

Efficacy of inactivated autovaccine for the control of swine dysentery in a farrow-to-finish pig farm

Żmudzki J.¹, Dors A.¹, Wałachowski M.², Pejsak Z.¹, Department of Swine Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy¹, Private Animal Practice Vet-Com²

The aim of this paper was to present results of the new approach to control swine dysentery. Swine dysentery (SD), is caused by a spirochaetal bacterium *Brachyspira hyodysenteriae*. High costs of this disease are associated with high morbidity, depression of growth and feed conversion efficiency and costs of continual in-feed medication. Therefore, the objective of the study was to evaluate the efficacy and production benefits of *B. hyodysenteriae* autogenous, inactivated vaccine for the control of SD in farrow-to-finish farm. In order to estimate the efficacy of the vaccine, the following production parameters were evaluated: average body weight (ABW) at slaughter, average daily body weight gain (ADBWG), mortality rate and feed conversion ratio (FCR). The results of presented study showed that at the day of slaughter (170 day of life), ABW of the vaccinated pigs was almost 10 kg higher than in the non-vaccinated group. Similarly, the ADBWG of the immunized pigs improved +59 grams per day. The efficacy of vaccinating sows and their piglets against SD was evident as it resulted in significantly higher ABW and ADBWG as well as better FCR. The data presented herein demonstrate that autogenous vaccine against SD could be the important alternative to drug therapy and it may significantly improve pig production.

Keywords: swine dysentery, inactivated autogenous vaccine, efficacy.

Krętki *Brachyspira hyodysenteriae* z rodzaju *Brachyspira* są głównym czynnikiem etiologicznym dyzenterii świń (swine dysentery – SD). W preparacie mikroskopowym widoczne są jako długie, spiralnie zwinęte komórki o zaokrąglonych lub zaostzonych biegunach. Występują w przewodzie pokarmowym zwierząt, głównie świń. Dyzenteria pojawia się w stadzie na ogół po wprowadzeniu zwierząt będących siewcami *B. hyodysenteriae*, które powróciły do zdrowia po pierwotnym zakażeniu. Niekiedy nosicielami są gryzonie, głównie myszy i szczury. Zakażenie szerzy się drogą pokarmową przez zanieczyszczone krętkami odchody. Pierwszym objawem

Przydatność immunoprofilaktyki w ograniczaniu strat świń na tle zakażeń *Brachyspira hyodysenteriae*

Jacek Żmudzki¹, Arkadiusz Dors¹, Marek Wałachowski², Zygmunt Pejsak¹

Zakład Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach¹, Prywatna Praktyka Weterynaryjna Vet-Com²

dyzenterii jest najczęściej luźny, żółtawy lub szary kał, jednakże najbardziej znaczące jest pojawienie się w kale krwi i śluzu. Dyzenteria w przypadku pierwotnego zakażenia niejednokrotnie ma przebieg ostry, który prowadzi do padnięć. Postać przewlekła, stwierdzana najczęściej, charakteryzuje się długotrwałym bezwolnym oddawaniem kału z niestrawioną treścią pokarmową, co prowadzi do wychudzenia chorych zwierząt. W kale występują niestrawione cząstki pokarmu. Makroskopowe zmiany umiejscawiają się w jelicie grubym, głównie w okrężnicy, i mogą rozszerzyć się na jelito ślepe. Typowymi zmianami w ostrym przebiegu choroby jest przekrwienie i obrzęk ścian jelit grubych oraz krezki. Zwykle dochodzi do nieżyłowo-krwotocznego zapalenia błony śluzowej jelit grubych (otrębiaste naloty). Błona śluzowa jest pokryta śluzem z dodatkiem włókniaka i skrzepów krwi.

