

EWA SITARSKA

Badania nad odczynami alergicznymi w chorobie obrzękowej i krwiotocznym zapaleniu jelit u prosiąt.

Część III. Próby czynnego uczulenia jelit prosiąt i świnek morskich patogennymi serotypami *E. coli*

Katedra Fizjopatologii Wydziału Weterynarii SGGW w Warszawie
Kierownik: doc. dr J. MAZURCZAK

Na podstawie doświadczeń przedstawionych w obu poprzednich częściach pracy (9, 10) stwierdzono, że w wyciągach z jelit prosiąt padłych na chorobę obrzękową lub krwiotoczne zapalenie jelit istnieje substancja, która po przeniesieniu na inne zwierzęta (prosięta, świnki morskie) ma zdolność biernego uczulania skóry i ściany jelit na odpowiednie serotypy *E. coli*. Aktualnie przedstawione badania miały na celu doświadczalne wywołanie czynnego uczulenia ściany jelit prosiąt i świnek morskich przez podawanie *E. coli per os*.

Materiał i metody

Do badań użyto 20 prosiąt w wieku 4—6 tygodni, klinicznie zdrowych, pochodzących z chlewni PGR J. oraz 41 świnek morskich wagi ok. 400 gramów.

Materiał doświadczalny podzielono na grupy:

I grupa obejmowała 10 prosiąt w wieku 6 tygodni. Z grupy tej 8 prosiąt zostało zakażonych serotypem O139:K82(B), 2 prosięta niezakażone stanowiły kontrole.

II grupa składająca się z 10 prosiąt 4-tygodniowych, została zakażona mieszaniną *E. coli* w skład której wchodziły następujące serotypy: O139:K28(B), O138:K81(B), O141:K85ab(B), 88ab(L).

III grupę stanowiło 14 świnek morskich, które zakażono serotypami: O139 K82(B), O138 K81(B), 88ac(L), każono serotypami: O139:K82(B), O138:K81(B), 88ac(L), O45 K₆₅”, O147:K89(B)88ac(L) (grupę tę określono ja-

IV grupa składała się z 12 świnek, które nie były zakażone i stanowiły grupę „świnek-biorców” przy biernym przenoszeniu uczulenia ze zwierząt grupy III („świnek-dawców”).

V grupa składająca się z 15 świnek morskich, stanowiła kontrolę dla grupy III i IV.

Zakażenia prosiąt wykonywano w następujący sposób: do 200 ml ciepłego mleka dodawano 2 ml 24-godzinnej hodowli bulionowej *E. coli* oraz 10 gramów *Natrium bicarbonicum*. Mieszaninę tą podawano prosiątom jednorazowo, pojąc je na czczo przez smoczek. Świnki morskie otrzymywały poszczególne serotypy *E. coli per os* w ilości 2 ml dziennie w ciągu 2-tygodni. Hodowlę bulionową wprowadzano do przełyku przy pomocy krótkiej sondy. (Serotypy *E. coli* użyte w doświadczeniach otrzymano z ZHW-Katowice).

Postępowanie doświadczalne miało przebieg następujący. Po odpowiednio dobranym okresie podawania doustnego *E. coli* u prosiąt i świnek morskich wykonywano w narkozie eterowej laparotomię i do tętnic krezkowych wprowadzano mieszaninę, względnie pojedyncze serotypy *E. coli*. Prosięta otrzymywały po 1 ml 24-godzinnej hodowli bulionowej każdego serotypu, świnki morskie po 0,25—0,5 ml. Jako kontroli użyto serotypy nie stosowane do uczulenia, oraz serotyp niepatogenny dla prosiąt O45 izolowany od cieląt. Przed wykonaniem wlewów do tętnic krezkowych, u prosiąt robiono posiewy bakteriologiczne z 3 odcinków jelit cienkich, 2—3 odcinków jelit grubych, i z odbytnicy. Probki treści pobierano jałową strzykawką,

