungle fowl and white leghorn layers. *Proceedings of the 37th ISAE International Congress, Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche, Brescia, Abano TermeItaly, June 24–28, 68–69.*
- Kowalski A, Sokół R (2006) Ptaszynek kurzy (*Dermanyssus gallinae*) – poważny problem w chowie kur. *Medycyna Weterynaryjna*, 62(10): 1211–1214.
- Ledger R (2012) Better behavior through the food dish. An advanced approach to improving dog behavior and welfare with dietary management. *Animal Sheltering*, 11/12, 53–57.
- Malone B (2006) Managing built-up litter. *Proceedings of the 2006 Midwest Poultry Federation Conference*. Retrieved from 1-4.
- Maselyne J, Saeys W, Van Nuffel A (2015) Quantifying animal feeding behaviour with a focus on pigs. *Physiology & Behavior*, 138, 37–51.
- Nicol CJ, Bestman M, Gilani AM i in. (2013) The prevention and control of feather pecking: application to commercial systems. *World's Poultry Science Journal*, 69(4), 775–788.
- Pilarczyk B, Balicka-Ramisz A, Ramisz A i in. (2004) Występowanie ptaszyńca kurzego (*Dermanyssus gallinae*) w fermach kur w Polsce. *Annals of Animal Science*, 4(1): 23–29.
- Rodenburg TB, Van Krimpen MM, De Jong IC i in. (2013) The prevention and control of feather pecking in laying hens: identifying the underlying principles. *World's Poultry Science Journal*, 69(2): 361–374.
- Savory CJ (1995) Feather pecking and cannibalism. *World's Poultry Science Journal*, 51(2): 215–219.
- Scheideler SE, Shields S (2007) *Cannibalism by Poultry*. NebGuide G1670, 756-759.
- Sun Y, Ellen ED, Van der Poel JJ i in. (2014) Modelling of feather pecking behavior in beak-trimmed and non-beak-trimmed laying hens. *British Poultry Science*, 55(1): 40–45.
- Szkucik K, Pisarski RK, Nastaj B i in. (2007) Wpływ wieku ubojowego kurcząt na cechy rzeźne oraz jakość tkanki mięśniowej. *Medycyna Weterynaryjna*, 63(11): 1353–1356.
- Van Krimpen MM, Kwakkel RP, Reuvekamp BFJ i in. (2005) Impact of feeding management on feather pecking in laying hens. *World's Poultry Science Journal*, 61(4): 663–686.
- Zepp M, Louton H, Erhard M i in. (2018) The influence of stocking density and enrichment on the occurrence of feather pecking and aggressive pecking behavior in laying hen chicks. *Journal of Veterinary Behavior*, 24, 9–18.

13. Wpływ dolegliwości bólowych na behavior różnych gatunków zwierząt

The effect of pain complaints on the behavior of various animal species

Włodowska Martyna, Gołembiewska Marzena

Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Opiekun naukowy: dr lek. wet. Aleksandra Garbicz

Włodowska Martyna: martynawlodowska1@gmail.com

Słowa kluczowe: zachowanie, ból, rodzaje bólu, odczuwanie bólu.

Streszczenie

Celem pracy jest przedstawienie wpływu dolegliwości bólowych na behavior różnych gatunków zwierząt. W referacie zostały przedstawione zachowania świadczące o bólu u zwierząt towarzyszących oraz gospodarskich. Zwierzęta są nieodłączną częścią ludzkiego życia, dlatego tak ważne jest, aby rozumieć mowę ich ciała i poprawnie odczytywać wysyłane przez nie sygnały. Jest to istotne nie tylko dla lekarzy weterynarii, zootechników czy behawiorystów, ale przede wszystkim dla właścicieli i hodowców, którzy na co dzień mają możliwość obserwowania swoich zwierząt. To pozwoliłoby na szybszą reakcję oraz wcześniejszą diagnozę, co z kolei może znacznie ułatwić i skutecznie ewentualne leczenie zwierzęcia. Właściciele, widząc zmianę w zachowaniu swojego zwierzęcia bardzo często najpierw spotykają się z behawiorystą, a wskazane jest, aby przy zmianie zachowania najpierw udać się do lekarza weterynarii. Dzięki zwiększonej świadomości właścicieli na temat behavioru zwierząt, praca ludzi związanych zawodowo ze zwierzętami staje się łatwiejsza, a dobrostan zwierząt znacznie się poprawia. Należy pamiętać, że ból wywołuje stres i dyskomfort, które znacznie obniżają wyżej wspomniany dobrostan, o czym mówi zasada pięciu wolności.

