

godności BAC w produkcyjnych efektach u porosąt. Badania objęły 50 svinomatok dużej białej polskiej rasy, średniej i dobrej kondycji, w ostatnim okresie ciąży. Zbraniczną część svinomatok rozdzielono na 2 grupy po 25 głów: I grupa (kontrolna) — żywotne, nie otrzymujące bakteriologicznego preparatu, II grupa — svinomatkę, otrzymującą wraz z karmem do rasy bakteriologiczny preparat (bifido-acydofilno-streptokokowy = BAC) w formie premiks z mlekiem w proszku i dodatkami witaminowymi PP. Każda svinomątka otrzymała 6 g premiksa, t.j. 1 g bakteriologicznego preparatu, zawierającego ok. 10^8 bakterii i 100 mg witamin PP.

Otrzymane wyniki badań były następujące: w I grupie zespół MMA pojawił się u 56% svinomatok, w II grupie — u 36%. Ocena produkcyjnych efektów przeprowadzono na poroszątkach z svinomatok wymienionych grup i dodatkowo na 126 poroszątkach, rozdzielonych na 2 grupy. I grupa — 65 porosąt, otrzymujących z karmem BAC w ilości 0,5 g preparatu, t.j. 5^4 bakterii i 50 mg witamin PP na głowę, II grupa — 61 kontrolny porosенок.

Otrzymane dane mówią wyraźnie o przydatności BAC w hodowli porosąt. Konstatowano, że porosątki, otrzymujące bakteriologiczny preparat, rzadko chorowały, miały wyższe przyrosty i najmniejszy procent strat.

Kotowski K. — The role of colicinogeny stimulation in prevention of MMA syndrome in sows and in results of piglets rearing

The purpose of the studies was to examine the value and the usefulness of a bacterial preparation BAP in the case of MMA syndrome emergency and in production effects in piglets. The examinations were performed on 50 Polish Great White sows of a mean and good condition in the last period of pregnancy in two randomly composed groups, 25 animals each. In group I (control) BAP was not applied, in group II the animals fed BAP (bifido-acidophilus-streptococcal preparation) in a form of premix with powdered milk and vit. PP. Each sow obtained 6.0 g of this premix (1.0 g of the bacterial preparation containing 1×10^8 of bacteria and 100 mg of Vit. PP per animal). It was found that MMA syndrome appeared in 56.0% of sows of the Ist group and in 36.0% of sows of the IInd group.

The evaluation of productive effects was performed on piglets from the two above groups and on additional 126 piglets in two groups. In group I 65 piglets fed fodder containing BAP (0.5 g. 5^4 of bacteria and 50 mg of vit. PP per one animal), group II consisted of 61 piglets (control). The obtained results point to a clearly usefulness of BAP on piglets rearing. It was found that in piglets fed BAP diarrhoea rarely occurred, weight gains were higher and percent of losses was lower.

ADA SCHOLLENBERGER, KONRAD MALICKI, ANNA CHMIELEWSKA

Interferon w służy jelita cienkiego i w surowicy krwi prosiąt doświadczalnie zakażonych rotawirusami*)

Zakład Wirusologii Katedry Mikrobiologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Zakażenia rotawirusami pojawiają się w pierwszych godzinach życia ludzi i zwierząt. Rozwój, przebieg i następstwa tych zakażeń zależą od odporności biernej przekazanej przez matkę i od mechanizmów immunologicznych działających w jelitach noworodka. Duże straty wywoływane przez enteropatogenne wirusy u cieląt i prosiąt powodują wzrost zainteresowania możliwościami skutecznego zapobiegania takim zakażeniom.

Patogeneza zakażenia, jak również istota odporności czynnej u noworodka w przebiegu rotawirusowego zapalenia jelit nie są dostatecznie poznane. Dotyczyć to może interferonu, który także w enterocytach stanowi najbardziej nierównowagowy system obrony komórki przed obcą informacją genetyczną. La Bonnardière i wsp. (3, 5) wykazali w jelitach beziarowych cieląt wytwarzanie interferonu po doustnym zakażeniu rotawirusami. Ci sami autorzy stwierdzili również obecność interferonu w jelitach 1-dniowych prosiąt zakażonych wirusem TGE (6).