i wysiewano na agar z krwią. Kolejność wykonywania wlewów dotętnicznych w poszczególnych grupach przedstawiała się następująco: grupa I — u dwu prosiąt kontrolnych wlewy wykonano przed zakażeniem *E. coli*, następnym prosiątom tej grupy wlewy dotętniczne wykonano po 1, 4 i 6 dniach od zakażenia, grupa II — wlewy dotętniczne wykonano kolejno po 10, 11, 14, 15, 18, 22 i 24 dniach od chwili zakażenia, grupa III — świnkom morskim wlewy dotętniczne wykonano po dwóch tygodniach pojenia kulturami *E. coli*. W trakcie wykonywania wlewów grupie III, od kilku świnek pobrano krew z żył krezkowych i z żyły jarzomowej w celu użycia jej do biernego uczulenia świnek IV grupy. IV grupie świnek-biorców wprowadzano do tętnic krezkowych krew, wyciągi z narządów mięszszowych, i wyciągi z jelit świnek-dawców III grupy, jednocześnie podawano ten serotyp *E. coli*, na który była uczulona świnka-dawca, oraz 2 lub 3 inne serotypy, V grupa — 10 świnkom kontrolnym wprowadzano do tętnic krezkowych po 2 lub 3 te serotypy *E. coli* które sprawdzano na świnkach uczulonych grupy III. Pięciu pozostałym świnkom kontrolnym wykonano wlewy do tętnic krezkowych krwi, oraz wyciągów z jelit i narządów świnek nie uczulonych, z jednoczesnym podaniem tych serotypów *E. coli* co w grupie IV (ze względu na jednoznaczność wyników, w tabeli grupę kontrolną podano łącznie).

Wyniki

Grupa I — Po doustnym zakażeniu prosiąt, w wymazach z odbytnicy pojawiły się czyste kultury β -hemolitycznych *E. coli* już po upływie 6 godzin i utrzymywały się w tej postaci do końca doświadczenia. Z grupy tej 2 prosięta padły czwartego dnia po zakażeniu. Sekcyjnie stwierdzono krwiotoczne zapalenie żołądka i jelit.

Grupa II — z grupy prosiąt 4-tygodniowych po zakażeniu padły 2 sztuki (drugiego i trzeciego dnia). Na sekcji stwierdzono nieznaczne przekrwienie jelit. Posiewy bakteriologiczne z jelit cienkich i grubych oraz z naczyń krezkowych wykazały bardzo obfity wzrost β -hemolitycznych *E. coli* w czystych kulturach. W narządach mięszszowych i węzłach chłonnych *E. coli* nie stwierdzono. U prosiąt tej grupy czyste kultury β -hemolitycznych *E. coli* w posiewach z odbytnicy utrzymywały się przez 18 dni od chwili zakażenia. U prosiąt obu grup miano aglutynacji surowicy w stosunku do serotypów użytych do zakażenia, przed zakażeniem kształtowało się w granicach 1:20—1:160, po zakażeniu spadło do 0 i 1:10. Wyniki reakcji na jelitach prosiąt, po wlewach do tętnic krezkowych poszczególnych serotypów w kolejnych dniach od chwili zakażenia w grupie I i II przedstawione są w tabeli 1.

Tab. 1. Wyniki resekcji jelit uczulonych prosiąt grupy I i II na poszczególne serotypy *E. coli*