Nieopłacalna produkcja z powodu wystąpienia dyzenterii związana jest z wysoką zachorowalnością, wydłużeniem okresu tuczu, większym zużyciem paszy oraz dużymi kosztami wynikającymi z długotrwałego leczenia. W przypadku dyzenterii nieprawidłowy dobór antybiotyku związany jest najczęściej z nieprzeprowadzeniem podstawowych badań bakteriologicznych, a w konsekwencji niewykonaniem antybiotykoogramu metodą seryjnych rozcieńczeń na podłożu płynnym, pozwalającego na określenie minimalnego stężenia hamującego leku (minimal inhibitory concentration – MIC). Na podstawie wykonanej antybiotyko-wrażliwości wspomnianą metodą możliwe jest szacunkowe ustalenie dawki antybiotyku (2). Niewłaściwe podanie antybiotyku (nieodpowiednia dawka i zbyt krótkie podawanie leku) powoduje brak efektu terapeutycznego, a nawet sprzyja nawrotom choroby.

Z uwagi na obserwowane w ostatnich latach narastanie lekooporności izolatów

B. hyodysenteriae, alternatywną i uzupełniającą metodą zapobiegania dyzenterii wydaje się immunoprofilaktyka. Pomimo prowadzonych od lat badań, do dzisiaj nie opracowano szczepionki, której zastosowanie dawałoby przynajmniej zadowalające efekty. Związane jest to z dużym zróżnicowaniem antygenowym szczepów *B. hyodysenteriae*. Trudności z wyprodukowaniem skutecznej szczepionki skłaniają do oparcia immunoprofilaktyki o autoszczepionki.

W związku z powyższym celem prezentowanych badań terenowych była ocena efektów produkcyjnych w wielkotowarowej fermie świń po zastosowaniu autoszczepionki przeciw zakażeniom *B. hyodysenteriae*, wyprodukowanej przez Calier Laboratories, S.A., Leon w Hiszpanii.

Materiał i metody

Opis gospodarstwa

Doświadczenie przeprowadzono w pierwszym kwartale 2011 r. w gospodarstwie wielkotowarowym „B”, którego stado podstawowe składało się z 500 loch rasy wielkiej białej polskiej i polskiej białej zwiśłouchej, a roczna produkcja tuczników kształtowała się na poziomie 10 000 sztuk. Grupy technologiczne składające się z 44 loch tworzone co 2 tygodnie. Prosięta odsadzane były w wieku średnio 28 dni. Lochy prośne oraz karmiące żywiono indywidualnie, natomiast warchlaki i tuczniki grupowo. Świnie żywiono paszami pełnoporcjowymi na sucho. Na wszystkich etapach produkcji przestrzegana była zasada „całe pomieszczenie pełne – całe pomieszczenie puste”. W gospodarstwie prowadzono szczepienia profilaktyczne przeciwko kolibakteriozie, beztlenowcowej enterotoksemii prosiąt, parwowirozie, cirkowirozie

Tabela 1. Zbiorcze wyniki stosowania autoszczepionki przeciw dyzenterii na efekty produkcyjne w okresie od odsadzenia prosiąt do uboju

Grupa	Liczba warchlaków/tuczników	Liczba/% padnięć z powodu SD		Średnia m.c. w dniu uboju (kg)	Średnie dobowe przyrosty m.c. od odsadzenia do uboju (kg)	Współczynnik zużycia paszy (kg)
		warchlaki	tuczniki			
Doświadczalna	2708/2651	9,5/2,1	7,0/1,61	103,14	0,607	2,64
Kontrolna	2688/2649	8,17/1,82	5,0/1,15	93,19	0,548	2,97

i mykopłazmowemu zapaleniu płuc. Raz do roku stado podstawowe odrobaczano.

Zwierzęta w fermie „B” od wielu lat zakażone są *B. hyodysenteriae*. Straty, między innymi z powodu dyzenterii, sięgają na porodówce 5%, warchlakarni 2,5% oraz w tuczarni 2%. Typowe objawy chorobowe w postaci krwawych biegunk pojawiały się głównie w tuczarni. Badania anatomopatologiczne u większości padłych tuczników wykazały charakterystyczne zmiany w jelicie ślepym i okrężnicy w postaci nieżyłowo-krwotocznego zapalenia błony śluzowej jelit grubych.

