

HRANIDBA I CRIJEVNA IMUNOST ODBIJENE PRASADI

NUTRITION AND INTESTINAL IMMUNITY IN WEANED PIGS

H. Valpotić, Vlasta Šerman, I. Valpotić, Nora Mas, T. Mašek

Pregledno znanstveni članak
UDK: 636.4.:636.084.1.11.12.13.
Primljeno: 12. svibanj 2004.

SAŽETAK

Alternativa prekomjernoj uporabi antibiotika u kontroli uzročnika crijevnih bolesti bakterijske etiologije u odbijene prasadi jest imunosna i neimunosna nutritivna modulacija. Dok za prvom postoji praktična potreba i teorijska osnova, za potonju se zna da se temelji na interakcijama hranidbe (napose pojedinih nutrienata i aditiva) i komenzalnih mikrobiota s crijevnom imunosti, i posljedičnom pojačavanju lokalne otpornosti na razini probavnog imunosnog sustava (PIS). PIS svinje, kao dio svekolikog imunosnog sustava mukoznih površina, trajno je u dodiru s brojnim patogenim mikroorganizmima iz okoliša, ali i iz hrane. Paradoksalna je pojava da su crijevni imunosni odgovori na luminalne antigene mikrobnog podrijetla rijetko zaštitni već, kao na antigene pojedinih nutrienata iz hrane, pretežito tolerogeni. Ta činjenica predstavlja glavnu prepreku za uspostavljanje specifične imunosti na razini sluznice crijeva protiv niza enteričkih patogena, uključujući enterotoksigene/verotoksigene sojeve bakterije *Escherichia coli* (ETEC/VTEC) uzročnike kolidijareje (KD) i kolienteroksemije (KE) odbijene prasadi. S obzirom da prasadi tek između 5. i 7. tjedna života stječe odraslu imunokompetentnost, a prvi su tjedni nakon odbića praćeni nizom fizioloških (nestanak laktealne imunosti), nutritivnih (promjena konzistencije i konstituenata hrane) i okolišnih stresora (promjena smještaja, socijalne hijerarhije i mikroklimе), to razdoblje karakterizira izrazita primljivost za enteričke infekcije, poput KD i KE. Za sada nema djelotvornih vakcina protiv tih bolesti. Međutim, tuđa i naša iskustva upućuju na uporabu *E. coli* sojeva, s F4 i F18 adhezivnim antigenima, koji se molekularno-genetičkim manipulacijama mogu atenuirati tako da ne proizvode enterotoksine, pa su pogodni za pripravljanje živih oralnih ne-ETEC/VTEC vakcina protiv KD i/ili KE odbijene prasadi.

U ovom su preglednom članku iznesene nove spoznaje o crijevnoj imunosti svinje i djelotvornosti pokusnih ne-ETEC vakcina i mukoznih adjuvanata, a prikazana su i suvremena saznanja o ulozi komenzala, po domaćina povoljnih mikrobiota, (koji sprječavaju patogene mikroorganizme da se vežu za specifične enterocitne receptore, te kompetiraju s njima za nutrijente), koji djeluju i izravno u zaštiti domaćina kao probiotici (time što

Hrvoje Valpotić, dr. vet. med., prof. dr. sc. Vlasta Šerman, doc. dr. sc. Nora Mas, Tomislav Mašek, dr. vet. med. - Zavod za hranidbu domaćih životinja i prof. dr. sc. Ivica Valpotić - Zavod za biologiju, Veterinarski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska.

suprimiraju tvorbu toksičnih metabolita ili pak vrše detoksifikaciju, te stimuliraju probavu i imunosni sustav), te dodataka hrani (koji mogu modificirati i zaustaviti umnožavanja enteričkih patogena), u zaštiti sluznice tankoga crijeva odbijene prasadi od naseljavanja ETEC sojevima.

Ključne riječi: crijevna imunost, *E. coli* vakcine, dodaci hrani, odbijena prasad.

UVOD

U zadnje vrijeme raste zanimanje za nutritivnu modulaciju imunosti u domaćih životinja. S obzirom na suvremene intenzivne i množtvne uzgojne sustave u svinjogojstvu od velikog su praktičnog značenja interakcija hranidne (i pojedinih nutrienata) i otpornosti na bolesti, napose dišnog i probavnog sustava. Probavni imunosni sustav (PIS) svinje, kao dio svekolikog imunosnog sustava mukoznih površina, trajno je u dodiru s brojnim patogenim mikroorganizmima iz okoliša, ali i iz hrane. U stanju je uspostaviti primarni i sekundarni imunosni odgovor na crijevne patogene i njihove proizvode, te izbjeći poticanje hipersenzibilizacijskih (alergijskih) i štetnih (autoimunskih) odgovora i uspostaviti toleranciju na neškodljive antigene iz hrane. Međutim, kada u sluznici tankoga crijeva zataji mehanizam imunosnog prepoznavanja i razlikovanja škodljivih od neškodljivih antigena, dolazi do nekontroliranog unosa mikroorganizama i/ili toksina kroz epitelne stanice, posljedičnog oštećenja strukture i funkcije resorpcijskog epitela, te pojave lokalne ili sustavne bolesti. Paradoksalna je pojava da crijevni imunosni odgovori na luminalne antigene mikrobnog podrijetla nisu zaštitni već, kao na antigene iz hrane, pretežito tolerogeni (Stokes i Bailey, 1996). Ta činjenica predstavlja glavnu prepreku za uspostavljanje specifične imunosti na razini sluznice crijeva protiv niza enteričkih patogena, uključujući enterotoksigene/verotoksigene sojeve bakterije *Escherichia coli* (ETEC/VTEC), uzročnike kolidijareje (KD; engl. colidiarrhea = CD) i kolienterotoksemije (KE; engl. colienterotoxemia = CE) odbijene prasadi (Moon i Bunn, 1993).

U ovom će se članku prikazati spoznaje o ulozi komenzalnih mikrobiota - probiotika (koji sprječavaju patogene mikroorganizme da se vežu za specifične enterocitne receptore, kompetiraju s njima za nutrienate, a mogu i suprimirati tvorbu toksičnih metabolita ili pak vršiti detoksifikaciju, te stimulirati probavu i

imunosni sustav) i dodataka hrani (koji mogu zaustaviti umnožavanja enteričkih patogena) u zaštiti sluznice tankoga crijeva odbijene prasadi od naseljavanja toksigenim sojevima bakterije *E. coli*. Također će se navesti novije spoznaje o djelotvornosti pokusnih ne-ETEC vakcina i mukoznih adjuvansa u specifičnoj i nespecifičnoj imunomodulaciji crijevne imunosti odbijene prasadi.

ODBIĆE I NUTRITIVNI STATUS PRASADI

Bez intervencije čovjeka prase postaje nutritivno neovisno o krmači s 15 do 20 kg tjelesne mase, a prirodni način «odbijanja» prasadi zbiva se u dobi od oko 10 tjedana (Whittemore i Green, 2001), a prema drugim autorima tek između 15. i 18. tjedna (Jensen i Stangel, 1992). Ranije odbiće dovodi do poremećaja u rastu odbijenika. Između 14. i 28. dana starosti počinje se razvijati sposobnost probavnog sustava sisajućeg praseta da probavlja ne mliječnu hranu. U uvjetima postupnog mijenjanja načina hranidbe od onoga tekućom do onoga krutom hranom, tek od oko 56. dana života rast prasadi bez sisanja mlijeka odvija se bez zastoja. Odbiće u dobi od 21 dana iznenadni je čin, koji zahtijeva brzu prilagodbu crijevnih mikrobiota, ali i organizma samog praseta na promjenu načina hranidbe i sastojaka hrane, pa je redovito povezano sa zaostajanjem u rastu. Prije 30 godina, uobičajena je praksa u Europi bila da se prasad odbija u dobi od 56 dana. Međutim, unapređenje znanja iz hranidbe i načina držanja mlade prasadi dovelo je do brzog smanjivanja dobi odbića. Nakon pokušaja da se odbiće uspješno provede 7, 10. ili 14. dana života, uvriježio se «industrijski standard» u dobi između 21. i 28. dana (Whittemore i Green, 2001).

Suvremeni sustavi uzgoja svinja, u kojima se prasad odbija s 3 do 4 tjedna, pogoduju porastu proizvodnosti krmača, ali istovremeno izazivaju znatne probleme u održavanju zdravlja i proizvodnosti netom odbijene prasadi. Naime, takva je prasad

imunosno nezrela, pa stoga i primljivija za infekcijske bolesti, izložena brojnim stresorima koji prate odbiće, i fiziološki neprilagođena na krutu hranu. Sam čin odbića karakterizira nekoliko jedinstvenih problema kojih nema u ostalim razdobljima rasta prasadi:

- netom odbijena prasadi izložena je gotovo istovremeno nutritivnim (gubitak mlijeka krmače), fiziološkim (prijelaz s tekuće na krutu hranu), imunskim (katabolizam alogenskih imunoglobulina iz kolostruma i mlijeka), psihološkim (preseljenje i miješanje s prasadi iz drugih legala) i okolišnim (promjene okolišnih uvjeta, napose temperature) stresorima. Nutritivna je promjena ipak najznačajnija, jer prasadi prije odbića dobiva 20-24 obroka dnevno, vrlo ukusne, iznimno hranjive i lako probavljive mliječne hrane, koju najčešće istodobno siše čitavo leglo kada to krmača dopusti. Nakon odbića nastupa promjena od potpune nutritivne i psihološke (vladanje) ovisnosti o krmači do potpune neovisnosti koja zahtijeva vrlo različiti način uzimanja hrane i vode, svojstven odraslim svinjama (Pluske i sur., 1995).

