

48. Janiak M.: Modyfikacja nieswoistej reakcji cytotoksyczności komórkowej pod wpływem preparatu *Propionibacterium granulatum* KP-45. Praca hab., WIHIE, Warszawa, 1988.
49. Kafuczewski S., Kasproutcz A.: Med. Dośw. Mikrobiol. 39, 137, 1987.
50. Kasproutcz A.: Post. Hig. 33, 97, 1979.
51. Kasproutcz A., Heczko P., Kłostński A., Bulanda M.: Post. Mikrobiol. 19, 39, 1980.
52. Kasproutcz A., Pryjma K., Heczko P.: Med. Dośw. Mikrobiol. 36, 145, 1984.
53. Kasproutcz A., Hoeffler M., Heczko P. B.: Med. Dośw. Mikrobiol. 36, 197, 1984.
54. Kirchner H., Storch E., Schindler L.: Bacteria and cancer. Red. Jeljaszewicz J., Pulverer G., Roszkowski W., Acad. Press, London 1983.
55. Macfarlan R. I., Ceredig R., White D. O.: Infect. Immunity 26, 832, 1979.
56. McBride W. H., Jones J. T., Weir D. M.: Brit. J. exp. Pathol. 55, 38, 1974.
57. Milas L., Hunter N., Withers H. R.: Cancer Res. 34, 613, 1974.
58. Milas L., Basic I., Kogelnik H. D., Withers H. R.: Cancer Res. 35, 2365, 1975.
59. Nasrallah A. G., Gallagher M. T., Priest E. L., Trentin J. J.: Cancer Res. 40, 4159, 1980.
60. Neveu T., Branellec A., Biozzi G.: Ann. Inst. Pasteur, 106, 771, 1964.
61. Oehler J. R., Lindsay L. R., Nunn M. E., Holden H. T., Herberman R. B.: Int. J. Cancer 21, 210, 1978.
62. Otu A. A., Russell R. J., White R. G.: Immunology 32, 255, 1972.
63. Peter H., Dallüge H., Euler S., Kirchner H., Zawatzky R., Leibold W.: Natural cell-mediated immunity against tumors. Red. Herberman R. B., Acad. Press, New York 1980.
64. Puccetti P., Holden H. T.: Int. J. Cancer 23, 123, 1979.
65. Pulverer G., Ko H. L.: Appl. Microbiol. 25, 222, 1973.
66. Puvion F., Fray A., Halpern B.: J. Ultrastruct. Res. 54, 95, 1976.
67. Reynolds C. W., Herberman R. B.: J. Immunol. 126, 1581, 1981.
68. Roszkowski W., Kobus M., Łuczak M., Ko H. L., Szmigielski S., Laskowska B., Pulverer G., Jeljaszewicz J.: Zbl. Bakt. Hyg. 246, 405, 1980.
69. Roszkowski W., Ko H. L., Szmigielski S., Jeljaszewicz J., Pulverer G.: Med. Microbiol. Immunol. 169, 1, 1980.
70. Roszkowski W., Szmigielski S., Ko H. L., Janiak M., Wrembel J. K., Pulverer G., Jeljaszewicz J.: Zbl. Bakt. Hyg. 246, 393, 1980.
71. Saito T., Ruffmann R., Wekler R. D., Herberman R. B., Chirigos M. A.: Cancer Immunol. Immunother. 19, 130, 1985.
72. Santoni A., Riccardi C., Barlozzari T., Herberman R. B.: NK cells another natural effector cells. Red. Herberman R. B., Acad. Press, New York 1982.
73. Scott M. T.: J. Natl. Cancer Inst. 53, 855, 1972.
74. Scott M. T.: Cell. Immunol. 13, 251, 1974.
75. Seidel H. J., Stoltz W.: J. Cancer Res. Clin. Oncol. 107, 199, 1984.
76. Sijovic V. S., Watson S. R.: J. Exp. Med. 145, 45, 1977.
77. Somers S. D., Johnson W. J., Adams D. O.: Innovative approaches to therapy. Red. Herberman R. B. w: Cancer immunology, Martinus Nijhoff Publ., Boston 1986.
78. Stern K.: A comprehensive treatise. Red. Herberman R. B., t. 5, w: The reticuloendothelial system, Plenum Press, New York 1983.
79. Storch E., Baumgart D., Kirchner H.: Nat. Immun. Cell Growth Regul. 3, 134, 1983/84.
80. Szmigielski S., Gil J., Roszkowski W., Ko H. L., Pulverer G., Jeljaszewicz J.: Drugs Exp. Clin. Res. 8, 387, 1982.
81. Szmigielski S., Roszkowski W., Roszkowski K., Ko H. L., Jeljaszewicz J., Pulverer G.: Bacteria and cancer. Red. Jeljaszewicz J., Pulverer G., Roszkowski W., Acad. Press, London 1983.
82. Tuttle R. L., North R. J.: J. Natl. Cancer Inst. 55, 1403, 1975.
83. Urban J., Schreiber H.: Contemporary topics in immunobiology. Red. Adams D. O., Hanna M. w: Macrophage activation, t. 12, Plenum Press, New York 1984.
84. Virelizier J. L., Arenzana-Seisdedos F.: Med. Biol. 63, 149, 1985.
85. Warr G. W., Sijovic V. S.: Clin. Exp. Immunol. 17, 519, 1974.
86. Warr G. W., Sijovic V. S.: J. Reticuloendothel. Soc. 16, 193, 1974.
87. Wiener E.: Cell. Immunol. 19, 1, 1975.
88. Wiltrout R. H., Mathieson B. J., Talmadge J. R., Reynolds W., Zhang S. U., Herberman R. B., Ortaldo J. R.: J. Exp. Med. 160, 1431, 1984.
89. Woodruff M. F. A., Boak J. L.: Brit. J. Cancer 20, 345, 1966.
90. Zigelboim J., Berd D.: Immunology of *Corynebacterium parvum*. Red. Mitchell H. S., w: The modulation of immunity, Pergamon Press, New York 1985.
91. Zola H.: Clin. Exp. Immunol. 22, 514, 1975.