Rozpoznawcze badanie bakteriologiczne przeprowadzono w Zakładzie Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach oraz na Wydziale Weterynaryjnym Uniwersytetu w Leon w Hiszpanii, z użyciem materiału biologicznego w postaci próbek kału oraz podwiązanych wycinków jelit grubych pobranych na granicy ujścia biodrowo-ślepo-okrężniczego. Treść jelit, zeszkrobiny błony śluzowej jelit oraz próbki kału posiewano na podłoże selektywne TSA z antybiotykami. Do izolacji krętków wykorzystano stałe podłoże wybiórcze TSA (tryptozowo-sojowe) opracowane przez Szykiewicza i Binka (11) w modyfikacji własnej.

W celu uzyskania jednorodnej hodowli szczepu wykonano szereg pasażu poprzez przesiewanie kolonii bakteryjnych na podłoże TSA z krwią i chlorowodorkiem cysteiny. Jednorodną kulturę bakterii otrzymywano po 2–3-krotnym pasażu.

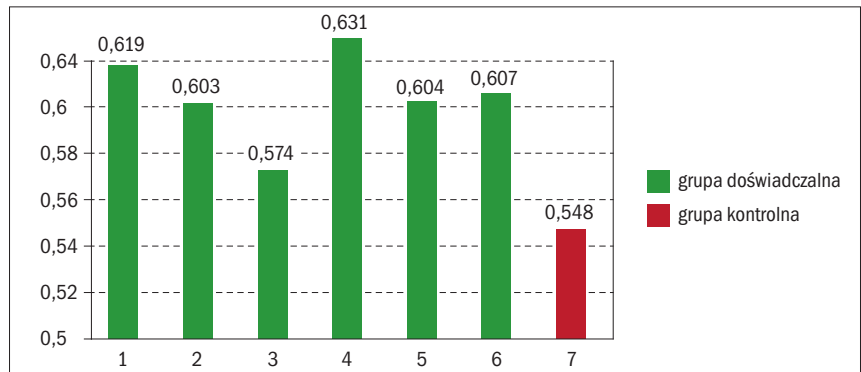
Posiewy były inkubowane w anaerostacie (Merck, USA) w warunkach beztlenowych, w atmosferze 8–10% CO₂ i 90% H₂, uzyskanej za pomocą systemu do wytwarzania środowiska gazowego (BD GasPack™ EZ Anaerobe Container System). Płytki inkubowano w temperaturze 41°C przez 3 do 5 dni.

Charakterystyczny wzrost bakterii na podłożu stałym z dodatkiem 5% krwi baraniej odczytywano po 72 godzinach inkubacji w 41°C. Po tym czasie oceniano wzrokowo występowanie strefy hemolizy (silnej β-hemolizy), a za wynik dodatni uznawano obecność wyraźnej strefy przejaśnienia występującej wokół kolonii *B. hyodysenteriae*.

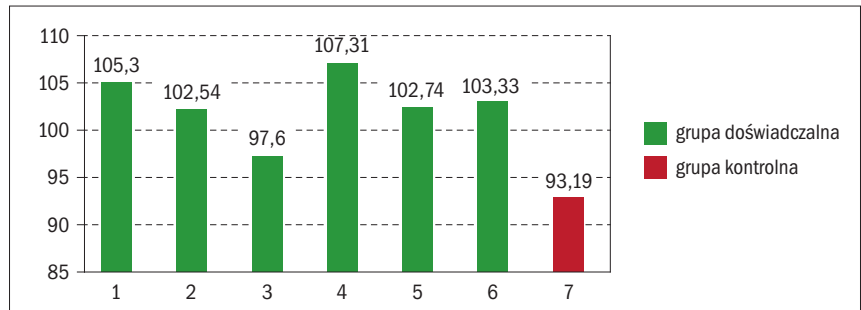
Dodatkowo przynależność krętków do gatunku *B. hyodysenteriae* określano za pomocą techniki PCR. Metoda ta, wykorzystując parę specyficznych starterów, wykrywa gen *tlyA* w genomie krętków (10).

