

Czynniki chorobotwórczości bakterii a skuteczność szczepionek dla świń

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

Pathogenicity factors of bacteria and efficacy of vaccines for swine

Summary

Vaccines against *C. perfringens* type C necrotic enteritis, pleuropneumonia, atrophic rhinitis, enterotoxigenic *E. coli* infections, erysipelas, *Streptococcus suis* infection, *M. hyopneumoniae* infection, dysentery, salmonellosis, porcine proliferative enteritis, leptospirosis were classified in relation to high, medium and low efficacy. The differences were referred to properties of the etiological agent and pathogenesis of the disease. The importance for vaccine efficacy of the pathogenicity factors such as adhesions, toxins and resistance to antibacterial activity of the host, was stressed.

Keywords: swine, vaccines, bacterial diseases, pathogenicity factors

U świń, podobnie jak u innych gatunków zwierząt oraz u człowieka, rola szczepionek w zapobieganiu i zwalczaniu chorób bakteryjnych zależy od szeregu czynników, zwłaszcza od właściwości wywołujących je drobnoustrojów oraz patogenezы, która różni się w poszczególnych przypadkach. Przykładowo, znaczenie szczepionek w ograniczaniu strat powodowanych przez zakaźne martwicowe zapalenie jelit prosiąt lub przez różycę jest znacznie większe niż przez dyzenterię świń. Pośrednią pozycję zajmują: kolibakterioza i salmonelloza.

Warunkiem dopuszczenia szczepionek do stosowania w terenie jest ich licencjonowanie, czyli proces, który sprawdza z ramienia powołanych instytucji państwowych ich skuteczność i nieszkodliwość. Niezależnie od tego każda seria wielu szczepionek, nim trafi na rynek, poddawana jest badaniu na skuteczność, nieszkodliwość i zanieczyszczenia innymi drobnoustrojami (22).

Rodzaje szczepionek

W skuteczności i nieszkodliwości szczepionki, oprócz elementów uprzednio wymienionych, istotne znaczenie ma jej postać. Szczepionka żywa różni się od inaktywowanej, a od nich szczepionki podjednostkowe i szczepionki DNA (15). Ważna jest też trafność wyboru szczepu szczepionkowego, zwłaszcza z uwzględnieniem wytwarzania czynników chorobotwórczości (pathogenicity factors) lub zjadliwości (virulence factors), one bowiem przyczyniają się do zwiększenia zdolności uodporniających (11, 12, 15).

Dobór szczepów bakteryjnych do produkcji szczepionek opierał się przez kilkadziesiąt lat, licząc od początków ery pasteurowskiej, na ich właściwościach fenotypowych, w tym antygenowych i/lub biochemicznych. Niekiedy w trafnym doborze pomocny był szczęśliwy przypadek, czego przykładem może być szczep włoskowca różycy wg Stauba, wykorzystany do wytwarzania szczepionki przeciw różycy świń (26).

Osiągnięty z czasem postęp w genetyce i biologii molekularnej stał się podstawą bardziej racjonalnego podejścia do doboru szczepów bakteryjnych do produkcji szczepionek. Rozwijające się w tych ramach kierunki badawcze uwzględniały odróżnianie wśród licznych antygenów komórki bakteryjnej tych, które powodują u zwierzęcia szczepionego wytwarzanie odporności przeciwzakaźnej, czyli ochrony przed infekcją i chorobą zakaźną. W niniejszym tekście będą one określane jako antygeny ochronne, co odróżnia je od innych licznych antygenów komórki bakteryjnej, które w tworzeniu przeciwzakaźnej odporności prawdopodobnie żadnej roli nie odgrywają. Kolejnym krokiem było zidentyfikowanie wśród tysięcy genów genomu bakteryjnego tych, które warunkują syntezę antygenów ochronnych. Interesujące w kontekście doboru bakteryjnych szczepów szczepionkowych były też geny determinujące ich właściwości chorobotwórcze wyrażone przez określane czynniki chorobotwórczości i zjadliwości. Jak wspomniano, okazały się one istotne w zapewnianiu skuteczności szczepionek. Zaliczają się do nich adhezyny bakterii, które łączą je z receptorami komórek nabłonków i umożliwiają ko-

lonizację błon śluzowych, oporność na mechanizmy przeciwbakteryjnego działania makroorganizmu oraz wytwarzanie toksyn.

