

Szczepionki przeciw kolibakteriozie prosiąt, zwłaszcza okresu poodsadzeniowego

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

Vaccines against porcine colibacillosis, particularly after weaning

Summary

In the introduction to this review paper, the mechanisms of pathogenicity of *Escherichia (E.) coli* in animals, including particularly pigs, are characterized. The paper provides definitions of enterotoxigenic pathotype (ETEC), the Shiga-toxin-producing pathotype (STEC), the enteropathogenic pathotype (EPEC), and the extraintestinal pathotype (ExPEC), as well as presents the major types (virotypes) of *E. coli* that cause neonatal diarrhea in piglets and post-weaning diarrhea in pigs. Neonatal infections are prevented by the vaccination of the pregnant sow, which provides the suckling piglets with passive colostral and lactogenic immunity. The main purpose of this paper was therefore to discuss oral subunit vaccines and live oral vaccines against post-weaning colibacillosis in pigs.

The paper cites literature indicating that subunit vaccines containing purified fimbriae, particularly F4, which are important pathogenicity factors in the colonization of the pig's intestine, given orally to weaned pigs, can protect them against oral challenge with virulent F4+ETEC. The use of alfalfa plants as a delivery vehicle for F4 is suggested. Positive results obtained for vaccines containing F4 have not been repeated in the case of vaccines with F18. Nevertheless, the above-mentioned results for F4 open new possibilities for the development of combined subunit vaccines against the F4+ and F18+ strains of *E. coli*, which are the major etiological agents of post-weaning diarrhea in pigs.

Further in the paper, live oral ETEC vaccines for the prevention of post-weaning colibacillosis in pigs are characterized. They contain fimbrial live attenuated strains or wild strains, which are a priori non pathogenic, as they do not produce enterotoxins. After oral administration, these bacteria adhere to the fimbrial receptors of intestinal epithelial cells, initiating the immune response of the vaccinated pigs against fimbriae and preventing the colonization of the small intestine. The priming of the immune system with levamisole via intramuscular injection before oral vaccination, improves significantly the post-vaccinal immunity. Based on this technology, a live vaccine against F4+ETEC post-weaning diarrhea, called Coliprotec, was commercialized by Prevtect microbia in Canada in 2008 and also introduced in Brazil in 2011. The introduction of this vaccine in Europe is planned in 2014.

Since post-weaning diarrhea caused by F4+ETEC occurs shortly after the weaning of pigs, the vaccination is recommended shortly before weaning.

In order to enhance the efficacy of subunit and live vaccines administered orally to pigs, it is recommended to encapsulate them for protection of their immunogenic properties during transport through the gastrointestinal tract.

Parenteral vaccination against post-weaning porcine colibacillosis stimulates above all the systemic rather than the mucosal immune system. Its value in protecting the pigs against post-weaning colibacillosis is therefore small or none.

Considering the serious losses caused by post-weaning colibacillosis in swine production, further research is needed to improve the efficacy of vaccines against this disease. An effective vaccine could also make it possible to reduce the use of antimicrobials, as called for by the WHO and the OIE.

Keywords: colibacillosis in pigs, pathotypes, virotypes, vaccines

Klasyfikacja patotypów *Escherichia coli*

W większości chorób wywołanych u zwierząt, w tym u świń, przez *Escherichia (E.) coli* ekspresja chorobotwórczości związana jest z kodującymi ją

genami zjadliwości (virulence genes), występującymi w plazmidach, bakteriofagach lub wyspach patogenności (pathogenicity islands, PAI) komórki bakteryjnej (8, 12). O chorobotwórczości danego szczepu *E. coli* decydują, zgodnie z wymienionymi autorami, kodowa-