Celem podjętych badań było określenie, czy:

a) bezpośrednio, dojelitowe zakażenie rotawirusami może indukować wytworzenie interferonu w jelicie oraz pojawienie się interferonu

w krwi prosiąt wolnych od swoistych zarazków chorobotwórczych (SPF),

b) dożylnie lub dootrzewnowe zakażenie prosiąt kategorii SPF może wywołać taki sam efekt.

Materiał i metody

Prosięta kategorii SPF uzyskiwano przez cięcie cesarskie i utrzymywano w jałowych warunkach w ciągu całego okresu doświadczenia (10). Zwierzęta zakażano dojelitowo, dootrzewnowo lub do żyły nerkowej różnymi szczepami rotawirusów — standardowym szczepem rotawirusa prosiąt OSU (USA), standardowym szczepem rotawirusa cieląt RFC (Francja) oraz terenowym szczepem RC1 izolowanym od cieląt w kraju. Prosięta skrawiano w różnym czasie po zakażeniu i pobierano od nich krew w celu uzyskania surowicy oraz fragment jelita cienkiego. Zamknięte przewiązkami odcinek jelita umieszczano w zbuforowanym roztworze fizjologicznym (PBS) z dodatkiem penicyliny i streptomycyny. Służy jelitowy opracowywano wstępnie według metody podanej przez La Bonnardière (3). Do jelita wprowadzono około 5 ml płynu FLT (płyn Earlea z dodatkiem 5% hydrolizatu laktalbuminy oraz 500 j/ml Trasylolu firmy Bayer) w celu zahamowania działania enzymów proteolitycznych. Uzyskiwano 8,0–10,0 ml płynu. Następnie delikatnie ściągano służywkę skalbelem i zawieszano w 3,0 ml płynu ELT. Tkanki zamrażano w mieszaninie suchego lodu z alkoholem i miażdżono w szklanym młynku. Po odmrózeniu łączono obdwie próbki i odwirowywano przy 8000 g w ciągu 20 minut. Supernatant przechowywano w temperaturze -20°C .

*) Praca została wykonana w ramach problemu MR.II.17, temat 1.6.1.

Bezpośrednio przed wykonaniem oznaczeń próbkę odmrzażano i dwukrotnie odwirowywano przy około 20 000 g w ciągu 30 minut. Badane materiały poddawano dializie do buforu HCl-glicyna o pH 2,2 w temperaturze 4°C w ciągu 24 godzin i redializowano do buforu o pH 7,4 w tych samych warunkach.

Aktywność przeciwwirusową badanego materiału oznaczano w mikrohodowli komórek linii IBRS-2 wobec laboratoryjnego szczepu wirusa choroby pęcherzykowej świń (SVD), na podstawie zahamowania efektu cytopatycznego (CPE). Możliwość stosowania tego układu dla określenia aktywności przeciwwirusowej interferonu świńi wykazano we wcześniejszych badaniach (9). Czynniki przeciwwirusowe obecne w badanych materiałach określano jako interferon na podstawie: 1) wrażliwości na działanie trypsyny (całkowita inaktywacja pod wpływem 50 µg trypsyny/ml w ciągu 30 minut w temperaturze 37°C), 2) oporności na działanie pH 2,2 w ciągu 24 godzin i 3) zdolności do hamowania replikacji wirusa SVD w hodowli komórek. Miano interferonu ustalano określając najwyższe jego rozcieńczenie, przy którym następowało całkowite zahamowanie efektu cytopatycznego wirusa wskaźnikowego.

Wyniki i omówienie

Zbadano surowicę i śluz jelitowy od 5 prosiąt zakażonych szczepem OSU, jednego zakażonego szczepem RFC, 3 zakażonych szczepem RC1 i 10 prosiąt stanowiących kontrolę wykonywanych zabiegów. Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 1.

