

Kita J., Oyrzanowska-Poplewska J., Prandota J., Bańbura M. — **Attempted immunization of calves with an attenuated IBR vaccine**

The purpose of the work was to test an attenuated IBR vaccine for calves, prepared from the strain isolated in Poland, evaluate the apparatus to aerosol immunization constructed for this aim, and the method of aerosol immunization. The examinations were performed on 26 calves. The evaluation was made using seroneutralization test, alpha method, to determine the level of antibodies in the nasal mucous

and blood serum, as well as Todd's method with own modifications for interferon activity in the nasal mucous. Single or double application of aerosol immunization resulted in local and humoral immune response. The vaccination stimulated interferon production which was detectable from 5 to 10 days, and later there were found antibodies in the nasal mucous and serum. The virus was isolated from the nasal mucous between 2—11 days after immunization. Besides, the calves were challenged with infectious virus: only control animals became ill.

TADEUSZ FRYMUS

## Ontogeneza odporności swoistej u konia

Zakład Epizootiologii Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych  
Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-649 Warszawa

Znaczenie reakcji immunologicznych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu jest powszechnie znane. Chodzi nie tylko o ich rolę w odporności przeciwzakaźnej. Dzisiaj wiadomo, że układ odpornościowy spełnia także wiele funkcji regulacyjnych w ustroju. Obejmuje to między innymi nadzór nad powstawaniem nowotworów, udział w mechanizmach embriogenezy, ciąży i innych. Jako jedyny układ, oprócz nerwowego, ma on zdolność rozpoznawania struktur własnych i obcych oraz uczenia się i pamięci. Ocenia się, że układ odpornościowy jest po systemie nerwowym drugim głównym układem integracyjnym organizmu (32).

Lekarz styka się zatem na co dzień z różnorodnymi przejawami reakcji i zjawisk immunologicznych — przy szczepieniach i seroterapii, przy alergiach i autoagresji, przy nowotworach i przeszczepach, przy immunosupresji, w przypadkach defektów immunologicznych itp. Zrozumienie tych niezwykle złożonych zjawisk i wykorzystanie ich w praktyce jest zwłaszcza u młodych zwierząt łatwiejsze przy znajomości rozwoju układu odpornościowego. Dlatego w niniejszym opracowaniu postanowiono zebrać dostępne dane na temat ontogenezy zjawisk immunologicznych u konia. Wybrano ten gatunek, gdyż spośród wszystkich zwierząt domowych u źrebiąt opisano jak dotąd najliczniejsze i najróżnorodniejsze defekty immunologiczne (29). Niektóre z nich stwierdzane były w Polsce (9). Same defekty immunologiczne u źrebiąt były już w naszym piśmiennictwie omawiane (33, 39), tak więc w tym artykule przedstawiamy jedynie informacje na temat prawidłowo przebiegającej ontogenezy zjawisk odpornościowych konia.

Plód koński osiąga na długo przed urodzeniem zdolność do odpowiedzi immunologicznej, przy czym kompetencja w zakresie odporności komórkowej, związana z aktywnością limfocytów T, rozwija się znacznie wcześniej niż zdolność do reakcji humoralnych, warunkowanych przez limfocyty B. Pierwsze limfocyty w płodzie końskim stwierdzono w grasicy w 80 dniu

ciąży (31). Być może pojawiają się one tam wcześniej, lecz z mniejszych płodów nie udało się uzyskać wystarczającej ilości tkanki do badań. Czynnościowo komórki te wykazują już w tym stadium embriogenezy cechy immunokompetentnych limfocytów T: reagują *in vitro* transformacją blastyczną na obecność mitogenów czy antygenów (31), a *in vivo*, przeszczepione źrebięciu z podwójnym defektem immunologicznym są w stanie wywołać reakcję typu „przeszczep przeciw biocy” (30). We krwi płodu końskiego immunokompetentne limfocyty T pojawiają się 140 dnia, a w węzłach chłonnych i w śledzionie 200 dnia ciąży (31).

