

Ryzyko transmisji chorób poprzez transfer zarodków u małych przeżuwaczy, świń i koni

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI, JANUSZ ZBYLUT, MAREK GEHRKE

Pracownia Biotechniki Rozrodu Zwierząt Państwowego Instytutu Weterynaryjnego Oddział w Bydgoszczy,
Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Jaśkowski J. M., Zbylut J., Gehrke M.

The risk of disease transmission through embryo-transfers in small ruminants, sows and horses

Summary

Trade in embryos collected from sheep, goats, sows and horses is relatively rare on the international market. However, over the past year some swine and sheep embryos have been imported to Poland. This paper presents new data regarding the risk of transmitting different pathogens through embryo-transfer. It discusses the possibility of transmitting scarpie, *Brucella ovis* infection and blue tongue diseases in sheep. Foot and mouth disease, pseudo-rabies, swine vesicular diseases virus, African swine fever virus and porcine parvovirus which attaches itself strongly to the porcine zona pellucida are of particular significance in the case of sows. The very limited number of embryos available hampers equine embryotransfer experiments. The article also refers to the further risk of disease transmission by in-vitro manipulated embryos.

Keywords: embryotransfer, disease transmission, ruminants, sow, horse.

Obrót międzynarodowy oocytami i zarodkami świń, małych przeżuwaczy i koni, mimo ciągłego doskonalenia metod pozyskiwania oraz konserwacji jest w przeciwieństwie do bydła – niewielki. Przykładowo ocenia się, że światowy handel zarodkami owiec i kóz wynosi około 5-10% obrotu zarodkami bydłecymi. Z kolei handel zarodkami pozyskiwanymi od świń jest poważnie ograniczony w związku z trudnościami napotykanymi podczas procesu ich mrożenia (31).

Przypuszczalnie z powyższych powodów dane odnośnie do ryzyka transmisji patogenów bakteryjnych i wirusowych poprzez transplantację zarodków u wyżej wymienionych zwierząt gospodarskich są stosunkowo nieliczne. Brak ich także w dostępnym piśmiennictwie krajowym. Wyjątek stanowią publikacje dotyczące bydła (12, 13, 15, 16, 18).

Import do Polski zarodków pochodzących od innych niż bydło zwierząt gospodarskich do niedawna praktycznie nie istniał. Ostatnio jednak zaimportowano z Australii oraz ze Stanów Zjednoczonych niewielką partię zarodków owczych oraz świńskich.

W związku z tym wydawało się celowe przedstawienie najnowszych danych odnośnie do ryzyka transmisji infekcji bakteryjnych i wirusowych poprzez zarodki pozyskiwane od małych przeżuwaczy, świń i koni.

Małe przeżuwacze

Specyficzne cechy osłonki przejrzystej kozich i owczych zarodków sprzyjają w większym stopniu niż

u bydła przywieraniu do niej patogenów bakteryjnych i wirusowych, zwiększając ryzyko przeniesienia chorób z owiec dawczyń na biorczynię, względnie potomstwo (14). Ustalono, że w warunkach *in vitro* do osłonki przejrzystej zarodków przywierają drobnoustroje *Brucella ovis*, *Brucella abortus*, wirus choroby niebieskiego języka (BTV) (owce) oraz *Mycoplasma mycoides* (kozy) w takim stopniu, że niemożliwa jest ich eliminacja przy pomocy zalecanych przez IETS standardowych metod sanitarnych (8). Polegają one na przemianowaniu zarodków w pożywce hodowlanej, a także na ich ekspozycji na trypsynę. Teoretycznie, usunięcie z osłonki przejrzystej wyżej wymienionych patogenów powinno być łatwe z powodu ich znacznych rozmiarów. Jak się jednak okazało eliminacja *Brucella ovis* nie jest możliwa nie tylko na drodze wielokrotnych kąpieli zarodków, ale także po dodaniu do pożywek hodowlanych takich antybiotyków jak strepto- i penicylina (30). Ryzyko transmisji brucelozy na drodze transferu zarodków jest jednak niewielkie z powodu niskiej podatności owiec na tę chorobę. Mimo transplantacji zarodków sztucznie zakażonych *Brucella ovis* i wyraźnej reakcji immunologicznej – w postaci wzrostu miana przeciwciał – u owiec dawczyń, drobnoustroju tego nie udawało się wyizolować ani od matek zastępczych ani od jagniąt (25).