Adres autora: doc. dr habil. Marek Janiak, ul. Szaserów 128, 00-909 Warszawa

PIOTR SZELESZCZUK, EWA KARPIŃSKA, WANDA BORZEMSKA, ELŻBIETA SAMOREK-SALAMONOWICZ*

Zawartość wybranych kationów w płynach płodowych zarodków kurzych eksperymentalnie zakażonych subletalnymi dawkami wirusa CELO*

Zakład Chorób Drobiu Katedry Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa
* Zakład Badania Chorób Drobiu Instytutu Weterynarii,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

The content of some cations in embryonic fluids of chick embryos experimentally infected with sublethal doses of CELO virus

The embryonic fluids of SPF chicken embryos experimentally infected at the day 6 of life with CELO virus at a dose of $10^{1.5}$ and $10^{0.5}$ EID₅₀ were examined for the content of Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Na⁺, K⁺ and Cu²⁺ between 7 and 13 day after infection. The content of Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺ and Cu²⁺ increased and the content of Na⁺ decreased. The level of K⁺ sharply increased during the first days of observation and then it decreased to the level noted in control embryos. The above changes manifested more profoundly in embryos infected with a higher dose of the virus and they appeared earlier in amniotic than in allantoic fluid.

W przebiegu zakażenia embrionów kurzych wirusem CELO (FAV-1) obok typowych objawów patologicznych w zarodkach, dochodzi również do widocznych makroskopowo zmian w błonach i płynach płodowych (2, 7). Charakter tych zmian może sugerować zaburzenia gospodarki wodno-elektrolitowej embrionów.

Po raz pierwszy Kos i wsp. (4) zaproponowali, aby badanie składu mineralnego wód płodowych stało się nowym wskaźnikiem określającym wpływ różnych (zakaźnych i środowiskowych) czynników uszkadzających metabolizm zarodków.