ne przez odnośne geny czynniki zjadliwości (virulence factors), zwane też czynnikami patogenności (pathogenicity factors). Określenie „patotyp” (pathotype) używane jest w celu scharakteryzowania typów *E. coli* o właściwych im mechanizmach chorobotwórczości, oznaczonych niżej podanymi symbolami. Stanowią one podstawę do podziału patogennych szczepów *E. coli* na następujące patotypowe grupy szczepów: enterotoksyczne (enterotoxigenic) *E. coli*, czyli ETEC, wytwarzające enterotoksynę ciepłostalą (ST) i/lub ciepłochwiejną (LT); szczepy produkujące Shiga-toksynę (Stx), określane jako STEC, obejmujące szczepy EDEC (wywołujące chorobę obrzękową świń) i enterohemoragiczne (EHEC); enteropatogenne szczepy (EPEC), których mechanizm chorobotwórczości, nie do końca wyjaśniony, polega na zdolności przyczepienia się do błony śluzowej jelit dzięki posiadaniu białka o nazwie „intymina”; szczepy pozajelitowe (ExPEC), które wywołują ogólne zakażenie, czyli posocznice. Jak dodatkowo proponują Gyles i Fairbrother (12), występowanie w danym szczepie określonego zespołu czynników zjadliwości jest podstawą do ustanowienia w obrębie patotypu wirotypów (virotypes) *E. coli*.

Obok wymienionych toksyn istotną rolę w patogenezie kolibakteriozy – wywołanej przez ETEC – odgrywają kolejne czynniki zjadliwości, zwane adhezynami fimbrialnymi. Fimbrie są włosowatymi wypustkami wychodzącymi z powierzchni komórki bakteryjnej (rodlike surface appendages), które pośredniczą w łączeniu się *E. coli* ze swoistymi receptorami (fimbrial receptors, FR), zlokalizowanymi na powierzchni enterocytów nabłonka jelit cienkich (12).

Etiologia kolibakteriozy prosiąt

Biegunkę prosiąt wywołują najczęściej, w porównaniu do innych szczepów *E. coli*, enterotoksyczne szczepy patotypu ETEC (12). W jego obrębie, zgodnie z cytowanymi autorami (12), biegunkę prosiąt osesków powodują wirotypy o następujących wzorcach: STa:K99:F41; STa:F41; STa:987P; LT:STb:EAST1:K88ac; LT:STb:STa:EAST1:K88ac; STb:EAST1:AIDA. Etiologicznie istotne wirotypy patotypu ETEC, wywołujące kolibakteriozę poodrodzeniową prosiąt, charakteryzują się następującymi wzorcami: LT:STb:EAST1:K88ac; LT:STb:STa:EAST1:K88ac; STa:STb; STa:STb:F18ac; STa:F18ac.

W celu dodatkowego wyjaśnienia przedstawionych wzorców wirotypów chorobotwórczych dla prosiąt podaje się, że wytwarzane przez nie enterotoksyny mogą być ciepłostale: w dwóch odmianach (STa lub STb) albo w odmianie określanej jako enteroagregacyjna (EAST1). Informuje się również, że symbole fimbrii „F” niekiedy podawane są wspólnie z antygenami fimbrialnymi K, zgodnie z następującymi przykładami: F4 (K88), F5 (K99) (7, 14, 23).

Według Melkebeek i wsp. (14), szczepy *E. coli* z fimbriami F4 najczęściej powodują biegunkę i pad-

nięcia u prosiąt ssących oraz prosiąt po odsadzeniu, podczas gdy szczepy z F5, F6 i F41 wywołują wyłącznie biegunkę neonatalną; natomiast szczepy z F18 są najczęściej przyczyną biegunki poodrodzeniowej.

Fimbrie F4 i F18 występują w różnych odmianach antygenowych. F4 stwierdzany jest jako F4ab, F4ac i F4ad (cyt. wg 14), ale zdecydowanie najczęstsze są szczepy z fimbriami F4ac (9). Odnośnie do F18 wykazano dwie odmiany antygenowe, mianowicie F18ab i F18ac (17). Kolibakterioza poodrodzeniowa często wywołana jest przez szczepy z F18ac, podczas gdy F18ab etiologicznie bardziej związany jest z chorobą obrzękową świń (17). Dodatkowo, oprócz prosięcych ETEC wytwarzających typowe fimbrie i antygeny fimbrialne (F4, F5, F6, F7 i F18) opisano podgrupę występujących u prosiąt szczepów ETEC, wytwarzających adhezynę niefimbrialną, czyli wyrażającą dyfuzyjną adhezję do komórek nabłonka jelit (involved in diffuse adherence, AIDA) (16).