Pod pojęciem szczepionek zabitych lub inaktywowanych rozumiane są preparaty, w których drobnoustroje zostały za pomocą metod fizycznych lub chemicznych pozbawione właściwości chorobotwórczych i zdolności rozmnażania, przy zachowaniu właściwości pobudzania makroorganizmu do wytworzenia odporności chroniącej przed infekcją i/lub chorobą. Istotne jest, by zastosowana inaktywacja nie pozbawiała antygenów ochronnych, z reguły białek, właściwości immunogennych. Z drugiej strony, zbyt umiarkowana może nie być wystarczająca do unieczynnienia właściwości chorobotwórczych zawartych w szczepionce bakterii. Wtedy użyta w warunkach terenowych szczepionka bywa przyczyną zachorowań. Może to niekiedy mieć miejsce, nawet jeśli nie wykazano w laboratoryjnych próbach biologicznych, na tym samym gatunku zwierzęcia, jej szkodliwości. Warunki terenowe stwarzają bowiem zwiększoną predyspozycję do wywołania powikłań poszczepiennych. Dodatkowym ograniczeniem, odnoszącym się do szczepionek inaktywowanych, jest brak w tego typu biopreparatach takich antygenów ochronnych, które wytwarzają bakterie wyłącznie w organizmie zwierzęcia, a nie w pożywkach *in vitro*. Szczepionki inaktywowane są z reguły mniej skuteczne niż szczepionki zawierające żywe, osłabione w zakresie chorobotwórczości, czyli atenuowane drobnoustroje. Aktywność omawianych biopreparatów zwiększa się przez dodawanie adiuwantów (14). Jednak szereg spośród tego rodzaju substancji ma niepożądane działanie uboczne (12). Dodatkowo szczepionki inaktywowane stymulują przede wszystkim rozwój odpowiedzi humoralnej, a w mniejszym stopniu komórkowej, szczególnie istotnej w ochronie przeciw większości bakteryjnych chorób zakaźnych (12). Najważniejszą cechą dodatnią właściwie inaktywowanych szczepionek jest jednak ich nieszkodliwość, co stanowi przyczynę ich preferowania w stosunku do szczepionek żywych w profilaktyce swoistej w terenie (15).

Szczepionki żywe, cechując się w porównaniu ze szczepionkami inaktywowanymi wymienionymi uprzednio zaletami, mogą w przypadku rewersji pozbawionego chorobotwórczości szczepu szczepionkowego do postaci chorobotwórczej, wywołać zachorowania u zaszczepionych zwierząt. Powodują też, zwłaszcza przy zachowaniu w szczepie szczepionkowym znaczniejszej patogenności, tzw. fazę negatywną, co stwarza sprzyjające warunki do ujawnienia się utajonych infekcji o innej etiologii. Ich atutem jest większa niż w przypadku szczepionek inaktywowanych skuteczność.

Istotę szczepionek podjednostkowych stanowi rekombinacja DNA w sensie wprowadzenia do genomu innych gatunków drobnoustrojów odcinków DNA warunkujących ekspresję pożądaných antygenów

ochronnych lub na usuwaniu z genomu szczepu szczepionkowego odcinków DNA warunkujących właściwości chorobotwórcze (15). Tego rodzaju działanie jest też podstawą szczepionek znakowanych (delecyjnych, markerowych). Umożliwiają one odróżnianie zwierząt zakażonych od zwierząt szczepionych, co ma znaczenie w zwalczaniu chorób zakaźnych przy udziale szczepień takimi preparatami, w celu ograniczenia wybijania dużych liczb zwierząt podejrzanych o zakażenie.