| Dni po zakażeniu | Ilość prosiąt | Serotypy <i>E. coli</i> wprowadzone do tętnic krezkowych | | | | | | | | | |
|--|---------------|--|--------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|---------------------|----------|--|
| | | Mieszana serotypowa | O139:K82 (B) | O138:K81 (B) | O141:K85 ab | O147:K89 (B) | O145:K85 ac | O147:K89 (B) | Serotyp zimowy-dawc | kontrola | |
| Grupa I - uczulone serotypem O139 | | | | | | | | | | | |
| 1 dzień | 2 | + | bz | bz | bz | bz | + | bz | | | |
| 4 do 6 | 4 | 2+ | 2(+) | + | 2(+) | bz | 2-3(+) | 1-3(+) | bz | | |
| Grupa II - uczulona serotypami O139 O138 O141 O8 | | | | | | | | | | | |
| 10 - 24 | 8 | 2-4(+) | 3-5(+) | 1-3(+) | bz | 1-2(+) | 2-4(+) | + | bz | | |
| kontrola - prosięta przed zakażeniem | | | | | | | | | | | |
| | 2 | + | bz | bz | bz | bz | bz | bz | bz | | |

Legenda: bz — bez zmian,
cyfry (+) — stopień nasilenia reakcji w plusach od — do.

Grupa III — w ciągu dwu tygodni pojenia świnek morskich kulturami *E. coli*, nie zaobserwowano u nich żadnych objawów chorobowych. Po dwu tygodniach uczulenia, wykonano wlewy do tętnic krezkowych serotypu, który użyto do uczulenia, oraz 2—3 inne serotypy jako kontrolę. Dodatnią reakcję stwierdzano zawsze z serotypem homologicznym. Odcinki jelit, gdzie wlewano inne niż użyty do uczulenia serotyp pozostawały bez zmian. Silne zmiany krwiotoczne na całej długości jelit, obejmujące również dno żołądka stwierdzano w tych wypadkach, gdy świnek nie usypiano po 4—6 godzinach od momentu wlewów, a śmierć następowała po 8—10 godzinach w wyniku rozwijającego się szoku.

W grupie IV świnek-biorców reakcje dodatnie na jelitach stwierdzano w wypadkach biernego uczulenia krwią z żył krezkowych i wyciągami z jelit świnek-dawców, oraz podania serotypu *E. coli* użytego do uczulenia świnki-dawcy.

Grupa V — świnki kontrolne nie reagowały na dotętniczne wprowadzenie wyciągów z jelit świnek nieuczulonych, ani też na żaden serotyp *E. coli*. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych na III, IV i V grupie świnek morskich przedstawione są w tabeli 2. Zmiany krwiotoczne na jelitach ilustrują fotografie.

Omówienie wyników

Z przeprowadzonego eksperymentu wynika, że jest możliwe uczulenie jelit prosiąt i świnek morskich drogą doustnego podawania patogennych serotypów *E. coli*. Wydaje się, że warunkiem wywołania stanu uczulenia, jest konieczność przebywania *E. coli* w jelitach cienkich przez czas dłuższy. U wszystkich prosiąt reagujących dodatnio na dany serotyp, stwierdzono przed dokonaniem wlewów do tętnic krezkowych — w jelitach cienkich *E. coli* w czystych kulturach, lub występujące w znacznym odsetku. (U 2 prosiąt w 6 dniu po uczuleniu wystąpiła słaba reakcja po wlewach dotętnicznych, jednocześnie w jelitach cienkich tych prosiąt przed wlewem stwierdzono tylko 10—15% *E. coli* hemolitycznych).

Można przypuszczać, że u prosiąt tych po zakażeniu, *E. coli* dość szybko znikło z jelit cienkich i powstał znikomy stopień uczulenia. Zagadnienie to jest trudne do sprawdzenia, ponieważ obecność *E. coli* w wymazach z odby-