Ponieważ łożysko kłaczy nie pozwala na przenikanie przeciwciał z krwi matki do płodu, obecność immunoglobulin w jego surowicy jest pośrednim dowodem istnienia w płodzie immunokompetentnych limfocytów B. Klasyfikacja i nomenklatura końskich immunoglobulin nie została jeszcze do końca ustalona. Większość autorów jest jednak zdania, że w surowicy konia występuje przynajmniej pięć klas immunoglobulin: IgM, IgA, IgE, IgB oraz IgG, przy czym w tej ostatniej wyróżnia się cztery podklasy — IgGa, IgGb, IgGc i IgG(T) (1, 21, 25, 26, 34). Ciekawymi immunoglobulinami są IgG(T) i IgB, gdyż jak dotychczas stwierdzono je wyłącznie u koniowatych i próbuje się dopiero znaleźć odpowiedniki IgG(T) u innych ssaków (23). IgG(T) — zwana także IgT, a dawniej IgA(T), 7S $\beta_2$ A lub „T-component” — występuje w dużych ilościach w normalnej surowicy konia, a poziom jej silnie wzrasta u zwierząt hiperimmunizowanych. Jej właściwości immunochemiczne tak dalece odbiegają od cech innych podklas IgG, że niektórzy traktują ją jako odrębną klasę immunoglobulin (25). W przeciwieństwie do innych podklas IgG nie ma ona zdolności aktywacji dopełniacza, wywoływania biernej anafilaksji skórnej i precypituje jedynie w bardzo wąskim zakresie stosunku antygeny do przeciwciała (21, 23). Co więcej, IgG(T) ma zdolność hamowania aktywności immunologicznej innych podklas IgG (19, 24). Z tych względów przy-

pisuje się jej udział w regulacji odpowiedzi immunologicznej czy reakcji zapalnej (23).

W normalnej surowicy końskiej IgB występuje w nieznacznych ilościach, dużo jej natomiast zawierają surowice odpornościowe skierowane przeciw antygenom bakteryjnym. Immunoglobulina ta bywa w piśmiennictwie określana też jako AI od angielskiej nazwy „aggregating immunoglobulin”, rzadziej „ $\gamma_1$  component”, „atypical macroglobulin” lub Igl (21, 25). Jej właściwości oraz rola są bliżej nieokreślone, wiadomo tylko, że IgB precypituje z antygenami, aktywizuje dopełniacz i występuje w surowicy w postaci agregatów o różnej stałej sedimentacji (21, 40). Pozostałe klasy immunoglobulin końskich odpowiadają pod względem immunochemicznym i czynnościowym analogicznym klasom u innych gatunków zwierząt czy człowieka (34, 37).

Do około 170 dnia ciąży płód koński rozwija się w stanie agammaglobulinemii. Od tego czasu zaczyna być zauważalna synteza IgM i po urodzeniu (przed wypiciem siary) normalne źrebięta mają w surowicy średnio 16,5 mg IgM/100 ml, co jednak stanowi tylko około 15% poziomu tej immunoglobuliny u konia dorosłego (20, 31). Pojawianie się innych klas immunoglobulin w płodach końskich nie jest tak stałe i wydaje się być bardziej uzależnione od ewentualnej stymulacji antygenowej *in utero* (20, 26, 31). W warunkach doświadczalnych immunizowano płody końskie już od około 200 dnia ciąży takimi antygenami, jak bakteriofagi (18) czy wirus wenezuelskiego zapalenia mózgu i rdzenia (26). Płody odpowiadały syntezą przeciwciał neutralizujących. Ich miana w przypadku wirusa wenezuelskiego zapalenia mózgu przewyższały znacznie miana uzyskiwane u koni dorosłych, a przeciwciała zlokalizowane były nie tylko w klasie IgM, lecz również w IgGa i IgGb (24). Ponieważ jednak w normalnych warunkach stymulacja antygenowa płodu jest bardzo ograniczona, w surowicach większości nowo narodzonych źrebiąt przed wypiciem siary nie stwierdza się IgG, bądź występują jej śladowe ilości (20, 31). Tak więc źrebięta rodzi się w stanie silnej hipogammaglobulinemii. Choć jest ono zdolne do reakcji immunologicznych, to jednak w praktyce ma to niewielkie znaczenie dla obrony przed infekcjami w najwcześniejszym okresie życia. Pierwotna odpowiedź immunologiczna, a także dominują u noworodka, wymaga bowiem określonego czasu. Wprawdzie odpowiedź typu komórkowego następuje z reguły szybciej niż reakcja humoralna, także u nowo narodzonych źrebiąt (7), to jednak w pierwszych dniach życia stwierdzono u nich mniejszą niż u dorosłych koni reaktywność limfocytów na fitohemaglutyninę (28), co odzwierciedla mniejszą aktywność komórkowych reakcji odpornościowych. Być może odpowiada to przejściowej immunosupresji obserwowanej u niektórych