1. Wstęp

“Ból to przykre doznanie czuciowe i emocjonalne, związane, lub przypominające doznanie związane z aktualnie występującym lub potencjalnym uszkodzeniem tkanek” (International Association for the Study of Pain 2020). Ból fizjologiczny, inaczej zwany bólem receptorowym jest wywołany w wyniku drażnienia nocycceptorów, które są receptorami bólowymi, a impulsy przewodzone są przez rdzeń kręgowy do wzgórza i kory mózgowej, gdzie dochodzi do nocyccepcji, czyli rozpoznawania i lokalizowania bólu. Można wyróżnić również ból pozareceptorowy, tzn. ból wywodzący się z uszkodzonego układu nerwowego – obwodowego lub ośrodkowego oraz ośrodków korowych. Możliwe jest też rozróżnienie bólu na przewlekły i ostry, w zależności od jego czasu trwania (Łapińska 2014). Ból pełni rolę adaptacyjną, natomiast może mieć negatywny wpływ na funkcjonowanie oraz samopoczucie społeczne i psychologiczne. Rozpoznanie bólu stanowi wyzwanie dla lekarzy weterynarii oraz właścicieli, ponieważ zwierzęta nie mają zdolności komunikacji werbalnej, a formą komunikowania bólu jest zmiana zachowania, którą trudno jest zaobserwować. Zwierzęta ukrywają objawy bólowe, gdyż w środowisku naturalnym, miało to zapobiegać stanowi się ofiarą drapieżników. Sposoby okazywania bólu różnią się nie tylko ze względu na różnice gatunkowe, ale również ze względu na wiek, rasę, wcześniejsze doświadczenia oraz temperament zwierzęcia, jak również środowisko i obecność dodatkowych stresorów (Kopania i Słyk-Przeździecka 2018).

2. Cel

Celem pracy było przedstawienie typowych zachowań wywołanych bólem u różnych gatunków zwierząt. Zdefiniowane zostało pojęcie bólu oraz zostały przybliżone jego rodzaje wraz z krótką ich charakterystyką oraz opisem behavioru, jaki mogą wywoływać.

3. Rodzaje bólu

Podstawową funkcją bólu jest rola ostrzegawczo - ochronna. Ostrzega o zagrażającym w następstwie urazu czy choroby uszkodzeniu tkanek i wyzwała odruchową i behawioralną reakcję organizmu. Reakcja ta ma na celu zminimalizowanie skutków danego uszkodzenia. Ból można sklasyfikować na podstawie źródła uszkodzenia na neuropatyczny, receptorowy i psychogeny oraz biorąc pod uwagę kryteria czasowe na ból chroniczny i ostry (Dobrogowski i in. 2011).

3.1 Ból neuropatyczny

Jak podaje definicja, ból neuropatyczny jest to taki rodzaj bólu, który jest spowodowany przez pierwotną zmianę lub dysfunkcję somato-sensorycznej części ośrodkowego lub obwodowego układu nerwowego bądź układu współczulnego. Do objawów bólu neuropatycznego należą gwałtowne, napadowe symptomy takie jak: ból samoistny, zaburzenia czucia, zaburzenia wegetatywne będące następstwem uszkodzenia struktur układu nerwowego. Bardzo często wspomniany rodzaj bólu nie jest objawem choroby, a stanowi proces chorobowy, który może trwać przez lata. Do zachowań charakterystycznych dla bólu neuropatycznego należą: ciągłe żucie, spontaniczne wokalizowanie, wylizywanie oraz gryzienie tych samych miejsc, a także reakcja obronna na dotyk, pomimo braku widocznych zmian patologicznych (Kania i in. 2020).

3.2 Ból receptorowy

Inna nazwa bólu receptorowego to ból nocycyptywny lub fizjologiczny, ponieważ powstaje i jest przewodzony w sposób fizjologiczny, a receptory odbierające bodźce bólowe to nocycyptory. Ból receptorowy powstaje w wyniku drażnienia nocycyptorów i jest przewodzony za pomocą włókien nerwowych poprzez rdzeń kręgowy do wzgórza i kory mózgowej, gdzie dochodzi do rozpoznawania i lokalizowania bólu (Łapińska 2014). Ten rodzaj bólu może pochodzić zarówno z narządów wewnętrznych, jak i tkanek zewnętrznych. W bólu receptorowym integralność układu nerwowego jest zachowana, a za podrażnienie nocycyptorów odpowiadają substancje wytwarzane poza strukturami układu nerwowego (Wypyszewska i Kopański 2018). Jest to czucie ostrzegające przed uszkodzeniem tkanek lub objawiające się po dokonanych uszkodzeniu. Wśród bólu receptorowego, wyróżnia się ból skórny, mięśniowy, narządowy oraz kostno – stawowy (Domżał 2007).