Szczepionkami DNA są preparaty plazmidów bakteryjnych kodujące tworzenie pożądaných antygenów po podskórnym lub domięśniowym wprowadzaniu do makroorganizmu (15, 22). Uzyskana tym sposobem ochrona przeciwzakaźna jest bardziej długotrwała niż po podaniu uprzednio charakteryzowanych rodzajów szczepionek. Stosowanie ich w praktyce jest wciąż jeszcze rzadkie ze względu na małą dostępność.

Zależność skuteczności szczepionek od patogeny choroby

Głównym czynnikiem patogenetycznym zakaźnego martwicowego zapalenia jelit u prosiąt jest wytwarzana przez typ C *Clostridium perfringens* egzotoksyna beta. Jej właściwości chorobotwórcze znosi działanie formaldehydu, przekształcając egzotoksynę w anatoksynę, zwaną też toksoidem, o cechach antygeny ochronnego, o dużej skuteczności. Egzotoksyna beta stanowi zatem typowy przykład, że czynniki chorobotwórczości szczepów szczepionkowych mają istotne znaczenie jako wskaźniki efektywności w uodpornianiu przeciw chorobie, gdyż po pozbawieniu działania chorobotwórczego wyzwalają odporność ochronną (12).

W przypadku *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App), wywołującego pleuropneumonię świń, istotne w patogenie choroby są: egzotoksyny ApxI, ApxII i ApxIII. Szczepy chorobotwórcze App wytwarzają jedną, dwie lub trzy z wymienionych egzotoksyn. Wymienione toksyny powodują liżę komórek pęcherzyków płucnych, erytrocytów i leukocytów obojętno-chłonnych. Czwarta toksyna (ApxIV) występuje u wszystkich szczepów *A. pleuropneumoniae*, ale jej znaczenie w patogenie pleuropneumonii świń nie jest dostatecznie określone (2).

Szczepionki inaktywowane przeciw pleuropneumonii świń, stanowiące zawiesinę komórek bakteryjnych, na ogół nie zapewniają odporności przeciw zakażeniu heterologicznym serotypem *A. pleuropneumoniae*. Rozwiązaniem tego niedoboru jest sporządzenie szczepionek podjednostkowych, zawierających wszystkie spośród uprzednio wymienionych egzotoksyn. Być może bowiem brak immunogenności ze strony szczepów heterologicznych w stosunku do zakażającego szczepu związany jest z niemożnością wytwarzania przez szczep szczepionkowy pożądanę egzotoksynę (27). Szczepionki podjednostkowe zapewniają zatem w przypadku zakażenia świń przez App lepszą przeciwwzakaźną ochronę krzyżową, przeciwdziałając wy-

stępowaniu objawów klinicznych i obniżaniu przyrostów masy ciała niż oparte o zawiesiny bakteryjne szczepionki inaktywowane (11). Wymienione egzotoksyny nie są jednak wyłącznymi antygenami ochronnymi (5). Ważną rolę wydaje się w tym względzie również odgrywać wytwarzana przez nie wszystkie szczepy *App* adhezyna. Łączy ona komórki bakteryjne z komórkami nabłonka terminalnych oskrzelików. Powstały ścisły kontakt pozwala komórkom bakteryjnym uwalniać egzotoksyny bezpośrednio na powierzchnię błony śluzowej oskrzelików. Znaczenie adhezyn w procesie uodporniania potwierdzono hodując szczepy *App* w pożywkach sprzyjających ich wytwarzaniu i porównując efekty ze szczepionkami, w których komórki bakteryjne adhezyn nie wytwarzały (29).

W błonie zewnętrznej *App*, oprócz wymienionych antygenów ochronnych, znajduje się również immunogenne białko PalA. Okazało się, że wytwarzane pod jego wpływem przeciwciała obniżają efekt ochronny szczepionki, która ten czynnik zawiera. W związku z taką możliwością konieczne jest, by w szczepionkach podjednostkowych tego typu antygeny nie występowały (27). Przedstawione dane mają znaczenie bardziej ogólne. Wskazują bowiem na możliwość istnienia w komórkach również innych gatunków bakterii tego rodzaju antygenów immunosupresyjnych. W szczepionkach podjednostkowych i szczepionkach DNA istnieje, dzięki inżynierii genetycznej, możliwość wyłączenia ich obecności, przeciwnie niż w szczepionkach inaktywowanych, względnie żywych, stanowiących zawiesiny komórek o pełnym składzie antygenowym.