Przygotowanie autoszczepionki

Jednorodne kultury bakteryjne *B. hyodysenteriae* wyizolowane z fermy „B” wysiewano na podłoże płynne z wyciągiem mózgowo-sercowym (BHI), z dodatkiem cieplej surowicy płodowej oraz odpowiednią ilością adiuwantu w postaci wodorotlenku glinu. W końcowym etapie produkcji



Ryc. 1. Średnie dobowe przyrosty masy ciała świń doświadczalnych i kontrolnych w okresie od odsadzenia do uboju



Ryc. 2. Średnia masa ciała tuczników w dniu uboju (170 dzień życia)

zawiesinę bakterii, o koncentracji 10⁹ jednostek tworzących kolonie na mililitr (jtk/ml) inaktywowano formaliną. Każda partia szczepionki przechodziła szczegółową kontrolę, polegającą na ocenie jałowości i nieszkodliwości wykonanego biopreparatu.

Uodpornianie

Szczepieniami objęto 12 grup technologicznych loch po 44 samice w grupie. Część grup zaszczerpiono – grupy doświadczalne, a pozostałe stanowiły nieszczerpione grupy kontrolne. Autoszczepionkę aplikowano 3-krotnie na 8, 5 i 3 tygodnie przed spodziewanym porodem. Szczepionkę stosowano również u warchlaków dwukrotnie, w 5 i 8 tygodniu życia. Preparat podano łącznie 528 lochom oraz 5396 warchlakom, domięśniowo, w dawce odpowiednio 4 i 2 ml (tab. 1).

Jedna dawka szczepionki zawierała co najmniej 10⁹ inaktywowanych komórek *B. hyodysenteriae* na mililitr (jtk/ml).

W grupach doświadczalnych i kontrolnych określono następujące parametry produkcyjne: średnia masa ciała w dniu uboju (170 dzień życia), średnie dobowe przyrosty masy ciała, średnia liczba padnięć warchlaków i tuczników oraz współczynnik zużycia paszy na kilogram przyrostu masy ciała.

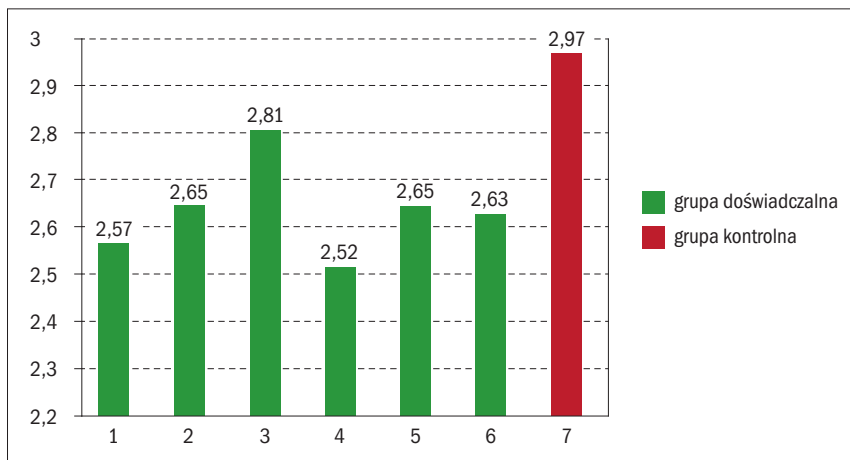
Wyniki i omówienie

Dane przedstawione na ryc. 1, 2, 3 oraz zebrane w tab. 1 wskazują, że wprowadzenie immunoprofilaktyki dyzenterii

z wykorzystaniem autoszczepionki w stopniu istotnym ograniczyło straty spowodowane tą chorobą. Średnie dobowe przyrosty masy ciała świń wahały się w poszczególnych grupach doświadczalnych w zakresie 0,574–0,631 kg, zaś w grupach zwierząt kontrolnych wynosiły odpowiednio 0,521–0,573 kg (ryc. 1). Sumaryczny średni dobowy przyrost masy ciała dla świń ze wszystkich grup doświadczalnych wynosił 0,607 kg, a dla kontrolnych 0,548 kg (tab. 1).