Tab. 1. Miano interferonu w surowicy i śluzie jelitowym prosiąt doświadczalnie zakażonych różnymi szczepami rotawirusów prosiąt i cieląt

Droga zakażenia	Nr prosiąt	Szczep rotawirusa	czas w godz. p.l.	Miano interferonu / ml surowica	śluz jelitowy
Do jelita cienkiego	5	OSU	45	<3	48
	6	OSU	55	<3	24
	25	RFC	45	nb	12
	14	RC1	24	24	12
	15		24	<3	
	28		51	12	24
Do żyły pępkowej	2	kontrola zabiegu	30	<3	<3
	3		55	nb	<3
	4	60	nb	<3	
	38	OSU	24	<3	48
Dootrzewnowo	39	OSU	45	<3	24
	33	kontrola zabiegu	24	nb	<3
	35		45	<3	
Dootrzewnowo	36	OSU	45	<3	<3
	32	kontrola zabiegu	45	<3	<3

Objaśnienie: nb — nie badano.

Badania wykazały pobudzenie miejscowej syntezy interferonu w jelitach prosiąt zakażonych rotawirusami. Po dootrzewnowym wprowadzeniu wirusa nie obserwowano pojawienia się interferonu w śluzie jelitowym. Stwierdzenie aktywności przeciwwirusowej w śluzie jelitowym prosiąt zakażonych dojelitowo i do żyły pępkowej i chorujących z objawami biegunki zdaje się wskazywać na pobudzenie syntezy interferonu przede wszystkim w komórkach ściany jelita cienkiego. Laude i La Bonnardière (6) uzyskali podobne wyniki u prosiąt zakażonych wirusem TGE. Natomiast w przeciwieństwie do wyników otrzymanych po doustnym zakażeniu rotawirusami cieląt przez La Bonnardière i wsp. (4, 5), nie stwierdzono zależności między wysokością miana interferonu w surowicy i śluzie jelitowym. Interferon w surowicy pojawił się jedynie u prosiąt zakażonych szczepem RC1. Laude i La Bonnardière (6) stwierdzili najwyższy poziom interferonu w śluzie jelit w 19 godzin po zakażeniu prosiąt wirusem TGE. Układ naszego doświadczenia nie pozwala na wyciągnięcie wniosków odnośnie do dynamiki wytwarzania interferonu w jelicie prosiąt zakażonych rotawirusami. Sądzić można jednak, że wytwarzanie interferonu towarzyszy ostrej fazie zakażenia wirusowego. Wobec tego, że badania immunofluorescencyjne, immunoenzymatyczne oraz w mikroskopie elektronowym (7, 8) wykazały obecność rotawirusów w komórkach ściany i w treści jelit można przypuszczać, że wytworzony miejscowo interferon nie hamował replikacji wirusa. Replikacja rotawirusów odbywa się w komórkach kosmków jelitowych i prowadzi do ich obumierania. Ponieważ wiadomo, że interferon wywiera oprócz przeciwwirusowego także działanie hamujące dojrzewanie i różnicowanie komórek (2), problem zależności między poziomem interferonu a przebiegiem choroby nadal pozostaje otwarty. Wykazano, że rotawirusy cieląt są *in vitro* wrażliwe na działanie interferonu ludzkiego (1), nie przesądza to jednak o możliwości hamowania ich replikacji *in vivo* pod wpływem homologicznego interferonu. Nie można wykluczyć, że interferon wytworzony w jelicie noworodka oddziałuje przede wszystkim hamująco na procesy odnowy komórek nabłonka. Ostateczne rozstrzygnięcie tej kwestii wymaga jednak dalszych dokładnych badań.

Wnioski

1. Bezsiarowe prosięta uzyskane przez histerotomię od macior są zdolne do interferonowej odpowiedzi na induktor wirusowy.