Gilbert i wsp. (6) stwierdził, że zarodki pozyskiwane od owiec chorych na BTV, u których nastąpiła wirremia, przeniesione następnie na zdrowe biorczynię

spowodowały serokonwersję i wiramię u 2 spośród 15 biorczyń. W badaniach tych zarodki poddawano jedynie 3-4 krotnej kąpieli. Z badań Hare i wsp. (9) wynika, że 10 kąpiel zarodków uwalnia od wirusa BTV.

W przeciwieństwie do możliwości poziomej i pionowej transmisji wirusa choroby Maedi Visna u owiec, zapalenia stawów i mózgu u kóz (CAE) oraz choroby niebieskiego języka u kóz i owiec poprzez zarodki zakażane *in vitro*, w warunkach przyżyciowych nigdy nie następuje zakażenie tymi wirusami owiec i kóz biorczyń oraz potomstwa, nawet wówczas kiedy zarodki są pozyskiwane od dawczyń znajdujących się w ostrej fazie infekcji lub wykazujących dodatnie miano (8, 31). Przenosząc zarodki pozyskane od owiec dawczyń sztucznie zakażonych wirusem choroby niebieskiego języka na zdrowe biorczynie wirusa nie izolowano ani od biorczyń ani potomstwa (8).

Obecnie szeroko dyskutowana jest kwestia transmisji wirusa adenomatozy płuc u owiec (sheep pulmonary adenomatosis (SPA) – neoplastycznego schorzenia, wywoływanego przez retrowirusy. Wprawdzie do zakażenia dochodzi we wczesnym okresie życia, objawy chorobowe pojawiają się dopiero u owiec w wieku jednego roku do czterech lat. Ponieważ, jak dotąd nie są znane sposoby prewencji SPA, wydawało się, że możliwości takie stwarza transfer zarodków. W badaniach, w których zarodki pozyskiwano od dawczyń, u których radiograficznie i histopatologicznie potwierdzono SPA, przenoszono do macicy zdrowych owiec biorczyń. Urodzone potomstwo pozostawiano przy życiu przez pięć lat, następnie poddawano je ubojowi, ich płuca zaś badano radiograficznie i histopatologicznie, w żadnym przypadku nie stwierdzając objawów choroby. Badania potwierdziły, że ET może być skuteczną barierą dla SPA (20). We wcześniejszych badaniach, w których zarodki pozyskiwano od dawczyń zakażanych podczas unasieniania przez tryki, a następnie przenoszono do macicy biorczyń wolnych od choroby nie stwierdzono objawów choroby, u biorczyń i jagniąt podczas czteroletniego okresu obserwacji (21).

Wiele sprzecznych wyników przyniosły badania nad transmisją czynników niekonwencjonalnych takich jak scrapie. Foote i wsp. (4) nie obserwowali by dochodziło do transmisji patogenu na biorczynie, mimo że zarodki pozyskiwano od owiec dawczyń wykazujących objawy choroby. Równocześnie autorzy podają, że przed wprowadzeniem do macicy biorczyń zarodki poddawano zaledwie trzykrotnej kąpieli. Jednakże ani dawczynie ani embriony nie były kontrolowane w kierunku obecności genu SIP. Z kolei po przeniesieniu nie przemywanych zarodków, pozyskiwanych od doświadczalnie zakażonych dawczyń selekcionowanych w kierunku obecności genu SIP, Foster i wsp. (5) wykazali, że homozygotyczne potomstwo (sA, sA) przejawiało chorobę w ciągu trzech lat. W doświadczeniu tym nie ustalono jednak, czy patogen wnikał do komórek zarodka, czy przywierał do powierzchni osłon-

ki przejrzystej. Prowadzone obecnie badania mają wyjaśnić, czy procedura sanitarna zalecana przez Międzynarodowe Stowarzyszenie Embriotransferu (IETS) zapobiega transmisji schorzenia.

Świnie

Szczegółowe informacje dotyczące ryzyka transmisji chorób związanego z przenoszeniem zarodków u świń przedstawił Hare (10).