Innego rodzaju prawidłowości stwierdzono w przypadku zakaźnego zanikowego zapalenia nosa u świń (zzzn). W etiologii i patogenezie tego schorzenia uczestniczą szczepy *Pasteurella multocida* typu D, rzadziej A, wytwarzające toksynę dermonekrotyczną oraz szczepy *Bordetella bronchiseptica*, które produkują łagodniejszą w skutkach, analogiczną substancję toksyczną. Najbardziej skuteczne przeciw zzzn okazały się te szczepionki, które zawierają antygeny ochronne obu wymienionych toksyn. Preparaty zawierające tylko jedną z nich cechują się mniejszą skutecznością (7). Dodać należy, że istotne w odporności przeciwzakaźnej okazały się też antygeny adhezyn wymienionych drobnoustrojów (1, 6).

Mimo jednak uwzględnienia w szczepionkach obecności wszystkich wymienionych antygenów ochronnych obecnie dostępne biopreparaty nie wykazują zadowalających właściwości uodporniających przeciw zzzn, nawet po dołączeniu do nich adiuwantów. Przykład ten potwierdza, że są infekcje i choroby, przeciw którym w oparciu o aktualną wiedzę wytworzenie wystarczająco skutecznych szczepionek nie jest możliwe. Dodać tu należy, że mimo to preparaty takie mogą przyczyniać się – chociaż w małym stopniu – do zmniejszania strat w produkcji trzody chlewnej.

Zakażenia świń przy udziale *B. bronchiseptica* i *P. multocida* mogą również powodować bronchopneumonię. Wywołując ją szczepy *B. bronchiseptica* są toksynotwórcze, podczas gdy szczepy *P. multocida* zazwyczaj nie wytwarzają egzotoksyn, przeciwnie niż te, które uczestniczą w etiologii zzzn (3, 6).

U chorobotwórczych dla nowo narodzonych prosiąt szczepów *Escherichia coli* znaczenie w odporności ochronnej odgrywają, określane jako czynniki chorobotwórczości, 4 fimbrialne, wyposażone w antygeny ochronne, adhezyny. Umożliwiają one adhezję do enterocytów jelita cienkiego szczepów *E. coli*, co stanowi warunek kolonizacji przez nie jelit cienkich tego odcinka przewodu pokarmowego prosiąt osesków, a następnie wydzielania przez te bakterie w dużej ilości chorobotwórczych egzotoksyn wywołujących biegunkę, prowadzącą do zejść śmiertelnych. Wymienione adhezyny to: F4 (K88), F5 (K99), F6 (987p) i F41. U prosiąt starszych, ale będących jeszcze przed odsadzeniem, najczęściej kolibakteriozę z biegunką wywołują szczepy wytwarzające adhezynę F4. Kolibakterioza prosiąt po odsadzeniu powodowana jest zwłaszcza przez szczepy z adhezyną F4 lub F18.

Oprócz adhezyn istotne w patogenezie kolibakteriozy są enterotoksyny: ciepłochwiejna – LT – o wysokiej masie molekularnej i dwie ciepłostale – STa i STb – o niskiej masie molekularnej. Pierwsza cechuje się silną immunogennością, a dwie pozostałe właściwościami uodporniającymi nieznacznego stopnia (12).