Wymienione fimbrie typowe łącząc się ze swoistymi dla nich receptorami, zlokalizowanymi na enterocytach nabłonka błony śluzowej jelit cienkich, stanowią istotny czynnik w kolonizacji przez *E. coli* tego odcinka przewodu pokarmowego oraz niezbędny element w patogenezie biegunki. Po kolonizacji, w tym po intensywnym namnożeniu, enterotoksyczne szczepy *E. coli* wytwarzają wystarczające ilości enterotoksyn do wywołania wodnistej biegunki o ostrym przebiegu. Efektem ich działania jest zaburzenie w jelicie równowagi wodno-elektrolitowej (2, 11).

Swoiste zapobieganie kolibakteriozie prosiąt osesków

Polega ono na indukowaniu odporności biernej, siarowej oraz laktogennej u noworodków na drodze immunizacji loch w trzecim trymestrze ciąży swoistymi szczepionkami (14). Na rynku znajduje się obecnie szereg tego rodzaju biopreparatów do stosowania u loch. Zawierają one bądź inaktywowane, bądź żywe niechorobotwórcze bakterie pożądanych wirotypów z fimbriami lub oczyszczone fimbrie. Szczepionki te z reguły podawane są ciężarnym lochom parenteralnie (15).

Wystarczająco wysoka odporność bierna utrzymuje się u prosiąt mniej więcej do momentu odsadzenia ich od lochy, przy nadal istniejącym zagrożeniu ze strony ETEC, dlatego wymagane jest u świeżo odsadzonych prosiąt, a nawet krótko przed odsadzeniem szczepienie czynne immunogenami przeciw fimbrialnej kolonizacji *E. coli* jelit, a w konsekwencji przeciw działaniu enterotoksyn, które nie pojawiają się w stężeniach wystarczających do wywołania biegunki, jeżeli nie następuje kolonizacja jelit cienkich. Dane te, zwłaszcza w odniesieniu do enterotoksycznych szczepów *E. coli* (ETEC), zawierających F4 i F18, jako etiologicznie najważniejszych w wywoływaniu kolibakteriozy prosiąt, przedstawia Melkebeek i wsp. (14). Z publi-

kacji tej wynika, że wytwarzanie na ten okres czynnej odporności śluzowej (mucosal immunity) w odcinku jelit, w którym występują receptory dla fimbrii stanowi niezbędny warunek ochrony prosiąt przed kolibakteriozą okresu poodsadzeniowego. Służą temu niżej przedstawione szczepionki.

Doustne szczepionki podjednostkowe przeciw kolibakteriozie prosiąt odsadzonych

W 1999 r. Van den Broeck i wsp. (5) po raz pierwszy wykazali, że oczyszczone F4ac są po doustnym podaniu prosiętom silnymi immunogenami w pobudzaniu odporności śluzowej jelit. Podanie ich tą drogą w ilości po 1 mg, w czasie dwóch kolejnych dni odsadzonym prosiętom powodowało pojawianie się swoistych sekrecyjnych przeciwciał anti-F4 w kępkach Peyera, węzłach chłonnych krezkowych, krwi i blaszce właściwej (*lamina propria*) już po, odpowiednio, 4, 7, 9 i 11 dniach. W wyniku zastosowania doustnie u wspomnianych prosiąt drugiej dawki tej szczepionki 16 dni po pierwszej immunizacji, stwierdzono ochronę przeciw doustnemu zakażeniu zjadliwym szczepem *E. coli*, zawierającym F4 (6). Powyższe związane było z indukcją czynnej, swoistej odporności miejscowej, uniemożliwiającej kolonizację jelit przez *E. coli*.

Obecność receptora dla F4 czyli F4R na enterocytach jelita cienkiego odgrywa bardzo ważną rolę w indukcji śluzowej immunologicznej odpowiedzi ochronnej. Śluzowa odpowiedź immunologiczna nie mogłaby się rozwinąć po pobraniu przez prosię szczepionki, gdyby nie występowały na jego enterocytach odpowiednie receptory, czyli w tym przypadku F4R (6). Obecność lub brak F4R oparte są na uwarunkowanym genetycznie dziedziczeniu tej cechy, w związku z tym występują prosięta, które tej cechy nie posiadają (10, 19). Użycie transgenicznej lucerny (alfalfa) jako bezpiecznego i niekosztownego środka transportu dla fimbrialnej F4 sugerowali Joensuu i wsp. (13).