2. Rotawirusy prosiąt (OSU) lub cieląt (RFC, RC1) wprowadzone dojelitowo lub do żyły pępkowej powodują pojawienie się interferonu w śluzie jelita cienkiego, a niekiedy także w surowicy krwi takich prosiąt.

Piśmiennictwo

- Dagenais L., Pastoret P. P., Van den Broecke C., Werenne J.: Proc. Soc. Belg. Bloch. 40, 157, 1981.
- Gresser I., Tovey M. G., Maury C., Chouroulinkov I.: Nature 258, 78, 1975.
- La Bonnardière C., Cohen J., Conterpois M., De Vaureix Ch., Laude H., Scherrer R.: Proc. Third Int. Symp. on Neonatal Diarrhea, Gent 1980, s. 149.
- La Bonnardière C., De Vaureix Ch.: W: Inserm (ed.) Viral enteritis in humans and animals, Paris 1980, s. 95.
- La Bonnardière C., Cohen J., Conterpois M.: Ann. Rech. Vet. 12, 85, 1981.
- Laude H., La Bonnardière C.: Proc. Third Int. Symp. on Neonatal Diarrhea, Gent 1980, s. 139.
- Malicka E.: Mat. VII Kongresu PTNW, Lublin 2, 491, 1983.
- Malicki K., Bańbura M. W., Malicka E., Ładzińska A., Spohr de Faundez I., Niemiatowski M.: Mat. XX Zjazdu PTM Warszawa, 265, 1983.
- Schollenberger A.: Badania *in vitro* interferonogenności wirusa choroby pęcherzykowej świń. Praca dokt., SGGW-AR, Warszawa 1984.
- Sereda J., Nagaiewski M., Kiciński M., Bańbura M. W., Spohr de Faundez I., Gąsecki D., Malicki K.: Mat. VII Kongresu PTNW, Lublin, 2, 497, 1983.

Adres autora: dr Ada Schollenberger, ul. Zamiany 10 m 22, 02-786 Warszawa

Шолленбергер А., Малицкий К., Хмелевская А. — Интерферон в слизи тонкой кишки и в сыворотке крови поросят, экспериментально инфицируемых ротавирусами

Исследовали сыворотку и кишечный слизь поросят категории SPF, инфицируемых внутрикишечно, внутрибрюшно либо в пупочную вену различными штаммами ротавирусов поросят и телят (OSU, RFC и RCI). Показали возбуждение местного синтеза интерферона в кишке. Не отметили зависимости между образованием интерферона в тонкой кишке и уровнем интерферона в сыворотке. Присутствие интерферона в слизи тонкой кишки показали через 24—55 ч. после введения ротавируса в кишку или пупочную вену.

Schollenberger A., Malicki K., Chmielewska A. — Interferon in small intestine mucous and in sera of piglets with artificial rotaviral infections

Sera and intestinal mucous of SPF piglets infected intraintestinally, intraperitoneally or into the umbilical vein with various strains of rotaviruses isolated from calves and piglets (OSU, RFC and RCI) were examined. Stimulation of a local production of interferon in a small intestine was observed. There was not observed any correlation between production of interferon in a small intestine and the level of serum interferon. Interferon in a small intestine mucous was found from 24 to 55 h since the injection of rotavirus into an intestine or into the umbilical vein.

JANUSZ A. MADEJ*, STANISŁAW KLIMENTOWSKI
GRAZYNA RAZANOWSKA, MICHAŁ MAZURKIEWICZ

Aktywność peroksydazy glutationowej i katalazy oraz poziom wolnych rodników we krwi myszy z przeszczepialną białaczką limfatyczną L 1210*

* Katedra Anatomii Patologicznej i Weterynarii Sądowej Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. C. Norwida 31, 50-373 Wrocław
Katedra Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

