

Efektywność immunoprofilaktyki w zwalczaniu mieszanych zakażeń *C. perfringens* i *E. coli* u ssących prosiąt

ZYGMUNT PEJSAK, PIOTR KOŁODZIEJCZYK

Zakład Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Pejsak Z., Kołodziejczyk P.

Usefulness of polyvalent vaccine in the control of necrotic enteritis and *E. coli* enterotoxigenesis in piglets

Summary

Infections with enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) and *Clostridium perfringens* type C cause significant problems in pig farms. *E. coli* enterotoxigenesis and necrotic enteritis affect piglets in their early days of life. The main virulent antigens of ETEC are F4, F5, F6 and heat-labile enterotoxin. The most important virulent antigens of *Clostridium perfringens* are the protein toxins and, for type C, the beta toxin. Through the effect of the beta-toxin the enterocytes of the piglet intestine will be damaged and necrotic lesions will result. The beta-toxin enters the blood and the piglets are affected by enterotoxaemia. Active protection of piglets by vaccination is impossible. The vaccination of sows and the transmission of antibodies via the colostrum and the milk is the only specific effective way to protect the piglets against both diseases.

The aim of the present study was to estimate the safety and effectiveness of Clostridial vaccination against *E. coli* enterotoxigenesis and necrotic enteritis (EIT). For this purpose an inactivated vaccine composed of an *E. coli* component and a Clostridia component with the adjuvant aluminium hydroxide was used. The *E. coli* component consists of four *E. coli* strains: O8:K87,K88ab, O149:K91,K88ac, O101K(A),K99, CS2011(O?):(K?):987p + 59AU (latex agglutinating units) K88,140AU K99, 30AU 987p and 2 AU heat-labile toxoid. The clostridia component produces beta toxoid, inducing at least 10 IU beta antitoxin per ml rabbit sera.

This study was conducted on a farm with 3000 sows (the farm produces 40.000 fatteners per year). 15% of losses before weaning were observed. Colibacillosis and EIT were the main factors in these losses. Bloody diarrhoea and an increased number of deaths of suckling piglets were observed. The pregnant sows were vaccinated twice at 6 and 2 weeks ante partum in every 6 technologic groups (407 sows were vaccinated). In experimental groups, only 6.48-16.3% of animals with diarrhoea were detected; in the control group there were 43.7% of animals with this symptom. The losses caused by death of suckling pigs were 3.78-6.37% in experimental groups and 15% in the control group. The results of our studies show that Clostridial vaccine protects against *C. perfringens* type C and *E. coli* infection.

Keywords: swine, vaccine, *Escherichia coli*, EIP.

Biegunki prosiąt ssących są ważnym zagadnieniem ekonomicznym, rejestrowanym przede wszystkim w gospodarstwach wielkotowarowych. Z pewnością problem ten występuje w nie mniejszym stopniu w chlewniach drobnotowarowych, jednak ze względu na skalę oraz podejście hodowców do produkcji nie jest on właściwie doceniany.

Przyczyną biegunek prosiąt ssących jest przede wszystkim kolibakterioza. Czynnikiem etiologicznym choroby są patogenne szczepy *Escherichia coli*, które w odróżnieniu od występujących w przewodzie pokarmowym niechorobotwórczych szczepów pałeczki okrężnicy, charakteryzują się obecnością czynników patogenności. Są nimi fimbrie swoiste oraz enterotoksyny (5).

Ważną przyczyną biegunek prosiąt bywają – szczególnie w gospodarstwach wielkotowarowych – Gram-dodatnie laseczki *Clostridium perfringens* typ C (*C. perfringens* C), posiadające zdolność wytwarzania toksyny beta (2). *Clostridium perfringens* C jest czynnikiem etiologicznym zakaźnej enterotoksemii prosiąt osesków (enterotoxaemia infectiosa porcellorum – EIP). Choroba ta pojawia się stacjonarnie, najczęściej w okresie zimy lub na początku wiosny, przede wszystkim w chlewniach wielkotowarowych, w których na porodowce panują nie najlepsze warunki środowiskowe. Zakaźna enterotoksemia prosiąt osesków obejmuje wszystkie prosięta w miocie, jednak nie wszystkie mioty przebywające równocześnie na porodowce ulegają zachorowaniu, co jest cechą charakterystyczną tej

choroby. Choroba raz zawleczona do chlewni utrzymuje się w niej długo, wykazując tendencję do enzootycznych nawrotów. Według Cygana (3, 4) w Polsce rejestruje się corocznie kilka ognisk EIP (wszystkie w dużych chlewniach).