W rezultacie stosowania szczepień profilaktycznych i w związku z tym lepszymi dobowymi przyrostami masy ciała wśród zwierząt doświadczalnych, uzyskano wyższą masę ciała świń w dniu ich uboju. Średnia masa ciała sprzedawanych tuczników w 170 dniu życia w grupie doświadczalnej była wyraźnie wyższa i wahała się w granicach od 97,6 do 107,31 kg, a w grupach kontrolnych od 88,68 do 97,57 kg (ryc. 2). Efektem była średnio prawie 10 kg wyższa masa ciała u zwierząt szczepionych w stosunku do świń niepoddawanych immunizacji (tab. 1). Analogicznie, średnie dobowe przyrosty masy ciała u świń szczepionych były o 59 g większe w porównaniu do zwierząt niepoddawanych szczepieniom (tab. 1).

Zastosowanie autoszczepionki przeciwko dyzenterii nieznacznie wpłynęło na zużycie paszy na kilogram przyrostu masy ciała. Wskaźnik ten w grupach doświadczalnych mieścił się w przedziale od 2,52 do 2,81 kg, natomiast w grupach kontrolnych wynosił odpowiednio 2,81 do 3,15 kg (tab. 1, ryc. 3). Odsetek padnięć warchlaków i tuczników zarówno w grupie doświadczalnej,



Ryc. 3. Średnie zużycie paszy na 1 kg przyrostu masy ciała w okresie od przemieszczenia na tucz wstępny do uboju

jak i kontrolnej był porównywalny (tab. 1) i wynosił średnio dla warchlaków z grup doświadczalnych 2,1%, a dla kontrolnych 1,82%. Analogicznie w grupach tuczników doświadczalnych i kontrolnych wynosił odpowiednio 1,61 i 1,15%.

Podobne badania przeprowadzili Hampson i wsp., którzy wyprodukowali prototypową szczepionkę przeciwko dyzenterii (4). Wspomniani autorzy wykazali wysoką wartość ochronną biopreparatu, która została zaakceptowana w programie zwalczania dyzenterii w Australii. Do doświadczenia wykorzystano 16 świń z jednego kojca, z których połowę 3-krotnie zaszczepiono, a pozostałe 8 posłużyło jako grupa kontrolna. Na 8 świń immunizowanych tylko 2 (25%) zachorowały z typowymi objawami dla dyzenterii, po ich wprowadzeniu do stada endemicznie zakażonego *B. hyodysenteriae*. Siedem spośród 8 (88%) świń nieszczepionych wykazywało typowe objawy kliniczne charakterystyczne dla dyzenterii.

Również Osorio i wsp. (9) oraz Hidalgo i wsp. (5) oceniali skuteczność autoszczepionki w zachodniej Hiszpanii na fermie o zamkniętym cyklu produkcji, przy stadzie podstawowym liczącym 200 loch. Do szczepień wykorzystano lochy i warchlaki od 7 tygodnia życia. Zwierzęta były szczepione domięśniowo trzema dawkami autoszczepionki z przerwami pomiędzy poszczególnymi szczepieniami, mieszczącymi się w granicach od 3 do 5 tygodni. U chorujących zwierząt z objawami biegunki w okresie od odsadzenia do uboju zmniejszono objawy kliniczne dyzenterii z 15% przed szczepieniem do zaledwie 2% po wykonanej immunizacji. Przy ograniczeniu objawów klinicznych choroby odnotowano w ciągu miesiąca spadek śmiertelności na poziomie średnio 50 zwierząt przed szczepieniem do 8-10 świń po drugiej dawce szczepionki. Równocześnie po aplikacji 3 dawki autoszczepionki wyraźnie spadły koszty leczenia antybiotykami – o około 80%.