Opierając się na powyższych przesłankach w wcześniejszych badaniach własnych (6) podjęto próbę oceny zmian zawartości kationów w płynach owodniowych i omocznio- wych zarodków pochodzących od kur naturalnie zakażonych adenowirusami ptasimi. Wykazano, że istotnym zmianom ulega stężenie jonów Ca⁺⁺, K⁺, Zn⁺⁺ i Cu⁺⁺. W niniejszej pracy, w celu wyeliminowania wpływu czynników przypadkowych, przeprowadzono analogiczne doświadczenie z użyciem kurzych zarodków SPF, które zakażano subletalnymi dawkami wirusa CELO.

Materiał i metody

Do badań użyto 70 jaj SPF (Phylaxia, WRL), które inkubowano w inkubatorze laboratoryjnym (W-200) w warunkach przewidzianych dla lęczenia jaj kurzych. Do zakażeń użyto standardowego szczepu Phelps 1 adenowirusa CELO (FAV-1) o mianie $10^{7.5}$ EID₅₀ w 0,1 ml (5). Utworzono trzy grupy doświadczalne. Pierwszą grupę zarodków zakażono w 5 dniu inkubacji dawką $10^{1.5}$ EID₅₀ wirusa CELO, drugą grupę w tym samym dniu inokulowano dawką $10^{0.5}$ EID₅₀. Zarodkom trzeciej grupy podano 0,1 ml PBS-u. Od 7 dnia po iniekcji przez 7 kolejnych dni od padłych lub schłodzonych zarodków pobierano płyny płodowe. Ze względów technicznych poczynając od 10 dnia po zakażeniu pobierano łącznie płyn owodniowy i omocznio- wy. Przebieg procesu replikacji wprowadzanego wirusa obserwowano mierząc jego koncentrację w wodach płodowych. Miano wirusa określano mikrometodą w hodowli komórek nerki zarodków kurzych na płytkach Cooka wg zasad podanych przez Grimesa i wsp. (3). W pobranych płynach płodowych oznaczano

* Badania finansowane w ramach programu RR-II-24.

stężenie Ca^{++} , Mg^{++} , Na^{+} , K^{+} , Zn^{++} i Cu^{++} według metody opisanej poprzednio (6).

Wyniki i omówienie

Stwierdzono, że zarodki grupy I (zakażone dawką $10^{1,5}$ EID₅₀) zamierały między 7 a 9 dniem po iniekcji z objawami typowymi dla zakażeń wirusowych (2). W wodach płodowych tych zarodków stwierdzano również wysoką (TCID₅₀ $10^{3,54}$) koncentrację wirusa (tab. 1). Natomiast miano wirusa

Tab. 1. Miano TCID₅₀ wirusa CELO w płynach owodniowo-omoczniovych zarodków z grupy I (zakażonych dawką $10^{1,5}$ EID₅₀) i grupy II (zakażonych dawką $10^{0,5}$ EID₅₀)

Grupa	Log TCID ₅₀						
	Dni po zakażeniu						
	7	8	9	10	11	12	13
I	6,15	7,12	7,01	8,21	8,54	ND	ND
II	2,51	3,82	3,14	4,81	4,83	4,02	3,15

Objaśnienie: ND — nie badano.

u zarodków II grupy było zdecydowanie niższe i nie przekraczało TCID₅₀ $10^{4,83}$. Nie notowano również obumierania embryonów tej grupy. Najwyższą koncentrację wirusa CELO w wodach płodowych zarodków obu grup stwierdzono w 11 dniu po zakażeniu (tab. 1).

Otrzymane wyniki wskazują, że w grupie I poziom wapnia w płynie owodniowym był statystycznie istotnie wyższy ($p < 0,05$) w 7 i 8 dniu po zakażeniu, natomiast w płynie omoczniovym zarodków tej grupy tylko w 8 dniu po infekcji (tab. 2). Jest interesujące, że u zarodków II grupy (zakażonych niższą dawką wirusa) statystycznie istotny wzrost ($p < 0,05$) zawartości jonów tego pierwiastka notowano jedynie 9 dnia po infekcji (tab. 2). Istotny wzrost Ca^{++} stwierdzono w płynach omocznioowo-owodniowym w 11 dniu po zakażeniu. Podobną tendencję do wzrostu stężenia wapnia obserwowano również u zarodków zakażonych naturalnie (6). Nie jest wykluczone, że gorsze wykorzystanie jonów wapnia przez zarodki spowodowane jest zahamowaniem ich wzrostu (efekt skarlenia) notowanym jako typowy objaw w przebiegu infekcji wirusem CELO (2, 7). Stwierdzono również, że stężenie jonów magnezu było istotnie wyższe ($p < 0,05$) w płynie owodniowym zarodków zakażonych daw-