3.3 Ból ostry

Przyjęto, iż ból ostry trwa krócej niż 3 miesiące, a jego natężenie jest duże. Przyczyny bólu ostrego są zazwyczaj znane i łatwiej jest je wykryć niż przyczyny bólu chronicznego, a należą do nich urazy i choroby, występuje również po zabiegach chirurgicznych (Cooley 2024). Ból ostry jest intensywny i zlokalizowany w konkretnym miejscu, a kończy się w momencie całkowitego wyzdrowienia. Jego rolą jest ograniczenie i oszczędzenie organizmu. Wywołuje on zachowania związane z unikaniem lub ucieczką. Do objawów bólu ostrego należą: zmiany w pozycji i postawie ciała, zmiany nastroju, zachowania nietypowe, do których należą m.in. zachowania autodestrukcyjne, spadek aktywności, wokalizacja, zaburzenia poruszania się, rozszerzone źrenice, nadmierne ziajanie, ślinotok, szybki oddech, drżenie mięśni, osłabiony apetyt, wzmożone pragnienie oraz zwiłanie się w kłębek (Suwińska 2023).

3.4 Ból przewlekły

Bólem przewlekłym określa się ból, który trwa dłużej niż 3 miesiące oraz jego czas trwania przekracza okres gojenia. Ból trwa długo i nasila się do momentu, kiedy zwierzę przestaje sobie z nim radzić i zauważalne zostają objawy. Wywołuje on posmutnienie i zahamowanie zachowań typowych dla danego osobnika (Kopania i Słyk-Przeździecka 2018). Często jest on związany z powolnymi, stopniowymi zmianami behawioralnymi i może przekształcić się w ból nieadaptacyjny, który nie odgrywa żadnej roli ochronnej i bywa bardzo problematyczny podczas zwalczania go (Cooley 2024). Do objawów bólu chronicznego należą: nadmierne reakcje na bodźce, okresowe zmiany nastroju, pojawienie się nowych zachowań, niechęć do ruchu, kulawizny, opuszczenie głowy poniżej linii grzbietu w czasie ruchu, zaprzestanie podnoszenia nogi podczas mikcji (w przypadku psów), przyjmowanie nietypowych pozycji, np. siadanie bokiem, zachowania przekierowane, zaburzenia snu. Ból chroniczny wpływa na struktury i funkcje mózgu, a mianowicie zaburza przepływ

mózgowy krwi oraz powoduje ubytek neuronów w korze mózgowej i wzgórzu. Ból chroniczny powoduje przewlekły stres, który zwiększa napięcie mięśniowe, a to z kolei potęguje uczucie bólu (Łapińska 2017).

4. Pomiary bólu

Umiejętne zmierzenie bólu ma bezpośredni wpływ na skuteczność wprowadzonego leczenia. Ból tworzą składowe: ewaluacyjna i afektywna oraz sensoryczna i to właśnie one są brane pod uwagę podczas mierzenia bólu. Współcześnie, natężenie bólu nie jest tak istotne, jak jego afektywny wymiar, który określa przykrość wywołaną przez ból. Dawniej do pomiaru natężenia bólu ostrego używano skali opisowej, numerycznej skali szacunkowej lub wizualnej skali analogowej. W dzisiejszych czasach natomiast pomiar ten wykonuje się poprzez obserwację behawioru i dokonywanie pomiarów fizjologicznych. W przypadku bólu przewlekłego, stosowana jest skala jakości życia (Reid i in. 2018), która obejmuje takie kategorie jak:

- Dobrze życie - doświadczenia pozytywne zdecydowanie przeważają nad negatywnymi;
- Życie warte przeżycia - doświadczenia pozytywne nieznacznie przeważają nad negatywnymi;
- Punkt równowagi - doświadczenia pozytywne i negatywne występują w równowadze;
- Życie, którego warto unikać - doświadczenia negatywne nieznacznie przeważają nad pozytywnymi;
- Życie niewarte przeżycia - doświadczenia negatywne zdecydowanie przeważają nad pozytywnymi (Quality Of Life Scale).