Z wcześniejszych badań wynika, że co najmniej w odniesieniu do sześciu chorób wirusowych, patogen pozostaje związany z osłonką przejrzystą zarodka świni, mimo wielokrotnego ich przemywania, a w odniesieniu do niektórych poddawania działaniu trypsyny. Należy do nich wirus pomoru, wirus pryszczycy (FMD), wirus afrykańskiego pomoru świń (ASFV), parwowirusy (PPV), pseudowścieklizny (PrV) oraz choroby pęcherzykowej (SVDV) (2, 10, 27).

Z badań, w których dokonywano sztucznej ekspozycji na wirus pomoru świń (HCV) wynika, że po dziesięciokrotnym przepłukiwaniu zarodków w roztworze PBS wirus daje się wyizolować ze 100% próbek. Po kąpieli w 0,05 roztworze trypsyny lub 0,02% roztworze trypsyny z EDTA, wirus izolowano z 21-27% zarodków. Z kolei po serii kąpieli w PBS oraz w roztworze trypsyny wirus izolowano tylko z 3 spośród 216 badanych prób (3). Badania Singh i wsp. (27) wykazały, że wirus afrykańskiego pomoru świń (ASFV) może być przenoszony podczas transferu zarodków, mimo poddawania zarodków zalecanej liczbie kąpieli w pożywkach hodowlanych oraz działaniu trypsyny.

Także wirusy parwowirusy (PPV) oraz pseudowścieklizny (PrV) mogą przywierać do osłonki przejrzystej zarodków świń i być przenoszone pomiędzy zwierzętami. Bane i wsp. (1) wykazali, że DNA wirusa PrV stwierdza się w zarodkach po mikroinjekcji awirulentnych szczepów PPV oraz po współhodowli tych wirusów ze świńskimi zarodkami, co wskazuje na fakt, że wirus posiada nie tylko zdolność do penetracji *zona pellucida* ale i replikacji w komórkach zarodka. Ostatnie badania, z zastosowaniem techniki PCR wykazały, że ani wielokrotne przemywanie zarodków w PBS, ani poddawanie ich działaniu trypsyny nie wyklucza ryzyka przeniesienia wirusa PPV (7). Wirus był obecny we wszystkich pożywkach poddawanych badaniom kontrolnym.

Nowsze badania dotyczą prawdopodobieństwa transmisji wirusa Aujeszky. Medveczky i wsp. (19) zakażali donosowo oraz domacicznie wolne od choroby lochy. Następnie poddawali je superowulacji. Zarodki pozyskiwano w 5 dniu po rui. Wirus izolowano z narządów rodnych zainfekowanych świń oraz w popłuczynach macicznych 2 sztucznie zakażonych samic. Także i w tym przypadku dwukrotna kąpiel zarodków w 0,25% roztworze trypsyny, a następnie 10-cio krotka kąpiel w DPBS okazała się skuteczną metodą eliminacji wirusa. Transfer poddanych tej procedurze zarodków, nie spowodował transmisji wirusa na bior-

czynnie zarodków oraz potomstwo. Ostatnio Prieto i wsp. (24) przeprowadzili interesujące dodoświadczenie nad możliwością przeniesienia drogą ET wirusa syndromu rozrodczo oddechowego (PRRSV) u świń. Schorzenie to jest dość powszechne w komercyjnych fermach świń, powodując m.in. wczesną zamieralność płodów. Występuje enzootycznie w wielu krajach świata. Wirus wyizolowano po raz pierwszy w 1990 r. w Europie, krótko potem zaś w Stanach Zjednoczonych. Z badań krajowych wynika, że w Polsce może być przyczyną padnięć 28 i 26,9 % warchlaków i tuczników (22). Lochy dawczynie zarodków sztucznie zakażano wirusem PRRSV, szczep PA-8, unasienio spermą pochodzącą od wolnych od choroby knurów, a następnie, 4 dni po rui, poddawano ubojowi, pobierając próbki tkanek oraz zarodki. Zarodki przenoszono do macicy zdrowych loszek bioreczny, względnie mrożono. Część zarodków przed zamrożeniem poddawano procedurom sanitarnym zalecanym przez IETS, pozostałe mrożono z ich pominięciem. Mimo wyizolowania wirusa z organów wewnętrznych oraz układu rozrodczego loch dawczyń, nie stwierdzono by wirus przenosił się na świnię bioreczynie oraz prosięta. Poziomej i pionowej transmisji wirusa nie notowano także wówczas, kiedy do macicy bioreczny przenoszono zarodki nie poddawane wymaganym procedurom sanitarnym. Autorzy sugerują, że przy zachowaniu procedur zalecanych przez IETS transfer zarodków może być doskonałym sposobem uwalniania stad świń od PRRSV.

