

Преваленс, спектър и относителен дял на интестиналните *Escherichia Coli* щамове, в зависимост от категорията и възрастта на прасетата в условията на промишлен свинекомплекс

Албена Димитрова, Симеон Йорданов, Марина Драгойчева,
Владимир Хвърчилков, Красимира Петкова, Таня Савова

Prevalens, spectrum and relative persentage of the intestinal escherichia coli strains, depending from the category and the age of the pigs in the conditions of industrial pigcomplex:
During the period 2005 - 2013, through methods of extralaboratory and laboratory diagnostics were studied the prevalens, the spectrum and the proportion of intestinal E. coli strains, depending of the origin of gilts, the category and the age of the pigs in a pigcomplex with intensive production technology.

It was found that the percentage of affected from coliinfections suckling and weaned pigs is within limits of 40 to 100% and depending on the origin and condition of gilts pigs and the category and age of the pigs in the pigcomplex.

The coliinfections in suckling piglets of age 1 to 10 days are caused mainly (from 33,3 to 100 %) of the non-haemolytic strains (O20, O54 and ONT); - from 11 to 20 days - mainly haemolytic, K88 and K99 positive strains (from 40 to 80 %); - and in the 21 - 30-daily - predominantly haemolytic, K88 and K99 positive strains (O25, O138, O139, O148, O149 and O157) and in rare cases from / or with participation of non-haemolytic strains. In weaned pigs in the period 2005 - 2011, the coliinfections are caused exclusively (100 %) of a haemolytic, K88 and K99 positive strains, and in 2012 and 2013 and with the participation of non-haemolytic E. coli strains.

Key words: *E. coli, pigs, prevalens, spectrum, relative persentage .*

Въведение

Колиинфекциите при свинете се причиняват от широк спектър патогенни щамове на *Escherichia coli*, засягат най-често бозаещите и подрастващите прасета и протичат с разнообразна клинична симптоматика и висока степен на заболяемост и смъртност [3, 4, 5].

Колибактериите притежават соматични (O), капсулни (K), ресничести (H) и фимбрийни (F) антигени. Въз основа на тях се разграничават повече от 200 серотипа, но не всички са патогенни. Вирулентните фактори на *E. coli* са: фимбрии, екзотоксини, ендотоксини и капсули. При прасетата има пет антигенно различни фимбрийни типове: F4 (K88); F5 (K99); F6 (987P); F41 и F18. Докато F41 се среща по-често в асоциация с K99 и неговото присъствие при избухнала колибактериоза не е задължително, то F18 е свързан с колиентерита и едемната болест след отбиването [10, 14].

Токсините, продуцирани от ентеротоксигенните *E. coli* (ETEC) при свинете са: - термолабилни токсини (LT), термостабилни токсини А и В (STA и STB) и веротоксин (VT или Shiga like toxin – SLT). Първите три токсина действат локално и предизвикват хиперсекреция на флуиди в червата, а веротоксинът е отговорен за системните васкуларни ефекти при едемната болест [17, 13, 14, 16].

Тези *E. coli* щамове, които притежават патогенен потенциал, го реализират след колонизиране на чревния тракт или след десиминиране в други органи и системи. В зависимост от това се различават две групи патогенни *E. coli* щамове: - интестинални (диарогенни) и екстраинтестинални (недиарогенни) [17, 13, 14].

При прасетата най-често се установяват *E. coli* щамове от серогрупите: O8, O9, O20, O45, O54, O64, O78, O101, O115, O138, O139, O141, O147, O148, O149 и O157 [7, 8, 6, 15]. ETEC щамове, изолирани от прасета в Испания са от 12 серогрупи: O8, O9, O20, O45, O64, O101, O115, O138, O141, O147, O149 и O157 [10]. По-късно други изследователи съобщават, че ETEC щамове се отнасят към серогрупите: O8, O9, O20, O101, O138, O141 и O149; VTEC – към O91 и O138, като серогрупите O138, O141 и O149 са статистически свързани с чревната колибактериоза при прасетата в двете и форми – колиентерит и едемна болест [15, 11].

През периода 2000-2005 г. изолираните от прасета шамове на *E. coli* са най-често от O157 (27.6%), O139 (17%), O149 (12.8%), O101 (11.7%), O54 (10.6%) и O138 (8.5%) [12]. През следващите 5 години (2006 - 2010) от изследваните 335 материала от прасета, в 38.5% от случаите са изолирани ЕРЕС, ЕТЕС и ЕНЕС шамове от 8 серогрупи (O20, O54, O78, O101, O138, O139, O141, O147, O149 и O157), от които най-често от O157 (13.2%), O139 (11.6%), O138 (9.3%) и O147 (9.3%) [1].

При изследване на фецес от прасета, през първата седмица от раждането в 100% от случаите са изолирани диарогенни шамове на *E. coli*, на 14-15 дневна възраст – в 80% и на 24-26 дневна възраст – в 67.5%; а при отбитите прасета на 28 дни – в 84.2%, на 30-32 дни - в 96%, на 35-38 дни – в 100% и на 45-46 дни – в 90% [2].

Francis (2002) групира вирусентните детерминанти около серотиповете на *E. coli* и възрастта на прасетата, инфектирани с ЕТЕС, в таблица от която става ясно, че: - нехемолитични шамове от различни O-групи, K99 и 987P положителни, продуцират STA токсин и причиняват колидиария само при новородените прасета; - хемолитични шамове, които продуцират F4 (K88), LT, STA и STB, причиняват гастроентерит, както при новородените, така и при отбитите прасета; - хемолитичните шамове на O138, O139, O141 и O157, които са F18 положителни и продуцират STA, STB и SLT, причиняват едемна болест и диария при отбитите прасета.

Ние си поставихме за цел да проучим параметрите на преваленс, серогруповия спектър и относителния дял на интестиналните *E. coli* шамове, причиняващи заболявания при различните категории и възрастови групи прасета в условията на промишлен свинекомплекс (СК).

Материал и методи

Проучването проведехме в периода 2005-2013 г. в СК с интензивна експлоатация на развъдното стадо, включваща изкуствено осеменяване, ранно отбиване, 2.4 опрасвания на свиня-майка за една година и годишен ремонт на развъдното стадо в рамките на 45 - 47%.

За бактериологично изследване вземахме ректални тампон-проби (РТП) от бозаещи прасета на 1-10, 11-20 и 21-30-дневна възраст и от отбити прасета на 31 - 45-дневна възраст, а при наличие на умрели прасета и проби от вътрешни органи (ВО). За изолиране на *E. coli* използвахме месопептонен бульон (МПБ), Минка бульон (МБ) и твърди хранителни среди (BPLS, кръвен агар, среди на Левин, Ендо и Минка и Mc-Konkey- агар).

Биохимичните изпитвания извършихме с Crystal identification Systems и Micronaut-E System for identification of *Enterobacteriaceae* and other Gram-negative Bacteria. Серологичните изследвания извършихме чрез реакция аглутинация (РА) със специфични антисеруми за докозване на O, K и F антигени.

Резултати

От данните на епизоотологичното проучване установихме, че: - в периода 2005-2009 г. за ремонт на развъдното стадо са използвани женски свине от собственото угодяване и други стокови ферми; - през 2010-2011 г. стадото е обновявано с ремонтни свине (женски и нерези) от 3 репродуктивни бази (РБ); - през 2012 г. репродуктивното стадо е подменено тотално с ремонтни свине от една РБ, внасяща родителите от чужбина; - през 2013 г. ремонтните свине са закупувани регулярно от същата РБ.

На таблица 1 са отразени данните за превалентност на интестиналните *E. coli* инфекции при бозаещи и отбити прасета по периоди и възрастови групи. От нея става ясно, че през периода 2005-2009 г. положителните за *E. coli* прасета са в най-висока степен: 80 % през първата и 100 % през втората и третата десетдневка от раждането - за бозаещите и 100% - за отбитите прасета. През периода 2010-2011 г. положителните за интестинални *E. coli* прасета са: - 60 % през първата и 80 % през втората и третата десетдневка - за бозаещите и 80 % - за отбитите прасета. През

2012 г. патогенни *E. coli* са изолирани от: - 60 % от прасетата до 10-дневна и 40 % от такива до 20 и 30-дневна възраст и от 60 % от отбитите прасета до 45-дневна възраст. През 2013 г., положителни за *E. coli* са 40 % от бозаещите прасета през първата и 60 % през втората и третата десетдневка и 60 % от отбитите прасета

Таблица 1.

Преваленс на интестиналните *E. Coli* инфекции при бозаещи и отбити прасета по периоди и възрастови групи

Категория прасета Възраст в дни	Период по години							
	2005-2009		2010 - 2011		2012		2013	
	Изсл. Бр.	Полож. Бр. / %	Изсл. Бр.	Полож. Бр. / %	Изсл. Бр.	Полож. Бр. / %	Изсл. Бр.	Полож. Бр. / %
1 – 10	5	4 / 80	5	3 / 60	5	3 / 60	5	2 / 40
11 – 20	5	5 / 100	5	4 / 80	5	2 / 40	5	3 / 60
21 – 30	5	5 / 100	5	4 / 80	5	2 / 40	5	3 / 60
Всичко бозаещи прасета (1-30дн.)	15	14 / 93,3	15	11 / 73,3	15	7 / 46,7	15	8 / 53,3
Отбити прасета 31 - 45	5	5 / 100	5	4 / 80	5	3 / 60	5	3 / 60

От данните в таблица 2 става ясно, че при бозаещите прасета до 10-дневна възраст, през първите два периода са преобладавали нетипизиращи се, нехемолитични щамове на *E. coli* и единични нехемолитични от O54. През 2012 и 2013 г. преобладават (по 66.7 %) хемолитични щамове от O25 и O139, а относителният дял на нехемолитичните (O20 и ONT) е по 33.3%.

Таблица 2.

Спектър и относителен дял на щамове *E. Coli*, изолирани от бозаещи прасета на 1 – 10-дневна възраст по периоди

<i>E. Coli</i> щамове	Период по години							
	2005 – 2009		2010 – 2011		2012		2013	
	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%
O20 : K, нехем.	-	-	-	-	-	-	1	33,3
O54, нехем.	1	25	1	33,3	-	-	-	-
ONT, нехем.	2	50	2	66,7	1	33,3	-	-
Вс. нехем.	3	75	3	100	1	33,3	1	33,3
O25:K19:K99, хемол.	-	-	-	-	2	66,7	1	33,3
O138:K88, хем.	1	25	-	-	-	-	-	-
O139:K88, хем.	-	-	-	-	-	-	1	33,4
Вс. хем.	1	25	-	-	2	66,7	2	66,7

От таблица 3 се вижда, че при прасетата от 11 до 20-дневна възраст нараства делът на хемолитичните ЕТЕС, през първите два периода в рамките на 40 до 75 %, от O138, O139 и O149, а през 2012 г. и 2013 г. от 50 до 80 %, от O25, O139 и O148. При което делът на нехемолитичните щамове (O20, O54 и ONT) намалява по периоди, съответно на 60, 25, 50 и 20 %.

Таблица 3.

Спектър и относителен дял на щамовете *E. Coli*, изолирани от бозаещи прасета на 11 – 20-дневна възраст по периоди

<i>E. Coli</i> щамове	Период по години							
	2005 – 2009		2010 – 2011		2012		2013	
	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%
O20:K, нехем.	-	-	-	-	-	-	1	20
O54, нехем.	1	20	-	-	-	-	-	-
ONT, нехем.	2	40	1	25	1	50	-	-
Вс. нехем.	3	60	1	25	1	50	1	20
O25:K19:K99, хемол.	-	-	-	-	1	50	2	40
O138:K88, хем.	1	20	1	25	-	-	-	-
O139:K88, хем.	-	-	1	25	-	-	1	20
O148:K88, хем.	-	-	-	-	-	-	1	20
O149:K88, хем.	1	20	1	25	-	-	-	-
Вс. хем.	2	40	3	75	1	50	4	80

От резултатите, отразени на таблица 4 се разбира, че при бозаещите прасета на възраст 21-30 дни колибактериозата е причинявана от щамове, отнасящи се общо към 7 типизирани и 2 нетипизирани серогрупи. През първите два периода са доминирали (в 100%) хемолитичните изолати от O139, O157, O149 и O138, през 2012 г. – O139, а през 2013 г. – O139, O25 и O148, докато делът на нехемолитичните (O20 и ONT) е намалял съответно на 50 и 33.3 %.

Таблица 4.

Спектър и относителен дял на щамовете *E. Coli*, изолирани от бозаещи прасета на 21 – 30-дневна възраст по периоди

<i>E. Coli</i> щамове	Период по години							
	2005 – 2009		2010 – 2011		2012		2013	
	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%
O20:K, нехем.	-	-	-	-	-	-	2	33,3
ONT, нехем.	-	-	-	-	1	50	-	-
Вс. нехем.	-	-	-	-	1	50	2	33,3
O25:K19:K99, хемол.	-	-	-	-	-	-	1	16,7
O138:K88, хем.	-	-	1	25	-	-	-	-
O139:K88, хем.	3	37,5	1	25	1	50	2	33,3
O148:K88, хем.	-	-	-	-	-	-	1	16,7
O149:K88, хем.	1	12,5	1	25	-	-	-	-
O157:K88, хем.	3	37,5	1	25	-	-	-	-
ONT, хем.	1	12,5	-	-	-	-	-	-
Вс. хем.	8	100	4	100	1	50	4	66,7

Данните от таблица 5 показват, че през първите два периода (2005-2011 г.) колиинфекциите при отбитите прасета на възраст от 31 до 45 дни са причинявани изключително (100 %) от хемолитични ЕТЕС и ЕНЕС от серогрупите O157, O147, O139 и ONT, докато през 2012 г. преобладават (66.7%) нехемолитичните, а през 2013 г. отново вземат връх (80 %) хемолитичните щамове от O25, O139 и ONT.

Таблица 5.

Спектър и относителен дял на щамовете *E. Coli*, изолирани от отбити прасета на 31 – 45-дневна възраст по периоди

<i>E. coli</i> щамове	Период по години							
	2005 – 2009		2010 – 2011		2012		2013	
	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%
O20:K, нехем.	-	-	-	-	-	-	1	20
ONT, нехем.	-	-	-	-	2	66,7	-	-
Вс. нехем.	-	-	-	-	2	66,7	1	20,0
O25:K19:K99, хемол.	-	-	-	-	1	33,3	2	40
O139:K88, хем.	-	-	1	20	-	-	1	20
O147, хем.	3	37,5	1	20	-	-	-	-
O157:K88, хем.	4	50	2	40	-	-	-	-
ONT, хем	1	12,5	1	20	-	-	1	20
Вс. хем.	8	100	5	100	1	33	4	80

Обсъждане

Фактът, че през периода 2005-2009 г. за ремонт на рязвдното стадо в комплекса са използвани свине от угоителните сектори, дава обяснение за високия процент РТП, положителни за интестинални *E. coli* и съответно за установения преваленс от 80 до 100 % при бозаещите и 100% при отбитите прасета. През 2010-2011 г. основното стадо е ремонтирано с животни от три РБ, което резултира с намаляване на засегнатите от колиинфекции бозаещи и отбити прасета средно с 20 %. Тоталната подмяна на репродуктивното стадо със свине само от една РБ през 2012 г. се отразява забележимо върху преваленса при бозаещите прасета, особено при тези на 11-20 и 21-30-дневна възраст, както и при отбитите прасета. През 2013 г. ремонтните свине се закупуват от същата база, поради което преваленсът при двете категории прасета се запазва в близки граници (46.7 до 53.3 % за бозаещите и 60 % за отбитите прасета). Като цяло, тези резултати потвърждават установеното от други изследователи [2, 9].

В зависимост от броя на стопанствата и предварителната подготовка на свинете, с които е ремонтирано рязвдното стадо, през отделните периоди на проучването са изолирани *E. coli* щамове от различен брой хемолитични и нехемолитични серогрупи, в повечето случаи положителни за K88 и K99. През първите два периода това са: O54, O138, O139, O147, O149, O157 и ONT. След подмяната на основното стадо със свине само от една РБ, броят на O-серогрупите през 2012 г. намалява на 3 броя (O25, O139 и ONT), а през 2013 г. на 5 броя (O20, O25, O139, O148 и ONT), което позволява да бъдат изяснени произходът и спектърът на щамовете. Регистрираният спектър се отличава от този в предходния период и тези в много други стопанства на страната, установен в предишни проучвания [1, 12]. Тези резултати са в синхрон с данните, получени от други изследователи [8, 6, 10, 15, 9, 5], че при прасетата се установяват щамове на *E. coli* от различен брой (7, 8, 10, 12 и повече) O-серогрупи, предимно ETEC, EHEC и EPEC.

Установеният от нас факт, че нехемолитичните *E. coli* щамове причиняват самостоятелно гастроентерити в най-висока степен при прасенцата до 10-дневна възраст и по-рядко, самостоятелно или в асоциация с хемолитични щамове, положителни за K88 и K99, при по-големите бозаещи и отбити прасета, е напълно в унисон с изнесеното от Francis (2002), че нехемолитични щамове, K99 и 987P положителни, продуцират STA токсин и причиняват колидиария само при новородените прасета и

се различава с това, че такива щамове могат да участват, макар и в по-малка степен, и при по-големите прасета. Потвърди се и становището, че хемолитичните щамове, продуциращи F4 (K88) и LT, STA и STB – токсини, причиняват колиентерити, както при бозаещите, така и при отбитите прасета [8, 17, 13, 16, 14].

Нашите резултати от проучването при отбитите прасета в основната си част съвпадат с данните на много други автори [7, 8, 13, 15, 11, 14, 4], че едемната болест и колидиарията при отбитите прасета се причиняват само от известни хемолитични ЕТЕС и ЕНЕС щамове от няколко серологични групи (O138, O139, O141, O147, O149 и O157) и се различават по това, че ние установихме участие и на други хемолитични (O25:K19:K99) и нехемолитични (O20:K) и някои ONT *E. coli* щамове.

Изводи

1. При ремонт на репродуктивното стадо в промишлен свинекомплекс с животни от няколко стокови ферми, през периода 2005-2009 г. е установен преваленс на колиинфекциите от 80 до 100 % при бозаещите и 100 % при отбитите прасета. Закупуването на ремонтни свине от три РБ, през 2010-2011 г. резултира с намаляване на засегнатите от колиинфекции бозаещи и отбити прасета средно с 20%, а тоталната подмяна на основното стадо с животни от една РБ, внасяща родителите от чужбина, намалява положителните за *E. coli* прасета в категория „бозаещи“ в границите на 46.7 – 53.3 % и в категория „отбити“ – до 60 %, а при отбитите прасета до 60 %.

2. В зависимост от броя на фермите и предварителната подготовка на ремонтните свине, през отделните периоди на изследването, от бозаещи и отбити прасета са изолирани *E. coli* щамове от различен брой хемолитични и нехемолитични O серогрупи (2005-2009 г. – 7 бр.; 2010-2011 г. – 7 бр.; 2012 г. – 3 бр.; 2013 г. – 5 бр.), в повечето случаи положителни за K88 и K99, което позволява да бъдат изяснени произходът, спектърът и относителният дял на щамовете.

3. Нехемолитичните *E. coli* щамове причиняват самостоятелно колиинфекции в най-висока степен при прасета до 10-дневна възраст и по-рядко, самостоятелно или в асоциация с хемолитични щамове, положителни за K88 и K99, при големите бозаещи и отбити прасета.

4. Хемолитичните ЕТЕС и ЕНЕС щамове, които продуцират фимбрии, причиняват колиентерити, както при бозаещите (през първата десетдневка: O25:K99, O25:K88, O138:K88, O139:K88; през втората десетдневка: O25:K99, O138:K88, O139:K88; O148:K88, O149:K88; - през третата десетдневка: O25:K99, O138:K88, O139:K88, O148:K88, O149:K88, O157:K88 и ONT) и при отбитите прасета (O25:K99, O147, O139:K88, O157:K88 и ONT).

Литература

[1]. Драгойчева, М., А. Димитрова, С. Йорданов. Превалентност и динамика на ентеротоксигенните *Escherichia coli* (ЕТЕС) щамове при свинете в България за периода 2006-2010 година. ЛТУ, С., XX - МИКМУ, Юндола, 2011, НТ, 149-152.