W ochronie przeciw kolibakteriozie, wywołanej przez enteropatogenne szczepy *E. coli*, ważna jest odporność humoralna, a więc swoiste przeciwciała, które przeciwdziałają adhezji komórek bakteryjnych do odpowiednich receptorów enterocytów i neutralizują lokalnie wytwarzane enterotoksyny. Tak szczepionki inaktywowane będące zawiesiną bakterii zawierających wymienione antygeny ochronne, jak też zawierające je szczepionki podjednostkowe, cechują się na ogół średniego stopnia skutecznością. Stosowane są przede wszystkim u macior ciężarnych, które wytwarzając swoiste przeciwciała, przekazują je prosiętom ssącym wraz z siarą. Szczepionki tego rodzaju stosowane są też u prosiąt starszych w postaci iniekcji parenteralnych w celu uodpornienia czynnego. Ani w jednym, ani w drugim przypadku wśród przeciwciał ochronnych nie występują przeciwciała IgA, istotne w śluzowej odporności miejscowej. W celu jej uzyskania, jak na to wskazują ostatnio wykonane badania (28, cyt. 10), może zostać ona wytworzona przez dodanie do szczepionki chemicznych immunomodulatorów: 1 α 25 (OH) 2D3 lub oligodeoksynukleotydy (ODNs) zawierające dwunukleotydy CpG w specyficznym kontekście (CpG-ODNs). Inne produkty o działaniu adiuwantów, indukujące odporność ochronną, w tym śluzową, obejmują nietoksyczne pochodne toksyny *Vibrio cholerae* i bakteryjne lipidy (14). Jednakże skuteczność nawet tego rodzaju preparatów, cho-

ciąż wyższa niż innych szczepionek przeciw kolibakteriozie świń, ciągle nie jest w pełni zadowalająca i problem ten, zwłaszcza ze względu na poważne straty powodowane przez kolibakteriozę prosiat przed i po odsadzeniu, wymaga dalszych badań.

Czynnikiem patogenności włoskowca różycy (*Erysipelothrix rhusiopathiae*) jest neuraminidaza, enzym, który uszkadza naczynia krwionośne i przyczynia się do powstawania zakrzepów i hemolizy. Odgrywa on rolę w pobudzaniu organizmu do wytworzenia odporności przeciwzakaźnej (30). Analogiczne znaczenie mają: wielocukier otoczki, który chroni komórkę bakteryjną przed fagocytozą oraz białkowe adhezyny (24). Najistotniejszym antygenem ochronnym inaktywowanych szczepionek przeciw różycy świń jest rozpuszczalna substancja, wytwarzana przez wyselekcjonowane szczepy serotypu 2 (czyli B) włoskowca różycy hodowanego na podłożach płynnych, zawierających surowicę zwierzęcą (30). Szczepionki inaktywowane z adiuwantami oraz szczepionki z osłabionymi w zakresie chorobotwórczości, czyli atenuowanymi, żywymi włoskowcami różycy (26) są w porównaniu do większości szczepionek przeciw innym chorobom bakteryjnym świń bardziej skuteczne. Znajdują zatem szerokie zastosowanie w ograniczaniu strat wywołanych przez tę chorobę.

Czynnikiem chorobotwórczości *Streptococcus suis*, wywołującego streptokokozę świń, a równocześnie antygenem ochronnym jest otoczkowy wielocukier tego drobnoustroju (8). Prawdopodobnie można do tego typu substancji zaliczyć też hemolizynę i białka spełniające rolę adhezyn oraz wytwarzane przez *Streptococcus suis* czynniki, które wywołują objawy zapalenia opon mózgowych. Wszystkie one powinny znajdować się w szczepionkach przeciw wymienionej chorobie, co nie zawsze ma miejsce, gdyż biopreparaty te wykazują różnego stopnia skuteczność, od dość zadowalającej do niskiej. Występowanie 35 serotypów wymienionego drobnoustroju jako potencjalnych czynników etiologicznych choroby dodatkowo utrudnia uzyskanie skutecznych biopreparatów (8).

Istotne w generowaniu odporności przeciwzakaźnej przeciw mykoplazmowemu zapaleniu płuc u świń są białka błony komórki *Mycoplasma hyopneumoniae* (o wielkości 97 kDa). Spełniają one rolę adhezyn łączących wymienione drobnoustroje z komórkami nabłonka tchawicy, oskrzeli i oskrzelików (31). Rolę adhezyn spełniają również 2 białka o wielkości 28,5 i 54 kDa (4).

