

WŁAŚCIWOŚCI CHOROBOTWÓRCZE I TOKSYCZNE
DLA MYSZEK I ZARODKÓW KURZYCH SZCZEPÓW *E. COLI*
WYOSOBNIONYCH Z PRZYPADKÓW CHOROBOWYCH
U ŚWIŃ*

M. TRUSZCZYŃSKI, J. PILASZEK, D. CIOSEK, C. B. GLASGOW

Zakład Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach
Kierownik: prof. dr M. Truszczyński

Celem pracy było określenie zjadliwości dla myszek i zarodków kurzych szczepów *E. coli* wyosobnionych z przypadków chorobowych u świń i od świń zdrowych. Zbadano też toksyczność endotoksyn uzyskanych z wymienionych drobnoustrojów dla myszek i zarodków kurzych, w teście skórnym na królikach i w podwiązanych pętlach jelitowych prosiąt i królików.

Materiał i metody. 40 szczepów *E. coli* wybrano spośród 900 szczepów oznaczonych uprzednio. 28 szczepów wyizolowano z przypadków choroby obrzękowej a 12 z przypadków gastroenteritis prosiąt po odsadzeniu. Po 10 szczepów należało do 4 serotypów: E4 — 0139 : K82(B), E57 — 0138 : K81(B), E68II — 0141 : K85a, b(B) i G7 — 08 : K87(B) K88a, b(L). Szczepy przechowywano w stanie zliofilizowanym a następnie przesiewano na podłoże McConkey'a w celu wyboru kolonii gładkiej, którą posiewano na podłoże Dorseta. Na tym podłożu przechowywano szczepy używane w trakcie doświadczeń. Do badań użyto też 16 szczepów *E. coli* w formie S wyosobnionych z kału świń zdrowych. Po 5 szczepów należało do serotypów: E4 i E145 — 0141 : K85a, c(B) a po 3 szczepy do serotypów E57 i E68II. Szczepy te były przechowywane na podłożu Dorseta i w krótkim czasie po izolacji były użyte do badań.

Z 11 szczepów izolowanych od świń z przypadków kolibakteriozy sporządzono ekstrakty lipowielocukrowe wg Westphala i wsp.

Do doświadczeń użyto myszki linii wsobnej pochodzące z hodowli Instytutu Weterynarii w Puławach. Ciężar ciała myszki wynosił ca 18 g. Były one zakażane odpowiednimi rozcieńczeniami 24-godzinnej hodowli

* Praca jest przedstawiona w streszczeniu. In extenso jako dwie publikacje zostanie opublikowana w Research in Veterinary Science.

badanych szczepów *E. coli* dootrzewnowo w dawce 0,2 ml. Obserwowano je notując upadki w ciągu 5 dni.

10-dniowe zarodki kurze pochodziły od kur rasy Leghorn. Jaja z zarodkami ważyły 50—70 g. Były one szczepione do jamy omoczniowej odpowiednimi rozcieńczeniami badanych szczepów w dawce 0,1 ml. Obserwowano je notując upadki do 16 godz. od chwili szczepienia. Czas obserwacji i notowania upadków zarodków w przypadku podania endotoksyn wynosił 5 dni.

Do doświadczeń użyto króliki białe, rasy nieokreślonej o wadze 2—3 kg. U tych królików badano odczyn śródskórny wg Larsona i wsp. używając wyciągi lipowielocukrowe uprzednio wymienionych szczepów.

Posłużono się też tzw. odczynem w podwiązanej pętli jelitowej, używając króliki rasy nieokreślonej o wadze 2—3 kg i prosięta stanowiące krzyżówkę rasy „wielka biała” z rasą puławską. 7 prosiąt było w wieku 3 tygodni a 2 w wieku 3 miesięcy. Odczyn ten u królików wykonano wg De i wsp. a u świń wg M o o n a i wsp.

LD-50 obliczono wg R e e d a i M u e n c h a. Zmienność różnic „p” ustalono na podstawie testu Studenta „t” podanego przez Snedecora a stopień korelacji wyrażono współczynnikiem „r” wg F r e u n d a.

W y n i k i i d y s k u s j a. Wyniki doświadczeń dotyczących określenia LD-50 żywych hodowli bulionowych szczepów *E. coli* dla myszek i zarodków kurzych znajdują się w tab. 1. Znamienne statystycznie korela-

Tabela 1

Przeciętne LD-50 dla myszek i zarodków kurzych, szczepów *E. coli* izolowanych od świń *

Serotyp	Myszki	Zarodki kurze
E4	1 : 20,84	10 ^{-8,3}
E68II	1 : 17,79	10 ^{-7,9}
E57	1 : 15,52	10 ^{-8,1}
G7	1 : 5,70	10 ^{-7,8}

* — z każdego serotypu badano po 10 szczepów. Rozcieńczenia przygotowywano z 24 godzinnej hodowli bulionowej.

cje dla myszek i zarodków kurzych w LD-50 w przypadku serotypów E4 ($r = 0,796$, $p < 0,01$), E57 ($r = 0,658$, $p < 0,05$) i E68II ($r = 0,807$, $p < 0,01$) wydają się wskazywać, że myszki i zarodki kurze w podobnym stopniu nadają się do określania zjadliwości szczepów z zastrzeżeniem, że czas odczytu próby wykonanej na zarodkach wynosi 16 godz. od chwili zakażenia. Jednakże w przypadku serotypu G7 ($r = 0,532$,

$p > 0,05$) wykazano niższą korelację, co wskazuje na konieczność dalszych badań dla ostatecznego wyciągnięcia wniosków.

Nie wykazano znamiennych różnic w LD-50 ($p > 0,05$) dla myszek między grupami szczepów należących do serotypów: E4, E57 i E68II, natomiast szczepy serotypu G7 ($p < 0,05$) były znamienne mniej zjadliwe niż szczepy każdego z poprzednio wymienionych serotypów. Wyniki uzyskane przy użyciu do prób zarodków kurzych były podobne z tym wyjątkiem, że nie stwierdzono znamiennej statycznie różnicy w LD-50 między serotypami: E68II i G7 ($p < 0,05$). Wyniki te są dalszym potwierdzeniem, że myszki i zarodki kurze reagują prawdopodobnie w podobny sposób w przyjętych warunkach doświadczalnych (odczyt wyników w przypadku zarodków kurzych po 16 godz. od zakażenia) na zakażenie *E. coli*.

Porównanie wyników Borkowskiej-Opackiej z wynikami obecnej pracy wskazują na współzależność między wrażliwością szczepów *E. coli* na bakteriobójcze działanie surowicy świń a zjadliwością ich dla myszek i w mniejszym stopniu również dla zarodków kurzych.

Wykazano, że szczepy izolowane od świń z przypadków chorobowych okazały się bardziej zjadliwe dla myszek niż szczepy *E. coli* należące do tego samego serotypu a izolowane od świń zdrowych ($p < 0,05$). Może to wskazywać na pewną wartość testu na myszkach w odróżnianiu szczepów chorobotwórczych dla świń od szczepów niechorobotwórczych. Dla ostatecznego wyciągnięcia wniosków konieczne są jednak dalsze badania.

Stwierdzono wysokiego stopnia korelację między zjadliwością hodowli bakteryjnej, a toksycznością uzyskanych z nich metodą Westphala i wsp. wyciągów zarówno dla myszek ($r = 0,791$, $p < 0,01$) jak też dla zarodków kurzych ($r = 0,759$, $p < 0,01$).

Wykazano, że dawki LD-50 żywych bakterii były dla myszek ponad 1 milion razy większe niż dla zarodków kurzych, podczas gdy dawki LD-50 wyciągów fenolowych z *E. coli* były dla zarodków kurzych o 10—50 razy większe niż dla myszek. Myszki zatem były bardziej odporne na zakażenie bakteryjne niż zarodki kurze. Natomiast na działanie toksyczne wyciągów lipowielocukrowych z *E. coli* bardziej odporne są zarodki kurze niż myszki. Uprzednio wykazano, że kury wykazują wysokiego stopnia oporność na działanie endotoksyn.

Wykazano, że dla określenia aktywności endotoksyny bardziej czuły okazał się odczyn skórny na królikach, którym określono SLD-50, niż próba na myszkach ustalająca LD-50 endotoksyny *E. coli*.

Nie wszystkie szczepy *E. coli* spośród 37 zbadanych, izolowane od świń z przypadków kolibakteriozy dawały dodatni odczyn w podwiązanej pętli jelitowej prosiąt i nie wszystkie szczepy spośród 16 zbadanych izolowane od świń zdrowych dawały odczyn ujemny, ale szczepy od świń

zdrowych dawały proporcjonalnie mniej odczynów dodatnich (37,5%) aniżeli szczepy izolowane od świń chorych (59,4%). Nie stwierdzono współzależności między zdolnością do wywoływania przez *E. coli* dodatnich odczynów w podwiązanej pętli jelitowej a ich przynależnością do odpowiednich serotypów. Brak też było korelacji między wyosobnionymi szczepami z przypadków gastroenteritis prosiąt po odsadzeniu i przypadków choroby obrzękowej a zdolnością wywoływania dodatniego odczynu przez szczepy *E. coli* w podwiązanej pętli jelitowej.

Analogiczne doświadczenie przy użyciu 31 szczepów *E. coli* wykonano na podwiązanej pętli jelitowej królików. Jednakże tylko 2 szczepy dały wynik dodatni.

Po wstrzyknięciu wyciągu fenolowego do podwiązanej pętli jelitowej 2 prosiąt wywołano u nich: wymioty, osowiałość i nieskoordynowane ruchy. Po kilkunastu godzinach od chwili ukończenia zabiegu stwierdzono postępujące porażenie oraz zmieniony głos. Objawy te przypominały objawy występujące przy chorobie obrzękowej. Obie świny padły do 24 godz. Sekcyjnie nie stwierdzono rozszerzenia podwiązanych pętli jelitowych a błona śluzowa żołądka i okrężnicy była lekko obrzękła i rozpulchniona.