Do oceny bólu stosowany jest również "Kwestionariusz Glasgow". Ocena bólu u psów na podstawie wspomnianego kwestionariusza wymaga ocenienia następujących zachowań:

- 1) Postawa psa, czy pies:
 - a) jest nieruchomy, usztywniony (4),
 - b) ma podkaszany, łukowato wygięty grzbiet (3),
 - c) jest nerwowy, nie może sobie znaleźć miejsca (2),
 - d) jest zaniepokojony (1),
 - e) jest rozluźniony (0).
- 2) Jeśli pies wokalizuje, czy jest to:
 - a) wycie (3),
 - b) mruczenie i jęczenie (2),
 - c) płaczliwe skomlenie lub skowyt (1),
 - d) nie wydaje dźwięków (0).
- 3) Jeżeli pies koncentruje się na chorej części ciała, czy jest to:
 - a) gryzienie bolącego miejsca (4),
 - b) drapanie bądź ocieranie bolącej części ciała (3),
 - c) lizanie (2),
 - d) spoglądanie na bolące miejsce (1),
 - e) ignorowanie tej okolicy ciała (0).
- 4) Na podstawie obserwacji należy określić zachowania psa jako:
 - a) depresyjne, nie reaguje na bodźce (4),
 - b) zaniepokojony, lękliwy, nerwowy (3),
 - c) brak zainteresowania otoczeniem, nie odpowiada na zachęty obserwatora (2),
 - d) cichy, obojętny (1),
 - e) zadowolony i poszukujący kontaktu (0).
- 5) Należy ocenić, czy w czasie testu pies:
 - a) odmawia poruszania się (4),
 - b) jest usztywniony (3),
 - c) powoli i z oporem wstaje i siada (2),

- d) kuleje (1),
- e) porusza się normalnie (0).
- 6) Podczas próby dotyku należy obserwować, czy pies:
 - a) skomli (5),
 - b) kłapie zębami (4),
 - c) warczy i broni dostępu do bolącego miejsca (3),
 - d) wzdryga się, unika dotyku (2),
 - e) rozgląda się wokoło (1),
 - f) nie reaguje (0) (Łapińska 2018).

5. Mechanizm odczuwania bólu

Według dr Barletty ból powstaje w pięciu krokach: transdukcji, transmisji, modulacji, projekcji oraz percepcji.

a) Transdukcja.

Jest pierwszym etapem nocycepcji i ma miejsce w nerwach obwodowych. Biorą w niej udział nocyceptory, które występują na obwodowych zakończeniach włókien A-delta i C. W przewodzeniu bodźce mechaniczne, ciepłe a także chemiczne otwierają obecne na zakończeniach wymienionych włókien nerwowych kanały sodowe oraz potasowe. W tym czasie następuje zmiana formy energii. Może to spowodować uszkodzenie tkanki, jeśli nie zapobiegnie się przewodzeniu lub go nie leczy. Skutkiem jest wyrzut mediatorów zapalenia (takich jak bradykinina, interleukina beta, interleukina 6, histamina, czynnik martwicy nowotworu alfa, czynnik wzrostu nerwów, adenozyne trójfosforan adenozyne, prostaglandyna E2). Mogą one aktywować nocyceptory i wywołać nadreaktywność na bodziec bólowy, reakcję bólową na niebolesny bodziec oraz zmniejszyć próg dla niektórych receptorów. Aby zapobiec przewodzeniu można zastosować znieczulenie miejscowe, niesteroidowe leki przeciwzapalne, opioidy czy glikokortykosteroidy.

b) Transmisja.