Główne korzyści szczepień przeciw zakażeniu *M. hyopneumoniae* nie polegają, podobnie jak w przypadku innych szczepionek o niskiej skuteczności, na zapobieganiu chorobie w znaczeniu klasycznym, bo infekcja ma często przebieg bezobjawowy, lecz na osiągnięciu wyższych przyrostów masy ciała (o 2-8%), lepszego wykorzystania paszy oraz na skróceniu okresu dojścia do wagi rzeźnej. Natomiast w mykoplazmowym zapaleniu płuc, któremu towarzyszą widoczne

zaburzenia zdrowia, obserwuje się po szczepieniu łagodniejszy przebieg choroby i rzadsze jej występowanie (20, 21).

Jak dotychczas szczepionki przeciw dyzenterii świń cechują się niską skutecznością, mimo że świnię nabywają, aczkolwiek w stopniu mało widocznym, odporność przeciwzakaźną po jednokrotnym, a zwłaszcza kilkakrotnym przechorowaniu infekcji, wywołanej przez czynnik etiologiczny *Brachyspira hyodysenteriae*. Drobnoustroj ten wytwarza beta-hemolizynę kodowaną przez gen hlyA. Uszkadza ona integralność komórek nabłonka błony śluzowej okrężnicy (17). Trzy inne geny – tlyA, tlyB i tlyC kodują dodatkowe czynniki chorobotwórczości (16). Jest nim też lipowielocukier ściany komórkowej (25). Znane są również inne elementy komórki bakteryjnej, które mogą odegrać rolę w opracowaniu bardziej skutecznych niż obecne szczepionek przeciw dyzenterii świń (9, 13).

W profilaktyce swoistej przeciw salmonellozie świń, wywołanej przez serowar *Salmonella Typhimurium* lub *Salmonella choleraesuis*, bardziej skuteczne okazały się szczepionki żywe ze szczepami atenuowanymi niż inaktywowane, prawdopodobnie dzięki bardziej efektywnemu pobudzaniu odporności komórkowej i lepszej indukcji wytwarzania śluzowych przeciwciał IgA przez te pierwsze. Do ich produkcji stosuje się niechorobotwórcze szczepy *S. Typhimurium* lub *S. choleraesuis* z nieokreślonym genomem w aspekcie genów kodujących antygeny ochronne lub szczepy o genomie zrekonstruowanym w kierunku pozbawienia ich właściwości chorobotwórczych przy zachowaniu uodporniających (18).

Warunkiem skuteczności szczepionek przeciw rozrostowemu zapaleniu jelit świń, wywołanemu przez *Lawsonia intracellularis*, jest zawartość żywego osłabionego w swej chorobotwórczości, a nie zabitego drobnoustroju. O efektywności decyduje też doustne podawanie tego rodzaju biopreparatu. Zatem istotne również w tym przypadku są bliżej nieokreślone czynniki chorobotwórczości, które umożliwiają penetrację szczepu szczepionkowego do komórek nabłonka i związanych przewodem pokarmowym, a zwłaszcza jelitem biodrowym komórek układu odpornościowego, determinujących odporność śluzową (10, 19).

Znaczenie w wywoływaniu leptospirozy świń mają należące do gatunku *Leptospira interrogans*, serowary *L. pomona*, *L. tarasovi* i *L. canicola*. Stosowanie szczepień ochronnych obniża występowanie zachorowań na leptospirozę i chroni przed ronięciami. W użyciu znajdują się wyłącznie szczepionki inaktywowane. Podstawowym warunkiem skuteczności szczepionek jest zgodność antygenów typowo swoistych serowarów zawartych w biopreparacie z tymi, które stwierdzono jako przyczynę zachorowań świń w danym obiekcie (23). Przykład leptospirozy wskazuje zatem na znaczenie w niektórych chorobach bakteryjnych antygeny typoswoistego jako czynnika warunkującego ich skuteczność.