W przeciwieństwie do wyników uzyskanych w przypadku fimbrii F4, doustne podanie oczyszczonych fimbrii F18 nie indukowało ochronnej odpowiedzi przeciw infekcji szczepem F18⁺ *E. coli*, nawet jeżeli użyto dawki w wysokości do 30 mg fimbrii F18 i adjuwantu LT (R192G) (22). Ta różnica w immunogenności między fimbriami F18 i F4 może być wyjaśniona różnymi strukturami obu fimbrii bądź ewentualnie innymi, bliżej nie określonymi czynnikami (14, 20, 21). Konieczne są zatem dalsze badania. Przedstawione wyniki z F4 otwierają nowe możliwości w rozwoju technologii szczepionek podjednostkowych przeciw kolibakteriozie okresu poodsadzeniowego.

Doustne szczepionki żywe przeciw kolibakteriozie prosiąt odsadzonych

Kolejną grupą szczepionek przeciw kolibakteriozie wywołanej u prosiąt po odsadzeniu przez enterotoksyczne szczepy *E. coli* (ETEC), wytwarzające pato-

genne fimbrie i enterotoksyny są, zgodnie z danymi Melkebeek i wsp. (14) biopreparaty, które zawierają szczepy, które wcześniej podlegają laboratoryjnej atenuacji lub szczepy terenowe, *a priori* niechorobotwórcze (wild type avirulent *E. coli*). Takie szczepy szczepionkowe, zachowując fimbrie, nie wytwarzają enterotoksyn, co jest warunkiem ich nieszkodliwości. Po doustnym wprowadzeniu tego rodzaju szczepionki do przewodu pokarmowego i następującej adhezji fimbrii *E. coli* do swoistych dla nich receptorów (FR) enterocytów jelita cienkiego wyzwalają one w przewodzie pokarmowym produkcję swoistych immunoglobulin typu IgA, które przeciwdziałają kolonizacji szczepów *E. coli* o tych samych pod względem swoistości antygenowej fimbriach, podobnie jak doustnie podawane szczepionki podjednostkowe z oczyszczonymi fimbriami.

Bozić i wsp. (4) wykazali, że jednorazowe, doustne podanie prosiętom szczepionki z niechorobotwórczym żywym szczepem *E. coli*, wytwarzającym fimbrie F4ac, czwartego dnia po odsadzeniu od lochy nie dawało ochrony przeciw zakażeniu patogennym szczepem F4ac⁺ po 7 dniach od podania szczepionki. Dopiero wcześniejsze pobudzenie (priming) systemu immunologicznego lewamizolem (czyli immunomodulatorem o właściwościach antyanergicznym), po jego domięśniowym podaniu prosiętom, przez 3 kolejne dni bezpośrednio przed doustnym podaniem szczepionki, redukowało kliniczne objawy kolibakteriozy poodsadzeniowej (3). W 2007 r. udało się uzyskać tego rodzaju skuteczną szczepionkę przeciw poodsadzeniowej kolibakteriozie prosiąt, wywołanej szczepami F4⁺ *E. coli*, o nazwie Coliprotec (firmy Prevtect microbia) (cyt. wg 14). Została ona zastosowana w Kanadzie, począwszy od 2008 r., a następnie w Brazylii w 2011 r. Istnieje zapowiedź wprowadzenia jej w 2014 r. w Europie (www.prevtectmicrobia.com/en/section-41-r-d). Coliprotec jest biopreparatem do doustnego podawania, zawierającym żywe, naturalnie niezjadliwe szczepy *E. coli*, nie wydzielające patogennych enterotoksyn, a wytwarzające fimbrie F4ac (14).

Kolejne terenowe badania, dotyczące skuteczności szczepionki Coliprotec, wykonane w ramach szeroko zakrojonych doświadczeń terenowych w Kanadzie wykazały, że biopreparat ten obniżał w znacznym stopniu kolonizację jelit prosiąt szczepami wytwarzającymi fimbrie F4 oraz wpływał na łagodniejszy przebieg poodsadzeniowej kolibakteriozy prosiąt. W badaniach tych wykazano również nieszkodliwość wymienionej szczepionki dla uodpornianych nią zwierząt.