Konie

Informacje odnośnie do możliwości transmisji patogenów poprzez transfer zarodków u koni są nieliczne. W momencie przekształcenia się moruli w blastocystę powstaje charakterystyczna dla koniowatych otoczka tzw. kapsuła. W 8 dniu po rui zarodek w momencie, w którym traci osłonkę przejrzystą, kapsuła jest już dobrze wykształconą strukturą. Rola jaką odgrywa kapsuła jako bariera ochronna przeciw infekcji nie została dotąd do końca określona. Przypuszczalnie jest ona zbliżona do funkcji pełnionych przez osłonkę przejrzystą.

We wcześniejszych badaniach donoszono o izolacji drobnoustrojów *Mycoplasma equigenitalium* z 6-8 dniowych zarodków końskich eksponowanych na mykoplazmy w warunkach *in vitro* oraz poddawanych 10-cio krotnemu przemywaniu. Informowano także o ryzyku transmisji *Haemophilus equigenitalis* poprzez zarodki pozyskiwane od klaczy chorych na zakaźne zapalenie macicy (CEM) (23).

W chwili obecnej, brak jest jeszcze szerszych badań nad możliwością transmisji patogenów u świń, małych przeżuwaczy i koni poprzez zarodki produkowane *in vitro*. Wyjątek stanowią prace Sheroda i wsp. (26) oraz Prieto i wsp. (24). Pierwszy z nich poddawał oocyty końskie sztucznej ekspozycji na wirus zakaźnego zapalenia tętnic (EAV). Wirus ten wywołuje mało charakterystyczne, łagodne objawy kliniczne, często

wyłącznie gorączkę, która jest jedynym wskaźnikiem choroby przed serokonwersją. Z tego powodu wirus EAV jest szczególnie niebezpieczny jako patogen zanieczyszczający pożywki hodowlane. We wstępnych badaniach określano wpływ niskiego poziomu zanieczyszczenia pożywki hodowlanej wirusem EAV na rozwój oocytów końskich. Oocyty przepłukiwano 10-cio krotnie, zgodnie z zaleceniami IETS. Mimo to obecność wirusa stwierdzono w trzech pierwszych i piątej kąpieli. Tym samym ustalono, że w odniesieniu do kompleksu komórek wzgórka jajonośnego i oocyty, wirus EAV może stanowić potencjalne ryzyko transmisji schorzenia. Z kolei Prieto i wsp. (24), do pożywek, w których hodowano oocyty świń dawali na okres 72 h, wirus PRRSV. W badaniach nie stwierdzono istotnego wpływu wirusa na rozwój 4-16 komórkowych kultur zarodków oraz wykluczono możliwość wywołania infekcji przez zarodki zakażone w tym okresie rozwoju.

Należy przypuszczać, że dalsze badania w odniesieniu do zarodków produkowanych *in vitro* (IVP), będą się – podobnie jak u bydła – koncentrować nad możliwościami zakażenia zarodków podczas procesu sztucznego zapłodnienia oocytów zainfekowanym nasieniem, wrażliwością na zakażenie różnych stadiów rozwojowych zarodków hodowanych *in vitro*, a także z potencjalnym ryzykiem infekcji związanym z zakażeniem pobieranego pośmiertnie lub aspirowanego przyżyciowo płynu pęcherzykowego lub jajowodowego (17).