Poza szczepionkami przeciw zakaźnemu martwiczemu zapaleniu jelit u prosiąt i różycy świń, które zapewniają poszczepienną odporność przeciwważną wysokiego stopnia, większość scharakteryzowanych biopreparatów cechuje się średnią lub niższą skutecznością. Spośród nich do bardziej efektywnych zalicza się biopreparaty przeciw salmonellozie i kolibakteriozie, zzzn i mykoplazmowemu zapaleniu płuc – one również znajdują dość powszechne zastosowanie w praktyce. Natomiast decyzja o szczepieniu pozostałymi biopreparatami zależy od wyniku oceny ekonomicznej, czyli analizy kosztów i korzyści.

Piśmiennictwo

- Adler B., Bulach D., Chung J., Doughty S., Hunt M., Rajakumar K., Serrano M., van Zanden A., Yamei Z., Ruffolo C.: Candidate vaccine antigens and genes in *Pasteurella multocida*. J. Biotechn. 1999, 73, 83-90.
- Bossé J. T., Janson H., Sheehan B. J., Beddek A. J., Rycroft A. N., Kroll J. S., Langford P. R.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*: pathobiology and pathogenesis of infection. Microbes Infect. 2002, 4, 225-235.
- Brockmeier S. L., Register K. B., Magyar T., Lax A. J., Pullinger G. D., Kunkle R. A.: Role of the dermonecrotic toxin of *Bordetella bronchiseptica* in pathogenesis of respiratory disease in swine. Infect. Immun. 2002, 70, 481-490.
- Chen J., Zhang L., Song J., Hwang F., Dong Q., Liu J.: Comparative analysis of glycoprotein and glycolipid composition of virulent and avirulent strain membranes of *Mycoplasma hyopneumoniae*. Curr. Microbiol. 1992, 24, 189-192.
- Chiers K., Van Overbeke I., De Laender P., Ducatelle R., Carel S., Haesebrouck F.: Effects of endobronchial challenge with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 of pigs vaccinated with inactivated vaccines containing the Apx toxins. Vet. Quart. 1998, 20, 65-69.
- Davies R. L., MacCorquodale R., Baillie S., Caffrey B.: Characterization and comparison of *Pasteurella multocida* strains associated with porcine pneumonia and atrophic rhinitis. J. Med. Microbiol. 2003, 52, 59-67.
- De Jong M. F.: Progressive and nonprogressive atrophic rhinitis, [w:] Straw B. E., D'Allaire S., Mengeling W. L., Taylor D. (eds.): Diseases of Swine. Iowa State University Press, Ames, IA 1999, 355-384.
- Gottschalk M., Segura M.: The pathogenesis of the meningitis caused by *Streptococcus suis*: the unresolved questions. Vet. Microbiol. 2000, 76, 259-272.
- Greer J., Wannemuehler M.: Pathogenesis of *Trepomena hyodysenteriae*: induction of interleukin-1 and tumour necrosis factor by a treponema butanol/water extract (endotoxin). Microbiol. Pathol. 1989, 7, 279-288.
- Guedes R. M. C., Gebhart J. C.: Progression of *L. intracellularis* infection and mucosal immune response in pigs. Proc. 18th Internat. Pig. Vet. Society Congress 2004, s. 250.
- Haesebrouck F., Chiers K., Van Overbeke I., Ducatelle R.: *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in pigs: the role of virulence factors in pathogenesis and protection. Vet. Microbiol. 1997, 58, 239-249.
- Haesebrouck F., Pasmans F., Chiers K., Maes D., Ducatelle R., Decostere A.: Efficacy of vaccines against bacterial diseases in swine: what can we expect? Vet. Microbiol. 2004, 100, 255-268.
- Harris D. L., Hampson D. J., Glock R. D.: Swine dysentery, [w:] Straw B. E., D'Allaire S., Mengeling W. L., Taylor D. (eds.): Diseases of Swine. Iowa State University Press, Ames, IA 1999, 579-600.
- Holmgren J., Czerkinsky C., Eriksson K., Mharandi A.: Mucosal immunization and adjuvants: a brief overview of recent advances and challenges. Vaccine 2003, 21, S2/S2-95.