- Unutar prvih 24 sata po odbiću dolazi do značajnih promjena u građi i funkciji tankoga crijeva, koje se općenito sastoje od skraćivanja crijevnih resica a produbljavanja kripta, smanjivanja aktivnosti specifičnih probavnih enzima laktaze i sukraze, te pada apsorpcijske sposobnosti. Učinak ovih promjena vjerojatno uzrokuje pad probavne i resorptivne sposobnosti tankoga crijeva, što pak doprinosi smanjenju uzimanja hrane i zaostajanju u rastu prasadi nakon odbića (Kelly i sur., 1991).

- U neposrednom razdoblju po odbiću često izbijaju dijareje izazvane proliferacijom ETEC sojeva u tankom crijevu i/ili fermentacijom teško probavljivih nutrijenata iz hrane za odbijenike u debelom crijevu. Premda su ETEC sojevi glavni uzročnici KD u odbijene prasadi, i druge bakterijske vrste uključujući predstavnike roda *Salmonella*, *Campylobacter* i *Clostridium*, protisti iz roda *Cryptosporidium*, te brojni virusi, uključujući rotavirus, TGE, svinjski adenovirus i koronavirus, mogu biti uključeni u tu bolest (McCracken i Kelly, 1993).

Posljedice sinergističkog učinka ovih promjena pri odbiću su zaostajanje u rastu, ili čak gubitak tjelesne mase, nedostatan unos hrane, pojava KD i/ili KE s visokom stopom morbiditeta (> 80% u zahvaćenim leglima) i razmjerno niskim (1,6 do 2,4%) mortalitetom. Zaostajanje u rastu može trajati i

do 14 dana od odbića, a može dosegnuti pad od 25 do 40% stope rasta zabilježene u prasadi koja ostaje uz krmaču (Musgrave i sur., 1991).

Smatra se da se "zastoj" u rastu odbijene prasadi može nadvladati odgovarajućim programima hranidbe, kojima bi se zadovoljile nutritivne potrebe i unaprijedilo zdravlje odbijenika (Partridge, 1989). Tako je, u cilju održavanja dostatnog unosa hrane i normalne građe i funkcije tankoga crijeva prasadi, istraživani široki raspon strategija hranidbe za odbijenike. Predlagano je postupno hranjenje po stadijima radi lakšeg prijelaza od mliječne hrane s visokim sadržajem masti i laktoze na hranu za odbijenike s niskim sadržajem masti i laktoze, a velikim količinama ugljikohidrata iz zrnja žitarica i sojinog brašna. Dodavanje mliječnih bjelančevina početnoj krmnoj smjesi osigurava neprekinutu opskrbu lako probavljivim i dobro balansiranim nutrijentima, i umanjuje posljedice anoreksije po odbiću. Nepromijenjena je i građa crijeva prasadi hranjene kravljim mlijekom po odbiću, a pojačava se probava disaharida i apsorpcija monosaharida (Pluske i sur., 1996). Davanje svinjske plazme, kao izvora bjelančevina, povećava unos hrane, stopu rasta, a potencijalno smanjuje i konverziju hrane. Vjeruje se da svinjska plazma suprimira lokalne (crijevne) proupalne odgovore u odbijenika, tako da ublažava infiltraciju leukocita u laminu propriju (Jiang i sur., 2000).

Poznato je da prase ima visok potencijal rasta, a brojni činitelji, od kojih je unos energije (hrane) najvažniji, ograničavaju njegovo potpuno ostvarenje. Najznačajnija razdoblja nedostatnog unosa energije su drugi dio laktacije i razdoblje neposredno nakon odbića, ali i nedovoljan unos mlijeka tijekom perinatalnog razdoblja također utječe na preživljavanje i rast mlade prasadi. Performance rasta prasadi od rođenja do 8. ili 9. tjedna života kritične su za postizanje poželjnog omjera dobi i tjelesne mase tovljenika, te konačno njegove težine na liniji klanja. Primjerice, teži odbijenici imaju više tjelesne masti, pa su stoga sposobniji da podnesu razdoblje pothranjenosti nakon odbića, a imaju i bolje razvijen probavni sustav, koji se može bolje prilagoditi brzom prijelazu na hranu za odbijenike. Međutim, još su važniji nalazi da se visoka stopa rasta tijekom razdoblja sisanja i odbića najčešće nastavlja sve do klanja, te da se klaonička težina takve prasadi postiže 10 do 28 dana prije nego u spororastuće

prasadi (Mahan i Lepine, 1991; LeDividich i Seve, 2001). Manipulacije u hranidbi prasadi tako su dizajnirane (odgovarajućim odnosom bjelančevina i energije, restrikcijском hranidbom) da se u tovljenika maksimalno pospješi ugradnja bjelančevina i osigura adekvatni sastav polovica do klanja (Kavanagh i sur., 1997). Prednosti tekućeg hranjenja (svježeg ili fermentiranog) tijekom odbića uključuju povećano uzimanje hrane i bolju kontrolu zdravlja probavnog sustava uz neznatnu atrofiju crijevnih resica (Brooks, 1999). Bez obzira na dob pri odbiću, prasadi kojoj je ponuđena tekuća hrana konzumirala je 75 do 150% više hrane i rasla brže od prasadi hranjene krutom hranom. Osim toga, prihranjivanje tekućom hranom prije odbića djelovalo je stimulativno na unos hrane nakon odbića. Tako hranjena prasadi konzumirala je 66% više hrane u prvom tjednu nakon odbića od prasadi koja je prihranjivana krutom hranom. Hranjenje prasadi tekućom hranom tijekom cijelog razdoblja po odbiću, te povećala stopu rasta za 12.3%, ali se najbolji učinak može postići već tijekom prva dva tjedna (LeDividich i Seve, 2001).

Međutim, postoje izvješća da pojačano hranjenje nakon odbića može izazvati dijareju, koja se obično ublažava restrikcijском hranidbom. Ekopatološki pristup, naprotiv, sugerira da pojačana hranidba u ranom razdoblju po odbiću nije nužno povezana s pojavom enteričkih bolesti, poput KD i KE, već da je etiologija tih bolesti multikauzalna (Nagy i Fekete, 1999) i često posljedica nezrelosti i/ili nereaktivnosti crijevnog mukoznog imunskog sustava (Valpotić i Stokes, 1994; Stokes i sur., 1996).

CRIJEVNA IMUNOST

Prvenstvena zadaća imunskog sustava uključuje neutralizaciju bioloških molekula i stanica radi održavanja integriteta organizma. Naprotiv, prvenstvena je uloga crijeva unos bioloških molekula iz okoliša, koje bivaju razgrađene u lumenu crijeva, ali se ipak manji dio tih makromolekula apsorbira u intaktnom obliku. U nutritivnom smislu te su količine beznačajne, ali u imunskom smislu i tako neznatne količine tuđih antigena mogu potaknuti brzu imunsku (hipersenzibilizacijsku) reakciju, koja je često povezana s oštećenjem okolnog tkiva i gubitkom funkcije. Stoga je izuzetno važno da je PIS u stanju tolerirati neškodljive molekule iz hrane ili one

komenzalnih crijevnih mikroorganizama. Međutim, mehanizmi kojima je PIS u stanju razlikovati makromolekule potencijalnih patogena od neškodljivih antigena iz hrane još su prilično nepoznati. Stokes i Bailey (1996) smatraju da narav crijevnog imunskog odgovora uvelike ovisi o staničnom mikrookolišu u kojem je neki antigen prerađen i prikazan imunskim stanicama (T i B limfocitima) lamine proprije. Kada taj inicijalni stadij imunskog reakcije obavljaju makrofagi/monociti (u krvi i čvrstim tkivima) ili dendritičke stanice (u sluznicama i koži) - profesionalne stanice prikazivači antigena (pSPA), tada se ona odvija do efekorskog razdoblja i neutralizacije antigena. Međutim, kada tu ulogu preuzmu enterociti - neprofesionalne (np)SPA, ili diferencijacijski nezrele pSPA (koje ne proizvode nužne kostimulacijske molekule), tada senzibilizirane imunskog stanice ubrzo postaju apoptotične, a imunosa se reakcija dokida u induktivnom razdoblju (Stokes i sur., 1996). Neki istraživači sugeriraju da su imunski odgovori na antigene iz hrane, posebice one podrijetlom iz soje, značajan uzrok lokalnim upalnim reakcijama s posljedičnom atrofiom crijevnih resica u odbijene prasadi (Miller i sur., 1994). Premda je hipersenzibilizacija na sojine bjelančevine dovoljan razlog za smanjenje koncentracije soje u hrani za odbijenike, postoji i nutritivni razlog za to. Naime, prasadi u dobi od 2-3 tjedna nedostaju adekvatne razine probavnih enzima za razgradnju složenih bjelančevina i ugljikohidrata iz soje, pa ne može probaviti sojino brašno.