Piśmiennictwo

1. Bane D. P., James J. E., Gradil C. M., Molitor P. E.: In vitro exposure of preimplantation porcine embryos to porcine parvovirus. *Theriogenology* 1990, 33, 553-561.
2. Bielański A., Tischner M.: *Biotechnologia zwierząt udomowionych*, Drukol, Kraków 1997.
3. Dulac G. C., Singh E. L.: Embryo transfer means of controlling the transmission of viral infection. XII. The in vitro exposure of zona pellucida – intact porcine embryos to hog cholera virus. *Theriogenology* 1988, 29, 1335-1341.
4. Foote W. C., Clark W., Maciulis A., Call J. W., Hourrigan J., Evans R. C., Marshall M. R., De Camp M.: Preventin of scarpie transmission in sheep using embryo transfer. *Am. J. Vet. Res.* 1993, 54, 1863-1868.
5. Foster J. D., Mc Kelvey W. A. C., Mylne M. J. A., Williams A., Hunter N., Hope J., Fraser H.: Studies on maternal transmission of scarpie in sheep by embryo transfer. *Vet. Rec.* 1992, 130, 341-343.
6. Gilbert R. O., Couborough R. I., Weiss K. E.: The transmission of bluetongue virus by embryotransfer in sheep. *Theriogenology* 1987, 27, 527-540.
7. Gradil C. M., Harding M. J., Lewis K.: Use of polymerase chain reaction to detect porcine parvovirus associated with swine embryos. *Am. J. Vet. Res.* 1994, 55, 344-347.
8. Guerin B., Nibart M., Marquant-Le Guiene B., Humblot P.: Sanitary risks related to embryo transfer in domestic species. *Theriogenology* 1997, 47, 33-42.
9. Hare W. C. D., Luedke A. J., Thomas F. C.: Nontransmission of bluetongue virus by embryo transfer from bluetongue virus-infected sheep: an in vitro investigation. *Am. J. Vet. Res.* 1988, 49, 468-472.
10. Hare W. C. D.: Hygienic application of biotechnical measures in pigs. *Reprod. Dom. Anim.* 1991, 26, 3013.
11. Haseleger W., Kemp B.: State of the art. In pig embryo transfer. *Theriogenology* 1999, 51, 81-90.
12. Jaskowski J. M., Twardoń J., Zbylut J.: Sanitarne aspekty przenoszenia zarodków u bydła. *Życie wet.* 1999, 74, 10-13.