- Horzinek M. C., Schijns V. E. C. J., Denis M., Desmettre P., Babiuk L. A.: General Description of Vaccines. Vet. Vaccinology 1997, 131-166.
- Hsu T., Hutto D. L., Minion C., Zuerner R. L., Wannemuehler M. J.: Cloning of a beta-hemolysin gene of *Brachyspira* (Serpulina) *hyodysenteriae* and its expression in *Escherichia coli*. Infect. Immun. 2001, 69, 706-711.
- Hutto D. L., Wannemuehler M. J.: A morphologic comparison of the effects of *Serpulina hyodysenteriae* or its native hemolysin on murine cecal mucosa. Vet. Pathol. 1999, 36, 412-422.
- Kramer T. T., Roof M. B., Matheson R. R.: Safety and efficacy of an attenuated strain of *Salmonella choleraesuis* for vaccination of swine. Am. J. Vet. Res. 1992, 53, 444-448.
- Kroll J., Roof M., Elbers K., Utley P.: Maternal immunity associated with *Lawsonia intracellularis* exposure and vaccination. Proc. 18th Internat. Pig. Vet. Society Congress 2004, s. 294.
- Maes D., Deluyker H., Verdonck M., Castryck F., Miry C., Vrijens B., de Kruif A.: Effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in herds with a continuous production system. J. Vet. Med. D. 1998, 45, 495-505.
- Maes D., Deluyker H., Verdonck M., Castryck F., Miry C., Vrijens B., Verbeke W., Viaene J., de Kruif A.: Effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pigs herds with an all-in/all-out production system. Vaccine 1999, 17, 1024-1034.
- OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Mammals, Birds and Bees, 5th edition 2004, 57-90.
- Pejsak Z., Kocik T., Mokrzycka A.: Ocena nieszkodliwości, immunogenności oraz wartości ochronnej szczepionki Liptoform – 5. Życie Wet. 1993, 12, 295-298.
- Shimoji Y., Ogawa Y., Osaki M., Kabeya H., Maruyama S., Mikami T., Sekizaki T.: Adhesive surface proteins of *Erysipelothrix rhusiopathiae* bind to polystyrene, fibronectin, and types I and IV collagens. J. Bacteriol. 2003, 185, 2739-2748.
- Trott D. J., Alt D. P., Zuerner R. L., Wannemuehler M. J., Stanton T. B.: The search for *Brachyspira* outer membrane proteins that interact with the host. Anim. Health Res. Rev. 2001, 2, 19-30.
- Truszczyński M., Janowski H.: Badania nad podniesieniem wartości uodporniających niezjadliwej kultury różycowej wg Stauba. Wpływ podłoża na szybkość lizy i właściwości uodporniające szczepu. Roczn. Nauk Roln. 1959, 69, E-2, 225-243.
- Van den Bosch H., Frey J.: Interference of outer membrane protein PalA with protective immunity against *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in vaccinated pigs. Vaccine 2003, 21, 3601-3607.
- Van der Stede Y.: Modulation of a systemic induced immune response towards a mucosal one in pigs using 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ and CpG-motifs. Ph.D. Thesis. Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium 2003.
- Van Overbeke I., Chiers K., Ducatelle R., Haesebrouck F.: Effect of endobronchial challenge with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 of pigs vaccinated with a vaccine containing Apx toxins and transferring-binding proteins. J. Vet. Med. 2001, B 48, 15-20.
- Wood R. L.: Erysipelas, [w:] Straw B. E., D'Allaire S., Mengeling W. L., Taylor D. (eds.): Diseases of Swine. Iowa State University Press, Ames, IA 1999, 419-430.
- Zhang Q., Young T., Ross R.: Identification and characterization of a *Mycoplasma hyopneumoniae* adhesion. Infect. Immun. 1995, 63, 1013-1019.

Adres autora: prof. dr hab. Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mtruszc@piwet.pulawy.pl