U odrasle svinje sluznica crijeva sadržava najveći broj dispergiranih i agregiranih imunskih stanica u tijelu. Međutim, crijevni epitel i lamina proprija nenatalnog praseta sadržavaju tek neznatan broj limfocita, dok se manje nakupine nalaze u područjima gdje će postupno razviti Peyerove ploče. U dobi od oko 2 do 4 tjedna lamina proprija prasadi biva naseljena T_h stanicama, citolitičkih T limfocita (T_c) uglavnom još nema, a pojavljuje se mali broj IgM^+ B limfocita (Bailey i sur., 2001). Od 5. tjedna raste broj T_c u crijevnom epitelu i uz bazalne membrane enterocita, dok se u kriptama pojavljuje mnogo IgA^+ B stanica. Nakon 7. tjedna stanična imunosa organizacija u crijevu odbijenika usporediva je s onom u odraslih životinja (Vega-Lopez i sur., 1995). Naprotiv, citometrijskim, imunohistološkim i funkcijskim istraživanjima imunofenotipova, distribucije i reaktivnosti stanica PIS (iz lamine proprije jejunuma = JLP, ilelnih Peyerovih ploča = IPP

i mezenterijskog limfnog čvora = MLČ), te slezene i timusa, utvrđena je imunosna nezrelost prasadi u dobi od 3 do 5 tjedana iz domaćih uzgoja (Valpotić i Stokes, 1994). Kako su tek u LPJ, IPP i MLČ prasadi stare 8 tjedana nađene brojnost i lokalizacija subpopulacija T i B limfocita slična onoj u imunosno zrelih svinja (Lacković i sur., 1997a; 1999), pretpostavilo se da je mlađa prasada bila sustavno i lokalno suprimirana zbog neodgovarajuće hranidbe i/ili stresora vezanih za odbiće. Poznavajući od prije mogućnosti nespecifične imunomodulacije tvarima egzogenog ili endogenog podrijetla - modifikatorima imunosnog odgovora (MIO; engl. immune response modifiers = IRMs), uključene su neke u istraživanja modulacije sustavne i lokalne (crijevne) imunosti sisajuće i odbijene prasadi radi nadvladavanja stresom izazvane imunosupresije (Valpotić, 2000).

Najvažnije zaštitne imunosne molekule crijevne (humoralne) imunosti, protutijela sekrecijskog (s)IgA izotipa, proizvode se u sluznici u plazma stanicama lamine proprije. i čine oko 82% svih protutijela proizvedenih u tkivima PIS (Butler i Brown, 1994). Već u dobi od 4 tjedna u lamini propriji crijeva prasadi nalazi se blizu 90% plazma stanica koje sadrže protutijela IgM i IgA razreda (Bianchi i sur., 1992). Ova su potonja funkcionalna i protiv intraluminalnih mikroba i njihovih proizvoda. Naime, nakon transcitoze kroz epitelne stanice, na apikalnoj membrani enterocita dobivaju sekrecijsku komponentu koja im pruža zaštitu od proteolitičkih enzima na sluznici crijeva.

Aktivirani limfociti lamine proprije luče visoke razine citokina (limfokina) -regulacijskih/signalnih imunosnih molekula, primjerice činitelj rasta T stanica, ali ne proizvode gotovo ništa interleukina (IL)-2, premda ispoljavaju receptor za IL-2. Međutim, luče manje količine IL-4, kao i limfociti iz slezene i MLČ. Ovi potonji luče i IL-2 (Bailey i sur., 1994). Smanjena proizvodnja IL-2 u odbijene prasadi mogla bi biti povezana sa stresom i posljedičnim otpuštanjem steroida ili histamina koji blokiraju ispoljavanje gena za IL-2.

Nedavno je prepoznato da je izlaganje bakterijskim antigenima od nepobitnog značenja, i tijekom perinatalnog razdoblja radi poticanja imunosnog sustava na normalnu imunosnu reakciju protiv tuđih makromolekula, kao i tijekom odrasle dobi radi održavanja nadzorne i obrambene funkcije imunosnog sustava. Komenzalne i patogene bakterije

razvile su raznolike mehanizme kojima preživljavaju u mikrookolišu crijeva svinje. Jedan od njih uključuje proizvodnju široke lepeze molekula koje stimuliraju lučenje i moduliraju aktivnosti mukoznih citokina, i tako reguliraju i usmjeravaju crijevni imunosni odgovor domaćina. Neki od tih citokina mogu pojačati virulenciju i patogenost bakterija, a drugi pak mogu pospješiti stabilnost komenzalnih bakterija, koje time zapravo stalno moduliraju imunosno-upalni status crijeva (Kelley i King, 2001).

KOLIDIJAREJA I KOLIENTEROTOKSEMIJA

Poznato je da odbijanje prasadi od krmače predstavlja znatan stres, s posljedičnim padom razine sustavne i lokalne (crijevne) imunosti, posebice ako se provodi u ranijoj dobi. Miješanje prasadi kasnije dobi (26 do 28 dana) iz različitih legala, redovito je praćeno agresivnim vladanjem i borbom tijekom prvih 48 sati do uspostavljanja stabilne socijalne hijerarhije među odbijenima. Prisutnost dominantne ili agresivne jedinice izaziva u prasadi psihološke stresne odgovore s izravnim posljedicama na rast, imunosne funkcije i primljivost za enteričke infekcije, poput KD i KE. Dodatno nepovoljna okolnost jest i činjenica da prasada tek između 5. i 8. tjedna života stječe odraslu imunokompetentnost, te da je tada i njihov crijevni imunosni sustav u potpunosti razvijen (Vega-Lopez i sur., 1995; Stokes i sur., 1996; Bailey i sur., 1996; Lacković i sur., 1999). Kako se KD najčešće javlja između 3. i 10. dana po odbiću, a obično se tjedan dana potom «nadovezuje» KE, to je razdoblje od 4. do 6. tjedna života kritično za prasadu, posebice u velikim uzgojima. Činitelji predispozicije za te infekcije uključuju: katabolizam alogenskih IgA protutijela, nedostatan unos hrane i vode, nedovoljno izlučivanje želučane kiseline, nestabilnu populaciju komenzalnih mikrobiota, te ispoljavanje membranskih i mukusnih glikokonjugata koji služe kao mjesta vezivanja uzročnika (Kelley and King, 2001).

Kolibaciloza ili KD i edemska bolest ili KE odbijene prasadi, etiološki su složene bolesti izravno uzrokovane adherentnim F4⁺ i/ili F18ac⁺ ETEC (KD), odnosno F18ab⁺ verotoksigenim sojevima bakterije *E. coli* (VTEC). Neizravno im pogoduje niz imunosnih (gubitak laktealne imunosti), fizioloških (promjena crijevnog mikrookoliša), nutritivnih (promjena

konzistencije i konstituenata hrane) i okolišnih stresora (promjena smještaja i mikroklima), kao i infekcija rotavirusom (Barker i sur., 1993). Uzročnici brzo naseljavaju tanko crijevo prijanjajući na enterocitne receptore, proizvode jedan ili više enterotoksina i neurotoksina (Isaacson, 1996), izazivaju obilno lučenje sluzi, tekućine i elektrolita, te postupno jaku dehidraciju i dijareju ali bez većih oštećenja epitela, ili ga pak oštećuju, prekidaju apsorpciju blokiranjem sinteze regulacijskih bjelančevina (Argenzio, 1996), prodiru kroz sluznicu crijeva do unutrašnjih organa i izazivaju septikemiju (Done, 2001). Infekcije određenim serovarovima ETEC (O8, O45, O138, O141, O147, O149 i O157) ili VTEC (O138, O139, O141 i O157) glavni su razlozi obolijevanja (80 do 100% najčešće najbolje prasadi u skupini), zaostajanja u rastu (gubitak > 25% tjelesne mase) i uginuća prasadi tijekom prvih nekoliko dana (1,6 do 2,4% od oboljelih od KD) do tjedana (blizu 100% od oboljelih od KE) po odbiću, trajno su prisutne u svim velikim uzgojima svinja u svijetu (Nagy i Fekete, 1999). U gospodarstvenom smislu to su vrlo značajne bolesti od kojih u svijetu godišnje ugiba oko 10×10^6 prasadi. Osim financijskih gubitaka zbog uginuća i liječenja, usporen je i rast oboljele prasadi (Runnels i sur., 1992), a time produženo vrijeme do postizanja tjelesne mase za tržište (Hampson i sur. 2001). Zbog moguće kontaminacije mesa uzročnicima («hamburgerski soj») ove bolesti predstavljaju i javnozdravstveni problem, a prema nedavnim (još nepotvrđenim) nalazima neki svinjski sojevi mogu zaraziti i čovjeka.

U populacijama (pasminama) svinja postoje nasljedno otporne (neprimljive) jedinice za adheziju $F4^+$ i/ili $F18^+$ ETEC sojevima (naime recesivni homozigoti nemaju enterocitne receptore za te fimbrijske adhezine), ali ne i za *E. coli* sojeve koji proizvode druge adhezine (Bertschinger i sur., 1993; Francis i sur., 1998). Oko 50% svinja uobičajenih pasmina nasljeđuje otpornost na $F4^+$ ETEC sojeve (Baker i sur., 1997), pa je stoga moguć reprodukcijски odabir na to svojstvo, a možda i na odsutnost receptora za F18 adhezin (Meijerink i sur., 1997). Retrospektivno otkrivanje primljivih i otpornih fenotipova prasadi (nakon *post mortem* uzimanja uzoraka tankoga crijeva) adhezijskim testom nakon dugotrajnog postupka (Valpotić i Runnels, 1989) ili ELISA testom nakon nešto kraćeg postupka

(Valpotić i sur., 1989), nije imalo većeg praktičnog značenja. Naprotiv, prospektivno fenotipiziranje temeljeno na otkrivanju receptora na enterocitima u fecesu žive prasadi bilo je obećavajuće za odabir linija svinja nasljedno otpornih na adheziju $F4^+$ ETEC sojeva (Valpotić i sur., 1992). Danas je moguće DNA tipizacijom, mnogo elegantnije i točnije, utvrditi učestalost receptor-negativnih i receptor-pozitivnih genotipova i tako otkriti na adheziju otporne i primljive fenotipove u populaciji svinja. S obzirom da se na 6 kromosomu nalaze geni koji kodiraju ekspresiju specifičnih enterocitnih receptora na adheziju ETEC sojeva (Vögeli i sur., 1994; Meijerink i sur., 1997). Međutim, ova privlačna ideja o DNA biljegu (genskim lokusima za fenotipsko ispoljavanje enterocitnih receptora za F4 i F18 adhezine) za asistirani odabir svinja nasljedno otpornih za adheziju ETEC i VTEC sojeva, nije još provediva u praksi zbog mogućeg suodabira bliskih genskih lokusa koji kodiraju nepoželjna svojstva (preosjetljivost na stres), a mogla bi imati i ograničenja zbog vjerojatne pojave novih patotipova bakterije *E. coli*.

MODULACJA CRIJEVNE IMUNOSTI

Od mnogih pristupa preventivi ETEC/VTEC infekcija dva, koja ne uključuju prekomjernu uporabu antibiotika i drugih protumikrobnih lijekova, obećavaju dugoročno dobre rezultate. Prvenstveno to je nutritivna modulacija (nutrientima, komenzalnim mikroorganizmima – probioticima i aditivima hrani), a potom i imunosna modulacija, koja uključuje nespecifičnu (MIO i mukoznim adjuvantima) i specifičnu (mukoznim vakcinama) imunizaciju (DeCupere i sur., 1992; Nagy i Fekete, 1999).

Imunosna modulacija

Peroralna imunizacija neonatalne prasadi imunoglobulinima iz svinjske plazme pruža zaštitnu razinu pasivno stečene humoralne imuniteta do razdoblja odbića (Valpotić i sur., 1986). Pročišćeni IgG izdvojen iz krvi krmača prirodno i umjetno (vakcinacijom) imuniziranih protiv KD, stimulira *in vitro* reaktivnost limfocita periferne krvi prasadi

tijekom razdoblja sisanja i nakon odbića (Valpotić i sur., 1989). Pasivna imunizacija odbijene prasadi kokošjim žumanjkom sa specifičnim ETEC protutijelima pokazala se dobrom profilaktičkom metodom (Yokoyama i sur., 1992).

Specifična imunoprofilaksa atenuiranim parenteralnim ili subjediničnim oralnim vakcinama nije bila djelotvorna zbog poticanja sustavne umjesto lokalne (crijevne) imunosti, odnosno zbog uspostavljanja slabe i kratkotrajne proizvodnje sIgA protutijela (Moon i Bunn, 1993). Zbog slabe djelotvornosti iz uporabe su povučene «in-feed» vakcine s termički obrađenim ETEC sojevima. Obećavajući su bili pokusi sa živim oralnim vakcinama protiv KD, iako su te vakcine bile djelotvorne samo kada je prasad istovremeno hranjena nisko energetskom hranom (Bertschinger i sur., 1979). Ovaj se pristup pokazao uspješnim i u zaštiti od KE. Kombinirana imunizacija živim oralnim i inaktiviranim parenteralnim vakcinama bila je također uspješna u kontroli gubitaka od KD (Alexa i sur., 1995). Unatoč tomu, za sada nema djelotvornih komercijalnih vakcina protiv tih bolesti. Nove strategije specifične imunizacije zagovaraju uporabu *E. coli* sojeva, s F4 i F18 adhezivnim antigenima, koji se molekularno-genetičkim manipulacijama (insercijom ili delecijom gena) mogu atenuirati tako da ne proizvode enterotoksine/verotoksine, pa su pogodni za pripravljanje živih oralnih dvovaljanih (kombinacija sojeva s F4 i F18ac adhezivima) i trovaljanih (kombinacija sojeva s F4, F18ac i F18ab adhezivima) ne-ETEC vakcina protiv KD i/ili KE odbijene prasadi Nagy, osobno pripćenje). Pri tome, osim provjere njihove imunoprofilaktičke vrijednosti u kontroliranim pokusima, povremeno treba kontrolirati njihovu genotipsku i fenotipsku stabilnost (Nagy i Fekete, 1999).

Naš se pristup specifičnoj imunizaciji protiv KD temeljio na uporabi F4⁺ rekombinantnog ne-ETEC soja, inokuliranog intragastrički radi provjere imunogenosti, zaštitne sposobnosti i neškodljivosti. Utvrđeno je da u svinje, kao i u drugih sisavaca, djelotvoran odgovor na luminalne antigene (napose fimbrijske adhezine pokusnog vakcinalnog soja) s IgA protutijelima ovisi o T limfocitima (napose pomoćničkim ili T_h) i posljedica je interakcija tih stanica sa SPA, a potom preko signalnih molekula (citokina) T_h i s B limfocitima u tkivima PIS (Valpotić i sur., 1994; Lacković i sur., 1997b). Osim solidne

imunogenosti utvrđena je da ne-ETEC soj 2407 štiti odbijenu prasadu od izazivačke infekcije patogenim F4⁺ ETEC sojem (Šver i sur., 1996a), a da pri tome, za razliku od patogenog soja M1823, ne oštećuje građu i funkciju sluznice tankoga crijeva (Vijtiuk i sur., 1995). Ove se razlike mogu najprije pripisati činjenici da rekombinantni soj 2407 ne proizvodi citotoksične enterotoksine, pa stoga ne izaziva atrofiju crijevnih resica niti «brisanje» četkastih poruba (mikrovila) enterocita (Vijtiuk i sur., 2001). Unatoč vrlo indikativnim podacima o imunogenosti pokusnog vakcinalnog ne-ETEC soja u model sustavu, zbunjivali su povremeno dobiveni slabi ili kratkotrajni imunosni odgovori. Objašnjenje je nastalo u dobro poznatoj pojavi oralne tolerancije (Stokes i Bailey, 1996). Naime, još imunosno nezreli PIS mladunčadi iznenada (nakon odbića i gubitka laktealne imunosti, te promjene hrane) izložen je nizu različitih peptida/ bjelančevina iz hrane, kao i sličnim molekulama mikrobnog podrijetla, postaje «skloniji» tolerogenim odgovorima, nego zaštitnim imunosnim odgovorima na luminalne antigene unesene iz okoliša. Posljedica ove paradoksalne pojave jest potpuna areaktivnost ili dokidanje imunosnog odgovora u induktivnom razdoblju, praćena anergijom i apoptozom klonova efektorskih imunosnih stanica u sluznici crijeva. Riješenje toga problema nude mukozni adjuvanti, poput toksina kolere i njegove B podjedinice, koji su djelovali sinergistički pri nespecifičnoj peroralnoj stimulaciji crijevne imunosti u miša (Wilson i sur., 1990). Poučeni time, naš smo model sustav dopunili s nekoliko MIO, koje smo rabili *in vivo* kao sustavne (Gerbu® muramildipeptid, GMDP, inaktivirani parapoxovirus, iPPOV, levamisol) ili lokalne (crijevne) mukozne adjuvante (polioksietilen-polioksipropilen, POE-POP), a neke (peptidoglikan monomer/polimer, PGM/PGP; lipopolisaharid, LPS, fitohemaglutinin, PHA; pokeweed mitogen, PWM) i u *in vitro* funkcijskim testovima za procjenjivanje reaktivnosti limfocita (Šver i sur., 1996b; Božić i sur., 2000; Vijtiuk i sur., 2002). Na temelju opsežnih podataka o imunofenotipovima, distribuciji i brojnosti pojedinih subpopulacija imunosnih stanica, kao i o njihovoj *in vitro* funkcijskoj sposobnosti, može se s velikom vjerojatnosti reći da je oralna tolerancija antigena (posebice fimbrijskih adhezina) pokusnih vakcinalnih ne-ETEC sojeva uspješno nadvladana (Tablica 1).

Tablica 1. Modulacija crijevne imunosti odbijene prasadi specifičnom (ne-ETEC) i nepecifičnom (MIO i adjuvantu) imunizacijom protiv izazivačke infekcije ETEC sojevima**Table 1. Modulation of intestinal immunity in weaned pigs by specific (non-ETEC) and nonspecific (IRMs and adjuvants) immunization against challenge infection with ETEC strains**

Imunizacija Immunization		Izazivačka infekcija Challenge infection	Neobrađena : Obrađena prasadi Nontreated : Treated pigs			Redni broj navoda No. of reference
Specifična Specific	Nespecifična Nonspecific		Indeks dijareje* Diarrhea score	Broj uginulih od KD** No. of dead due to CD	Modulacija crijevne imunosti*** Modulation of intestinal immunity	
> 2407	-	-	0,2 : 0,4	1/5 : 1/5	↑ T _c u LPJ, MLČ; T _h u IPP	71
> M1823	-	-	0,2 : 0,8	1/5 : 3/5	↑ T _c u LPJ	
> 2407	-	-	0,3 : 0,1	0/5 : 1/5	↑ MNL/PMNL u LPJ, IPP	73
> 1466	-	-	0,3 : 0,7	0/5 : 2/5	↑ PMNL u LPJ	
> 1467	-	-	0,3 : 0,6	0/5 : 0/5	=	
> M1823	-	-	0,3 : 0,9	0/5 : 3/5	↑ MNL/PMNL u JLP, IPP	
> Ihan 1	-	-	0,3 : 1,3	0/5 : 3/5	↑ MNL/PMNL u JLP, IPP	
> Ihan 2	-	-	0,3 : 1,0	0/5 : 4/5	↑ MNL/PMNL u JLP, IPP	
> 2407	GMDP	<11-800/94	-	-	↑ B (CD21 ⁺) ↓ B (CD1 ⁺) u MLČ	61
	POE-POP				↑ T _c u LPJ, 0 u MLČ, a ↓ B (CD1 ⁺) u MLČ	
> 2407	IPPOV	-	-	-	↑ SL iz LPJ, IPP, MLČ	62
	LPS				↑ SL iz MLČ	
> M1823	PGM				=	
	PHA				↑ SL iz IPP, MLČ	
> 2407	PWM	-	-	-	↑ SL iz MLČ	24 Grgić i sur.
	F4				↓ SL iz IPP	
	IPPOV				↑ SL iz IPP, MLČ	
> 2407	-	-	0,3 : 0,1	0/5 : 1/5	↑ B (CD1 ⁺) u LPJ i L u MLČ	37
> 1467	-	-	0,3 : 0,6	0/5 : 2/5	↑ L u MLČ	
> 1466	-	-	0,3 : 0,7	0/5 : 0/5	↑ L u MLČ	
> M1823	-	-	0,3 : 0,9	0/5 : 3/5	↑ L u IPP	
-	Levamisol	<11-800/94	0,1 : 0,1	1/5 : 1/5	=	14
> 2407			0,1 : 0,3	1/5 : 1/5	↑ T u LPJ, IPP i CD45RC ⁺ ↓ CD45RA ⁺	
> 2407	Levamisol	<11-800/94	0,1 : 0,3	1/5 : 1/5	↑ T i MA u MLČ, = u slezeni	15

*Prosjeak jačine dijareje po prasetu/skupini (0 = normalni, 1 = mekani, 2 = tekući feces i 3 = projektilna dijareja)

**Od ukupnog broja prasadi po skupini.

***Porast (↑), odnosno pad (↓) brojnosti/reaktivnosti imunocita u odnosu na neobrađenu (kontrolnu) prasadi ili bez promjena (=).

2407, 1466 = F4ac⁺ ne-EETEC; 1467 = F4⁻ ne-EETEC; M1823, Ihan 1 i 2 = F4ac⁺ ETEC; 11-800/94 = F4ac⁺ i F6⁺ ETEC
MNL = mononuklearni leukociti; PMNL = polimorfonuklearni leukociti

SL = stimulacija limfocita *in vitro*.

0 = nulti limfociti; MA = makrofagi.

UL = ukupni leukociti (CD45⁺); CD45RA⁺ = neaktivirani i CD45RC⁺ = aktivirani limfociti.

S obzirom da je prostor ovog časopisa namijenjen i drugim autorima, i da su ova istraživanja u tijeku, navest ćemo samo najbitnije spoznaje, a detalji se mogu vidjeti iz literaturnih navoda. Najjaču *in vivo* adjuvantnost pokazali su POE-POP i iPPOV (Šver i sur., 1996a,b), te levamisol (Božić i sur., 2002; 2003a) u kombinaciji s pokusnim vakcinalnim F4+ i/ili F18ac⁺ ne-EPEC (bilo da su atenuirani tehnologijom rekombinantne DNA ili su prirodni mutanti bez toksinskih gena) sojevima. Limfociti iz Peyerovih ploča i mezenterijskog limfnog čvora prasadi imunizirane F4⁺ ne-EPEC sojem bolje su odgovarali na *in vitro* stimulaciju s LPS ili PGM (Vijtiuk i sur., 2002). Nedavno su Božić i sur. (2003b) izvijestili o većem stupnju sinergizma između autentičnog F18ac⁺ ne-EPEC soja i levamisola, u odnosu na kombinaciju rekombinantnog F4⁺ vakcinalnog imunogena i levamisola. Dodajmo još da su oba vakcinalna soja bakterije *E. coli* u crijevu inokulirane prasadi, osim pokazane imunogenosti i zaštitne sposobnosti, svojim naseljavanjem i zauzimanjem fimbrijskih enterocitnih receptora ometali adheziju patogenih sojeva s istovrsnim fimbrijama (= kompetitivna ekskluzija), i na taj način gotovo trenutno (svakako prije uspostavljanja zaštitne razine slgA protutijela) smanjili pojavu/jačinu dijareje i posljedična uginuća od pokusno izazvane KD odbijene prasadi.

Nutritivna modulacija

Enteričke bolesti odbijene prasadi općenito se javljaju zbog jednog ili više poremećaja temeljnih funkcija probavnog sustava, kao što su: prolazak hrane (motilitet), sekrecija, apsorpcija i digestija. Uzročnici enteričkih bolesti, primjerice EPEC/VTEC sojevi, izazivaju upalu sluznica tankoga crijeva (enteritis), pojačavaju peristaltiku, pa nutrienti brzo prolaze kroz crijevo, a bitno se smanjuju digestivna i apsorpcijska sposobnost. Potom enterotoksini/verotoksini, koje proizvode ti sojevi, stimuliraju izlučivanje klorida i Na bikarbonata uz istovremeno zaustavljanje apsorpcije klorida, što stvara osmotski gradijent i posljedično izlaženje vode iz tkiva u crijevo. Javlja se tipična sekrecijska dijareja, a uginuća su posljedica dehidracije i kolapsa. Donekad su sve komercijalne krmne smjese za sisajuću i odbijenu prasadu sadržavale dodatke u obliku antibiotika, koji su izvorno smatrani promotorima rasta, a zapravo su prevenirali bakterijske infekcije, napose gastrointestinalnog sustava. Posljedica toga jest sve veći broj rezistentnih sojeva

bakterija na široku lepezu protumikrobnih lijekova. Osim što se time značajno smanjuje broj djelotvornih antibiotika u kontroli bakterijskih bolesti svinja, ta rezistencija predstavlja i rizik za zdravlje čovjeka. Kako je uporaba antibiotika u hrani već zabranjena (u SAD) ili će uskoro biti zabranjena (u zemljama EU od 01. 01. 2006.), to se nužno pristupilo iznalaženju alternativnih rješenja za neimunosnu nutritivnu modulaciju neantibiotskim promotorima rasta – probiotičima ili kemijskim spojevima (lektini, oligosaharidi, organske kiseline), koji imitiraju osobitosti vijabilnih probiotika. Međutim, praktična primjena nutritivne modulacije u preventivi KD i KE odbijene prasadi otežana je zbog nekoliko razloga. Primjerice, morbiditet i mortalitet odbijenika se ne smanjuju bez znatne restrikcije bjelančevina u hrani, a ako je pak restrikcija prekomjerna zaustavlja se umnažanje uzročnika tako da se ne razvija aktivna protubakterijska imunost, a nizak sadržaj nutrienata u hrani poskupljuje proizvodnju zbog produžavanja vremena tova (Bertschinger, 1996). Naime, hranidba koja opterećuje apsorpcijsku sposobnost probavnog sustava odbijene prasadi, kao što je to primjerice hrana s visokim sadržajem bjelančevina (210 g/kg⁻¹) pogoduje naseljavanju tankoga crijeva i pojavi KD (Prohaszka i Baron, 1980). Tako su oprečna izvješća o učinku ranog hranjenja početnom krmnom smjesom na pojavu KD po odbiću, jer jedni autori tvrde da ono pogoduje nastanku bolesti (Hampson i Fu, 1988), dok drugi pak smatraju da se takvom hranidbom ne potiče crijevna alergijska reakcija i ne stvaraju uvjeti za pojavu KD (Sarmiento i sur., 1990). Međutim, hranidba *ad libitum* lako probavljivom hranom, posebnim predpočetnom krmnom smjesom prije odbića, što izaziva sintezu endogenih lektina (glikoproteinskih makromolekula koje inhibiraju crijevnu hipersekreciju) znatno smanjuje pojavu KD u odbijene prasadi (Göransson i sur., 1993).

Poznato je da crijevni komenzalni mikrobioti, uključujući bakterije iz rodova *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leconostoc*, *Bacillus*, *Propionibacteria*, *Bifidobacteria* i netoksični sojevi bakterije *E. coli*, te gljivice iz roda kvasca (*Saccharomyces*) pružaju domaćinu jedinstven zaštitni sustav -probiozu, tako da se natječu s uzročnicima enteričkih bolesti za specifične nutrijente i enterocitne receptore, pa biološkom pojavom - kompetitivne ekskluzije kontroliraju njihovu brojnost i invazivnost (Fuller, 1992). Povoljni se učinci probiotika na metabolizam crijevnih bakterija i zdravlje probavnog sustava očituju kao izravni (1) kroz

vlastite metaboličke aktivnosti, i kao neizravni (2) mijenjanjem metaboličkih aktivnosti drugih skupina bakterija. Smatra se da utječu i na imunost status, te da djeluju protutumorski (Maxwell i Stewart, 1995). Mogu se davati prasadi kao dodatak peletiranoj hrani, ili pak izravno dozirati u obliku paste, praška, granula i kapsula s vijabilnim stanicama (Johnsson i Conway, 1992) radi preventive i kontrole infekcija ETEC sojevima (Stewart i sur., 1993). Osim toga, probiotici se mogu davati zajedno s oligosaharidnim supstratima (ksilo-, frukto-, inulo- ili transglikozilirani oligosaharidi, te drugi biljni ili sintetski oligosaharidi) koji potpomažu njihov rast i naseljavanje crijeva. Stoga su ovi nevjabilni promotori (ili modulatori) populacija komenzala (probiotika) nazvani prebioticima. Neki, poput manan oligosaharida izdvojenog iz kvašćeve gljivice (Spring, 2003) ili neškrobnog polisaharida soje, stahioze (Zang i sur., 2003), pokazali su se dobrim nutritivnim modulatorima u neimunskoj preventivi KD, te unapređivanju zdravlja i proizvodnosti prasadi. Nadalje, hrana s visokom koncentracijom cinka (umiješanog u

obliku cinkova oksida) davana tijekom dva tjedna po odbiću spriječila je proliferaciju patogenih sojeva bakterije *E. coli* i njihovo širenje iz tankoga crijeva do ilealnih limfnih čvorova (Holm i Poulsen, 1996). Vrijednost pH mikrookoliša uzročnika KD neznatno je u kiselom području, pa je snižavanje pH probavnog sustava također poželjno, ali pokušaji zakiseljavanja hrane kulturama laktobacila nisu rezultirali smanjenjem mortaliteta (Thomlison i Lawrence, 1981). Naime, pri odbiću dolazi do nagle promjene fermentacije komenzalnih mikrobiota i posljedičnog porasta pH crijevnog mikrookoliša (posebice na četkastim porubima enterocita), što pogoduje primljivosti prasadi za adheziju ETEC sojevima i pojavi dijareje (Mathews i sur., 1996).