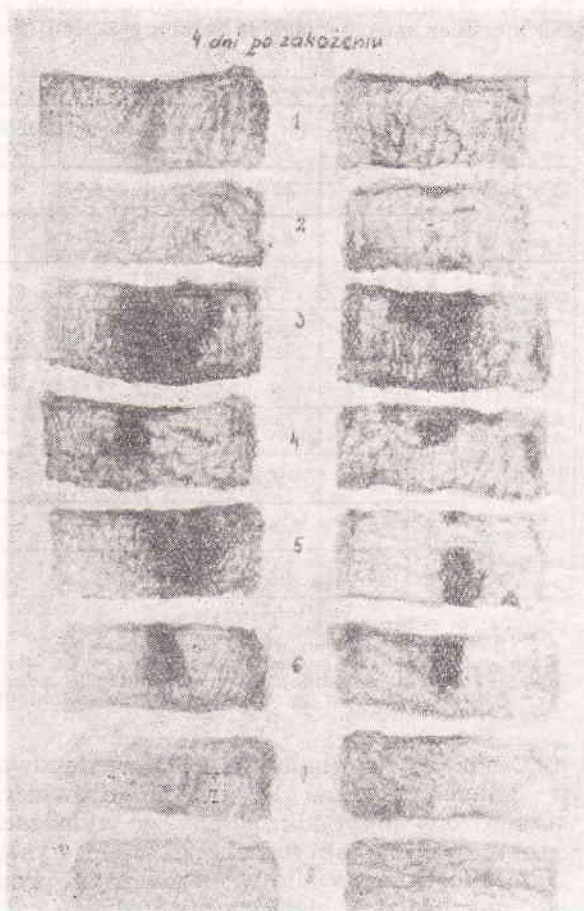
Tab. 2. Wyniki czynnego i biernego uczulenia świnek morskich na poszczególne serotypy *E. coli* (grupa III, IV i V)

| Świnki morskie uczulone serotypem | Ilość sztuk | Serotypy wprowadzone do tętnic krezkowych | | | | |
|-----------------------------------|-------------|---|--------------|-------------|-----------------------|--------------|
| | | O139:K82 (B) | O138:K81 (B) | O141:K85 ab | O145:K85 ⁺ | O147:K89 (B) |
| Grupa III O145:K85 ⁺ | 3 | bz | bz | bz | 4-5(+) | — |
| biernie uczul. gr. IV | 3 | bz | bz | bz | 3-5(+) | — |
| Grupa III O139:K82(B) | 5 | 3-5(+) | bz | bz | bz | — |
| biernie uczul. gr. IV | 4 | 3-4(+) | bz | bz | bz | bz |
| Grupa III O147:K89(B) | 2 | bz | bz | — | bz | 5(+) |
| biernie uczul. gr. IV | 2 | bz | bz | — | — | 5(+) |
| Grupa III O138:K81(B) | 4 | bz | 4-5(+) | — | bz | — |
| biernie uczul. gr. IV | 3 | bz | 4-5(+) | — | bz | — |
| Kontrolne grupa V | 15 | bz | bz | bz | bz | bz |

Legenda: bz — bez zmian,
— nie wykonano wlewu danego serotypu.
cyfry (+) — nasilenie reakcji w (+) od — do, strzałki wskazują bierne przeniesienie uczulenia ze świnek grupy III (dawców) na świnki grupy IV (biorców).

nicy nie jest wykładnikiem ich występowania w jelicie cienkim. W trakcie doświadczeń stwierdzono przypadki, kiedy w wymazach z odbytnicy β -hemolityczne *E. coli* nie występowało, lub występowało w nieznacznym procencie, a w jelitach cienkich stwierdzano czyste, lub prawie czyste kultury. Takie przypadki stwierdzono u prosiąt w 14, 15 i 22 dniu po zakażeniu. Podsumowując wyniki uzyskane na prosiętach, można wnioskować, że stan uczulenia pojawia się około 4 dnia po zakażeniu i utrzymuje się przez czas dłuższy (badano do 24 dnia). W tym okresie podanie do tętnic krezkowych serotypów użytych do uczulenia wywołuje silne zmiany o charakterze krwiotocznym w obrębie odcinka jelita unaczynionego przez tętniczkę do której został wprowadzony serotyp.