innych gatunków zwierząt w związku z okołoporodowym podwyższeniem poziomu glikokortykoidów we krwi (4, 27). Wszystko to sprawia, że w pierwszym okresie życia zabezpieczenie źrebięcia przed infekcjami zapewnia prawie wyłącznie odporność bierna. Potwierdzają to obserwacje poczynione na źrebiętach z podwójnym defektem immunologicznym, niezdolnych ani do odpowiedzi komórkowej ani do humoralnej. W pierwszym miesiącu życia, kiedy miana immunoglobulin siarowych są jeszcze wysokie, zdrowotność tych źrebiąt nie budzi zastrzeżeń, a defekt ujawnia się klinicznie dopiero po tym okresie (22).

Jak wspomniano łożysko klaczy nie przepuszcza immunoglobulin do płodu, całą więc odporność bierną nabywa źrebię po urodzeniu wraz z siarą (37). Skład immunoglobulin siary odpowiada pod względem jakościowym składowi surowicy klaczy (20). Gruczoł mleczny syntetyzuje bowiem jedynie stosunkowo niewielkie ilości IgA, a pozostałe białka niewybiórczo zągęszcza z krwi (16), przy czym poziom immunoglobulin w siarze nierzadko przewyższa ich poziom w surowicy (14). Źrebię wchłania z jelit makrocząsteczki jedynie w ciągu pierwszych 24 godzin życia (13). Wchłanianie to wydaje się być niewybiórcze, to znaczy, że do krwiobiegu w równym stopniu przenikają białka co np. syntetyczny polimer poliwinylpiperolidon o ciężarze cząsteczkowym 160 000 (15). Mechanizm tego wchłaniania opisał Jeffcott (16). Komórki nabłonkowe w jelicie cienkim nowo narodzonego źrebięcia wchłaniają makrocząsteczki na drodze pinocytozy. Powstające wodniczki przesuwają się w kierunku podstawy komórki, łączą się ze sobą, po czym ich zawartość jest wydalana do przestrzeni międzykomórkowej, skąd przez naczynia limfatyczne dociera do krwiobiegu. Komórki o tych właściwościach są sukcesywnie, aczkolwiek bardzo szybko zastępowane przez bardziej „dojrzałe” komórki nabłonkowe, nie mające zdolności pinocytozy makrocząsteczek. W efekcie proces wchłaniania białek siary, najintensywniejszy tuż po urodzeniu, słabnie stopniowo, by w wieku około 24 godzin ustać zupełnie. Fakt, czy źrebię pobrało w tym czasie wystarczającą ilość siary, czy też nie otrzymało jej wcale, nie wydaje się mieć większego wpływu na ustanie przepuszczalności nabłonka jelitowego dla makrocząsteczek i po tym okresie są one trawione. W normalnych warunkach klacz przekazuje źrebięciu ilość immunoglobulin odpowiadającą 3—4 litrom jej krwi (26). W efekcie źrebię, hipogammaglobulinemiczne w momencie urodzenia, osiąga w wieku 24 godzin poziom immunoglobulin w surowicy zbliżony do poziomu w surowicy matki (14, 20). Od tego czasu zaczyna się spadek poziomu przeciwciał siarowych związany z ich katabolizmem oraz z rozcieńczeniem we krwi rosnącego źrebięcia. Okres półtrwania dominujących w surowicy immuno-