W następnym etapie impuls wędruje do grzbietowych rogów rdzenia kręgowego poprzez włókna nerwowe A-delta, C i A-beta za pośrednictwem kanałów jonowych: sodowego, potasowego i wapniowego. Pierwszy rodzaj włókien przewodzi bodźce bardzo szybko. Są grube i mają małe pole odbioru sygnału, jednokierunkowe lub wielokierunkowe, odbierają ostry, szybki, przejściowy, zlokalizowany ból. Obecne są w dużej ilości w skórze. Bezmielinowe włókna C przewodzą wolniej niż pierwszy typ. Pole odbioru jest większe, są wielokierunkowe i odpowiadają za wolne, rozsiane, palące uczucie bólu wtórnego utrzymującego się po zakończeniu działania bodźca uszkodzającego. Dominują w trzewiach. Ostatni typ włókien stanowią włókna mielinowe A-beta odpowiedzialne za przewodzenie dotyku i ucisku. Mają dużą prędkość przewodzenia. W przypadku wystąpienia bólu przewlekłego bądź patologicznego włókna te przekazują informację o nocycepcji zamiast propriocepcji, co jest spowodowane sensytyzacją ośrodkową lub obwodową. Transmisji można zapobiec przez stosowanie miejscowych anestetyków blokujących kanały sodowe.

c) Modulacja.

Jest etapem zachodzącym na obwodzie, w rdzeniu kręgowym, a także strukturach nadrdzeniowych. Odpowiedź na bodźce uszkodzające występujące na obwodzie może zostać zmodyfikowana w rdzeniu kręgowym. Spowodowane jest to aktywacją dróg zstępujących oraz wyrzutem miejscowych endogennych modulatorów. W wyniku zwiększenia odpowiedzi na nocycepcję (poprzez glutaminian, substancję P, prostaglandyny) może dojść do sensytyzacji ośrodkowej, co jest skutkiem intensywnej i jednocześnie krótkiej aktywności receptora. Inną przyczyną tego zjawiska jest powtarzająca się aktywność włókien

C w generowaniu impulsów, wydzielanie przez włókna A-delta i C różnych neurotransmiterów oraz aktywacja receptorów N-metylo-D-asparaginowego (NMDA).

d) Projekcja.

Obejmuje przekazywanie sygnału elektrycznego z rdzenia kręgowego do struktur nadrdzeniowych. Występują trzy drogi przewodzenia: od warstwy I-V do wzgórza znajduje się droga rdzeniowo-wzgórzowa, następnie do tworzącego siatkowatego i wzgórza-rdzeniowo siatkowata i rdzeniowo-śródmózgowa prowadząca do śródmózgowia.

e) Percepcja.

Po osiągnięciu kory mózgowej bodziec bólowy impuls elektryczny zaczyna być odczytywany jako ból (Dowdy 2021; Szkutnik-Fiedler i in. 2013).

6. Behavior bólowy

Zwierzęta nie posługują się komunikacją werbalną a jedynie wokalną i niewerbalną wobec czego ból najczęściej będzie demonstrowany zmianą zachowania. Różnice w wyrażaniu bólu są zależne od wielu czynników takich jak: rasa, wiek, temperament czy wcześniejsze doświadczenia. Możliwość występowania bólu przewlekłego może objawiać się poprzez:

- nadmierne reakcje na bodźce,
- występowanie zachowań nietypowych,
- okresowe zmiany nastroju,
- wystąpienie zachowań agresywnych i brak ich sekwencji,
- unikanie kontaktu z opiekunem oraz innymi osobnikami,
- niechęć do ruchu,
- trudności ze zmianami pozycji ciała oraz przyjmowanie tych nietypowych,
- zachowania kompulsywne,
- ograniczenie zachowań ujętych w etogramie.

Ból ostry wywołuje zachowania, które polegają na unikaniu, ucieczce oraz czujności i utrzymujących się zachowań obronnych.

Wśród innych behawioralnych objawów bólu wyróżnić można:

- a) Wylizywanie ciała i innych powierzchni - u psów dotyczy głównie kończyn, natomiast u kotów- brzucha. W ten sposób zwierzęta mogą odreagowywać dyskomfort towarzyszący chorobom. U pierwszego gatunku może być widoczne jako ziarniak wylizywania, u drugiego- niezapalne zmiany związane z utratą włosów. Zachowanie to u psów może mieć związek z chorobami takimi jak: zaburzenia żołądkowo-jelitowe, atopowe zapalenie skóry, alergie i nietolerancje pokarmowe, neuropatie, choroby kończyn (zwyrodnienia, złamania). Koty przejawiają w ten sposób cukrzycę, choroby przebiegające ze świądem, otyłość, problemy ortopedyczne, raka trzustki czy zespół urologiczny.
- b) Pogoń za własnym ogonem - towarzyszy często zaburzeniom korowym. ale może być także spowodowane bólem. W przypadku pierwszego schorzenia zwierzę wykonuje ruchy tylko w jedną stronę natomiast podczas objawów behawioralnych chodzi w kółko tylko w prawo lub tylko w lewo. Występuje podczas świerzbów, bólów fantomowych lub zespołu końskiego ogona.
- c) Spaczony apetyt - występuje częściej u psów. Wśród przyczyn znajdują się zaburzenia żołądkowo-jelitowe i nietolerancja pokarmowa.
- d) Łapanie much - najczęściej obserwuje się w przypadku niedoczynności tarczycy. Polega na wyciąganiu głowy i kłapanie zębami w powietrzu [Kopania i Słyk-Przeździecka 2018a].
- e) Brak posłuszeństwa- oprócz błędów w treningu może być pierwszym objawem choroby. Dotyczy najczęściej urazów ortopedycznych (ból stawów).
- f) Wskakiwanie na meble- urazy ortopedyczne mogą skłaniać zwierzę do poszukiwania dogodnych, miękkich miejsc, aby zmniejszyć dyskomfort.