[2]. Дудницкий, И.А., Н.Е. Щигорев. Разпространение носительства ентеропатогенной типов кишечной палочки у свиней. Ветеринария, 9, 1976, 34-36.

[3]. Йорданов, С. Колиинфекции при свинете. Инфекциозни болести при свинете. ИнтелЕнтранс, С., 2014а, 79-82.

[4]. Йорданов, С. Едемна болест. Инфекциозни болести при свинете. ИнтелЕнтранс, С., 2014б, 92-97.

[5]. Йорданов, С., А. Димитрова. Колибактериоза/колиентерит при бозаещите и подрастващите прасета. Инфекциозни болести при свинете. ИнтелЕнтранс, С., 2014, 86-91.

[6]. Йорданов, С., А. Мотовски, Г. Георгиев, Н. Коруджийски, А. Минкова. Проучване върху гастроентеритите при бозаещите прасета, причинени от смесени инфекции на бактерии и вируси. РВС-Шумен, НК, 1995, Сб. докл., 146-151.

- [7]. Стоянов, В. Едемна болест по прасетата. Земиздат, С., 1962.
- [8]. Стоянов, В. Колибактериоза и едемна болест. Болести по свинете, Земиздат, София, 1977, 119-141.
- [9]. Хвърчилков, Вл. Към профилактиката и терапията на колиинфекциите в промишленото хибридно свиневъдство. ИК – Авангард принт, Русе, 2005.
- [10]. Blanco, J., Blanco, M., Garabal, J.I., Gonzalez, E.A. Enterotoxins, colonization factors and serotypes of enteropathogenic *E. coli* from humans and animals. *Microbiologia*, 1991, Sep., 7, 2, 57-73.
- [11]. Blanco, M., Blanco, J. E., Gonzalez, E.A., Mora, A., et al. Genes coding for enterotoxins and verotoxins in porcine *E. coli* strains belonging to different O:K:H serotypes, relationship with toxin phenotypes. *J. of Clinic. Microbiol.* 1997, 35, 2958-2963.
- [12]. Dimitrova, A., M. Dragoycheva, S. Yordanov. Distribution and dynamics of pathogenic strains *Escherichia coli*, isolated from pigs in Bulgaria for the period 2000-2005. BAS, IEMPA. The second Workshop, May 16-18, 2011, Sofia, Abstracts, Session C, 10-11.
- [13]. Fairbrather, J., J. Harel, S.D. Allaire and M. Bonneau. Characterization of *E. coli*, isolated from postweaning piglets with and without diarrhea. Proc. of 13-th IPVS Congress, Bangkok, June, 1994, 212.
- [14]. Francis, D. H. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in pigs and its diagnosis. *J. Swine Health Prod.*, 2002, 10, 4, 171-175.
- [15]. Garabal, J.I., Gonzalez, E.A., Vazquez, F., Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E. Serogroups of *E. coli* isolated from piglets in Spain. *Vet. Microbiol.*, 1996, 48, 113-123.
- [16]. Murphy, D., T. Hooper. Pathogenic *E. coli* of pigs and calves. Online Case Reports, Internet, Ed. By Greg Stevenson.
- [17]. Okerman, L., A. Devrise. Biotypes of enteropathogenic *Escherichia coli* strains from rabbits. *J. Clin. Microbiol.*, Vol. 22, 1985, 955-958.

За контакти

доц. д-р Албена Димитрова Ангелова, д-р, НДНИВМИ, София, 0887681774, aldimas@abv.bg;

проф. д-р Симеон Георгиев Йорданов, д-р, НДНИВМИ, София, 0888484680; simeon_ndnivmi@abv.bg;

ас. д-р Марина Богданова Драгойчева, НДНИВМИ, София, 0878624895; marina_dragoi4eva@abv.bg;

проф. д-р Владимир Георгиев Хвърчилков, д-р, Русенски Университет, Русе; 0882533695; vhvarchilkov@abv.bg;

д-р Красимира Евгениева Петкова, докторант НДНИВМИ, София, 0892464774; krassimira_petkova@abv.bg;

гл.ас. д-р Таня Петрова Савова-Лалковска, НДНИВМИ, София, 0887053504; tanja_1979@abv.bg.

Докладът е рецензиран.