globulin — IgG i IgG(T) wynosi około 20—23 dni (17). Czas utrzymywania się przeciwciał siarkowych w surowicy zależy przede wszystkim od ich wyjściowego poziomu w wieku 24 godzin. W siarce zdrowych klaczy tej samej rasy i bytujących w tych samych warunkach obserwuje się bardzo duże indywidualne różnice w ilości immunoglobulin (2). Musi to powodować podobne różnice w poziomie i w czasie utrzymywania się odporności biernej u potomstwa. W efekcie wiek w którym zanika odporność bierna jest bardzo różny u poszczególnych źrebiąt (16). Dlatego, a także ze względu na różnice w czułości metod serologicznych, jedni autorzy stwierdzali zniknięcie przeciwciał siarkowych już w wieku 3—4 tygodni (20), a inni w wieku 6—7 miesięcy (cyt. 16). Generalnie przyjmuje się, że odporność bierna u większości źrebiąt ma praktyczne znaczenie w ciągu pierwszych 2—3 miesięcy życia.

Różny jest też u źrebiąt wiek, w którym zaczyna się synteza immunoglobulin w istotnych dla odporności ilościach. Uzależniony jest on od charakteru stymulacji antygenowej, jakiej poddany jest organizm. Jak wspomniano może to nastąpić jeszcze w życiu płodowym. U większości jednak osobników stymulacja ta zaczyna się z momentem urodzenia i w efekcie w wieku około 3 tygodni zaczynają być rutynowymi metodami wykrywalne w surowicy immunoglobuliny syntetyzowane przez organizm źrebięcia (14, 20). Ich wytwarzanie jest hamowane przez swoiste przeciwciała pochodzenia siarowego. O ile więc u źrebiąt, które nie otrzymały siary poziom immunoglobulin w surowicy osiąga wartość koni dorosłych już w wieku około 6 tygodni (14), o tyle u normalnie odchowywanych źrebiąt następuje to później. U nich od momentu wchłonięcia siary poziom immunoglobulin opada osiągając najniższą wartość w wieku 30—60 dni (20), po czym, w miarę nasilania się własnej syntezy, zaczyna się znowu podnosić stabilizując się jednak na poziomie koni dorosłych dopiero w wieku 3—4 miesięcy (14). Jak wynika z naszych badań zapoczątkowanie syntezy immunoglobulin u źrebięcia wiąże się z wyrażnym wzrostem odsetka limfocytów B we krwi (5, 6). W pierwszych kilku dniach życia jedynie około 5% limfocytów ma cechy komórek B. Między 20 a 40 dniem odsetek ich gwałtownie wzrasta, a u 3—4 miesięcznego źrebięcia stwierdza się we krwi około 20—30% limfocytów B, co odpowiada poziomowi u koni dorosłych.

Wspomniano, że odporność bierna przeciw jakimś antygenowi hamuje wytwarzanie przeciwciał przeciw niemu. Ogranicza to poważnie możliwość szczepień bardzo młodych zwierząt. Na tej podstawie ugruntował się pogląd, że źrebięta czy cielęta można szczepić dopiero w wieku 3—4 miesięcy. Dziś wiadomo, że nie zawsze pogląd ten jest słuszny. Można

uodpornić dużo młodsze zwierzę podając szczepionkę nie parenteralnie, lecz na błony śluzowe np. dróg oddechowych. Ale nawet i parenteralne szczepienia wykonywane w okresie trwania odporności biernej mogą być niekiedy skuteczne. Także i u źrebiąt istnieje możliwość parenteralnego szczepienia przeciw *rhinopneumonitis equorum* już w wieku około 2 tygodni (6, 7). Zagadnienia z tym związane były niedawno obszerniej przedstawione na łamach „Medycyny Weterynaryjnej” (8).

Tak więc organizm 3—4 miesięcznego źrebięcia reaguje na bodźce antygenowe zasadniczo tak samo jak koń dorosły. Oczywiście u starszego źrebięcia czy u młodego konia zachodzą jeszcze zmiany w reaktywności układu odpornościowego. Znana jest powszechnie malejąca z wiekiem wrażliwość na niektóre choroby zakaźne jak np. zolży czy *rhinopneumonitis equorum*. Nie jest jednak jasne, czy zmiany te wynikają istotnie z uwarunkowań ontogenetycznych, czy są raczej wynikiem nabierania „doświadczenia” immunologicznego wraz z wiekiem. Rozstrzygnięcie tej sprawy nie jest dziś jeszcze możliwe. Wiadomo bowiem, że układ odpornościowy, jako system regulacyjny, podlega poza stymulacją antygenową także wielu innym uwarunkowaniom, które dopiero zaczyna się poznawać. I tak np. znane są dziś sezonowe zmiany w poziomie immunoglobulin czy w ilości limfocytów krwi konia (11, 12). Wiadomo także, że ciąża rzutuje na różne parametry odpornościowe klaczy (10, 12, 14). Sugeruje się istnienie naturalnego, ośmiotygodniowego rytmu w aktywności komórkowych reakcji odpornościowych konia (35). Nie są to jednak z pewnością wszystkie uwarunkowania. Świadczy o tym choćby fakt, iż w reaktywności limfocytów końskich na fitohemaglutyninę obserwuje się bardzo duże różnice pomiędzy poszczególnymi zdrowymi osobnikami, jak również zmiany w czasie u tego samego konia, których przyczyny nie udało się wyjaśnić (3). Dynamiczny rozwój immunologii, w tym również badania na źrebiętach gnotobiotycznych (36, 38), rzuca z pewnością więcej światła na to zagadnienie.

#### Piśmiennictwo

1. Allen P. Z., Dalton E. J., Khaleel S. A., Kenney R. M. w: Bryans J. T., Gerber H.: Equine infectious diseases. t. 4, Vet. Publ. Inc., Princeton, New Jersey, USA, 1978.
2. Balbierz H., Nikolajczuk M., Poliwoda A., Ruda M.: Pol. Arch. wet. 18, 455, 1975.
3. Dixon J. B., Allan D., West C. R.: Res. vet. Sci. 24, 87, 1978.
4. Fevre J., Terqui M., Bosc M. J.: J. Rech. porc. Franc. 393, 21, 1975.
5. Frymus T., Schollenberger A.: Zentbl. VetMed. B 26, 722, 1979.
6. Frymus T.: Zentbl. VetMed. B 27, 742, 1980.
7. Frymus T.: Odpowiedź immunologiczna źrebiąt szczepionych przeciwko *rhinopneumonitis equorum*. Praca dokt., SGGW-AR Warszawa, 1980.
8. Frymus T.: Medycyna Wet. 37, 523, 1981.
9. Frymus T., Kita J.: Częstość występowania hipogammaglobulinemii u źrebiąt w niektórych stadninach Polski. Medycyna Wet. w druku.
10. Gerber J. D., Marron A. E., Bass E. P., Beckenhauer W. H.: Can. J. comp. Med. 41, 471, 1977.
11. Gill J., Szwarocka-Priebe T., Krupska U., Peplowska Z.: Bull. Acad. pol. Sci. Sér. Sci. biol. 26, 719, 1978.