13. *Jaśkowski J. M., Zbylut J.*: Możliwości transmisji zakażeń wirusowych i bakteryjnych u bydła poprzez zarodki hodowane in vitro. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 372-374.
14. *Kania G.*: Budowa, właściwości i rola osłonki przejrzystej komórki jajowej ssaka. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 295-299.
15. *Króliński J., Łukaszewski Z., Marcinkowski K., Otachel-Hawranek J.*: Uwalnianie zarodków bydłych od kruszywa komórkowego uzyskanego z wypłuczyn macicy krów zarażonych wirusem BLV. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Weterynaria* 1992, 60, 113-116.
16. *Króliński J., Marcinkowski K., Łukaszewski Z., Otachel-Hawranek J.*: Wykorzystanie transferu zarodków bydłych do uzyskania zdrowego potomstwa od białaczkowych matek. *Medycyna Wet.* 1992, 48, 79-81.
17. *Lee K. W., Kim I. H., Son D. S., Lee H. J., Lee D. W., Seo G. H., Choi S. H., Yang B. C., Kim K. N., Jung S. C.*: Identification of bacteria derived from frozen bovine semen that resulted in contamination during in vitro fertilization. *Theriogenology* 1997, 47, 375 abstr.
18. *Mazurek J., Truszczyński M.*: Profilaktyka chorób zakaźnych przy przeniesieniu zarodków u bydła. *Medycyna Wet.* 1990, 46, 48-50.
19. *Medveczky I., Solti L., Maraszi J., Ronay G., Ekes K., Belak S., Turye E., Seregi J., Varga J.*: Transmission of Aujeszky disease (pseudorabies) virus in blocked by trypsin treatment of transferred embryos. *Theriogenology* 1996, 46, 1357-1365.
20. *Parker B. N. J., Wrathall A. E., Saunders R. W.*: Efficiency of embryo transfer (ET) in preventing the transmission of sheep pulmonary adenomatosis (SPA) – progress report. *Theriogenology* 1991, 35, 252 abstr.
21. *Parker B. N. J., Wrathall A. E., Saunders R. W., Dawson M., Done S. H., Francis P. G., Dexter I., Bradley P. J.*: Use of embryo transfer to prevent the transmission of sheep pulmonary adenomatosis. *Theriogenology* 1997, 47, 379 abstr.
22. *Pejsak Z., Markowska-Daniel I., Stadejek T., Jodko Z.*: Konsekwencje ekonomiczne wystąpienia zespołu rozrodczo-oddechowego w wielkotowarowej fermie świń. *Medycyna Wet.* 1997, 53, 204-207.
23. *Philpott M.*: The dangers of disease transmission by artificial insemination and embryo transfer. *Br. Vet. J.* 1993, 149, 339-369.
24. *Prieto C., Suares P., Martin-Rillo S., Simarro I., Solana A., Castro J. M.*: Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) on development of porcine fertilized ova in vitro. *Theriogenology* 1996, 46, 687-693.
25. *Riddell M. G., Stringfellow D. A., Wolfe D. F., Galik P. K., Lauerman L. H.*: Seroconversion of recipients ewes after transfer of ova exposed to *Brucella ovis* in vitro. *Theriogenology* 1990, 34, 965-973.
26. *Sherod J. A., Wang S., Barnard D., Robinson C. W., Hammon D. S., Holoak G. R.*: In vitro exposure of equine oocytes to equine arteritis virus. *Theriogenology* 1998, 49, 260 abstr.
27. *Singh E. L., Dulac G. C., Hare W. C. D.*: Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infection (V. The in vitro exposure of zona pellucida intact porcine embryos to African swine fever virus). *Theriogenology* 1984, 22, 693-700.
28. *Singh E. L., Mc Vicar J. W., Hare W. C. D., Mebus C. A.*: Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VII. The in vitro exposure of bovine and porcine embryos to foot-and-mouth disease virus. *Theriogenology* 1986, 26, 587-593.
29. *Singh E. L., Dulac G. C., Henderson J. M.*: Embryotransfer as a means of controlling the transmission of viral infection. XV. Failure to transmit it Blue tongue virus through the transfer of embryo from viremic sheep donors. *Theriogenology* 1997, 47, 1205-1214.
30. *Wolfe D. F., Stringfellow D. A., Riddell M. G., Lauerman L. H., Galik P. K.*: Adherence of *Brucella ovis* to preimplantation ovine ova. *Theriogenology* 1988, 30, 387-393.
31. *Wrathall A. E.*: Embryotransfer and disease transmission in livestock: a review of recent research. *Theriogenology* 1995, 43, 81-88.

Adres autora: prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski, ul. Św. Trójcy 35/50, 85-244 Bydgoszcz

VIII Europejskie Multikollokwium Parazytologów

8th European Multicolloquium of Parasitology (EMOP-8)

W dniach 10-14 września 2000 roku odbędzie się w Poznaniu Europejskie Multikollokwium parazytologów (EMOP-8), którego myślą przewodnią jest

Parazytologia u progu nowego tysiąclecia

Program EMOP-8 składa się z:

◆ **6 sympozjów:** Malaria u europejskich podróżnych; Toksoplazmoza wrodzona; *Toxocara* i toksokaroza; Zoonozy wywołane przez tasiemce; Inwazje przywr u ludzi i zwierząt; Inwazje pasożytnicze żywnościopochodne u progu nowego tysiąclecia.

◆ **8 sesji:** Biologia i taksonomia pasożytów; Biologia molekularna pasożytów; Immunologia i problem szczepionek w inwazjach pasożytniczych; Epidemiologia i kontrola inwazji pasożytniczych; Inwazje i choroby pasożytnicze; Leki przeciw pasożytnicze i lekooporność; Pasożyty ryb i innych żywicieli ze środowiska wodnego; Parazytologia ogólna.

◆ **5 warsztatów technicznych:** Nowoczesna mikroskopia; Nowe metody diagnostyki serologicznej inwazji pasożytniczych; Molekularne metody diagnostyki inwazji pasożytniczych; Nauczanie parazytologii przy pomocy CD-ROM; Parazytologia w Internecie.

Siedziba Komitetu Organizacyjnego:

Katedra Biologii i Parazytologii Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Fredry 10, 60-701 Poznań, tel./fax (061) 852 71 92; e-mail: emop8@eucolyptus.usoms.poznan.pl