Niejednokrotnie, przyczyną biegunek prosiąt ssących są występujące w chlewni oba przedstawione gatunki drobnoustrojów równocześnie. W okresie ostatnich 5 lat w ramach współpracy Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie z Państwowym Instytutem Weterynaryjnym potwierdzono laboratoryjnie występowanie EIP w trzech liczących ponad 2000 loch gospodarstwach; we wszystkich obiektach wykazano równoczesne występowanie patogennych szczepów pałeczek okrężnicy. Konsekwencją ujawnienia się choroby były poważne straty wśród prosiąt osesków. W profilaktyce wspomnianych zakażeń wykorzystuje się zazwyczaj jednoważne szczepionki przeciw kolibakteriozie (6, 8) lub przeciwko EIT (3, 7). Wykazano bowiem, że koncentracja przeciwciał skierowanych przeciw enterotoksynie LT i antygenom fimbrialnym *E. coli* oraz antytoksynie beta *C. perfringens* C jest we krwi prosiąt ssących istotnie wyższa niż we krwi i sianie immunizowanych loch karmiących i w sposób skuteczny chroni przed infekcją (1, 3).

Celem prezentowanych badań było stwierdzenie nieszkodliwości oraz określenie efektywności działania szczepionki Clostricol (prod. Impsstoffwerk Dessau-Tornau GmbH) w warunkach doświadczalnych i terenowych.

Materiał i metody

Szczepionka. Clostricol jest inaktywowaną skojarzoną szczepionką przeciwko kolibakteriozie prosiąt i zakaźnemu martwicowemu zapaleniu jelit. Jedna dawka szczepionki – 4 ml zawiera co najmniej $1,76 \times 10^{10}$ inaktywowanych komórek *E. coli*; szczepy: O8:K87,K88ab, O149:K91,K88ac, O101K(A-),K99, CS2011(O?):(K?),987p + 59AU (latex agglutinating units) K88,140AU K99, 30AU 987p. Ponadto w szczepionce zawarta jest inaktywowana enterotoksyna ciepłochwiejna (LT) pałeczek okrężnicy 2 AU oraz toksyna beta *C. perfringens* C. Jako adjuwant zastosowano wodorotlenek glinu. Środkiem konserwującym jest tiomersal. Szczepionka przeznaczona jest do uodporniania loch w okresie 6 i 2 tygodni przed porodem. Biopreparat należy aplikować lochom podskórnie w dawce 4 ml.

Gospodarstwo, w którym przeprowadzono obserwacje terenowe. Badania przeprowadzono w fermie S, której stado podstawowe liczyło około 3000 loch. Rocznie produkuje się w fermie około 40 000 tuczników. Technologia produkcji oparta jest na tworzeniu w okresie 5 dni grupy loch prośnych, liczących 75 samic. Prosięta odsadzane są w wieku średnio 25 dni. W porodowce i warchlakarni przestrzegana jest zasada „całe pomieszczenie pełne – całe pomieszczenie puste”. W chlewni okresowo prowadzone są szczepienia przeciw kolibakteriozie prosiąt oraz pleuropneumonii świń. W listopadzie 1998 r., stwierdzono nagle, w około połowie rodzących się miotów, objawy ostrej biegunki, która ujawniała się u osesków liczących zaledwie 2-

4 dni. Objawy kliniczne choroby – biegunka z domieszką krwi oraz nagłe padnięcia osesków wskazywały, że główną przyczyną choroby może być *C. perfringens* C. Padnięcia prosiąt w miotach dotkniętych chorobą sięgały 40%. Średnio w grupach technologicznych rejestrowano około 15% strat prosiąt w okresie przed odsadzeniem. Badaniami bakteriologicznymi potwierdzono obecność beztlenowców *C. perfringens* wytwarzających beta toksynę, działającą letalnie i nekrotyzująco. Dodatkowo, w wyizolowanych z kału pałeczkach okrężnicy, testem aglutynacji wykryto fimbrie *E. coli*, natomiast testem PCR wykazano obecność genu kodującego wytwarzanie fimbrii F18 (7).

