

KONRAD DZIĄBA, ZBIGNIEW SZYMKIEWICZ, TADEUSZ JAKUBOWSKI,
 MARIAN BINEK, BOGDAN BARTOSZ

Próba doustnego uodporniania świń przeciwko kolibakteriozie w warunkach terenowych

Katedra Epizootiologii i Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
 ul. Grochowska 272, 03-848 Warszawa

W swoistym zapobieganiu kolibakteriozie świń stosuje się do tej pory szczepionki parenteralnie. Po tego typu szczepieniach powstaje głównie odporność ogólna, w niskim stopniu odporność miejscowa nie zabezpieczająca zwierząt przed chorobami, w których proces patologiczny toczy się w przewodzie pokarmowym. Do takich chorób można również zaliczyć kolibakteriozę w postaci jelitowej, przy której zwierzęta chorują pomimo szczepienia parenteralnego. Stosowane w przeszłości na szerszą skalę antybiotyki w leczeniu i zapobieganiu kolibakteriozie również nie przyniosły pożądanych efektów, gdyż większość z nich stosowana na przestrzeni szeregu lat przestała skutecznie działać. W związku z tym w latach siedemdziesiątych rozpoczęto badania nad mechanizmami miejscowej (śluzowej) odpowiedzi immunologicznej oraz zastosowaniem szczepień doustnych i aerozolowych na szerszą skalę w terenie.

Do poznania miejscowych mechanizmów odpornościowych przyczyniły się głównie prace autorów anglosaskich Allena i Portera (1) oraz Bourna i wsp. (5). Natomiast prace Portera i wsp. (6, 10) oraz Baljera i wsp. (2) wykazały skuteczność tego typu szczepień w zapobieganiu kolibakteriozie prosiąt w warunkach terenowych. Przeglądu tematycznego piśmiennictwa dokonywało wielu autorów (4, 8, 9).

Celem niniejszej pracy było określenie immunogenności i skuteczności doświadczalnej inaktywowanej szczepionki przeciw kolibakteriozie świń.

Materiał i metody

Dobór enteropatogennych szczepów *E. coli* do przygotowania doświadczalnej szczepionki oparto na następujących kryteriach: intensywnego i stałego wytwarzania enterotoksyn, co oceniano na podstawie wyników próby pętli jelitowej na prosiętach i w hodowli linii komórek CHO*), (3) oraz wybierania szczepów posiadających antygen adhezyjny o strukturze pili K88. Na podstawie wymienionych cech do produkcji szczepionki wybrano następujące szczepy *E. coli*: O149:K91:K88 ac; O8:K87 K88; O141:K91 K88 ac; O138:K81. Szczepionkę w oparciu o dostarczone szczepy na skalę półtechniczną przygotowano w Warszawskiej Wytwórni Surowiec i Szczepionek.

Immunogenność inaktywowanej 0,2% formaliną

*) — CHO — ciągła linia komórek jajnika chomika chłopskiego.

szczepionki sprawdzano na prosiętach konwencjonalnych i gnotobiotycznych, a skuteczność na świnkach w 2 tuczarniach trzody chlewnej. Sześciu odsadzonym prosiętom o wadze 15–20 kg podawano szczepionkę przez 10 dni, następnym 6 sztukom przez 21 dni; 5 prosiąt stanowiło kontrolę. Dzienna dawka szczepionki dla prosiąt konwencjonalnych wynosiła 1 ml o koncentracji $1,5 \times 10^{10}$ bakterii wymieszana z 1/2 litra mleka. Podawano ją przed zasadniczą porą karmienia. Trzy prosięta gnotobiotyczne otrzymywały również przez 10 dni 3 ml szczepionki o gęstości 10^{10} bakterii z mlekiem począwszy od 10 dnia życia; 2 prosięta stanowiły kontrolę.

Dla sprawdzenia miejscowej odporności po podaniu szczepionki zastosowano test jelitowy u wszystkich prosiąt, natomiast dodatkowo w prosiąt konwencjonalnych określano poziom przeciwciał w surowicy i śluzie jelit. U prosiąt konwencjonalnych test jelitowy i poziom przeciwciał w \log_2 określano po tygodniu, u prosiąt gnotobiotycznych test jelitowy po 2 tygodniach od zakończenia podawania szczepionki. Do testu jelitowego użyto 2 patogennych szczepów O149:K91 K88 ac oraz O8:K87 K88, które uwzględniono również przy produkcji szczepionki. Badania na prosiętach gnotobiotycznych przeprowadzono w Wyższej Szkole Weterynaryjnej w Hannoverze, a uzyskane wyniki opublikowano (7).