W grupie prosiąt zakażonych trzema serotypami, stwierdzono reakcje dodatnie z tymi serotypami oraz w niektórych przypadkach z innymi niż użyte do zakażenia. W grupie prosiąt zakażonych jednym serotypem stwierdzono również reakcje z innymi serotypami. Obserwowane reakcje z innymi niż użyte do uczulenia serotypami mogą być wynikiem naturalnego zakażenia prosiąt tymi serotypami. W badaniach własnych stwierdzono obecność kilku serotypów *E. coli* u tego samego osobnika. W doświadczeniach na prosiętach bardzo trudne jest wyeliminowanie możliwości występowania innych niż użyty do zakażenia serotypów. Doświadczenia przeprowadzone na świnkach morskich dały bardziej jednoznaczne wyniki, w porównaniu do doświadczeń przeprowadzonych na prosiętach. Flora bakteryjna przewodu pokarmowego świnek morskich należy do grupy



Fot. 1. Zmiany krwiotoczne na jelitach prosiąt uczulonych *E. coli*, wywołane dotętniczym wprowadzeniem poszczególnych serotypów *E. coli* w 4 dni po zakażeniu per os. Legenda: A — jelita prosięcia Nr 6, B — jelita prosięcia Nr 0. Cyfry oznaczają odcinki jelit, do których wprowadzono następujące serotypy:

1. Zawiesina serotypów O139, O138, O141, O8
2. O138:K81(B)
3. O139:K82(B)
4. O141:K85ab(B)88ab
5. O141:K85ac(B)88ab(L)
6. O8:K87(B)88ab(L)
7. O147:K89(B)ac(L)
8. serotyp cielęcy O45.

Gram+ nie zachodzi więc możliwość występowania dodatkowych reakcji wywołanych przez *E. coli* występujących w przewodzie pokarmowym jak to ma miejsce u prosiąt.

W doświadczeniach przeprowadzanych na świnkach morskich, reakcje dodatnie na jelitach uzyskiwano tylko z tym serotypem, którego użyto do uczulenia. Jednocześnie stwierdzono u świnek morskich dużą łatwość biernego przeniesienia uczulenia poprzez krew z żył kręzkowych i wyciągi z jelit świnek uczulonych. Należy podkreślić, że u świnek morskich uczulonych, po dotętniczym wprowadzeniu homologicznego serotypu reakcja była bardzo silna, przebiegająca z objawami ogólnymi charakterystycznymi dla szoku. Zmiany na jelitach manifestowały się znacznym przekrwieniem, w świetle jelit występowały duże ilości krwistego płynu. Świnki nie uśpione do 4—6-tej godziny od momentu wlewu, padały w ciągu 8—10 godzin i w tych wypadkach

zmiany o charakterze krwiotocznym występowały nie tylko w miejscu iniekcji, ale rozprzestrzeniały się na całą długość jelit. Świnki kontrolne grupy V którym wykonywano wlewy dotętnicze serotypów *E. coli* użytych w grupie III i IV nie wykazały żadnych zmian ogólnych, ani zmian krwiotoczných w jelitach.

Dyskusja

Występowanie patogennych serotypów *E. coli* w przewodzie pokarmowym zdrowych prosiąt, jak również niemożność doświadczalnego wywołania choroby obrzękowej drogą doustnego czy dożylnego zakażenia (5, 6) dowodzi małej wrażliwości prosiąt na endotoksyny *E. coli* (1). Z prac licznych autorów wynika, że chorobotwórcze działanie *E. coli* u prosiąt przed odsadzeniem stwierdza się w okresach obniżonej odporności (3, 14). Po odsadzeniu u prosiąt frakcja gammaglobulinowa w surowicy dość szybko narasta i miano aglutynacji dla różnych serotypów *E. coli* jest dość wysokie, zdawałoby się wystarczające dla zabezpieczenia przed zachorowaniem (8, 11). Występująca w tym okresie zycia prosiąt choroba obrzękowa lub krwiotoczne zapalenie jelit przebiega z objawami klinicznymi i zejściem śmiertelnym charakterystycznymi dla szoku.