Tab. 2. Zawartość wapnia i magnezu (mg/l) w wodach płodowych ($\bar{x} \pm s$)

Pierwiastek	Wapń						Magnez					
	Grupa I		Grupa II		Kontrola		Grupa I		Grupa II		Kontrola	
	OW	OM	OW	OM	OW	OM	OW	OM	OW	OM	OW	OM
7	93,0*	70,0	55,0	25,0	66,0	70,0	24,0*	31,0	19,0	42,0	15,0	38,0
	15,0	20,0	7,0	7,0	20,0	17,0	4,0	14,0	2,0	15,0	2,0	7,0
8	92,0*	80,0*	30,0	10,0	60,0	23,0	45,0*	53,0	31,0	43,0	16,0	45,0
	18,0	33,0	1,0	34,0	10,0	5,0	18,0	16,0	15,0	8,0	6,0	3,0
9	75,0	60,0	123,0*	43,0	90,0	80,0	55,0*	52,0	122,0	44,0	27,0	58,0
	7,0	10,0	23,0	32,0	10,0	26,0	1,0	4,0	49,0	18,0	13,0	8,0
10	50,0	14,0	80,0	11,0	110,0	65,0	50,0	28,0	52,0	46,0	55,0	49,0
11	75,0	25,0	175,0	49,0**	43,0	23,0	87,0	38,0	181,0	49,0*	69,0	29,0
12			100,0	98,0	106,0	55,0			128,0	84,0	129,0	9,0
13			90,0	80,0	120,0	40,0			206,0	36,0**	72,0	19,0

Objaśnienia: OW — płyn owodniowy, OM — płyn omoczniovym, P. I. — po zakażeniu, * — różnica istotna przy $p < 0,05$; ** — różnica istotna przy $p < 0,01$.

Tab. 3. Zawartość sodu i potasu (mg/l) w wodach płodowych ($\bar{x} \pm s$)

Pierwiastek	Sód						Potas					
	Grupa I		Grupa II		Kontrola		Grupa I		Grupa II		Kontrola	
	OW	OM	OW	OM	OW	OM	OW	OM	OW	OM	OW	OM
7	2966,0	2933,0	3350,0	3550,0	3866,0	3066,0	96,0	1026,0	500,0	780,0	597,0	670,0
	321,0	115,0	70,0	72,0	723,0	404,0	196,0	270,0	82,0	133,0	133,0	72,0
8	2525,0	2400,0	2966,0	2700,0	3260,0	3333,0	1440,0	1817,0	626,0	820,0	470,0	873,0
	221,0	294,0	305,0	400,0	378,0	321,0	161,0	164,0	71,0	95,0	62,0	161,0
9	2550,0	2200,0	2966,0	2366,0	3133,0	3100,0	1475,0	1350,0	1233,0	850,0	1056,0	873,0
	353,0	141,0	152,0	450,0	323,0	264,0	35,0	70,0	110,0	147,0	246,0	456,0
10	2250,0	636,0	2500,0	282,0	2766,0	650,0	355,0	17,0	1085,0	49,0	1260,0	370,0
11	2400,0	282,0	2650,0	494,0	3000,0	100,0	965,0	91,0	1425,0	233,0	763,0	151,0
12			1990,0	424,0	1900,0	519,0			920,0	395,0	1146,0	355,0
13			2150,0	212,0	3300,0	200,0			965,0	784,0	1483,0	265,0

Objaśnienia: OW — płyn owodniowy, OM — płyn omoczniovym, P. I. — po zakażeniu, * — różnica istotna przy $p < 0,05$; ** — różnica istotna przy $p < 0,01$, *** — różnica istotna przy $p < 0,001$.