Doświadczenia terenowe nad skutecznością szczepionki przeprowadzono w tuczarniach D i B. Doświadczenia prowadzone były w normalnych warunkach produkcyjnych. W tuczarni D doświadczeniem objęto 10 253 zwierzęta, w tym 5919 świń poddano szczepieniom, a 4224 stanowiły kontrolę. W tuczarni B doświadczenie przeprowadzono na 10 451 świniami, w tym 5183 świnie poddano doustnym szczepieniom, a 5270 zwierząt stanowiło kontrolę.

Świnie wystawione do tuczu były w podobnej kondycji i wyrównanej wadze w granicach 25 — 30 kg. Szczepionkę podawano w dawce 1 ml o koncentracji 10^{10} bakterii na sztukę z paszą od pierwszego odpasu codziennie po wstawieniu grupy warchlaków do poszczególnych chlewni. Całą obsadę z reguły kompletowano w chlewni przez 1 — 5 dni. Po wypełnieniu chlewni zwierzętami podawano szczepionkę przez dalszych 10 kolejnych dni. Szczepienia przeprowadzono w okresie kwiecień — czerwiec, a wyniki rejestrowano do końca tuczu świń.

Ocenę wyników terenowego uodporniania świń oparto na ocenie zdrowotności zwierząt mierzonej liczbą zachorowań, padnięć i selekcji, oraz uzyskanych efektach ekonomiczno-produkcyjnych. Ocenę efektów produkcyjnych przeprowadzono na podstawie miesięcznych przyrostów masy ciała według zasad przyjętych w 1980 r. przez Centralę Przemysłu Mięsnego. W każdej chlewni, tak doświadczalnej jak i kontrolnej, wazono świnie z 2 kojców w odstępach miesięcznych w ciągu całego tuczu. W zależności od liczby świń w poszczególnych kojcach procent ważonych świń w chlewniach wahał się od 15,6% do 27,2% całego pogłowia. Wazenie zwierząt odbywało się zawsze w godzinach rannych przed odpasem. Istotność przyrostów wagowych w poszczególnych miesiącach tuczu wyliczano przy pomocy testu t-Studenta.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki badań podano w kolejnych tab. 1—3.

W tab. 1 przedstawiono zachowanie się przeciwciał w surowicy i śluzie jelit w stosunku do antygenów somatycznych szczepów *E. coli* O149 i O8 zawartych w szczepionce. W zasadzie nie stwierdzono istotnych różnic w zachowaniu się przeciwciał tak w surowicy, jak i śluzie jelit w stosunku do obydwu antygenów. Wykazano istotny wyższy poziom przeciwciał ($P \leq 0,05$) w śluzie w grupie prosiąt szczepionych przez 10 dni w stosunku do szczepu O149 i w surowicy krwi w grupie szczepionej przez 21 dni w stosunku do antygeny O8.

Wyniki testu pętli jelitowych u prosiąt konwencjonalnych przedstawia tab. 2. W grupie zwierząt otrzymujących szczepionkę w ciągu 10 dni, u 3 prosiąt na 6 stwierdzono wysoką odporność miejscową jelit, manifestującą się

Tab. 1. Zachowanie się przeciwciał w surowicy i śluzie jelit prosiąt szczepionych przez 10 i 21 dni doustnie szczepionką inaktywowaną (testem Coombsa)

Zwierzęta	Liczba zwierząt	Zachowanie się przeciwciał wyrażonych w \log_2			
		szczep O149		szczep O8	
		surowica	śluz	surowica	śluz
Kontrolne	5	4,34	3,33	3,75	2,95
Szczepione: przez 10 dni	6	4,34	4,34*	3,93	3,33
przez 21 dni	6	4,34	3,66	4,84*	3,16

Objaśnienie: * — różnica istotna na poziomie $P \leq 0,05$.

Tab. 2. Wyniki badania odporności miejscowej testem pętli jelitowych u świń uodpornianych doustnie i kontrolnych

Szczepy <i>Escherichia coli</i>	Rozcieńczenie hodowli <i>Escherichia coli</i>	Liczba zwierząt wykazujących odporność miejscową w testie jelitowym przy różnych rozcieńczeniach badanych szczepów		
		prosiąta uodporniane		kontrolne
		10 dni	21 dni	
O149:K91 K88 ac	10^{-1}	1/6	2/6	0/5
	10^{-2}	2/6	2/6	0/5
	10^{-3}	0/6	0/6	1/5
	10^{-4}	0/6	1/6	0/5
	10^{-5}	0/6	0/6	2/5
	10^{-6}	2/6	1/6	1/5
	10^{-7}	1/6	—	1/5
O8:K87 K88	10^{-1}	2/5	1/6	1/5
	10^{-2}	1/5	2/6	0/5
	10^{-3}	1/5	1/6	0/5
	10^{-4}	0/5	1/6	0/5
	10^{-5}	0/5	0/6	3/5
	10^{-6}	1/5	1/6	0/5
	10^{-7}	0/5	0/6	1/5