- g) Załatwianie potrzeb fizjologicznych w niewłaściwych miejscach - najczęściej obserwowana u kotów. Periuria dotyczy najczęściej bólu spowodowanego chorobą dolnych dróg moczowych, powoduje dyskomfort, wokalizację oraz charakterystyczną pozycję podczas próby mikcji. Zwierzę zaczyna kojarzyć kuwetę z bólem przez co załatwia się w innych miejscach. Może świadczyć to o cukrzycy, uszkodzeniu dolnego neuronu ruchowego, schorzeń ortopedycznych czy nadczynności tarczycy.
- h) Agresja - dotykaniu bolącego miejsca powoduje odczuwanie bólu, przez co zwierzę może zachowywać się agresywnie. Faza groźenia jest bardzo skrócona, a faza ataku tylko częściowo kontrolowana. Pojawić się może także agresja przeniesiona, dotyczy głównie kotów. Najczęściej związane jest to z dysplazją stawów biodrowych.
- i) Strach, lęk, fobia - wiele zwierząt zamiast strategii ataku wybiera wycofanie. Ból może wywoływać u nich lęk lub fobię (Kopania i Słyk-Przeździecka 2018b).

7. Środki używane w leczeniu bólu

Podczas zwalczania bólu istotne jest wielokierunkowe podejście. Oprócz stosowania substancji o działaniu ochronnym należy rozszerzyć leczenie poza leki używane w pierwszej kolejności- niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ). Ważną rolę odgrywa unormowanie składu ciała. Zwierzęta cierpiące na ból przewlekły są najczęściej mniej aktywne. Sprzyja to gromadzeniu się tkanki tłuszczowej, co powoduje nadwagę lub otyłość, a także wydzielanie prozapalnych hormonów, które wpływają na zwiększone odczuwanie przewlekłego bólu. Należy zmniejszyć kalorie, ale także zastosować odpowiednią dietę, która pomoże selektywnie spalić tkankę tłuszczową. W celu zmniejszenia bólu i stanu zapalnego można zastosować kwasy omega-3 (szczególnie EPA) lub mikrolaktynę (Downing 2019).

Wśród leków używanych w terapii bólu znajdują się:

- Tramadol- najczęściej stosowany środek podczas postaci przewlekłej. Pobudza receptory opioidowe klasy μ oraz aktywację zstępującego układu nocyceptywnego poprzez hamowanie zwrotnego wychwytu noradrenaliny i 5-HT. Działanie jest nasilane przez inne analgetyki, wykazując znoszenie bólu.
- Gabapentyna- stosowana powszechnie w leczeniu padaczki i bólu neuropatycznego u zwierząt. Wykazano także korzystne działanie podczas eliminowania ostrego bólu pooperacyjnego u psów, a także w ciężkich stanów bólowych po urazach opornych na klasyczne leczenie u kotów. Działanie polega na hamowaniu zstępujących szlaków nocyceptywnych rdzenia kręgowego.
- Pregabalina- działanie bardzo podobne do gabapentyny, jednak przewyższa ją 3-10- krotnie oraz nie wywołuje klinicznie istotnych reakcji z innymi lekami stosowanymi w polifarmakoterapii. Hamuje presynaptyczne i postsynaptyczne neuroprzekaźniki (kwas gamma-aminomasłowy). Stosowana jest w bólach neuropatycznych oraz jako lek dodatkowy w zwalczaniu bólu pochodzenia obwodowego lub ośrodkowego.
- Amantadyna- jest lekiem przeciwwirusowym, jednak ma także działanie antagonistyczne względem receptora NMDA. Może być stosowana w terapii bólu tylko z innymi analgetykami. U psów stosowana w leczeniu zwyrodnieniowego zapalenia stawów w przypadku bólu opornego na monoterapię NLPZ.
- Ketamina- niekompetycyjny antagonist receptorów NMDA. Wykorzystywany jako dodatek do terapii innymi lekami przeciwbólowymi, głównie opioidami przez co możliwe jest zmniejszenie ich dawki. Stanowi składową przedoperacyjnego schematu przeciwbólowego podczas zabiegów chirurgicznych, u pacjentów pourazowych, a także w przypadku bólu przewlekłego jak część terapii odwracającej (Kania i Lisowska 2022).