Tab. 4. Zawartość cynku i miedzi (mg/l) w wodach płodowych ($\bar{x} \pm s$)

Pierwiastek	Cynk						Miedź					
	I		II		Kontrola		I		II		Kontrola	
	OW	OM	OW	OM	OW	OM	OW	OM	OW	OM	OW	OM
7	36,0*** 1,0	3,0 1,0	4,0 0,7	6,0* 0,7	6,0 2,0	3,0 1,0	4,0 0,6	3,0 1,0	3,0 0,1	3,0 0,1	2,0 1,0	2,0 0,6
8	5,0 2,0	6,0 1,0	7,0 0,7	2,0* 0,6	4,0 0,6	5,0 0,6	8,0 0,5	10,0 2,0	4,0 2,0	5,0 4,6	2,0 1,0	3,0 0,6
9	3,0 1,0	2,0 1,0	1,0 0,1	1,0 0,6	3,0 2,0	1,0 0,6	9,0 1,0	9,0 4,0	12,0 3,0	5,0 3,7	2,0 0,1	2,0 0,3
10	1,0	0,1	2,0	0,8	1,0	0,6	6,0	1,0	6,0	3,0	6,0	2,0
11	1,0	0,3	1,0	0,7	1,0	0,6	5,0	4,0	18,0	6,0**	4,0	1,0
12			1,0	0,1	3,0	0,3			8,0	5,0	5,0	1,0
13			1,0	0,7	2,0	1,8			6,0	2,0	4,0	3,0

Objaśnienia: OW — płyn owodniowy, OM — płyn omocznioowy, P. I. — po zakażeniu, * — różnica istotna przy $p < 0,05$; ** — różnica istotna przy $p < 0,01$, *** — różnica istotna przy $p < 0,001$.

ką $10^{4,5}$ EID₅₀ w 7, 8 i 9 dniu po zakażeniu (tab. 2). W płynie omocznioowym embrionów grupy I oraz w wodach płodowych zarodków grupy II w tym okresie nie notowano istotnych zmian. Zmiany te (wzrost zawartości) stwierdzono natomiast w próbkach płynów omocznioowo-owodniowych pobranych od zarodków grupy II w 11 i 13 dniu po zakażeniu. Późniejsze występowanie zmian w koncentracji jonów magnezu może być związane z wolniejszym wzrostem miana wirusa w tej grupie zarodków (maksymalne miano TCID₅₀ $10^{4,88}$ stwierdzono w 11 dniu po zakażeniu). Prawidłowość tę można było zaobserwować również w stosunku do innych oznaczanych kationów. Drugą obserwowaną cechą był fakt wcześniejszego występowania różnic w stężeniu oznaczanych makro- i mikroelementów w pierwszej kolejności i w większym nasileniu w płynach owodniowych. Zmiany w płynie omocznioowym były najczęściej mniej wyraźne i pojawiały się później. Regułą tych nie potwierdzano jednak zachowanie nie sodu. W płynach owodniowych pobieranych między 7 a 9 dniem po zakażeniu nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu tego pierwiastka (tab. 3). Zmiany te natomiast (obniżenie koncentracji) pojawiły się w płynie omocznioowy w 8 i 9 dniu (grupa I) i 9 dniu (grupa II) po zakażeniu. Niższą zawartość tego pierwiastka obserwowano do końca okresu badań. Nie jest wykluczone, że zaobserwowane obniżenie się zawartości tych jonów w stałej jednostce objętości spowodowane jest rozrzedzeniem płynu omocznioowego, który to objaw jest stwierdzany jako typowy w przebiegu zakażenia wirusem CELO. Stężenie jonów potasu w płynach płodowych badanych zarodków ulegało zdecydowanym zmianom (tab. 3). Były one silnie wyrażone w grupie I. W próbkach pobranych między 7 a 9 dniem po zakażeniu stwierdzano wzrost stężenia tego pierwiastka. Natomiast od 10 dnia notowano tendencję spadkową. Trudne do interpretacji są również uzyskane wyniki nad kształtowaniem się poziomu cynku w wodach płodowych tych zarodków (tab. 4). Odnotowano, że wysoce istotny wzrost ($p < 0,001$) stężenia jonów tego pierwiastka miał miejsce w 7 dniu (płyn owodniowy grupa I) i istotny ($p < 0,05$) w 7 oraz 8 dniu (płyn omocznioowy grupa II). Najbardziej interesujące zmiany pośród wszystkich badanych pierwiastków stwierdzono w stężeniu miedzi (tab. 4). Poziom tego pierwiastka w całym okresie obserwacji był znacznie wyższy. Otrzymane w tym zakresie wyniki są zgodne z rezultatami wcześniejszych badań własnych, gdzie u zarodków zakażonych naturalnie również stwierdzano wzrost zawartości miedzi (6).

