

KONRAD DZIĄBA, ZBIGNIEW SZYNKIEWICZ*,
TADEUSZ JAKUBOWSKI, URSZULA WÓJCIK*

Wpływ doustnego szczepienia prosiąt zabita szczepionką przeciw kolibakteriozie na względnie beztlenowe bakterie jelit grubych*)

Katedra Epizootiologii, Zakład Bakteriologii Katedry Mikrobiologii* Wydziału Weterynaryjnego
SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Summary

The influence of killed vaccine against swine coli-bacillosis on the anaerobic bacteria of the large intestine

The experiment was carried out on 20 piglets. The vaccine was being administered per os with fodder to 10 piglets at a dose of 3 ml (1.5×10^{10} ml⁻¹) for 10 days. The number of *E. coli* in the faeces was determined in 5 piglets prior to and at day 5 and 10 in the course of vaccination and at day 5, 10 and 15 after the vaccination. In the next experiment in addition to the number of *E. coli* the numbers of *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Staphylococcus-Micrococcus* sp. were also determined. In this experiment the number of bacteria was counted prior to and at day 5 and 10 of the vaccination, and at day 10 after vaccination. At day 10 and 15 after the vaccination there was observed a decrease of *E. coli* colonies. During and after vaccination an increase of *Lactobacillus* sp. was noticed. No differences in the number of *Streptococcus* or *Staphylococcus-Micrococcus* sp. were found in the control and experimental piglets.

Badania Svendsena i Riisinga (5) oraz Janowskiego (4) wykazały, że u świń w okresie odsadzania wzrasta w kale liczba hemolitycznych *E. coli*. Zimmerhackel (7) twierdzi, iż jest to zjawisko normalne, gdyż w tym okresie prosięta mają obniżoną odporność. Dodatkowymi czynnikami predisponującymi do wystąpienia kolibakteriozy mogą być błędy w żywieniu i odchowie prosiąt. Podawanie z karmą sulfonamidów, antybiotyków i chemioterapeutyków w okresie odsadzenia w pewnych warunkach zapobiegało chorobie. Jednak na dłuższą metę efekty takiego postępowania okazały się niezadowalające, gdyż *E. coli* stało się odporne na większość stosowanych leków przeciwbakteryjnych. Szynkiewicz i wsp. (6) wykazali, że w przebiegu kolibakteriozy (choroba obrzękowa) następuje wzrost ogólnej liczby *E. coli* w jelitach cienkich i grubych oraz obniżenie liczby *Streptococcus* z grupy D. We wcześniejszych badaniach (2) stwierdzone przyrosty wagowe świń szczepionych zabita szczepionką przeciw kolibakteriozie w porównaniu z grupą świń nie szczepionych. Uzasadnionym stało się badanie zachowania się liczby *E. coli* i innej flory bakteryjnej, w tym antagonistycznej do *E. coli*, a mianowicie *Lactobacillus* sp. i *Streptococcus* sp.

Materiał i metody

Do doświadczeń użyto 20 prosiąt konwencjonalnych obu płci, w wieku 5–7 tygodni, o wadze 15–20 kg, pochodzących z jednego gospodarstwa wielkostatnego.

Dobór szczepów *E. coli*, jak i przygotowanie szczepionki podano we wcześniejszej pracy (3). Badania przeprowadzono w dwóch etapach. W pierwszym badano wpływ szczepionki podawanej przez 10 dni z karmą na liczbę *E. coli* w kale w 5 i 10 dniu podawania szczepionki oraz w 5, 10 i 15 dniu po zakończeniu jej stosowania. Badanie to wykonano na 15 prosiątach, z których 10 stanowiło kontrolę.