Wobec dość częstego występowania u prosiąt odsadzonych biegunki wywołanej przez szczepy *E. coli* F⁺, już po kilku dniach po odłączeniu od lochy, za wskazane uznano podjęcie prób podania pierwszej dawki szczepionki w końcowym okresie przebywania prosiąt z lochą. Za takim rozwiązaniem przemawiają wyniki badań Bertschinger i wsp. (1, 14). W doświadczeniach

tych autorów prosięta szczepiono trzykrotnie. Pierwszą dawkę otrzymały one 10. dnia przed odłączeniem od matek, a następne dawki sukcesywnie po odłączeniu od lochy. Efektem okazał się wzrost IgA, swoistych dla zawartych w szczepionce fimbrii F18ac oraz spadek liczby szczepów z F18ac, wydalanych z kałem.

W odniesieniu do omówionych szczepionek podawanych doustnie w postaci preparatów pojednostkowych lub zawiesin żywych *E. coli* przeciw kolibakteriozie okresu poodsadzeniowego istnieją dane dotyczące stosowania ich w otoczkach (kapsułkach), chroniących przed degradującym antygenem *E. coli* działaniem środowiska przewodu pokarmowego, zwłaszcza pH żołądka i ewentualnie obecnym przeciwciałom matczynym. Bliższe dane na ten temat przedstawia Melkebeek i wsp. (14).

Szczepionki podawane prosiętom odsadzonym parenteralnie

Niestety, pobudzają one przede wszystkim odporność ogólną. Brak natomiast jednoznacznych dowodów, iż odgrywają większą rolę w pobudzaniu miejscowej odporności śluzowej w odniesieniu do przewodu pokarmowego, a zwłaszcza jelit cienkich, czyli obszaru istotnego w patogenezie biegunki wywołanej przez ETEC *E. coli* F⁺. Wyjątek stanowią wyniki Ruana i wsp. (18), którzy wykazali, że podawane parenteralnie szczepionki zawierające *E. coli* z F4 i F18 chroniły eksperymentalnie zakażone prosięta odsadzone od lochy przed wystąpieniem u nich biegunki, wynik ten wymaga jednak potwierdzenia.

Podsumowanie

Reasumując, uważa się, że wskazane są dalsze prace badawcze zmierzające do zwiększenia skuteczności doustnie podawanych prosiętom szczepionek przeciw kolibakteriozie prosiąt w okresie poodsadzeniowym. Uzasadnia to fakt, że ta postać kolibakteriozy ciągle stanowi poważną przyczynę strat w produkcji trzody chlewnej (8). Nie we wszystkich przypadkach udaje się je ograniczać właściwym zarządzaniem stadem oraz zapewnieniem dobrostanu i odpowiedniego żywienia. W szeregu sytuacji tego rodzaju postępowanie nie jest podejmowane lub podejmowane jest w ograniczonym zakresie. Podawane są też często w nadmiarze antybiotyki, wbrew apelom o ich możliwie ograniczone stosowanie, zgodnie ze stanowiskiem w tej sprawie Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) i Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE).

Piśmiennictwo

1. Bertschinger H. U., Nief V., Tschäpe H.: Active oral immunization of suckling piglets to prevent colonization after weaning by enterotoxigenic *Escherichia coli* with fimbriae F18. *Vet. Microbiol.* 2000, 71, 255-267.
2. Blanco M., Blanco J. E., Gonzales E. A., Mora A., Jansen W., Gomes T. A. T., Zerbini L. F., Yano T., Pestana de Castro A. F., Blanco J.: Genes coding for enterotoxins and verotoxins in porcine *Escherichia coli* strains belonging to different O:K:H: serotypes: relationship with toxic phenotypes. *J. Clin. Microbiol.* 1997, 35, 2958-2963.