Przeprowadzone badania wskazują, że u zarodków zakażonych subletalnymi dawkami wirusa CELO dochodzi do zaburzeń gospodarki mineralnej, czego dowodem mogą być obserwowane zmiany stężenia badanych kationów. Można sądzić, że obserwowany, zwłaszcza w płynie owodniowym, wzrost zawartości określanych makro- i mikroelementów wynika z uszkodzenia metabolizmu zarodka przez namnażającą się wirus CELO.

Wnioski

1. U kurzych zarodków SPF zakażonych wirusem CELO w wodach płodowych obserwuje się zwiększenie stężenia jonów wapnia, magnezu, cynku i miedzi oraz zmniejszenie stężenia jonów sodu. Poziom potasu jest zmienny.
2. Zmiany w stężeniu badanych kationów pojawiają się wcześniej w płynie owodniowym i są silnie wyrażone u zarodków zakażonych większą dawką wirusa.

Piśmiennictwo

1. Borzemska W., Karpińska E., Samorek-Salamonowicz E., Kosowska G., Szeleszczuk P.: *Medycyna Wet.* 44, 278, 1983.
2. Borzemska W., Szeleszczuk P., Kosowska G.: *Medycyna Wet.* 39, 564, 1983.
3. Grimes T. M., King D. J., Kleven S. H.: *Avian Dis.* 20, 299, 1976.
4. Kcs K., Hassan M. N., Mazija H., Tadić V.: *Vet. Arh.* 47, 47, 1977.
5. Samorek-Salamonowicz E., Borzemska W., Karpińska E., Kosowska G.: *Bull. vet. Inst. Puław (w druku)*.
6. Szeleszczuk P., Borzemska W., Goźniński H.: *Medycyna Wet.* (w druku).
7. Yates V. J., Fry D. E.: *Am. J. vet. Res.* 18, 657, 1957.

Adres autora: dr Piotr Szeleszczuk, ul. Jana Miklaszewskiego 4/25, 02-776 Warszawa

FU Z. F., HAMPSON D. J., BLACKMORE D. K.: Wykrycie rotawirusa grupy A w chlewni i jego przeżywalność. (Detection and survival of group A rotavirus in a piggery). *Vet. Rec.* 125, 576—578, 1989 (23)

Stosując odczyn ELISA, badania w mikroskopie elektronowym oraz izolację wirusów na hodowli komórek MA-104 przebadano próbki kurzu, kału i gnojowicy z chlewni w kierunku występowania rotawirusów z grupy A. W odczynie ELISA wykazano występowanie antygenu rotawirusowego jedynie w próbkach pobranych z pomieszczeń, w których przebywały młode prosięta oraz w pomieszczeniach, w których przebywały młode prosięta i karmiły potomstwo. Antygen wirusowy wykrywano w pomieszczeniach, w których prosięta nie przebywały przez okres 3 miesięcy. Wyizolowany szczep przeżywał w temperaturze pokojowej 4 miesiące w kale. Środowisko prosiętników zanieczyszczone rotawirusami stanowi główne zakażenie prosiąt.