W drugim etapie użyto 5 prosiąt, u których przed i w trakcie szczepienia (5 i 10 dnia) oraz po zakończeniu stosowania

wania szczepionki (10 dnia), oprócz liczby *E. coli* badano również liczbę *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp. oraz *Staphylococcus-Micrococcus* sp. Do oznaczenia liczby hodowanych bakterii w 1 gramie kału zastosowano podłoża:

- dla *E. coli* podłoże McConkeya i agar odżywczy z dodatkiem 5% krwi baraniej;
 - dla *Lactobacillus* sp. podłoże APT o pH 5,5;
 - dla *Streptococcus* sp. z grupy D agar odżywczy z dodatkiem azydku i fioletu krystalicznego;
 - dla *Staphylococcus-Micrococcus* sp. podłoże 110 Difco.
- Próbki kału pobierano bezpośrednio z prostnicy rano, przed karmieniem, ważono, homogenizowano w zbuforowanym płynie fizjologicznym, rozcieńczano i наносzono po 0,1 ml na powierzchnię płytki. Liczbę bakterii wyrażano w logarytmach dziesiętnych. Do opracowania statystycznego wyników zastosowano metodę analizy wariancji.

Wyniki i omówienie

W tab. 1 przedstawiono liczbę *E. coli* w gramie kału w trakcie szczepienia doustnego prosiąt i w okresie 2 tygodni po zakończeniu dodawania antygeny *E. coli* do karmy dla zwierząt. W 5 dniu szczepienia wykazano istotny wzrost wydalania *E. coli* z kałem ($p \leq 0,01$), natomiast w 10 i 15 dniu od zakończenia podawania antygeny wykazano istotny spadek *E. coli* ($p \leq 0,05$) w stosunku do grupy kontrolnej. Przed podaniem szczepionki u 6 prosiąt występowały hemolityczne szczepy *E. coli*, natomiast w trakcie i po szczepieniu nie stwierdzono obecności tych szczepów.

W tab. 2 zebrano wyniki określania liczby *E. coli* i bakterii antagonistycznych (*Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp., oraz *Staphylococcus-Micrococcus* sp.). Stwierdzono istotny spadek *E. coli* w kale w 5 dniu szczepienia oraz 10 dnia od zakończenia podawania szczepionki ($p \leq 0,05$ dla podłoża McConkeya oraz $p \leq 0,01$ dla agaru z krwią). Natomiast w 10 dniu podawania szczepionki nie wykazano istotnych różnic w stosunku do badania kontrolnego przed rozpoczęciem szczepienia prosiąt. Średnia liczba *Lactobacillus* sp. w okresie szczepienia (5 i 10 dnia), jak również 10 dnia po zakończeniu podawania szczepionki z karmą, była istotnie wyższa w stosunku do wartości wyjściowej przed rozpoczęciem szczepienia ($p \leq 0,01$). Liczba *Staphylococcus-Micrococcus* sp. i *Streptococcus* sp. nie różniła się w poszczególnych dniach badania.

Wcześniejsze wyniki prac nad badaną szczepionką *E. coli* podaną konwencjonalnym i gnotobiotycznym prosiętom doustnie świadczyły o właściwościach immunogennych tej szczepionki (1, 3). Udowodniono też korzystny jej wpływ na wyniki produkcyjne u świń konwencjonalnych (2). W obecnie przedstawianej pracy wykazano, że zastosowana szczepionka jako dodatek do paszy wpływa korzystnie na florę bakteryjną przewodu pokarmowego obniżając istotnie liczbę *E. coli* i podwyższając liczbę *Lactobacillus* sp. — antagonisty pałeczek okrężnicy.

Doustne uodpornienie stymuluje głównie miejscową produkcję przeciwciał jelitowych należących do immu-

*) — Praca wykonana w ramach CPBR 10.17./IV.3.6.