3. Božić F., Bilić V., Valpotić I.: Levamisole mucosal adjuvant activity for a live attenuated *Escherichia coli* oral vaccine in weaned pigs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2003, 26, 225-231.
4. Božić F., Lacković G., Stokes C. R., Valpotić I.: Recruitment of intestinal CD45RA⁺ and CD45RC⁺ cells induced by a candidate oral vaccine against porcine post-weaning colibacillosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2002, 86, 137-146.
5. Broeck W. Van den, Cox E., Goddeeris B. M.: Induction of immune responses in pigs following oral administration of purified F4 fimbriae. *Vaccine* 1999, 17, 2020-2029.
6. Broeck W. Van den, Cox E., Goddeeris B. M.: Receptor-dependent immune responses in pigs after oral immunization with F4 fimbriae. *Infect. Immun.* 1999, 67, 520-526.
7. Casey T. A., Nagy B., Moon H. W.: Pathogenicity of porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* that do not express K88, K99, F41, or 987P adhesins. *Am. J. Vet. Res.* 1992, 53, 1488-1492.
8. Fairbrother J. M., Gyles C. L.: Colibacillosis, [w:] Zimmerman J. J., Karriker L. A., Ramirez A., Schwartz K. J., Stevenson G. W.: Diseases of Swine. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA 2012, 10th ed., 723-749.
9. Fairbrother J. M., Nadeau E., Gyles C. L.: *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim. Health Res. Rev.* 2005, 6, 17-39.
10. Girardeau J. P.: A new in vitro technique for attachment to intestinal villi using enteropathogenic *Escherichia coli*. *Ann. Microbiol.* 1980, 131, 31-37.
11. Gyles C. L.: *Escherichia coli* enterotoxins, [w:] Gyles C. L. (wyd.), *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, Oxon, UK 1994, 171.
12. Gyles C. L., Fairbrother J. M.: *Escherichia coli*, [w:] Gyles C. L., Prescott J. F., Songer J. G., Thoen C. O.: Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA 2010, 4th ed., 267-308.
13. Joensuu J. J., Verdonck F., Ehrström A., Peltola M., Siljander-Rasi H., Nuutila A. M., Oksman-Caldentey K. M., Teeri T. H., Cox E., Goddeeris B. M., Niklander-Teeri V.: F4 (K88) fimbrial adhesion FaeG expressed in alfalfa reduces F4⁺ enterotoxigenic *Escherichia coli* excretion in weaned piglets. *Vaccine* 2006, 24, 2387-2394.
14. Melkebeek V., Goddeeris B. M., Cox E.: ETEC vaccination in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2013, 152, 37-42.
15. Nagy B., Fekete P. Z.: Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* 2005, 295, 443-454.
16. Ngeleka M., Pritchard J., Appleyard G., Middleton D. M., Fairbrother J. M.: Isolation and association of *Escherichia coli* AIDA-I/Stb, rather than EAST1 pathotype, with diarrhea in piglets and antibiotic sensitivity of isolates. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003, 15, 242-252.
17. Rippinger P., Bertschinger H. U., Imberechts H., Nagy B., Sorg I., Stamm M., Wild P., Wittig W.: Designations F18ab and F18ac for the related fimbrial types F107, 2134P and 8813 of *Escherichia coli* isolated from porcine postweaning diarrhoea and from oedema disease. *Vet. Microbiol.* 1995, 45, 281-295.
18. Ruan X., Liu M., Casey T. A., Zhang W.: A tripartite fusion, FaeG-FedF-LT(192)A2:B, of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) elicits antibodies that neutralize cholera toxin, inhibit adherence of K88 (F4) and F18 fimbriae, and protect pigs against K88ac/heat-labile toxin infection. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011, 18, 1593-1599.
19. Schroyen M., Goddeeris B. M., Stinckens A., Verhelst R., Janssens S., Cox E., Georges M., Niewold T., Buys N.: The effect of enterotoxigenic *Escherichia coli* F4ab,ac on early-weaned piglets: A gene expression study. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2013, 152, 87-92.
20. Tiels P., Verdonck F., Coddens A., Ameloot P., Goddeeris B. M., Cox E.: Monoclonal antibodies reveal a weak interaction between the F18 fimbrial adhesin FedF and the major subunit FedA. *Vet. Microbiol.* 2007, 119, 115-120.
21. Tiels P., Verdonck F., Coddens A., Goddeeris B., Cox E.: The excretion of F18+ *E. coli* is reduced after oral immunisation of pigs with a FedF and F4 fimbriae conjugate. *Vaccine* 2008, 16, 2154-2163.
22. Verdonck F., Tiels P., van Gog K., Goddeeris B. M., Lycke N., Clements J., Cox E.: Mucosal immunization of piglets with purified F18 fimbriae does not protect against F18⁺ *Escherichia coli* infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2007, 120, 69-79.
23. Wilson R. A., Francis D. K.: Fimbriae and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with colibacillosis. *Am. J. Vet. Res.* 1986, 42, 213-217.

Adres autora: prof. zw. dr hab. Marian Truszczyński, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl