

JERZY LECH GUNDLACH, ANDRZEJ SADZIKOWSKI, STEFAN UCHACZ *

Zmiany poziomu wybranych składników mineralnych w surowicach cieląt w przebiegu doświadczalnej inwazji i superinwazji *Fasciola hepatica*

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych
Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
* Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin

Niniejsze opracowanie stanowi kolejne uzupełnienie serii badań prowadzonych w ośrodku lubelskim, dotyczących patogeny choroby motyliczej o przeżuwaczy (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 15). Poza szeregiem stwierdzonych zmian zachodzących pod wpływem doświadczalnej czy naturalnej inwazji motylicy, mają także miejsce zaburzenia w gospodarce mineralnej żywicieli, na co zwraca uwagę szereg autorów (1, 2, 8, 11, 12, 14 — 21).

Ponieważ większość cytowanych badań dotyczyła owiec, stąd też celem niniejszej pracy było przeprowadzenie obserwacji dotyczących zachowania się wybranych elementów mineralnych w surowicach cieląt w przebiegu eksperymentalnej inwazji i superinwazji motylicy wątrobowej.

Material i metody

Do badań użyto 12 cieląt rasy ncb w wieku ok. 8—10 tygodni, o masie ciała 15—93 kg, wolnych od inwazji motylicy wątrobowej i pasożytów przewodu pokarmowego. Cielęta podzielono na 4 grupy, z których trzy, tj. 1, 2 i 3 poddano doświadczalnej inwazji lub superinwazji metacerkariami *F. hepatica* uzyskanymi przy użyciu ślimaków *Lymnaea tomentosa*. Pozostałe 3 cielęta stanowiły grupę kontrolną. Układ doświadczenia przedstawiono w tab. 1.

Krew do badań pobierano w odstępach tygodniowych do 77 dnia inwazji, następnie dwutygodniowych (do 119 dnia) i trzytygodniowych (do 161 dnia tj. do końca doświadczenia). W trakcie doświadczenia wykonywano badania koproskopowe w celu stwierdzenia okresu prepatentnego, a 161 dnia zwierzęta uśmiercano i poddawano sekcji ze szczególnym zwróceniem uwagi na intensywność inwazji *F. hepatica*. Zawartość składników mineralnych: Ca, Na, K, Mg, Cu, Zn i Fe w surowicach oznaczano metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej wg postępowania podanego przez Enigka i wsp. (2). Fosfor nieorganiczny określano metodą Fiske-Subbarowa.

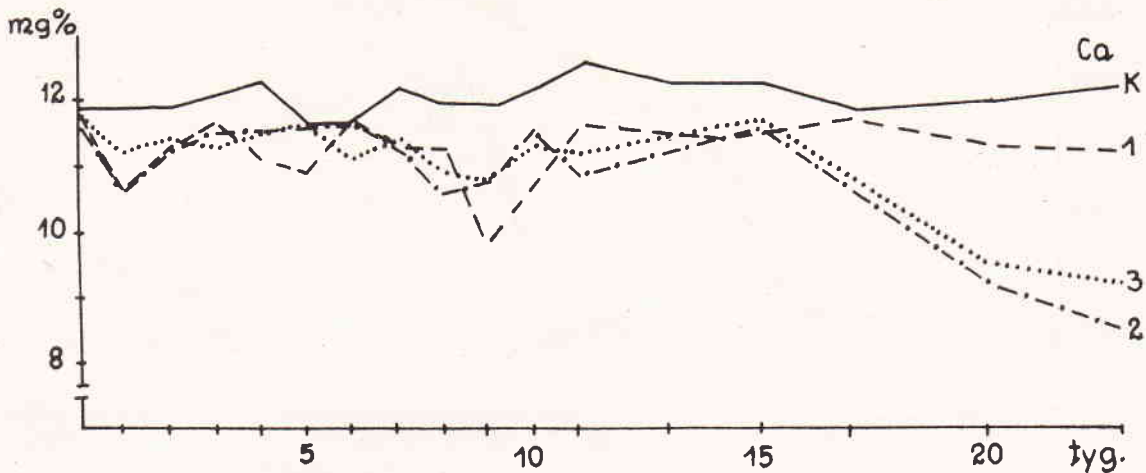
Wyniki i omówienie

W wyniku badań parazytologicznych stwierdzono, że wszystkie cielęta, którym podano metacerkarie *F. hepatica*, uległy zarażeniu, a okres prepatentny wahał się w granicach 70—77 dni. Intensywność inwazji motylicy u poszczególnych cieląt przedstawiono w tab. 1.

Na uwagę zasługuje niska intensywność inwazji motylicy u zwierząt grupy 2, która spowodowana była prawdopodobnie podaniem dawki „challange” metacerkarii 8 tyg., tj. w okresie najsilniej wyrażonej u cieląt reakcji obronnej (10). Natomiast w grupie 3 uzyskany wyższy rezultat inwazji wydaje się być następ-

Tab. 1. Układ doświadczenia i wyniki badań parazytologicznych

Grupa	Nr cielęcia	Inwazja	Liczba metacerkarii		Ogólna liczba podanych metacerkarii	Intensywność inwazji	Rezultat zarażenia %
			super-inwazja I 28 dzień	super-inwazja II 56 dzień			
1	1	1650	0	0	1650	01	3,09
	2	1650	0	0	1650	17	1,03
	3	1650	0	0	1650	33	2,00
					średnio:	33,7	2,04
2	4	1650	0	1500	3150	11	0,34
	5	1650	0	1500	3150	17	0,53
	6	1650	0	1500	3150	17	0,53
					średnio:	15,0	0,46
3	7	1650	600	1500	3750	91	2,42
	8	1650	600	1500	3750	33	1,01
	9	1650	600	1500	3750	55	1,46
					średnio:	61,0	1,63
K	10	0	0	0	0	0	0
	11	0	0	0	0	0	0
	12	0	0	0	0	0	0
					średnio:	0	0



Ryc. 1. Zmiany poziomu wapnia w surowicach krwi cieląt grup doświadczalnych 1—3 i grupy kontrolnej — K

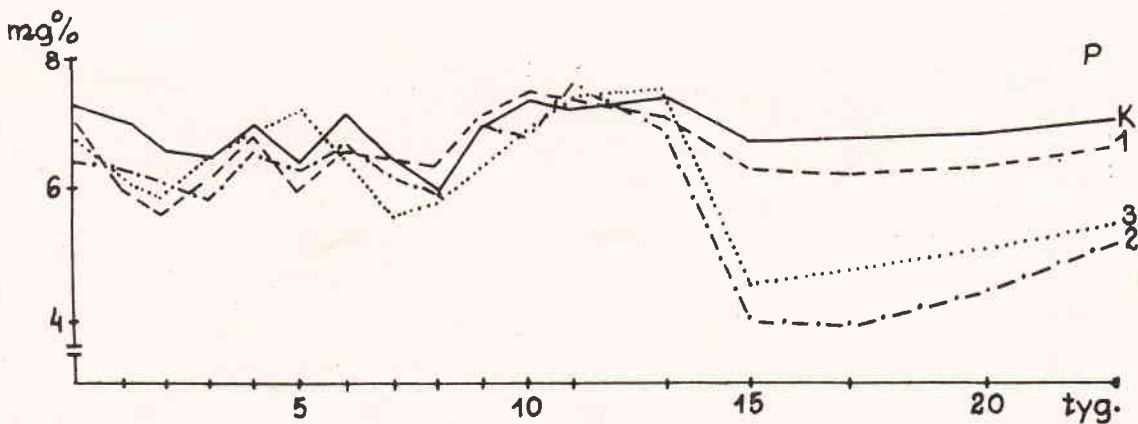
stwem podania dawki metacerkarii w 4 tyg. po inwazji pierwotnej, tj. w okresie kształtowania się odporności.

Wyniki przeprowadzonych badań biochemicznych przedstawiają ryc. 1—8. Stwierdzono wpływ inwazji motylicy wątrobowej na poziom niektórych elementów mineralnych w surowicach krwi cieląt poddanych jedno-, dwu- lub trzykrotnemu doświadczalnemu zarażeniu metacerkariami *F. hepatica*. Obserwowane zmiany były różnego stopnia i zależały od liczby podanych metacerkarii, intensywności inwazji, okresu inwazji i badanego wskaźnika.

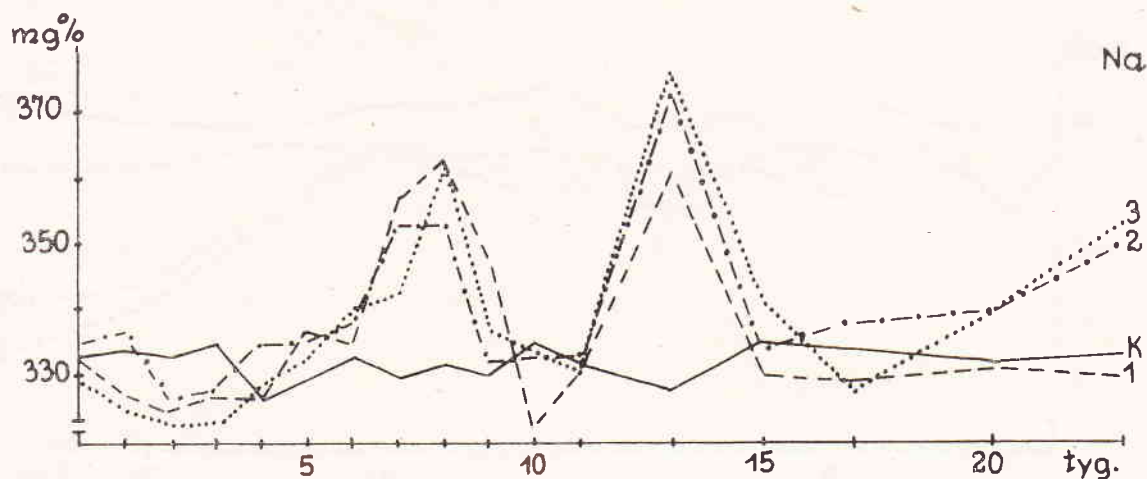
Wahania poziomu wapnia w surowicach cieląt wszystkich grup doświadczalnych w przebiegu eksperymentu wyrażały się spadkiem jego poziomu obserwowanym od pierwszego tygodnia inwazji (ryc. 1). Podobnie wczesne i trwałe obniżenie poziomu wapnia w przebiegu doświadczalnej inwazji obserwowali Enigk i wsp. (2). Interpretacja obserwowanego spadku poziomu wapnia w surowicy w świetle dotychczasowych badań patogenezy fasciolozy bydła wydaje się być następująca: w okresie prepatentnym inwazji straty wapnia zawartego we

krwi są wynikiem stałych wynacznień pełnej krwi do mięszu wątrobowego, spowodowanych mechanicznym uszkodzeniem naczyń krwionośnych wątroby przez wędrujące przywry, o czym świadczy obserwowany również w tym czasie spadek wskaźników czerwono-krwinkowych. Spadkowi poziomu wapnia w surowicach towarzyszy obniżenie jego zawartości w erytrocytach i jednoczesny wzrost jego wartości w homogenatach tkanki wątrobowej. Natomiast w fazie patentnej inwazji straty wapnia są wynikiem odkładania składników mineralnych na skutek trwającego procesu odnowy uszkodzonej w ostrej fazie wątroby (2).

W późniejszej fazie badań własnych, bo począwszy od 15 tyg. doświadczenia zwraca uwagę znaczniejszy spadek poziomu wapnia, ale głównie u tych cieląt, u których dokonano superinwazji tj. z grup 2 i 3. Można sądzić, że w tych przypadkach pogłębiająca się hipokalcemia wynika z przewlekającego się procesu odnowy i wzmożonego procesu kalcyfikacji dotkniętego superinwazją narządu. Przypuszczenie to zdaje się potwierdzać nieznaczny w tym okresie spadek poziomu wapnia u cieląt gru-



Ryc. 2. Zmiany poziomu fosforu w surowicach krwi cieląt grup doświadczalnych 1—3 i grupy kontrolnej — K



Ryc. 3. Zmiany poziomu sodu w surowicach krwi cieląt grup doświadczalnych 1—3 i grupy kontrolnej — K

py 1, które zarażono jednorazowo metacerkariami *F. hepatica*.

U bydła naturalnie zarażonego motylicą dane dotyczące zachowania się poziomu wapnia są rozbieżne, bowiem Kadıc i Nesic (13) stwierdzali umiarkowany wzrost poziomu wapnia, a Markiewicz i wsp. (14) spadek jego zawartości.

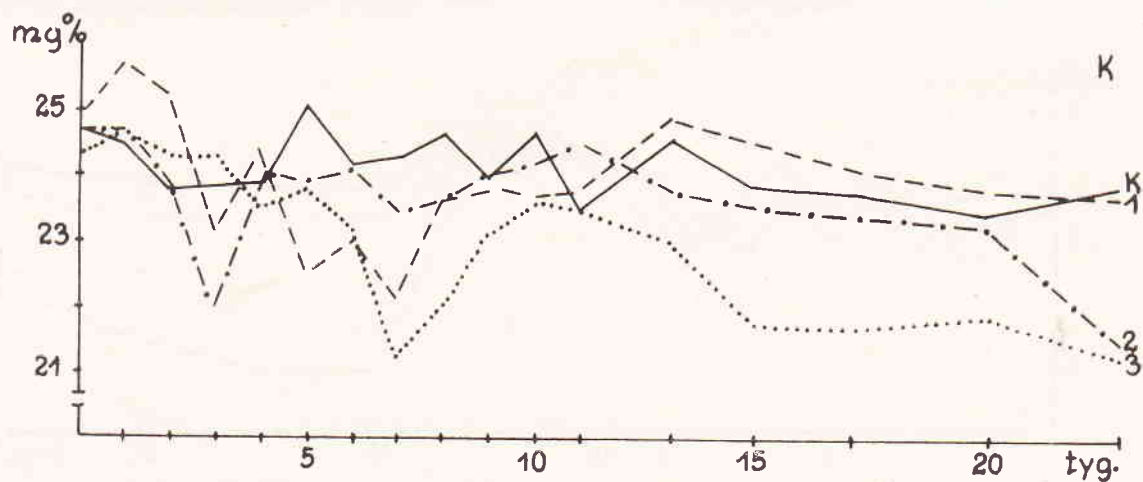
W badaniach własnych u cieląt wszystkich grup doświadczalnych poziom fosforu nie wykazywał do 13 tyg. wyraźniejszych zmian i mieścił się w granicach poziomu tego parametru u zwierząt grupy kontrolnej. Dopiero począwszy od 13 tyg. nastąpił wyraźny spadek poziomu tego parametru, ale tylko u cieląt grup 2 i 3, tj. u tych, u których dokonano superinwazji (ryc. 2).

Spadek poziomu fosforu w patentnej fazie naturalnej inwazji u bydła stwierdzali także inni autorzy (13, 14). Wyjaśnienie tego stanu rzeczy nie jest łatwe z uwagi na brak szczegółowych badań w tym względzie. Biorąc jednak pod uwagę wyniki badań Enigka i wsp. (2) wskazujące na wyższą zawartość fosforu w wątrobie zwierząt zamotyliczonych można

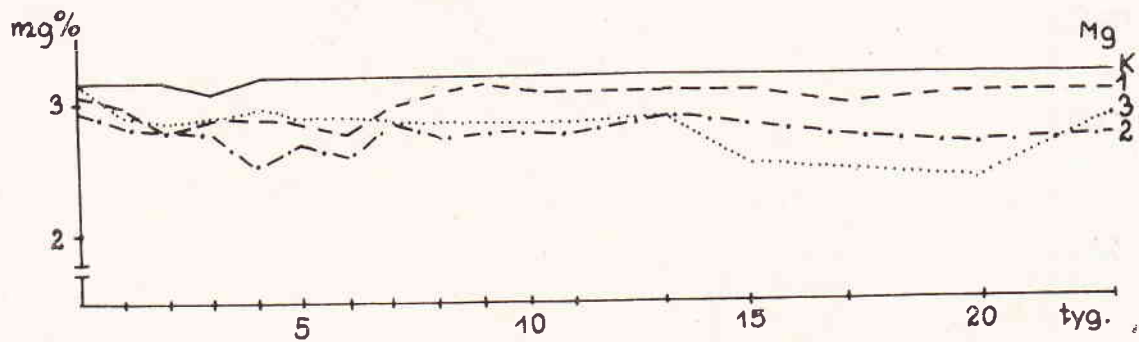
sądzić, że w okresie odnowy i regeneracji tego narządu ma miejsce wzmożone odkładanie się fosforu, co może wpływać na obserwowany spadek tego wskaźnika w surowicy w późniejszym okresie inwazji. Sugestię tę zdają się potwierdzać wyniki badań własnych wykazujące u cieląt po superinwazji w późniejszej fazie doświadczenia hipofosfatemię, co podobnie jak w przypadku Ca zdaje się wskazywać na przewlekający się proces odnowy i wzmożone odkładanie fosforu i jego soli w wątrobie.

Odnosnie do zmian poziomu sodu i potasu u zwierząt wszystkich grup doświadczalnych stwierdzono — w przypadku sodu — przejściowo wzrost jego zawartości. Natomiast w przypadku potasu obserwowano w patentnym okresie inwazji spadek poziomu tego parametru utrzymujący się w fazie patentnej u zwierząt grupy 3 i w mniejszym stopniu grupy 2, tj. u których dokonano superinwazji (ryc. 3, ryc. 4).

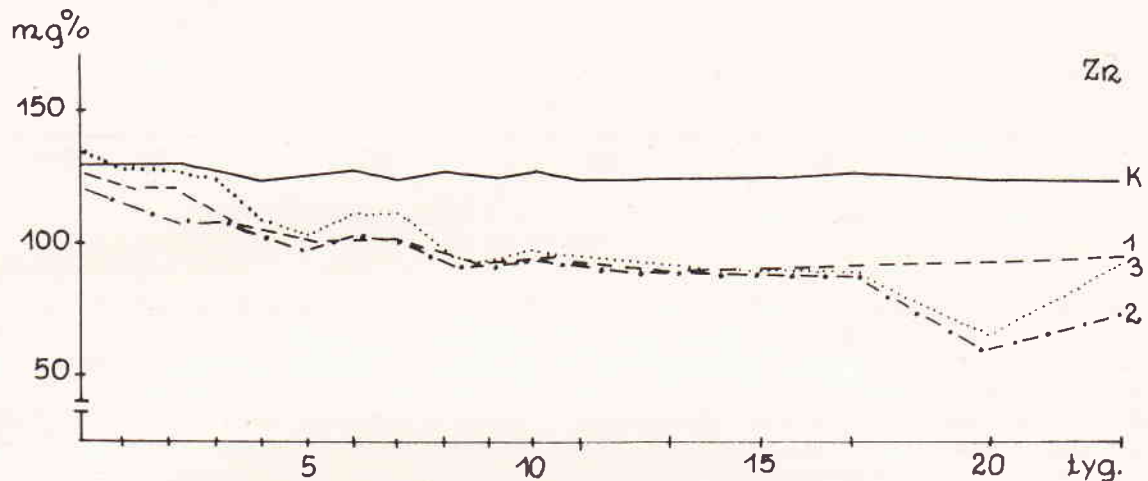
Niższy poziom tych elementów zarówno w prepatentnym, jak i patentnym okresie eksperymentalnej inwazji *F. hepatica* u cieląt obser-



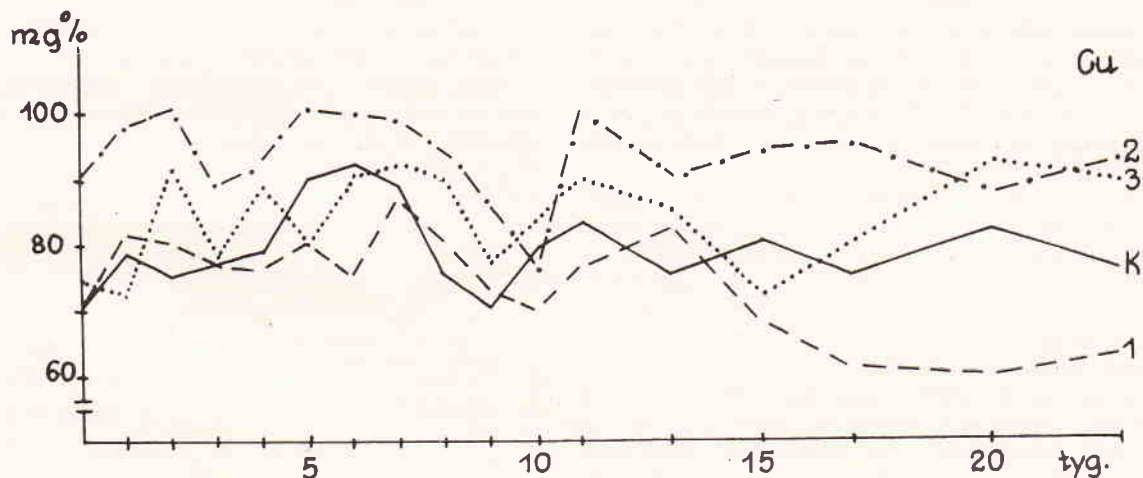
Ryc. 4. Zmiany poziomu potasu w surowicach krwi cieląt grup doświadczalnych 1—3 i grupy kontrolnej — K



Ryc. 5. Zmiany poziomu magnezu w surowicach krwi cieląt grup doświadczalnych 1—3 i grupy kontrolnej — K



Ryc. 6. Zmiany poziomu cynku w surowicach krwi cieląt grup doświadczalnych 1—3 i grupy kontrolnej — K

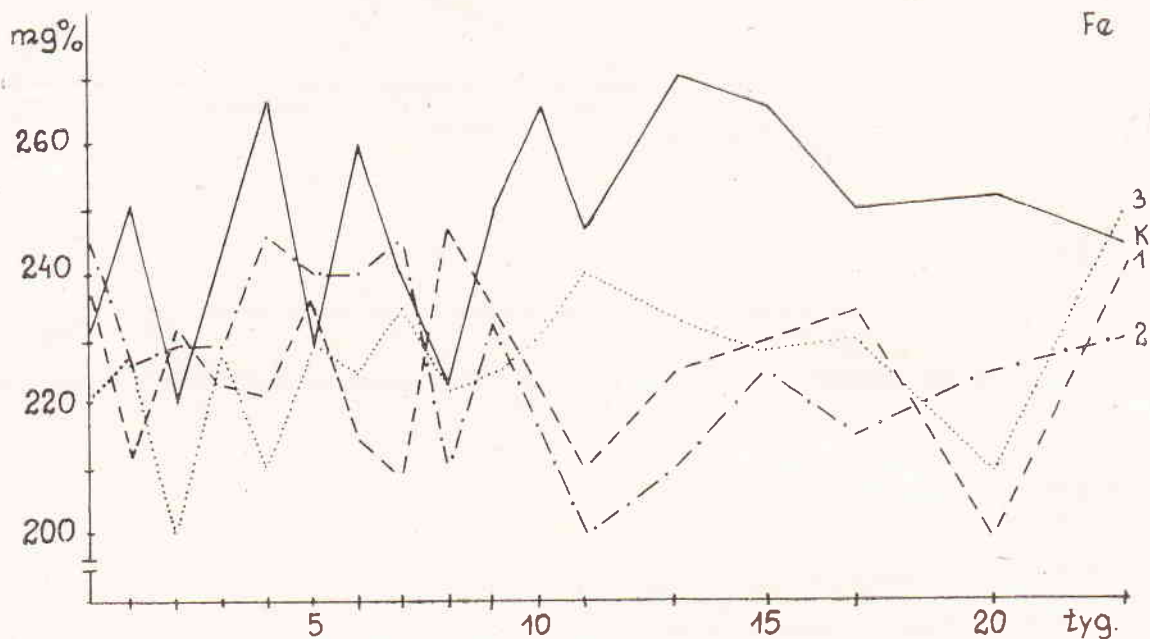


Ryc. 7. Zmiany poziomu miedzi w surowicach krwi cieląt grup doświadczalnych 1—3 i grupy kontrolnej — K

wowali Enigk i wsp. (2). Autorzy ci są zdania, że odkładanie Na w kanałach wydrążonych przez przywry powoduje w następstwie spadku Na w surowicy krwi.

W badaniach własnych nie obserwowano odchyłań poziomu magnezu w surowicach doświadczalnie zarażonych cieląt (ryc. 5). Wyniki

badania innych autorów w tym względzie są różne. Enigk i wsp. (2) obserwowali u cieląt po zarażeniu motylicą spadek poziomu Mg od 6 tyg. inwazji z jednoczesnym spadkiem poziomu magnezu w erytrocytach i znacznym jego wzrostem w homogenacie tkanki wątrobowej. Odmienne rezultaty dotyczące zachowa-



Ryc. 8. Zmiany poziomu żelaza w surowicach krwi cieląt grup doświadczalnych 1—3 i grupy kontrolnej — K

nia się poziomu magnezu uzyskano u bydła naturalnie zarażonego motylicą. I tak Haiba i wsp. (11) nie stwierdzili istotnych zmian poziomu magnezu w surowicy bawołów dotkniętych naturalną inwazją, natomiast Markiewicz i wsp. (14) u bydła naturalnie zarażonego motylicą stwierdzili podwyższoną zawartość magnezu w surowicach tych zwierząt. Wydaje się, że brak w badaniach własnych odchyień poziomu magnezu uwarunkowany był niską intensywnością inwazji. Podobnie także Peters i Weingärtner (16) nie stwierdzając żadnych różnic w poziomie Mg u jagniąt zarażonych 250 metacerkariami *F. hepatica*, z których rozwinęło się 12,4—20,4% przywr, wyrażają przypuszczenie, że słaba inwazja nie wpływa na obniżenie poziomu Mg.

Wyraźniejsze zmiany obserwowano natomiast w zachowaniu się poziomu cynku, który — u zwierząt wszystkich grup doświadczalnych — wykazywał wyraźne tendencje spadkowe (ryc. 6). Podobny spadek poziomu cynku w surowicy oraz w hemolizacie erytrocytów obserwowali Enigk i wsp. (2).

Wyraźniejsze odchylenia poziomu miedzi u zwierząt doświadczalnych w porównaniu do kontroli stwierdzono w badaniach własnych tylko u cieląt grupy 1, tj. po jednorazowym zarażeniu. Wyrażało się ono nieznacznym spadkiem poziomu Cu, który nastąpił w końcu eksperymentu (ryc. 7). Znacznie wcześniejszy spadek poziomu Cu obserwowali Enigk i wsp. (2), bowiem miał on miejsce już od 4 tyg. po zarażeniu i utrzymywał się do końca doświadczenia, tj. do 12 tyg. inwazji.

Obserwowane w badaniach własnych zmiany poziomu żelaza u zwierząt wszystkich grup doświadczalnych wyrażały się wahaniami z ten-

dencją do spadku w prepatentnej fazie inwazji oraz wyraźniejszym i dłuższym utrzymującym się spadkiem jego poziomu w okresie patentnym (ryc. 8). Podobny spadek zawartości żelaza w surowicy krwi cieląt zarażonych eksperymentalnie motylicą stwierdzili Enigk i wsp. (2), przy czym spadkowi temu towarzyszyło także obniżenie zawartości żelaza w hemolizacie erytrocytów. Natomiast autorzy ci nie stwierdzili zmian zawartości żelaza w homogenatach wątroby.

Analizując całość uzyskanych wyników dotyczących elementów mineralnych, zwraca uwagę fakt występowania wyraźniejszych zmian badanych wskaźników, wyrażających się głównie spadkiem poziomu Ca, P, K i Zn w przebiegu fasciolozy, szczególnie w okresie patentnym i przede wszystkim u zwierząt, u których dokonano superinwazji.

Piśmiennictwo

1. Agnes F., Besteth G., Falagiarri P.: *Folia vet. Latina* 2, 326, 1972.
2. Enigk K., Feder H., Dey-Hazra A., Weingärtner E.: *Zentbl. Vet. Med.* 19, 238, 1972.
3. Furmaga S., Gundlach J. L.: *Acta parasit. pol.* 14, 313, 1967.
4. Furmaga S., Gundlach J. L.: *Acta parasit. pol.* 15, 93, 1967.
5. Furmaga S., Gundlach J. L.: *Acta parasit. pol.* 25, 179, 1978.
6. Furmaga S., Gundlach J. L.: *Acta parasit. pol.* 26, 113, 1978.
7. Furmaga S., Gundlach J. L., Sobieszewski K.: *Acta parasit. pol.* 20, 539, 1972.
8. Furmaga S., Gundlach J. L., Sobieszewski K.: *Acta parasit. pol.* 22, 229, 1974.
9. Furmaga S., Gundlach J. L., Sobieszewski K.: *Acta parasit. pol.* 27, 107, 1980.
10. Gundlach J. L.: *Badania immunologiczne w przebiegu fasciolozy owiec i bydła. Praca hab., AR Lublin, 1977.*
11. Halba M. H., El-Rawii K. A., Osman H. G.: *Z. ParasitKde* 23, 527, 1964.
12. Jakutowicz K.: *Bull. Acad. pol. Sci. Sér. Sci. biol.* 25, 45, 1977.
13. Kadic M., Nesic L.: *Veterinaria, Saraj.* 23, 167, 1974.
14. Markiewicz K., Romaniuk K., Kuleta Z.: *Zeszyty Naukowe ART Olsztyn, Weterynaria* 6, 57, 1976.

15. Pinkiewicz E., Madej E.: Acta parasit. pol. 15, 225, 1967.
16. Peters E., Weingärtner E.: Dt. tierärztl. Wschr. 78, 535, 1971.
17. Ross J. G., Todd J. R., Dow C.: J. comp. Path. 76, 67, 1966.
18. Sinclair K. B.: Vet. Rec. 72, 17, 1960.
19. Sinclair K. B.: Br. vet. J. 118, 37, 1962.
20. Simensen G. H., Eriksen L., Nansen P., Andersen S., Nielsen K.: Nord. Vet. Med. 20, 638, 1968.
21. Sykes A. R., Coop R. L., Rushton B.: Res. vet. Sci. 28, 63, 1980.

Adres autora: doc. dr hab. Jerzy Lech Gundlach, ul. Sowińskiego 8/37, 20-040 Lublin

Гундлах Е. Л., Садзиковский А., Ухач С. — Изменения уровня избранных минеральных веществ в сыворотках телят в ходе экспериментальной инвазии и сверхинвазии *Fasciola hepatica*

Уровень Са, Mg, Na, K, Zn, Cu и Fe в сыворотках телят определяли методом ASA, а P — методом Фиске-Суббарова. У телят, зараженных однократно метацирками *F. hepatica*, отметили понижение уровня Са и Zn во всем периоде опыта и понижение уровня P и Cu только в патентном периоде. Похоже в патентном периоде наблюдали понижение уровня Fe. Рост уровня Na отметили

лишь на 8 и 13 нед. инвазии, не наблюдали же изменений уровня Mg. Влияние одно- либо двукратной сверхинвазии выражалось более отчетливыми изменениями исследуемых минеральных веществ, особенно в конечной фазе опыта.

Gundlach J. L., Sadzikowski A., Uchacz S. — Changes of chosen mineral elements in blood sera of calves in the course of experimental invasion and hyperinvasion of the Liver fluke, *Fasciola hepatica*

In blood sera of calves the level of Ca, Mg, Na, K, Zn, Cu and Fe was determined by the method of ASA, the content of P was determined by the method of Fiske-Subbarow. In calves infested once with *F. hepatica* metacercariae the level of Ca and Zn decreased during the experiment and the level of P and Cu lowered only in a patent period. Similarly, in a patent period decreased the level of Fe. The content of Na increased only at 8 and 13 week of invasion, however, the level of Mg was unchanged. One fold invasion or two-fold superinvasion affect more clearly the content of the examined minerals in blood, especially at the end of the experiment.

ANDRZEJ STRYSZAK

Próba określania swoistości niskich mian aglutynacyjnych z antygenem *Francisella tularensis*

Pracownia Badania Brucelozy Instytutu Weterynarii, filia w Gdańsku, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk

W latach siedemdziesiątych ukazały się w polskim piśmiennictwie dwie znaczące monografie poświęcone tularemii autorstwa Bileckiego (2) i Skrodzkiego (13), będące efektem długoletnich badań nad tą chorobą. Obecnie obserwuje się spadek zainteresowania tularemią w kraju, co w odniesieniu do weterynarii związane jest z jej rzadkim rozpoznawaniem w Polsce oraz niewielkimi stratami, jakie powoduje w hodowli.

Zawsze jednak aktualny pozostaje problem tularemii jako zoonozy, pomimo jedynie sporadycznych przypadków zachorowań u ludzi. Wskazuje on na potrzebę doskonalenia metod diagnozowania zakażeń wywoływanych przez *Francisella tularensis* zarówno u ludzi, jak i u zwierząt.

Wśród tych metod poczesne miejsce zajmuje serodiagnostyka. Najpowszechniej zaś stosowaną w świecie i często jedyną metodą serologicznego rozpoznawania tularemii jest odczyn aglutynacji — OA (8, 17). Odczyn ten, pomimo znacznej wartości, obarczony jest jednak poważnym błędem nieswoistości. Powoduje to dużą rozpiętość w wysokości mian, które poszczególni autorzy uważają za diagnostycznie istotne. Pionierzy badań nad tularemią, Francis i Evans (cyt. 17), za takie miano u ludzi przyjęli ≥ 80 . Natomiast według Skrodzkiego (13) każde miano tego odczynu należy brać pod uwagę, gdyż miana 1:20 i niższe mogą wystąpić

we wczesnej fazie choroby oraz w okresie zdrowienia. U zwierząt zdaniem Adamowicza i wsp. (cyt. 2), miano OA 1:10 jest nieswoiste zaledwie w 1—5% przypadków; w ognisku tularemii autorzy ci stwierdzili miana od 1:10 do 1:160, najczęściej zaś 1:10 i 1:20. Mörner i Sandsedt (12) natomiast miana poniżej 1:100 u zwierząt uważają za nieswoiste.

W celu potwierdzenia infekcji zaleca się śledzenie dynamiki narastania mian u badanego osobnika. Niektórzy autorzy przyjmują, że czterokrotny lub wyższy wzrost miana w kolejnym badaniu świadczy o zakażeniu *Fr. tularensis* (8, 17). Ma to jednak znaczenie w przypadku procesu świeżego, zwłaszcza u ludzi, w celu zastosowania odpowiedniej terapii. Natomiast utrzymujące się niskie miana aglutynin zawsze budzą wątpliwość (2). Mogą one być efektem zakażenia chronicznego, lub też mogą posiadać charakter nieswoisty.

Celem pracy była próba różnicowania swoistych i nieswoistych reakcji w OA z antygenem *Fr. tularensis* w zakresie niskich mian. Zamierzano to osiągnąć poprzez równoczesne zastosowanie obok OA, odczynów dotąd nie używanych rutynowo w serodiagnostyce tularemii. Wyniki tych odczynów, z których każdy wykrywa inny rodzaj przeciwciał, pozwoliłyby ocenić swoistość dodatniej reakcji w OA. Zastosowano zestaw testów służących w Pracowni Badania Brucelozy Instytutu Weterynarii do