W piśmiennictwie szeroko dyskutowany jest problem mechanizmu powstawania szoku. Zwolennicy teorii szoku toksycznego, stoją na stanowisku, że jest on wynikiem bezpośredniego działania toksyn, czy enterotoksyn *E. coli* (12). Buxton i Thomlinson (2) na podstawie swoich doświadczeń sugerują, że jest to szok anafilaktyczny, powstały w wyniku długotrwałego uczulenia polisacharydami *E. coli* i następnej absorpcji przez jelita znacznej ilości tych polisacharydów w okresie odsadzania. Wyniki badań własnych potwierdzają istnienie stanu uczulenia i możliwości następnego wywołania szoku przez dotętnicze wprowadzenie homologicznego serotypu *E. coli*. Niemożność wykrycia przeciwciał uczulających konwencjonalnymi metodami immunologicznymi, jak również zlokalizowanie czynnika uczulającego w obrębie jelit wskazuje, że nie są to pełne przeciwciała.

Zmiany krwiotoczne rozwijające się w wyniku działania antygeny *E. coli* na uczuloną tkankę jelit, przypominają odczyn alergiczny opóźniony. W nadwrażliwości typu późnego, do maksymalnego natężenia reakcji dochodzi w ciągu kilku godzin i przebieg tej reakcji jest niezależny od obecności wykrywalnych, konwencjonalnych przeciwciał (13, 15). O możliwości uczulenia jak i wywołania wstrząsu u większości zwierząt doświadczalnych drogą doustnego podawania antygeny donoszą Rauter i Gruchl (za 7). Opisana przez Grysa (4) wewnątrzkomórkowa lokalizacja antygenów bakteryjnych, w rąbku prążkowanym i cytoplazmie komórek walcowatych nabłonka, jak rów-

niez wewnątrz kosmków i w części błony śluzowej jelit, tłumaczy w pewnej mierze zlokalizowanie stanu uczulenia w obrębie przewodu pokarmowego.

W świetle tych badań, wydaje się zupełnie prawdopodobne, że choroba obrzękowa i krwiotoczne zapalenie jelit u prosiąt powstaje w wyniku pierwotnego uczulenia komórek przez bytujące w przewodzie pokarmowym patogenne serotypy *E. coli* i późniejszą reakcją z tym alergenem w obrębie komórek ścian przewodu pokarmowego.

Wnioski

1. W wyniku kilkudniowego przebywania β -hemolitycznych *E. coli* w jelicie cienkim prosiąt czy świnek morskich, następuje wytworzenie w jelitach substancji wykazującej specyficzność serotypową w stosunku do serotypu użytego do uczulenia.

2. Warunkiem wywołania reakcji mającej charakter szoku, jest wprowadzenie alergenu (*E. coli*) do tętnic krezkowych.

3. Bierne przeniesienie uczulenia jest możliwe poprzez krew z żył krezkowych i wyciągi z jelit uczulonych zwierząt.

4. Nie stwierdzono obecności substancji uczulającej w narządach mięsnych i krwi obwodowej uczulonych zwierząt.

5. Uzyskane wyniki sugerują alergiczny mechanizm powstawania i rozwoju krwiotocznego zapalenia jelit i choroby obrzękowej u świń.