Postępowanie. Ocena efektywności szczepień w warunkach terenowych. Szczepionkę zastosowano w sześciu kolejnych grupach technologicznych loch; w sumie u 407 zwierząt. Biopreparat podawano dwukrotnie zgodnie z zaleceniami producenta. Dla oceny nieszkodliwości oraz efektywności szczepionki mierzono następujące parametry: liczbę prosiąt urodzonych w miocie; liczbę prosiąt martwo urodzonych, liczbę/odsetek prosiąt z objawami biegunki, liczbę/odsetek prosiąt padłych w okresie przed odsadzeniem. Dodatkowo z każdej grupy doświadczalnej oraz z grupy kontrolnej wybrano losowo 15 miotów prosiąt. W odniesieniu do wszystkich prosiąt z tych miotów określono średnią urodzeniową masę ciała oraz średnią masę ciała w dniu odsadzenia. Wyniki uzyskane w grupach doświadczalnych porównano z danymi z grupy loch nie szczepionych z okresu tuż przed wprowadzeniem immunoprofilaktyki. Uzyskane rezultaty poddano analizie statystycznej za pomocą testu analizy wariancji (arkusz kalkulacyjny Excell), i przedstawiono tabelarycznie oraz na wykresach.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań terenowych wykazały, że szczepionka podawana w dawkach zalecanych przez producenta jest w pełni bezpieczna, a indukowanie powstawania przeciwciał swoistych w organizmie matki oraz dostarczenie ich drogą siarową noworodkom w sposób skuteczny chroni je przed EIP oraz kolibakteriozą. Dowodem powyższego była niska zachorowalność oraz padnięcia prosiąt z objawami biegunki (tab. 1). W kale prosiąt padłych nie wyizolowano szczepów *E. coli* charakteryzujących się obecnością antygeny fimbrialnego. We wszystkich grupach doświadczalnych liczba prosiąt chorujących z objawami biegunki była wielokrotnie niższa niż w grupie kontrolnej. W grupach tych odsetek prosiąt z biegunką mieścił się w granicach (6,48-16,3%), zaś w grupie kontrolnej w skrajnym przypadku osiągnął on aż 43,7%. Podobne różnice stwierdzono w zakresie padnięć prosiąt ssących. W okresie przed odsadzeniem wskaźnik strat z tego powodu wahał się od 3,78% do 6,36%, podczas gdy w grupie kontrolnej sięgał aż 15%. Na uwagę zasługuje fakt prawie natychmiastowego ustąpienia biegunek w momencie gdy doszło do wyprosień loch immunizowanych. Różnice między grupami doświadczalnymi oraz grupą kontrolną każdorazowo były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$).

Tab. 1. Efektywność stosowania skojarzonej szczepionki przeciwko kolibakteriozie i zakaźnej enterotoksemii oseków na wyniki odchowu prosiąt

Grupa	miotów	Liczba prosiąt			Średnia liczba prosiąt urodzonych w miocie	Liczba/% prosiąt z objawami biegunki	Liczba/% prosiąt padłych w okresie do odsadzenia	Średnia liczba prosiąt odsadzonych w miocie	Średnia m.c. prosiąt (kg)			
		urodzonych	żywych	martwych					urodzonych		odsadzonych	
									X	SD	X	SD
A	74	823	780	43 (5,22%)	11,12	66 (8,46%)	31 (3,97%)	10,12	1,24	0,69	6,88	0,58
B	79	811	740	71 (8,75%)	10,26	39 (6,48%)	31 (4,20%)	8,97	1,22	0,39	6,63	0,53
C	79	855	809	46 (5,7%)	10,82	72 (8,89%)	45 (5,56%)	9,86	1,37	0,63	7,33	0,51
D	76	821	759	62 (5,3%)	10,80	81 (10,7%)	35 (4,61%)	9,52	1,30	0,46	6,89	0,61
E	60	626	566	60 (9,58%)	10,43	92 (16,3%)	36 (6,36%)	9,13	1,35	0,55	7,53	0,82
F	39	402	369	33 (8,9%)	9,46	26 (7,0%)	14 (3,78%)	9,28	1,40	0,40	7,41	0,71
Kontrolna	60	613	556	43 (7,01%)	10,21	243 (43,7%)	84 (15%)	7,88	1,28	-	5,66	-

Podobny, natychmiastowy efekt po podaniu jedyną ważną szczepionki przeciw EIP stwierdzili Cygan i Buczek (3) stosując preparat Clopervac (Biowet Drwalew). Jak wynika z pracy wymienionych autorów wskaźnik padnięć prosiąt na tle infekcji *C. perfringens* C przed wprowadzeniem szczepień wynosił 40%. Natomiast w następstwie profilaktyki swoistej spadł on niemal do zera. Rezultaty zbliżone do uzyskanych w badaniach własnych otrzymali autorzy niemieccy (8), którzy w profilaktyce EIP zastosowali w warunkach terenowych szczepionkę dwuważną przeciw EIP i kolibakteriozie prosiąt. W chlewni, w której straty z tytułu EIP były najmniejsze, ograniczono je z 19,3% w grupie oseków pochodzących od loch nie szczepionych do 2,99% w grupie doświadczalnej. W obiekcie gdzie straty na tle omawianej choroby były najwyższe, wskaźniki te w grupie prosiąt doświadczalnych i kontrolnych wynosiły odpowiednio 3,3% i 55,6%.