Tab. 1. Średni logarytm liczby *E. coli* w 1 g kału prosiąt przed, w trakcie i po zakończeniu podawania szczepionki z karmą

Przed doświadczeniem n = 10	Termin badania (n = 5)				
	w trakcie szczepienia		po szczepieniu		
	5 dni	10 dni	5 dni	10 dni	15 dni
6,90 ± 0,44 79,80 × 10 ⁵	7,43 ± 0,23 ** 267,34 × 10 ⁵	6,89 ± 0,36 78,21 × 10 ⁵	6,75 ± 0,27 55,83 × 10 ⁵	6,08 ± 0,69 * 12,05 × 10 ⁵	5,97 ± 0,72 ** 9,29 × 10 ⁵

Objaśnienia: * istotność w stosunku do kontroli przy $p \leq 0,05$, ** przy $p \leq 0,01$.

Tab. 2. Średnie wartości logarytmu liczby *E. coli*, *Lactobacillus sp.*, *Streptococcus sp.* i *Staphylococcus-Micrococcus sp.* przed, w trakcie i po zakończeniu podawania szczepionki z karmą

Termin badania	<i>Staphylococcus</i>	<i>E. coli</i>		<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus — Micrococcus</i>
		McConkey	Agar z krwią		
Przed szczepieniem n = 5	3,28 ± 0,33 1,93 × 10 ³	5,87 ± 0,27 7,48 × 10 ⁵	6,29 ± 0,17 1,96 × 10 ⁶	8,55 ± 0,16 0,36 × 10 ⁹	9,22 ± 0,12 1,65 × 10 ⁹
5 dzień szczepienia n = 5	3,48 ± 0,27 3,02 × 10 ³	5,37 ± 0,31 * 2,37 × 10 ⁵	5,28 ± 0,44 ** 0,19 × 10 ⁶	9,26 ± 0,08 ** 1,84 × 10 ⁹	9,23 ± 0,09 1,71 × 10 ⁹
10 dzień szczepienia n = 5	2,94 ± 0,32 0,87 × 10 ³	5,99 ± 0,48 9,7 × 10 ⁵	6,47 ± 0,50 2,97 × 10 ⁶	9,05 ± 0,21 ** 1,13 × 10 ⁹	9,17 ± 0,21 1,49 × 10 ⁹
10 dni po szczepieniu n = 5	3,79 ± 0,31 6,14 × 10 ³	5,30 ± 0,21 * 2,0 × 10 ⁵	5,61 ± 0,30 ** 0,41 × 10 ⁶	9,05 ± 0,13 ** 1,13 × 10 ⁹	9,17 ± 0,13 1,46 × 10 ⁹

Objaśnienia: jak w tab. 1.

noglobuliny IgA. Immunoglobuliny typu A, znajdujące się na powierzchni błon śluzowych są dimerami posiadającymi cząstkę wydzielniczą, która powoduje przyleganie immunoglobuliny — nośnika swoistych przeciwciał anty *E. coli* do błony śluzowej. Cząstka wydzielnicza chroni ponadto immunoglobuliny IgA przed denaturującym działaniem soków trawiennych sprawiając, że przeciwciała tej klasy wykazują dłuższą aktywność niż inne przeciwciała w śluzie przewodu pokarmowego. Rola biologiczna tej immunoglobuliny polega na zapobieganiu adherencji patogennych *E. coli* do błony śluzowej przewodu pokarmowego, a w konsekwencji do zahamowania namnażania się *E. coli* i tym samym zapobiegania rozwojowi choroby. W wyniku swoistej miejscowej odpowiedzi immunologicznej przewodu pokarmowego na podany doustnie antygen w początkowym okresie stymulacji dochodzi do zwiększenia, a następnie obniżenia liczby *E. coli* w kale.