Kancero- i leukemogenezie towarzyszy destabilizacja błon biologicznych komórki. Dochodzi wówczas do lipooksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA — polyunsaturated fatty acids) błon biologicznych z wytworzeniem nadtlenków lipidów, które denaturują białko ustrojowe oraz prowadzą m.in. do inaktywacji szeregu enzymów (5, 23). Jednocześnie stwierdzono, że procesy patologiczne zachodzące w ustroju są spowodowane nie samymi produktami lipooksydacji, lecz wolnymi rodnikami powstającymi w czasie ich rozpadu (4, 5, 23). Do najbardziej aktywnych biologicznie zalicza się wolne rodniki nadtlenkowe (7). Tworzenie się nadtlenków następuje głównie w tych miejscach, w których są PUFA i fosfolipidy — tzn. w błonach komórkowych, błonach mitochondrialnych i mikrosomalnych, a także w obrębie wakuoli fagosomalnych (10, 11).

W ostatnich latach stosunkowo dokładnie przebadano rolę produktów lipooksydacji i tworzących się z nich wolnych rodników w procesach zapalnych (1), hemolizie krwi (8) i miażdżycy (9). Bardzo słabo natomiast opracowane są te zjawiska w nowotworzeniu, a zwłaszcza w leukemogenezie.

Celem niniejszych badań było określenie aktywności niektórych enzymów, tj. peroksydazy glutationowej (GSH-px-EC.1.11.1.9) i katalazy (EC.1.11.1.6) we krwi myszy z przeszczepialną białaczką limfatyczną L 1210, mających spełniać obronną rolę przed toksycznymi wolnymi rodnikami w ustroju.

Materiał i metody

Do badań użyto myszy hybrydów CDF₁, tj. krzyżówki BALB/c × DBA/2 samców, 6-tygodniowych, pochodzących z Ośrodka Hodowli Zwierząt Wsobnych przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Komórki białaczki limfatycznej L 1210, użyte do zaszczepienia zwierząt, uzyskano w wyniku pasażowania co 7 dni, przeszczepiając myszom szczepu DBA/2 dootrzewnowo 10⁵ komórek nowotworowych. Myszom doświadczalnym podano dootrzewnowo 10⁵ tak pasażowanych komórek białaczkowych, zawieszonych w 0,2 cm³ PBS. Po 5 i 11 dniach od chwili zaszczepienia nowotworu pobierano do badań narządy wewnętrzne, tj. węzły chłonne, śledzionę, grasicę oraz wątrobę. Wykonano rutynowe badania histopatologiczne.

Badania enzymatyczne. Aktywność peroksydazy glutationowej oznaczano we krwi metodą spektrofotometryczną wg Paglia i Valentine (20) w modyfikacji Langeaudsa i wsp. (13). Aktywność enzymu mierzono w mikrokatalach/dcm³, a także w przeliczeniu na wartości bezwzględne hematokrytu (Ht). Aktywność katalazy oznaczano w erytrocytach metodą manganometryczną wg Szczeklika i wsp. (22) i wyrażano w mikrokatalach/dcm³, a także w przeliczeniu na wartości bezwzględne hematokrytu (Ht).

Badania chemiluminescencyjne. W celu wykrycia wolnych rodników dokonano rejestracji bardzo słabych świeceń fotonowych w surowicy krwi jak również w wyciągach z wątroby, wg metody Mazurczaka i wsp. (18) w modyfikacji własnej (15). Czas rejestracji w próbie ograniczonej do temp. 323 K wynosił 30 minut. Impulsy pochodzące z bardzo słabych świeceń fotonowych zliczano przelicznikiem elektronowym typu PEL-5 z zastosowaniem fotopowielacza P-12 FQ 51. Przebieg reakcji chemiluminescencyjnej w ustalonych przedziałach czasu wyliczano z równania:

$$I_t = I_{oe} - \frac{t}{k};$$

gdzie: I_t — wartość natężenia promieniowania w czasie t , I_{oe} — wartość początkowa natężenia promieniowania i k — stała, charakterystyczna dla danej reakcji.

*) Praca wykonana w ramach Problemu MR II/17.