Otrzymane rezultaty potwierdzają wyniki wcześniejszych badań dotyczących efektywności szczepionek monowalentnych przeciw kolibakteriozie (6, 8) i EIP (3). Wskazują także, że indukowane w wyniku immunizacji loch przeciwciała swoiste, skierowane przeciwko fimbriom, enterotoksynom czy też toksynie beta chronią prosięta przed zachorowaniami. Jak to udowodniono doświadczalnie, przeciwważna odporność prosiąt na zakażenie *E. coli* oraz *C. perfringens* C zależy głównie od poziomu tych przeciwciał w sianie oraz od ilości siary pobranej przez prosięta (3, 7, 8). Biorąc pod uwagę uzyskane rezultaty można przyjąć, że zastosowanie przedstawionej szczepionki indukowało powstanie przeciwciał swoistych na poziomie chroniącym prosięta przed zakażeniem.

Piśmiennictwo

1. Curtis J., Bourne F.: Immunoglobulin quantitation in sow serum, colostrum and the serum of young pigs. *Biochim. Biophys. Acta* 1971, 236, 319-332.

2. Cygan Z., Tereszczuk S., Pejsak Z., Tarasiuk K., Chwesiuk W., Tomaszewski M.: *C. perfringens* C przyczyną enzoologii enterotoksemii u prosiąt – oseków. *Medycyna Wet.* 1986, 44, 583-587.
3. Cygan Z., Buczek J.: Immunogenność aut szczepionki Clopervac C. *Medycyna Wet.* 1988, 44, 587-590.
4. Cygan Z.: *Choroby beztlenowcowe zwierząt*, Wyd. Pol-Druk, Kraków 1999.
5. Holland R. E.: Some infectious causes of diarrhoea in Young farm animals. *Clin. Microbiol. Rev.* 1990, 3, 345-375.
6. Osek J., Truszczyński M., Pejsak Z., Tarasiuk K.: Wpływ profilaktyki swoistej na obecność w kale enterotoksycznych szczepów *Escherichia coli*, zawierających fimbrie adhezyjne. *Medycyna Wet.* 1993, 49, 206-207.
7. Osek J.: Wykrywanie fimbrii F18 u szczepów *Escherichia coli* izolowanych od świń. *Medycyna Wet.* 1998, 54, 224-226.
8. Osek J., Truszczyński M., Tarasiuk K., Pejsak Z.: Evaluation of different vaccines to control of pig colibacillosis under large-scale farm conditions. *Comp. Immun.* 1995, 18, 1-8.
9. Springer S., Selbitz H. J.: The control of necrotic enteritis in suckling piglets by means of a *Clostridium perfringens* toxoid vaccine. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1999, 24, 325-332.

Adres autora: prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: zpejsak@piwet.pulawy.pl

DHALIWAL G. K., ENGLAND G. C. W., NOAKES D. E.: Receptory estrogenowe i progesteronowe w ścianie macicy suk z cystową hiperplazją endometrium/ropomacizem. (Oestrogen and progesterone receptors in the uterine wall of bitches with cystic endometrial hyperplasia/pyometra). *Vet. Rec.* 145, 455-457, 1999 (16)

Przebadano świeżo pobrane próbki ściany macicy oraz plazmę krwi obwodowej 13 suk z różnych stad, u których usunięto jajniki. Po owariektomii pobrano do badań bakteriologicznych wymazy z jamy macicznej nacinając róg macicy. Stosując specyficzne przeciwciała dla estrogeny i progesteronu określono metodą immunochemiczną rozmieszczenie receptorów dla tych hormonów w ścianie macicy. W plazmie krwi oznaczono poziom progesteronu i 17β -estradiolu. W ocenie wykorzystano system punktowy. Receptory dla estrogeny i progesteronu występowały w małej ilości w nabłonku gruczołowym, w dużej ilości w endometrium. U zdrowych suk endometrium nie zawierało receptorów dla estrogeny i progesteronu.