12. Gill J., Kownacka M.: Bull. Acad. pol. Sci. Sér. Sci. biol. 27, 143, 1979.
13. Jeffcott L. B.: Vet. Rec. 89, 340, 1971.
14. Jeffcott L. B.: J. comp. Path. 84, 93, 1974.
15. Jeffcott L. B.: J. comp. Path. 84, 279, 1974.
16. Jeffcott L. B.: J. Reprod. Fert., Suppl. 23, 727, 1975.
17. Macdougall D. F.: J. Reprod. Fert., Suppl. 23, 739, 1975.
18. Martin B. R., Larson K. A.: Am. J. vet. Res. 34, 1363, 1973.
19. McGuire T. C., Hoosier van G. L., Henson J. B.: J. Immun. 107, 1738, 1971.
20. McGuire T. C., Crawford T. B.: Am. J. vet. Res. 34, 1299, 1973.
21. McGuire T. C., Crawford T. B., Henson J. B. w: Bryans J. T., Gerber H.: Equine infectious diseases, t. 3. Karger, Basel, 1973.
22. McGuire T. C., Poppie M. J., Banks K. L.: J. Am. vet. med. Ass. 164, 70, 1974.
23. McGuire T. C., Archer B. G., Crawford T. B.: Molecular Immun. 16, 787, 1979.
24. Mock R. E., Morgan D. O., Jochim M. M., Lock T. F. w: Bryans J. T., Gerber H.: Equine infectious diseases, t. 4. Vet. Publ. Inc., Princeton, New Jersey, USA, 1978.
25. Montgomery P. C. w: Bryans J. T., Gerber H.: Equine infectious diseases, t. 3. Karger, Basel, 1973.
26. Morgan D. O., Bryans J. T., Mock R. E.: J. Reprod. Fert., Suppl. 23, 735, 1975.
27. Osburn B. I., Stabenfeldt G. H., Ardans A. A., Trees C., Sawyer M.: J. Am. vet. med. Ass. 164, 295, 1974.
28. Pachciarz J. A., Lamb L. M.: Maturational development of T mitogen responsiveness in equines. Dane nieopublikowane, Univ. Kentucky, Lexington, 1977.
29. Perryman L. E.: Adv. vet. Sci. comp. Med. 23, 23, 1978.
30. Perryman L. E., Liu I. K. M.: Am. J. vet. Res. 41, 187, 1980.
31. Perryman L. E., McGuire T. C., Torbeck R. L.: Am. J. vet. Res. 41, 1197, 1980.
32. Ptak W.: Podstawy immunologii. PZWL 1976, s. 8.
33. Schollenberger A.: Zycie wet. 53, 156, 1978.
34. Suter M., Fey H.: Zentbl. VetMed. B 28, 414, 1981.
35. Thein P., Hechler H., Mayr A.: Zentbl. VetMed. B 28, 432, 1981.
36. Thomson G. R., Mumford J. A., Plowright W. w: Bryans J. T., Gerber H.: Equine infectious diseases, t. 4. Vet. Publ. Inc., Princeton, New Jersey, USA, 1978.
37. Tizard I. R.: An introduction to veterinary immunology. W. B. Saunders Comp., Philadelphia, USA, 1977.
38. Trezler P. C., Thomson G. R.: J. Reprod. Fert., Suppl. 23, 743, 1975.
39. Wawrzekiewicz J., Wawrzekiewicz K.: Medycyna Wet. 37, 577, 1981.
40. Zolla S., Goodman J. W.: J. Immun. 100, 880, 1968.

Adres autora: dr Tadeusz Frymus, ul. Dunikowskiego 5 m. 15, 02-784 Warszawa.