Piśmiennictwo

1. Berezi O. J., Berezna T., Bertok L. i wsp.: Fortpfl. Haust. Bd 3, H 5/6, 400, 1967.
2. Burton A., Thomlinson J. R.: Res. Vet. Sci. 2, 1, 73, 1961.
3. Erwin M., Kohler E.: Canad. J. Comp. Med. Vet. Sci. 30, 7, 199, 1966.
4. Grys St.: Polskie Archiwum Wet. 10, 2, 227, 1966.
5. Kaszubkiewicz J., Ugorski Cz., Zalesiński A.: Medycyna Wet. 22, 12, 724, 1966.
6. Nielsen NO Sautter J. H., Stevens J. B.: Am. J. Vet. Res. 26, 113, 928, 1965.
7. Rudzki E.: Alergia, PZWL, Warszawa, 1961.
8. Sharpe H. B.: Res. Vet. Sci. 6, 490, 1965.
9. Sitarska E.: Medycyna Wet. 24, 342, 1968.
10. Sitarska E.: Medycyna Wet. 24, 393, 1968.
11. Sitarska E.: Sesja naukowa na temat „Etiologia chorób przewodu pokarmowego u prosiąt”. PTNW — Warszawa, 1966.
12. Sojka W. J.: Escherichia coli in animals CAB, 1965.
13. Straszynski A.: Zarys dermatologii i wenerologii, PZWL, 1960.
14. Szabo J.: Magy Allatorv. Lap. 19, 368, 1964.
15. Zabłocki B.: Postępy Mikrobiologii, VI, 3, 321, 1967.

Adres autora: dr Ewa Sitarska, Warszawa 26, ul. Grochowska 272.

DANUTA SZEROW

Wrocław

Posocznica (*Septicaemia haemorrhagica*) białego amura (*Ctenopharyngodon idella* Val.)

W ostatnich latach rozwijają się dość znacznie hodowla stawowa roślinożernych ryb karpowatych. W Polsce zapoczątkowano ją w 1964 r., wprowadzając do stawów niektórych gospodarstw rybackich wycier białego amura (*Ctenopharyngodon idella* Val.) i tołpygi (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.). Wymienione gatunki różnią się od rodzimych ryb słodkowodnych sposobem odżywiania. Niewykorzystane dotąd bogate zasoby roślinności wodnej stawów mogą dzięki temu służyć do produkcji wartościowego białka zwierzęcego.

Hodowli nowych rodzajów ryb towarzyszy zrozumiałe zainteresowanie ze strony ichtiopatologów, szczególnie zaś wrażliwości tych ryb na choroby zakaźne i pasożytnicze, rozpowszechnione w naszych zbiornikach wodnych. W piśmiennictwie krajowym stosunkowo bardzo mało jest doniesień dotyczących chorób i śnieć ryb roślinożernych. Skłoniło to autora do opisanie przypadku śnięcia białego amura wśród objawów posocznicy, które wystąpiło w sierpniu 1965 r. w jednym z państwowych gospodarstw rybackich.

Na temat chorób białego amura o charakterze posocznicowym wypowiedzieli się autorzy zagraniczni, najczęściej przyrównując stwierdzany obraz chorobowy do posocznicy karpi.

Szakolczai i Molnar (4) stwierdzili schorzenie u dwuletnich amurów odpowiadające w pełni posocznicy karpi przy negatywnym wyniku badań bakteriologicznych. Straty w pogłowie ryb wynosiły 15% przy czym nie zachorowały karpie, przebywające razem z chorymi amurami. Mattheis (2) zebrał dotychczasowe piśmiennictwo o chorobach ryb roślinożernych, podając o stwierdzeniu w Chinach zapalenia jelit u amura, wywołanego przez *Aeromonas punctata* oraz wyosobnieniu przez Wanga ze zmienionych chorobowo skrzel *Pseudomonas fluorescens*. Ostatni stwierdził również chorobę ryb roślinożernych przebiegającą wśród objawów występujących przy krwotocznej posocznicy. W pracach eksperymentalnych po podaniu zawiesiny wyhodowanych drobnoustrojów uzyskał on u ryb typowe zmiany na skórze i w mięśniach. Achmerow (cyt. za 2) zauważył, że amury są odporne na posocznice. Natomiast Konradt i Faktowicz (cyt. za 2) donieśli o dwu przypadkach zachorowania amura z objawami ostrej formy posocznicy.

Badania własne

Szczegółowe badania ichtiopatologiczne wykonano na materiale dostarczonym przez gospodarstwo do Ośrodka Zwalczenia Chorób Ryb