Z kolei Waters i wsp. (13) analizowali skuteczność autoszczepionek zawierających antygen bakteryjny nadtrawiony proteinazą oraz biopreparaty zawierające całe komórki bakteryjne inaktywowane formaliną. Wspomniany autor podjął próbę oceny skuteczności odpowiedzi komórkowej na zastosowane szczepionki u zwierząt zakażonych *B. hyodysenteriae*. W efekcie przeprowadzonych badań nie stwierdzono wyraźnych różnic przy zastosowaniu obu odmian autoszczepionek.

Należy wspomnieć, że oprócz konwencjonalnych szczepionek zawierających antygen składający się z całych komórek bakteryjnych, podjęto wiele prób mających na celu wyprodukowanie skutecznych szczepionek podjednostkowych zawierających zewnętrzną osłonkę białkową *B. hyodysenteriae*. Holden i wsp. (6) oraz La i wsp. (7) do przeprowadzenia szczepień doświadczalnych wykorzystali oczyszczone rekombinowane białko osłonki zewnętrznej SmpB *B. hyodysenteriae*. Również Thomas i Sellwood (12) w badaniach własnych zwrócili szczególną uwagę na rolę wspomnianego białka w indukcji przeciwciał klasy IgA, odpowiedzialnych z odporność miejscową w jelitach. Lokalna odporność błony śluzowej zależna jest od poziomu wytworzonych przeciwciał IgA anty-SmpB (wydzielniczych IgA). Przykładem skutecznej ochrony antybakteryjnej na poziomie nabłonka błony śluzowej jelit są wydzielnicze IgA chroniące układ pokarmowy przed zakażeniem *Salmonella typhimurium* (1, 3, 8). W przypadku odporności humoralnej nie jest możliwe wytworzenie całkowitej bariery ochronnej u świń poddanych eksperymentalnemu zakażeniu *B. hyodysenteriae*. Z kolei indukcja wydzielniczych IgA, które mogą reagować z nieinwazyjnym szczepem *B. hyodysenteriae*, może powodować wzrost poziomu odporności w połączeniu z właściwą odpowiedzią komórkową. Szczepionki z wykorzystaniem rekombinowanego białka osłonki zewnętrznej *B. hyodysenteriae* tylko

częściowo chronią zwierzęta przed zakażeniem. Uodpornianie świń rekombinowanym białkiem oznaczonym–His BmpB zmniejszyło zachorowalność u zwierząt poddanych immunizacji *B. hyodysenteriae* do 50% (7). W tym samym doświadczeniu, szczepienia z wykorzystaniem zarówno białka wiążącego maltozę, jak i BmpB nie wywołało reakcji immunologicznej organizmu, a w konsekwencji nie zabezpieczyło zwierząt przed eksperymentalnym zakażeniem. Zatem utworzony w celach immunizacji konstrukt białkowy może odgrywać istotną rolę w reakcji immunologicznej.

Drugim co do ważności białkiem, które dotąd nie zostało poddane badaniom odnośnie do immunogenności jest SmpA. Należy wspomnieć, że wszystkie zbadane dotychczas szczepy *B. hyodysenteriae* zawierały tylko jedno z tych białek, ale nigdy obydwa. Być może zastosowanie zarówno białka SmpA, jak i SmpB w jednej szczepionce zabezpieczy zwierzęta przed wszystkimi serotypami *B. hyodysenteriae* (6).

Podsumowując, można stwierdzić, że szczepionki oparte na szczepie homologicznym, występującym w danym obiekcie gospodarskim, wydają się być dobrą alternatywą do wyżej opisanych preparatów podjednostkowych. Zastosowanie autoszczepionki zawierającej antygen *B. hyodysenteriae* umożliwia ograniczenie strat związanych z występowaniem klinicznej postaci dyzenterii.