U okviru ovog članka, nemoguće je navesti brojne proizvode (kao što su probiotici i prebiotici, te organske kiseline, biljni ekstrakti i mikroelementi) kojima znanost, politika i tržište nastoje smanjiti uporabu antibiotika u svinjogojskoj proizvodnji, pa ovdje navodimo samo neke nutritivne modulare (Tablica 2).

Tablica 2. Nutritivna modulacija crijevnih obrambenih mehanizama odbijene prasadi probioticima, prebioticima i aditivima hrani protiv infekcija ETEC/VTEC sojevima

Table 2. Nutritive modulation of intestinal defence mechanisms in weaned pigs by probiotics, prebiotics and feed additives against infections with ETEC/VTEC strains

Modulator u hrani In-feed modulator	Prirast Weight gain (g/d)	Unos hrane Feed intake (g/d)	Nalaz F4 ⁺ ETEC u izolatima Shedding of F4 ⁺ ETEC (%)	Indeks dijareje Diarrhea score	Log CFU/g sadržaja crijeva Log CFU/g intestinal content	Mliječna kiselina u crijevu (g/kg ST) Lactic acid in intestine (g/kg DM)	Mortalitet (%) Mortality	Redni broj navoda No. of Ref.
*Kontrola - Control	101**	141	81	2,2	-	-	40	49
Svinjska plazma Swine plasma	157	213	29	0,5	-	-	6,6	
Žumančana F4 i F18 protutijela Egg yolk F4 and F18 antibodies	151	208	23	0,3	-	-	6,6	
Cinkov oksid - Zinc oxide	159	215	42	0,6	-	-	13,3	
Fumarna kis. - Fumaric acid	155	212	31	0,5	-	-	6,6	
Carbadox®	153	222	21	0,2	-	-	13,3	
*Kontrola - Control	-	-	44,6	-	8,21	1,21	39,2	50
Mravlja kis. - Formic acid	-	-	-	-	-	0,25	-	
Formi® (=kalijev diformat/ potassium diformate)	-	-	19,6	-	5,95	4,17	9,8	

*= kontrolna prasada hranjena ubičajenim predstarterom/starterom - control piglets fed normal prestarter/starter;

**= pokazatelji dobiveni s pojedinim modulatorom značajno su različiti od pokazatelja dobivenih u kontrolnoj prasadi - indicators obtained with individual modulators are significantly different from indicators obtained in the controls.

Međutim, treba spomenuti da je najznačajniji činitelj kontrole mikrobne fermentacije količina i vrsta supstrata u probavnom sustavu, napose neškrobnih polisaharida. Naime, utvrđeno je da ovi visoko energetske sastojci hrane mogu svojim fizikalno-kemijskim osobitostima pogodovati adherenciji ETEC sojeva za crijevni epitel i nastanku bolesti (McDonald i sur., 1999). Stoga, ako ih se uključuje u nutritivnu modulaciju komenzalnih mikrobiota, treba pažljivo balansirati njihove količine u hrani, rabiti egzogene enzime i /ili tekuću hranu.

U komercijalnom uzgoju svinja, već se niz godina rabe dodaci hrani koji mogu unaprijediti zdravlje probavnog sustava odbijene prasadi. Među njima su, osim antibiotika, i protumikrobni neantibiotski promotori rasta, kao što su: bakar sulfat, već spominjani cink oksid i niz probiotika, prebiotika, biljnih ekstrakata, začina, te brojni egzogeni i endogeni rekombinantni MIO (Baynes i Varley, 2001). Izam djelovanja antibiotikskih promotora rasta još uvijek nije dovoljno poznat, dok se za neke od neantibiotskih promotora rasta (napose probiotika i prebiotika) zna da se natječu s enteričkim patogenima za nutrijente i/ili interferiraju s njihovom za sluznicu crijeva.

ZAKLJUČNE PRIPOMENE

Alternativne metode kontrole bakterijskih enteričkih bolesti svinja, klasičnom preventivnom i/ili terapijskom pristupu protumikrobnim lijekovima (napose antibioticima), uključuju: (1) modificiranje uzgojnih tehnologija radi umanjivanja stresa i izlaganja uzročnicima tih bolesti, (2) uporabu probiotika i prebiotika kao dodataka hrani, (3) uporabu i unapređivanje vakcina, (4) odabir rasplodnih linija otpornih na bolesti, te (5) pojačavanje imunskog odgovora primjenom egzogenih i endogenih MIO.

Unatoč ohrabrujućim rezultatima nutritivne i imunodne modulacije crijevne imunosti na ETEC/VTEC sojeve nasmiju se smetnuti s uma dvije činjenice: (1) da je bakterija *E. coli* genetski mnogo fleksibilnija od svoga domaćina-svinje, te (2) da je probavni sustav svinje moćni «lonac za topljenje» bakterijskih gena u kojem nastaju nove genomske organizacije (prirodni klonovi) u populaciji bakterije

E. coli. Evoluiranje rekombinanata, bilo kao posljedica selekcijskog pritiska antibiotika i vakcina ili iznenadnog protoka i otklona gena, može dovesti do pojave novih patotipova s novostečenim činiteljima virulencije.

Usprkos tomu, daljnjim istraživanjima trebalo bi postaviti sljedeća pitanja:

- koje će se od kombinacija ne-ETEC/VTEC sojeva pokazati najboljim vakcinama protiv KD i KE odbijene prasadi,

- da li je izbor egzogenog MIO, kao adjuvanta, bolji od izbora endogenog MIO, primjerice među mukoznim citokinima,

- može li se imunostimulacijsko i zaštitno djelovanje odabranih vakcina produžiti uklapanjem u mikrokapsule,

- kako prije eventualne registracije, ako to bude GMO umjesto ne-GMO vakcine, riješiti prepreke moralne, zakonske, a možda i političke naravi.

Odgovori su neizvjesni i zbog toga su veliki izazov za veterinarsku znanost i struku, a mali za biomedicinsku znanost i struku.

LITERATURA

1. Alexa, P., E. Salajka, Z. Salajkova, A. Machova (1995): Combined parenteral and oral immunization against enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea in weaned piglets. Vet. Med. (Praha), 12: 365-370.
2. Argenzio, R. A (1996): The pig as a model for studying the pathobiology of intestinal transport in infectious enteric disease. U: M.E. Tumbleson, L.B. Schook (ur.) Advances in swine in biomedical Research, vol. 1, 45- 58, Plenum Press, New York.
3. Bailey, M., I. Hall, P. W. Bland, C. R. Stokes (1994): Production of cytokines by lymphocytes from solid lymphoid tissue and the intestinal lamina propria of pigs. Immunology 82: 577-583.
4. Bailey, M., K. Haverson, C. R. Stokes (1996): Immunological functions of the intestinal lamina propria. U: M. E. Tumbleson, L. B. Schook (ur.) Advances in swine in biomedical Research, vol. 1, 267- 275, Plenum Press, New York.
5. Bailey, M., M. A. Vega-Lopez, H.-J. Rothkötter, K. Haverson, P. W. Bland, B. G. Miller, C. R. Stokes (2001): Enteric immunity and gut health. U: M. A.