ZYGMUNT CYGAN, STANISŁAW WOŁOSZYN, JANUSZ WIERCINŃSKI,  
ANNA MODZELEWSKA, WITOLD JAKUBOWICZ

## Mieszane zespoły beztlenowców niesporulujących i tlenowców w tzw. „nekrobacyzie” wątroby i płuc jagniąt

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin  
Klinika Chorób Zakaźnych Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR,  
Al. PKWN 30, 20-033 Lublin  
Centralne Laboratorium Aparaturowe AR, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin

Terminem tzw. „nekrobacyz” narządowych jagniąt przyjęto określać zmiany nekrotyczno-ropne, głównie w wątrobie i płucach, związane z działaniem *Fusobacterium necrophorum* (11, 12, 14, 16, 18). Stanowią one najczęściej zakażenia odpępowinowe (16, 18) oraz komplikacyjne po przebytej niesztowicy (12, 17). Obie formy schorzenia nie były dotychczas w Polsce opisane. Zainteresowanie nimi motywuje dodatkowo fakt, iż dane o stałej izolacji *F. necrophorum* z takich przypadków chorobowych pochodzą z dawnych publikacji (11, 16). Metody identyfikacji tych beztlenowców były wówczas mało dokładne i nie obejmowały kryteriów obowiązujących obecnie w tym zakresie.

Celem podjętych badań była identyfikacja flory bakteryjnej izolowanej z narządów wewnętrznych padłych jagniąt, u których stwierdzono zmiany wskazujące na nekrobacyzę narządową. Szczególną uwagę zwrócono na niesporulujące beztlenowce (nb). Równocześnie prowadzono rutynowe oznaczanie wyosobnionych bakterii tlenowych.

### Materiał i metody

Jagnięta. Badaniom poddano 5 padłych jagniąt w wieku 2—4 dni (gospodarstwa: OL i P) oraz 3—4 tygodni (ferma WL). Spośród nich 2 zwierzęta pochodziły z owczarni OL, 2 z WL i 1 z P.

Hodowla nb. Materiał, pobrany z sąsiedztwa chorobowo zmienionych tkanek, wysiewano na pożywkę VL z 5 meg/ml witaminy K, 5 mg/ml heminy i 5% hemolizatu krwi owczej. Inkubację prowadzono w 37°C, przez 4—5 dni, metodą anerostatową (24). Wy-

cięte wraz z agarem kolonie namnażano w półpłynnej pożywce Wrzoska, zmodyfikowanej przez Cygana i wsp. (6).

Identyfikacja. Oreślano profil metaboliczny szczepów nb oznaczając w ich hodowli skład lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) metodą chromatografii gazowej według Ottensteina i Bartleya (20). W tym celu do 2 ml kultury w podłożu Beerensa (czas inkubacji w anerostacie 7 dni) dodawano 20 µl 10% eterowego roztworu kwasu heptanowego (C7 — standard wewnętrzny). Następnie 1 µl tej mieszaniny wstrzykiwano do kolumny chromatografu Perkin-Elmera (USA), wyposażonego w programowany integrator M-1 (USA). Standaryzacja analizy uwzględniała zbadanie znanych ilości LKT i kwasu heptanowego oraz wyliczenie współczynników korekcyjnych dla C7.

W dalszym etapie badań sprawdzano zdolność szczepów nb w zakresie wytwarzania dehydrogenazy treoniny, identyfikowanej próbą z błękitem Nilu, według Beerensa i Tahon-Castel (2). Oznaczano też końcową wartość pH 4-dniowej hodowli na bulionie z 0,5% glukozy według Barnes i Goldberga (1). Ponadto określano aktywność fermentacyjną nb wobec niektórych cukrów i alkoholi, a także zdolność rozrzedzania żelatyny (6).

Bakterie tlenowe identyfikowano w sposób rutynowy z wykorzystaniem podłoża agarowych, wzbogaconych krwią owczą i surowicą końską.

Chorobotwórczość nb. Zakażano dootrzewnowo białe myszki dawką 0,5 ml 48 godzinnej hodowli w półpłynnym podłożu Wrzoska. Zakażone zwierzęta obserwowano przez 14 dni. Myszki, które przeżyły ten okres usypiano, po czym określano rodzaj zmian makroskopowych w ich narządach.

### Wyniki i omówienie

Zmiany chorobowe w wątrobie 2—4 dniowych jagniąt z owczarni OL i P miały postać podtorebkowych i śródmiąższowych szarozółtych ognisk, wielkości od 3 do 20 mm (ryc. 1