8. Podsumowanie

Ból wpływa na zachowanie zwierząt w znacznym stopniu. Narażone są na niego zarówno osobniki młode jak i starsze. Z racji, że zwierzęta komunikują się z opiekunami za pomocą sygnałów niewerbalnych należy zwracać uwagę na każdą zmianę zachowania., np. wylizywanie ciała oraz powierzchni, pogoń za własnym ogonem, spaczony apetyt, łapanie much, brak posłuszeństwa, wskakiwanie na meble, załatwianie potrzeb fizjologicznych w miejscach niewłaściwych, agresja, czy strach, lęk oraz fobia. Przed podjęciem decyzji o terapii behawioralnej należy sprawdzić stan zdrowia podopiecznego, ponieważ wiele zaburzeń behawioralnych ma odzwierciedlenie w stanie zdrowia zwierzęcia. Zrozumienie mechanizmu bólu oraz jego rodzajów umożliwi podjęcie odpowiednich kroków minimalizujących jego odczuwanie.

9. Bibliografia

- Cooley K (2024) Ocena bólu u zwierząt towarzyszących. Weter. Po Dypl. 02/2024, 49-54.
- Dobrogowski J., Zajączkowska R., Dutka J., i in. (2011) Patofizjologia i klasyfikacja bólu. *Via Medica* ISSN 1734–5251, 20-30.
- Domżał T (2007) Kliniczne podstawy badania i oceny bólu - wprowadzenie do tematu. *Polski Przegląd Neurologiczny* 2007. *Via Medica* ISSN 1734–5251, 211-215.
- Downing R (2019) Zwalczanie bólu i zapalenia- coś więcej niż tylko NLPZ. *Weter. po Dypl.* 20(4), 56-63.
- Dowdy MS (2021) Od nerwów obwodowych do percepcji- ścieżki bólu. *Med. Weter.* 22(1), 38-40.
- International Association for the Study of Pain (2020). <https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/>.
- Kania B, Bracha U, Lonc G i in. (2020) Rola antagonistów glutaminianergicznych receptorów metabotropowych w eksperymentalnym bólu neuropatycznym u zwierząt. *Med. Weter.* 76(10), 564-571.
- Kania BF, Lisowska W (2022) Ból neuropatyczny i jego leczenie u psów i kotów. *Mag. Wet.* 01/2022, 19-26.
- Kopania A, Słyk-Przeździecka A (2018a) Zły czy chory? Objawy behawioralne spowodowane bólem u psów i kotów. Cz. I. *Mag. Wet.* 27(04), 13-19.
- Kopania A, Słyk-Przeździecka A (2018b) Zły czy chory? Objawy behawioralne spowodowane bólem u psów i kotów. Cz. II. *Mag. Wet.* 27(09), 60-64.
- Łapińska J (2014) Odczuwanie bólu i jego negatywny wpływ na zachowanie oraz stan emocjonalny psów. Etyczne aspekty kontroli bólu u psów. *Vet Personel* 3, 52-56.
- Łapińska J (2017) Chroniczny ból jako przyczyna zmian behawioralnych. *Animal Expert* 1, 10-13.
- Szkućnik-Fiedler D, Sierżant M, Madziara J (2013) Mechanizmy powstawania bólu. *Farmacja Współczesna* 6, 1-3.
- Suwińska W (2023) Jak rozpoznać, że coś psa boli? <https://www.pieszcharakterem.pl/artukul/jak-rozpoznać-ze-cos-psa-boli>.
- Wypyszewska J, Kopański Z, Kulesa-Mrowiecka M, Rowiński J i in. (2018) Klasyfikacja bólu. *Journal of Clinical Healthcare* 2, 12-17.