- Varley, J. Wiseman (ur.) The weaner pig: nutrition and management, 207-222, CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK.
6. Barker, I. K., A. A. Van Dreumel, N. Palmer (1993): The alimentary system. U: K.V.F. Jubb, P. C. Kennedy, N. Palmer (ur.) Pathology of domestic animals, 4. izd., vol. 2, 200-213, Academic Press, San Diego, CA, USA
 7. Baker, D. R., L. O. Billey, D. H. Francis (1997): Distribution of K88 *E. coli*-adhesive and non-adhesive phenotypes amongst pigs of four breeds. *Vet. Microbiol.* 54: 123-132.
 8. Baynes, P., M. Varley (2001): Gut health: practical considerations. U: M. A. Varley, J. Wiseman (ur.) The weaner pig: nutrition and management, 249-257, CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK.
 9. Bertschinger, H. U. (1996): Enteric diseases caused by *Escherichia coli*. PIGS-Misset, May, 14-16.
 10. Bertschinger, H. U., H. Tucker, H. P. Pfirter (1979): Control of *Escherichia coli* in weaned pigs by use of oral immunization combined with a diet low in nutrients. *Fortschr. Veterinärmed.* 29: 73-81.
 11. Bertschinger, H. U., M. Stamm, P. Vögeli (1993): Inheritance of resistance to oedema disease in the pig: experiments with *Escherichia coli* strain expressing fimbriae 107. *Vet. microbiol.* 35: 79-89.
 12. Bianchi, A. T., R. J. Zwart, S. H. Jeurissen, H. W. Moonen-Leusen (1992): Development of B-and T-cell compartments in porcine lymphoid organs from birth to adult life: an immunohistological approach. *Vet. immunol. immunopathol.* 33: 201-221.
 13. Božić, F., V. Bilić, D. Sakar, I. Valpotić (2000): Cell-mediated immune response in the gut of weaned pigs vaccinated with a live attenuated oral vaccine against colibacillosis. *Vet. arhiv* 70: 339-349.
 14. Božić, F., G. Lacković, C. R. Stokes, I. Valpotić (2002): Recruitment of intestinal CD45⁺ and CD45RC⁺ cells induced by a candidate oral vaccine against porcine postweaning colibacillosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 86: 137-146.
 15. Božić, F., V. Bilić, I. Valpotić (2003a): Levamisole mucosal adjuvant activity for a live attenuated *Escherichia coli* oral vaccine in weaned pigs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 26: 225-231.
 16. Božić, F., G. Lacković, A. Prevendar-Crnić, D. Sakar, I. Valpotić (2003b): Lovamisole stimulates intestinal T-cell-mediated immune responses of weaned pigs to vaccination against colibacillosis. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 26 (Suppl 1): 229-231.
 17. Brooks, P. H. (1999): The potential of liquid feeding systems. U: T. P. Lyons, D. J. A. Cole (ur.) Concepts in pig science. 81-98, Nottingham University Press, Nottingham, UK.
 18. Butler, J. E., W. R. Brown (1994): The immunoglobulins and immunoglobulin genes of swine. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 43: 5-12.
 19. DeCupere, F., P. Deprez, D. Demeulenaere, E. Muyllé (1992): Evaluation of the effect of 3 probiotics on experimental *Escherichia coli* enterotoxemia in weaned piglets. *Zentralbl. Veterinärmed.* 39: 277-284.
 20. Done, S. (2001): Enteric and respiratory diseases in the young weaned piglet. U: M. A. Varley, J. Wiseman (ur.) The weaner pig: nutrition and management, 223-248, CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK.
 21. Francis, D. H., P. A. Grange, D. H. Zeman, D. R. Baker, R. Sun, A. K. Erickson (1998): Expression of mucin-type glycoprotein K88 receptors strongly correlates with piglet susceptibility to K88⁺ enterotoxigenic *E. coli*, but adhesion of this bacterium to brush borders does not. *Infect. immun.* 66: 4050-4055.
 22. Fuller, R. (1992): Historia and development of probiotics. U: Fuller, R. (ur.) Probiotics-the scientific basis. 1-8, Chapman and Hall, London.
 23. Göransson, L., K. Martinsson, S. Lange, I. Lönnroth (1993): Feed-induced lectins in piglets. *J. Vet. Med. B* 40: 478-484.
 24. Grgić, A., N. Vijić, D. Radeljević, L. Šver, I. Valpotić (1995): *In vitro* effect of Baypamun® (BPM) on porcine gut lymphoid cell function after experimental infection with F4ac⁺ enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) or non-ETEC strains. *Veterinar* 38 (2-4): 6-9.
 25. Hampson, D. J., Z. F. Fu (1988): Pre-weaning supplementary feed and porcine post-weaning diarrhoea. *Res. Vet. Sci.* 44: 309-314.
 26. Hampson, D. J., J. R. Pluske, D. W. Pethick (2001): Dietary control of enteric diseases. U: Proc. 8th Symp. Digest. Physiol. in Pigs, Swedish Univ. Agricult. Sciences, Uppsala, Sweden.
 27. Holm, A., N. D. Poulsen (1996): Swine production management update: zinck oxide in treating *E. coli* diarrhoea in pigs after weaning. *Compend. Cont. Edu. Pract. Vet.* 18: S26-S28.
 28. Isaacson, R. E. (1996): Pathogenesis of enteric bacterial infections. U: M. E. Tumbleson, L. B. Schook (ur.) Advances in swine in biomedical Research, vol. 1, 365-384, Plenum Press, New York.
 29. Jensen, P., G. Stangel (1992): Behaviour of piglets during weaning in a semi-natural enclosure. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 33: 227-238.

30. Jiang, R., X. Chang, B. Stoll, M. Z. Fan, J. Arthington, E. Weaver, J. Campbell, D. G. Burrin (2000): Dietary plasma protein reduces small intestinal growth and lamina propria cell density in early weaned pigs. *J. Nutr.* 130: 21-26.
31. Johnsson, E., P. Conway (1992): Probiotics for pigs. U: Fuller, R. (ur.) Probiotics-the scientific basis. 259-316, Chapman and Hall, London.
32. Kavanagh, S., P. B. Lynch, P. J. Caffrey, W. D. Henry (1997): The effect of pig weaning weight on post weaning performance and carcass traits. U: P. D. Cranwell (ur.) Manipulating production VI., 71, Australasian Pig Sci. Assoc., Werribee, Australia.
33. Kelley, D., T. P. King (2001): Luminal bacteria: regulation of gut function and immunity. U: A. Piva, K. E. Bach Kudsén, J. E. Lindberg (ur.) Manipulation of the gut environment in pigs., 113-131, Nottingham University Press, Nottingham, UK.
34. Kelly, D., J. A. Smyth, K. J. McCracken (1991): Digestive development in the early-weaned pig. I. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. *Br. J. Nutr.* 65: 169-180.
35. LeDividich, J., B. Seve (2001): Energy requirements of the young pig. U: M. A. Varley, J. Wiseman (ur.) The weaner pig: nutrition and management, 17-44, CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK.
36. Lacković, G., B. Rode, M. Tomašković, K. Balaban, V. Bilić, I. Valpotić (1997a): Distribution of cytolytic and suppressor T cell subsets in the small intestine of pigs demonstrated by immunohistochemical methods. *Period. Biol.* 99 (3): 437-440.
37. Lacković, G., N. Vijić, T. Balenović, E. A. Dean-Nystrom, T. A. Casey, I. Valpotić (1997b): Detection of wCD1, SWC1a, SWC2 and CD45 molecules by immunofluorescence or immunoperoxidase techniques in porcine gut-associated lymphoid tissues following experimentally induced colibacillosis. *Period. biol.* 99 (3): 343-350.
38. Lacković, G., M. Tomašković, B. Njari, I. Vrbanac, B. Krsnik, B. Rode, I. Valpotić (1999): Distribution of immune cells expressing CD3a, CD21 and S-100 protein markers in the porcine gut-associated lymphoid tissues. *Eur. J. Histochem.* 43: 39-46.
39. Mahan, D. C., A. J. Lepine (1991): Effect of pig weaning weight and associated nursery feeding program on subsequent performance to 105 kilograms body weight. *J. Anim. Sci.* 69: 1370-1378.
40. Mathews, A. G., M. A. Franklin, W. G. Upchurch, S. E. Chattin (1996): Influence of weaning age on ileal microflora and fermentation acids in young pigs. *Nutr. Res.* 16: 817-827.
41. Maxwell, F. J., C. S. Stewart (1995): The microbiology of the gut and the role of probiotics. U: M.A. Varley (ur.) The neonatal pig: development and survival. 155-186, CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
42. McCracken, K. J., D. Kelly (1993): Development of digestive function and nutrition/disease interactions in the weaned pig. U: D. J. Farrell (ur.) Recent advances in animal nutrition in Australia. 182-192, Department of Biochemistry, Microbiology and Nutrition, University of New England, Armidale, Australia.
43. McDonald, D. E., D. W. Pethick, J. R. Pluske, D. J. Hampson (1999): Adverse effects of soluble non-starch polysaccharide (guar gum) on piglet growth and experimental colibacillosis immediately after weaning. *Research in Veterinary Science* 67, 245-250.
44. Meijerink, E., R. Fries, P. Vögeli, J. Masabanda, G. Wigger, C. Stricker, S. Neuenschwander, H. U. Bertschinger (1997): Two alpha (1,2) fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and *Escherichia coli* F18 receptor (ECF18R) loci. *Mammalian Genome* 8: 736-741.
45. Miller, B. G., C. T. Whittemore, C. R. Stokes, E. Telemo (1994): The effect of delayed weaning on the development of oral tolerance to soyabean protein in pigs. *Br. J. Nutr.* 71: 615-625.
46. Moon, H. W., T. O. Bunn (1993): Vaccines for preventing enterotoxigenic *Escherichia coli* in farm animals. *Vaccine* 11 (2): 213-220.
47. Musgrave, K., M. A. Varley, P. E. Hughes, J. Ferlazzo, G. P. Pearce (1991): The effects of weaning, moving and mixing on the growth and behaviour of piglets after weaning. *Anim. Prod.* 52: 575-576.
48. Nagy, B., P. Fekete (1999): Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet. Res.* 30: 259-284.
49. Owuse-Asiedu, A., C. M. Nyachoti, R. R. Marquardt (2003): Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg yolk antibody, zinc oxide, fumaric acid or antibiotic. *J. Anim. Sci.* 81 (7): 1790-1798.
50. Øverland, M., K. C. Kjeldsen, T. Granli (2003): Antimicrobial properties of potassium diformate in pigs. *Feed Tech* 7 (6): 18-20.
51. Partridge, I. G. (1989): Alternative feeding strategies for weaner pigs. U: J. L. Barnett, D. P. Hennessy (ur.) Manipulating pig production II. 160-169, Australasian Pig Sci. Assoc., Werribee, Victoria, Australia.