Tab. 3. Dynamika przyrostu masy świń szczepionych doustnie i kontrolnych w tuczarni D

Miesiąc tuczu	Wielkość średnia		Odchylenie standardowe		Liczba grup	
	\bar{x}_1 (szczep.)	\bar{x}_2 (kontrol.)	S_1 (szczep.)	S_2 (kontrol.)	n_1	n_2
I	0,373	0,372	0,098	0,106	10	8
II	0,749*	0,621	0,120	0,086	10	8
III	0,628	0,652	0,047	0,280	10	8
IV	0,629	0,565	0,150	0,090	10	8
V	0,755*	0,429	0,042	0,159	2	3
Cały okres tuczu	0,616*	0,564	0,029	0,031	10	8

Objaśnienie: * — różnica istotna na poziomie $P \leq 0,05$.

niewrażliwością na podanie enterotoksycznego szczepu O149:K91 K88 ac w rozcieńczeniu 10^{-1} — 10^{-2} . Po podaniu szczepionki przez 21 dni miejscową odporność wykazano u 4 prosiąt. Podobne wyniki uzyskano po zastosowaniu szczepu O8:K87 K88, a mianowicie w niskich rozcieńczeniach (10^{-1} — 10^{-3}) w obydwu grupach szczepionych 4 z 6 prosiąt wykazało miejscową odporność w porównaniu z grupą kontrolną, w której tylko jedna na 5 badanych sztuk była odporna. W nie cytowanych w pracy badaniach, odporność miejscową określoną testem jelitowym stwierdzano do 20 — 28 dnia.

Wyniki badań na prosiątach gnotobiotycznych (7) wykazały, że doświadczalna szczepionka cechuje się dobrymi właściwościami uodporniającymi. Reakcję dodatnią w testie jelitowym u prosiąt szczepionych stwierdzono tylko przy rozcieńczeniu 10^{-1} — 10^{-2} , natomiast u prosiąt kontrolnych reakcje dodatnie występowały we wszystkich pętlach jelit od 10^{-1} do 10^{-7} . Występowanie reakcji tylko w pętli jelit przy rozcieńczeniu enteropatogennego szczepu *E. coli* 10^{-1} — 10^{-2} u prosiąt uodpornianych świadczy o wysokiej odporności miejscowej w jelitach w stosunku do zwierząt w pełni wrażliwych, u których reakcja dodatnia wystąpiła we wszystkich pętlach od 10^{-1} do 10^{-7} . Odporność miejscową u części zwierząt stwierdzono jeszcze po 21 dniach po uodpornieniu.

Po podaniu przez 10 dni doustnie prosiętom szczepionki w dawce 10^{10} powoduje ona powstanie odporności miejscowej w przewodzie pokarmowym. Wyniki te są zgodne z wynikami uzyskanymi przez Baljera i wsp. (2) na prosiętach konwencjonalnych oraz Stokesa i wsp. (11) na myszkach.

Ocena skuteczności stosowania doustnie szczepionki w 2 wielkostadnych hodowlach trzody chlewnej nie dała jednoznacznej odpowiedzi. W tuczarni D kolibakterioza nie stanowiła większego problemu, trudno więc było dokonać oceny skuteczności. Natomiast w tuczarni B w grupie kontrolnej w pierwszych 2 miesiącach tuczu stwierdzono 26 przypadków kolibakteriozy potwierdzonej bakteriologicznie, w grupie doświadczalnej nie stwierdzono przypadków tej choroby.

Zestawienie przyrostów masy w tuczarni D w okresie miesięcznego tuczu zwierząt szczepionych i kontrolnych przedstawiono w tab. 3. Istotne różnice w przyrostach uzyskano w drugim miesiącu. W tym czasie (7, 21, 28 dnia po szczepieniu) występuje miejscowo antytoksyczna odporność jelitowa. Zużycie paszy w jednostkach owsianych na 1 kg przyrostu w okresie całego tuczu nie różniło się pomiędzy grupą doświadczalną i kontrolną i wynosiło 4,5. Masa ubojowa jednej świni z grupy uodpornianej wynosiła średnio 82,92 kg i była o 7 kg wyższa niż średnia masa świń z grupy kontrolnej (75,81 kg). Można więc stwierdzić, że zwiększone przyrosty masy ciała u świń obserwowano wówczas, kiedy w badaniach eksperymentalnych wykazano istnienie miejscowej odporności. Zwiększone przyrosty masy w 2 miesiącu tuczu wpłynęły na wyższą końcową masę świń.