Piśmiennictwo

1. Apter F.M., Michetti P., Winner 3rd L.S., Mack J.A., Mekalanos J.J., Neutra M.R.: Analysis of the roles of antilipopolysaccharide and anti-cholera toxin immunoglobulin A (IgA) antibodies in protection against *Vibrio cholerae* and cholera toxin by use of monoclonal IgA antibodies in vivo. *Infect. Immun.* 1993, **61**, 5279-5285.
2. Burch D.: Swine dysentery eradication-choosing the right drug, dose and duration; What the experts say. 07 May 2009. Link: http://www.pig333.com/what_the_experts_say/swine-dysentery-eradication-choosing-the-right-drug-dose-and-durati_1158/
3. Cowell D.E., Michalek S.M., Briles D.E., Jirillo E., McGhee J.R.: Monoclonal antibodies to *Salmonella lipopolysaccharide*: O-polysaccharide antibodies protect C3H mice against challenge with virulent *Salmonella typhimurium*. *J. Immunol.* 1984, **133**, 950-957.
4. Hampson D.J., Robertson I.D., Mhoma J.R.: Experiences with a vaccine being developed for the control of swine dysentery. *Aust. Vet J.* 1993, **70**, 18-20.
5. Hildago A., Osorio J., Pappaterra A., Llanos A., Marca J., Ferro A., Hernández-Caravaca, Carvajal A., Rubio P. Control of swine dysentery with an inactivated autovaccine against *Brachyspira hyodysenteriae* in a multiplier herd. *Proc. 20th IPVS Congr.*, Durban, South Africa 2008, s. 242.
6. Holden J., Coloe P.J., Smooker P.M.: An evaluation of the immunogenicity and protective responses to *Brachyspira hyodysenteriae* recombinant SmpB vaccination. *Vet. Microbiol.* 2008, **128**, 354-63.
7. La T., Phillips N.D., Reichel M.P., Hampson D.J.: Protection of pigs from swine dysentery by vaccination with recombinant BmpB, a 29.7 kDa outer-membrane lipoprotein of *Brachyspira hyodysenteriae*. *Vet. Microbiol.* 2004, **102**, 97-109.
8. Michetti P., Mahan M.J., Slauch J.M., Mekalanos J.J., Neutra M.R.: Monoclonal secretory immunoglobulin A protects mice against oral challenge with the invasive pathogen *Salmonella typhimurium*. *Infect. Immun.* 1992, **60**, 1786-1792.

9. Osorio J., Hidalgo A., Pappaterra A., Llanos A., Marca J., Ferro A., Dávila C., Carvajal A. Control of swine dysentery with an autogenous bacterin of *Brachyspira hyodysenteriae* in Iberian pigs. *Proc. 20th IPVS Congr.*, 2008 Durban, South Africa, s. 243.
10. Rzewuska M., Jakubowski T., Kizerwetter M., Binek M.: Detection of *Brachyspira sp.* in samples of swine faeces based on culture method and on PCR technique. *Cell. Biol. Mol. Lett.* 2001, **6**, 813-814.
11. Szykiewicz Z.M., Binek M.: Evaluation of selective media for primary isolation of *Treponema hyodysenteriae* and *Treponema innocens*. *Immun. Microbiol. Infect.* 1986, **9**, 71-77.
12. Thomas W., Sellwood R.: Monoclonal antibodies to a 16 kDa antigen of *Serpulina (Treponema) hyodysenteriae*. *J. Med. Microbiol.* 1992, **37**, 214-220.
13. Waters W.R., Pesch B.A., Hontecillas R., Sacco R.E., Zuckermann F.A., Wannemuehler M.J.: Cellular immune responses of pigs induced by vaccination with either a whole cell sonicate or pepsin-digested *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae* bacterin. *Vaccine* 1999, **18**, 711-719.

Dr Jacek Żmudzki, Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny, al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: jaca@piwet.pulawy.pl