Uzyskane zwiększenie przyrostów u świń (2) było najprawdopodobniej spowodowane korzystną zmianą mikroflory po doustnym uodpornieniu, a mianowicie zmniejszeniem liczby *E. coli*, a zwiększeniem *Lactobacillus sp.*, co zapobiegało wystąpieniu subklinicznej postaci kolibakteriozy. Dodatek antygeny *E. coli* do paszy jest korzystny również z innych powodów. Po pierwsze nie powoduje skażenia mięsa ani środowiska obcymi substancjami chemicznymi. Po drugie — nie powoduje selekcji szczepów i tworzenia się szczepów opornych na antybiotyki. Wywołana odporność miejscowa w przewodzie pokarmowym zapobiega adherencji *E. coli* do błony śluzowej i hamuje proces przekazywania plazmidowych cech oporności na antybiotyki i genów odpowiedzialnych za chorobotwórczość tych bakterii (takich jak K88 czy Ent.).

Piśmiennictwo

1. Dziąba K., Lambrecht G., Petzoldt K.: Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 8, 267, 1985.
2. Dziąba K., Szykiewicz Z., Jakubowski T., Binek M., Bartosz B.: Medycyna Wet. 40, 455, 1984.
3. Dziąba K., Jakubowski T., Piusiński W., Malicka E., Bielecki W., Włoszycka A.: Medycyna Wet. (w druku).

4. Janowski H., Wasniński K., Wasnińska B.: Bull. Inst. Vet. Puławy 4, 161, 1965.
5. Svendsen J., Rüsing H. L.: Proc. IPVS Congress, Ames, Iowa 1976.
6. Szykiewicz Z., Dziąba K., Bielecka J., Preibisch J.: Medycyna Wet. 39, 459, 1983.
7. Zimmerhackel W.: Mh. Vet. Med. 20, 374, 1965.

Adres autora: prof. dr hab. Konrad Dziąba, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

GREVE J. H., O'BRIEN S. E.: Częstość występowania pasożytów jelitowych u psów w Iowa w 1965—68 i 1988. (Prevalence of intestinal parasites in Iowa dogs. A comparison between 1965—68 and 1988). Iowa State Univ. Vet. 51, 24—25, 1990 (1)

W okresie 1965—68 glistnicę zdiagnozowano u 18,5% psów, zakażenie tęgoryjcowe u 23,5%, strongylidy u 8,9%, kokcydia u 4,0% psów badanych w klinice weterynaryjnej w Iowa. W 1988 wartości te wynosiły odpowiednio 4,1%; 11,1%; 4,2% i 2,9%. W 1965—68 *Capillaria aerophila* nie była stwierdzana u psów, *Toxocara leonina* występowała u 2,5% psów, *Physaloptera sp.* u 1,6%, *Giargia np.* u 1,3%, *Alaria* u 0,1% oraz bardzo rzadko *Taenia* i *Dipylidium*. W 1988 r. obniżył się bardzo wyraźnie odsetek psów zarażonych przez *Toxascaris leonina*, *Physaloptera sp.* i *Giargia sp.*

G.

CARRIGAN M. J., SEAMAN J. T.: Patologia choroby Johna u owiec. (The pathology of John's disease in sheep). Aust. vet. J. 67, 47—50, 1990 (2)

W Nowej Południowej Walii pierwsze przypadki choroby Johna zdiagnozowano w 1980 r. Autorzy opisują zmiany chorobowe w oparciu o sekcje 50 owiec pochodzących z 10 stad. Wyniszczenie stwierdzono u 90% zwierząt, ostrą biegunkę u 20% owiec. Na czoło zmian sekcyjnych wysuwało się zgrubienie ścian jelit, zwłaszcza jelita biodrowego i okrężnicy, rzadziej jelita czczego. U 36% owiec te zmiany były słabo zaznaczone. U 38% owiec występował obrzęk węzłów chłonnych o różnym nasileniu i dotyczył on zwłaszcza węzłów chłonnych biodrowych i okrężniczych. W obrzękłych węzłach chłonnych granica między rdzeniem i korą była zatarta. W żadnym przypadku nie obserwowano powiększenia śledziony. Badaniem histologicznym zmienionych odcinków przewodu pokarmowego wykazano typhlitis i colitis i obecność dużych skupisk kwasoopornych bakterii w końcowym odcinku jelita biodrowego.

G.