Podobne lepsze wyniki produkcyjne u świń szczepionych uzyskano w tuczarni B. Zużycie paszy na 1 kg przyrostu w grupie świń szczepionych wynosiło 4,68 j.o., w grupie kontrolnej 5,28 j.o. Natomiast średnia masa świni w momencie uboju dla świń szczepionych wynosiła 108,4 kg, w grupie kontrolnej — 98,6 kg. Uzyskane wyniki po zastosowaniu doświadczalnej szczepionki przeciw kolibakteriozie są zgodne z wynikami uzyskanymi przez Portera i wsp. (10), którzy stosowali handlowy opatentowany preparat endotoksyny. Uzyskane wyniki wskazują, że stymulacja przyrostów masy ciała świni następuje bezpośrednio lub jeszcze w trakcie pojawienia się miejscowej odporności antytoksycznej i antybakteryjnej. Sugeruje to, że stymulacja przyrostów masy ciała świń miała związek z pojawieniem się miejscowej odporności. Badaniu mechanizmu tego zjawiska będzie poświęcona następna praca.

Wnioski

1. Wieloważna zabita formaliną szczepionka przeciw kolibakteriozie podana doustnie prosiętom przez 10 dni wyzwała odporność miejscową w przewodzie pokarmowym.

2. Po doustnym podawaniu szczepionki w okresie występowania odporności miejscowej lub w krótkim okresie po jej ustąpieniu stwierdzono zwiększone przyrosty masy ciała świń.

3. Podana doustnie prosiętom wieloważna, zabita szczepionka przygotowana z chorobotwórczych szczepów *E. coli* zapobiega kolibakteriozie prosiąt.

Piśmiennictwo

1. Allen W. D., Porter P.: *Immunology* 24, 493, 1973.
2. Baljer G., Chorherr S., Sieckel E., Gissen D.: *Zbl. Vet. Med.* B 23, 364, 1976.
3. Binek M., Niemiattowski M., Szykiewicz Z., Klimuszko D., Jakubowski T.: *Medycyna Wet.* 36, 532, 1980.
4. Bourne F. J., Newby T. J., Evans P., Morgan K.: *Ann. Rech. vet.*, 9, 239, 1978.
5. Bourne F. J., Pickup J., Honour J. W.: *Biochem. Biophys. Acta.* 229, 18, 1971.
6. Chidlow J. W., Blades J. A., Porter P.: *Vet. Rec.* 105, 437, 1979.
7. Dziąba K., Hertrampf B., Mlckvitz G.: *Prakt. Tierarzt.* 64, 300, 1983.
8. Husband A. J., Watson D. L.: *Vet. Bull.* 48, 911, 1978.
9. Murray M.: *Vet. Rec.* 93, 500, 1973.
10. Porter P., Kenworthy W., Aleen W. D.: *Vet. Rec.* 95, 99, 1974.
11. Stokes C. R., Newby T. J., Huntley J. H., Patel D., Bourne F. J.: *Immunology* 33, 497, 1979.

Adres autora: doc. dr habil. Konrad Dziąba, ul. Grochowska 272, 03-840 Warszawa.

Дзиомба К., Шинкевич З., Якубовский Т., БинеК М., Бартош Б. — **Попытка пероральной иммунизации свиней против колибактериоза в местных условиях**

Иммуногенность инактивированной 0,2% формалином смешанной вакцины против колибактериоза свиней, введенной перорально 10 и 21 день, провели на 17 поросятах при помощи кишечного теста и уровня противотел в сыворотке крови и слизи кишек. Эффективность вакцины проверили в 2 откормочниках на 20 700 свиньях.

Отмечено, что у свиней, вакцинированных 10 дней перорально, появился местный иммунитет в пищеварительном тракте. Эти животные характеризовались лучшими привесами по сравнению с контрольной группой. Привесы свиней появились в период, когда в экспериментальных условиях показано местный иммунитет.

Вакцина предотвращала колибактериоз в объекте, в котором ее экспериментально применено.

Dziąba K., Szykiewicz Z., Jakubowski T., Binek M., Bartosz B. — **An attempt to immunize pigs against colibacteriosis under field conditions**

Immunogenicity of mixed vaccine inactivated with formalin (final concentration — 0.2 per cent) was examined on 17 piglets on the basis of intestinal test and the level of antibodies in sera and intestinal mucus. The efficacy of the vaccine was assessed in pigs in two pig houses containing 20 700 animals. It was found that in pigs vaccinated for ten days orally there occurred a local immunity in the alimentary tract. The animals showed better weight gains compared with control ones. Weight gains correlated well with local immunity persistence. The vaccine protected the pigs against colibacteriosis in the premises under study.