52. Pluske, J. R., I.H. Williams, F. X. Aherne (1995): Nutrition of the neonatal pig. U: M. A. Varley (ur.) The neonatal pig: development and survival. 187-235, CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
53. Pluske, J. R., M. J. Thompson, C. S. Arwood, P. H. Bird, I. H. Williams, P. E. Hartmann (1996): Maintenance of villus height and crypt depth, and enhancement of disaccharide digestion and monosaccharide absorption, in piglets fed on cows' whole milk after weaning. *Br. J. Nutr.* 76: 409-422.
54. Prohaszka, L., F. Baron (1980): The predisposing role of high protein supplies in enteropathogenic *Escherichia coli* infections of weaned pigs. *Zentralbl. Veterinarmed. B.* 27: 222-232.
55. Runnels, P. L., N. Vijtiuk, I. Valpotić (1992): Association of porcine intestinal F4 receptor with *Escherichia coli* – induced diarrheal disease and body weight gain in weaned pigs. *Period. biol.* 94: 141-148.
56. Sarmiento, J. I., P. L. Runnels, H. W. Moon (1990): Effects of preweaning exposure to a starter diet on enterotoxigenic *Escherichia coli* – induced post-weaning diarrhea in swine. *Am. J. Vet. Res.* 51 (8): 1180-1183.
57. Spring, P. (2003): Intestinal mikroflora and the possibility to influence it with mannan oligosaccharide. *Praxis vet.* 51 (1-2): 25-35.
58. Stewart, C. S., K. Hillman, F. J. Maxwell, D. Kelly, T. P. King (1993): Recent advances in probiosis in pigs: observations on the microbiology of the pig gut. U: P. C. Garnsworthy, D. J. A. Cole (ur.) Recent advances in animal Nutrition. 197-220, Nottingham University Press, Nottingham, UK.
59. Stokes, C. R., M. Bailey (1996): Antigen handling in the gastrointestinal lamina propria. *J. Biotechnol.* 44: 5-11.
60. Stokes, C. R., K. Haverson, M. Bailey (1996): Antigen presenting cells in the porcine gut. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 54: 171-177.
61. Šver, L., K. Trutin-Ostović, D. Žubčić, T. A. Casey, E. A. Dean-Nystrom, I. Valpotić (1996a): Porcine gut T, B, and null/ $\gamma\delta$ TCR⁺ cell quantification in the protective immunity to fimbrial/toxin antigens of *Escherichia coli*. *Period. biol.* 98 (4): 473-478.
62. Šver, L., B. Njari, M. Gerenčer, D. Radeljević, V. Bilić, I. Valpotić (1996b): Parapoxvirus-induced modulation of porcine gut immune cells primed with *Escherichia coli* antigens. *Vet. arhiv* 66 (1): 1-12.
63. Thomlison, J. R., T. L. Lawrence (1981): Dietary manipulation of gastric pH in the prophylaxis of enteric disease of weaned pigs: some field observations. *Vet. Rec.* 109: 120-122.
64. Valpotić, I. (2000): Imunomodulacija u domaćih životinja. *Hrv. vet. vjesn.* 23 (1): 4-10.
65. Valpotić, I., P. L. Runnels (1989): Occurrence of phenotype-specific small intestinal receptors mediating adhesion of *Escherichia coli* – expressing K88 pilus antigen in pigs from Iowa, USA. *Vet. arhiv* 59: 49-62.
66. Valpotić, I., C. R. Stokes (1994): Specificity and function of porcine T cells in intestinal immunity. *Period. Biol.* 96 (4): 415-418.
67. Valpotić, I., M. Gerenčer, Z. Modrić, J. Žuvanić, I. Bašić (1986): Effect of orally administered allogeneic immunoglobulins on humoral immunity in piglets throughout the perinatal period. *Period. biol.* 88 (Supp. 1/A): 455-456.
68. Valpotić, I., E. A. Dean, H. W. Moon (1989): Phenotyping of pigs for the presence of intestinal receptors mediating adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli* – bearing K88ac pilus antigen by ELISA. *Vet. arhiv* 59: 161-175.
69. Valpotić, I., M. Gerenčer, I. Bašić (1989): *In vitro* modulating effects of porcine immunoglobulin G on mitogens-induced lymphocyte response in precolostral, suckling and weaned piglets. *Vet. immunol. Immunopathol.* 22: 113-122.
70. Valpotić, I., M. Franković, I. Vranac (1992): Identification of infant and adult swine susceptible to enterotoxigenic *Escherichia coli* by detection of receptors for F4 (K88) ac fimbriae in brush borders or feces. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 15: 271-279.
71. Valpotić, I., N. Vijtiuk, K. Trutin-Ostović, T. A. Casey, E.A. Dean Nystrom, G. Lacković (1994): Identification and distribution of CD⁺ T- cell subsets in porcine gut following experimental infection with F4ac⁺ enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) or non-ETEC strains. *Regional Immunology* 6 (5-6): 387-390.
72. Vega-Lopez, M. A., M. Bailey, E. Telemo, C. R. Stokes (1995): Effect of early weaning on the development of immune cells in the pig small intestine. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 44: 319-327.
73. Vijtiuk, N., S. Čurić, G. Lacković, I. Udovičić, I. Vrbanac, I. Valpotić (1995): Histopathological features in the small intestine of pigs infected with F4ac⁺ enterotoxigenic strains of *Escherichia coli*. *J. Comp. Pathol.* 112: 1-10.
74. Vijtiuk, N., V. Bilić, I. Harapin, I. Vrbanac, I. Valpotić (2001): Differentiated attaching and effacing activities of porcine F4⁺ enterotoxigenic and nonenterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *Period. biol.* 103 (1): 21-27.

75. Vijtiuk, N., K. Trutin-Ostović, T. Balenović, M. Popović, I. Valpotić (2002): Functional and phenotypic analyses of porcine gut immune cells immunized by oral administration of F4ac⁺ nonenterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *Vet. Med. – Czech* 12: 333-341.
76. Vögeli, P., R. Bolt, R. Fries, G. Stranziger (1994): Cosegregation of the malignant hyperthermia and Arg615-Cys615 mutation in the skeletal muscle calcium release channel protein in five European Landrace and Pietren pig breeds. *Anim. Genet.* 1: 59-66.
77. Whittemore, C. T., D. M. Green (2001): Growth of the young weaned pig. U: M. A. Varley, J. Wiseman (ur.) *The weaner pig: nutrition and management*, 1-15, CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK.
78. Wilson, A. D., C. J. Clarke, C. R. Stokes (1990): Whole cholera toxin and B-subunit act synergistically as an mucosal adjuvant for the mucosal immune response of mice to keyhole limpet haemocyanin. *Scand. J. Immunol.* 31: 443-451.
79. Yokoyama, K., R. C. Peralta, R. Diaz, S. Sendo, Y. Ikemori, Y. Kodama (1992): Passive protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in neonatal piglets. *Infect. Immun.* 60: 998-1007.
80. Zang, L. Y., D. F. Li, S. Y. Qiao, E.W. Johnson, B. Y. Li, P. A. Thacker, I.K. Han (2003): Effects of stachyose on performance, diarrhoea incidence and intestinal bacteria in weaned pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 57: 1-20.

SUMMARY

The alternatives to excessive use of antibiotics for the control of bacterial enteric diseases of weaned pigs are immune and nonimmune nutritive modulations. As for the former approach, the theoretical basis is clear and the practical requirement is unquestionable. It is widely known that the later approach is based on the interactions of nutrition (particularly of specific nutrients and additives) and commensal microbiota with the intestinal immunity, resulting in the subsequent enhancement of a local resistance at the level of the gut immune system (GIS). In swine GIS, as a part of overall immune system of the mucosal surfaces is continually in the contact with numerous pathogenic microorganisms either resident or from external environment, including those from the diet. Hence, it is paradoxical phenomenon that the intestinal immune responses to luminal antigens of microbial origin are rarely protective, but predominantly tolerogenic, similarly as to the harmless dietary antigens. This fact is a main obstacle for the maintenance of a specific immunity at the intestinal mucosal surfaces against particular enteric pathogens, such as enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains causative agents of colidiarrhea (CD) and colienterotoxemia (CE) of weaned pigs. Since the weaners establish adult immunocompetence not until 5 to 7 weeks of age, and the weaning is accompanied with series of physiological (cessation of lacteal immunity), nutritional (changes in feed consistency and constituents), and environmental stressors (changes in housing, social hierarchy, and ambient conditions), the immediate postweaning period is characterized with a high susceptibility for CD and CE. As yet no effective vaccines against these infections are available. However, our experiences and those from the others are pointing out the use of *E. coli* strains expressing F4 and F18 adhesive antigens, which could be attenuated by the molecular/genetic manipulations to the toxin non-producing variants suitable for the development of a safe live oral non-ETEC vaccines against CD and/or CE of weaned pigs.

This review will focus on the current issues of porcine intestinal immunity and the effectiveness of experimental non-ETEC vaccines and mucosal adjuvants. It will also deal with contemporary informations about a role of the commensal microbiota which can prevent adhesion of pathogenic microorganisms to the specific receptors on enterocytes and compete with them for the nutrients. Besides, these organisms also termed probiotics, act directly for the benefit of the host by either suppressing the production of toxic metabolites or performing detoxification, and by stimulating the digestion and the immune system. Along with feed additives which can modify and block the replication of enteric pathogens, they may protect the small intestinal mucosa of weaned pigs from colonization by ETEC strains.

Key words: intestinal immunity, *E. coli* vaccines, feed additives, weaned pigs

DISTRIBUTERI ZA

SIGURNIJE I KVALITETNIJE U 2004.

METIONIN	99%
LIZIN	98,5%
LUPRAFOS	18%P

FCO KUPAC

LUPRES doo

042 241 144 Varazdin
E-mail: lupres@vz.tel.hr

DEGUSSA

ADM USA

**H.NAGEL &
LUPRES**

