

TADEUSZ FRYMUS, JERZY KITA

## Dopełniacz konglutynujący w surowicy krwi nowo narodzonych źrebiąt czystej krwi arabskiej

Katedra Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,  
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Ontogeneza swoistych mechanizmów immunologicznych u źrebięcia była od dawna przedmiotem badań. Stosunkowo mniej uwagi poświęcano natomiast rozwojowi nieswoistych mechanizmów odpornościowych konia. U innych gatunków zwierząt oraz u człowieka w pierwszym okresie po urodzeniu znane są zmiany aktywności niektórych nieswoistych parametrów odpornościowych jak lizozymu (1, 5) czy dopełniacza (1, 6, 20, 25, 26, 27) w surowicy, a także zdolności redukcji błękitu nitrotetrazoliowego (NBT) przez fagocyty krwi (22). Także i w surowicy źrebiąt stwierdzono w pierwszych tygodniach życia inną niż u kłaczy aktywność lizozymu (11). W niniejszej pracy postanowiono zbadać, czy istnieją różnice w ogólnej aktywności dopełniacza surowicy nowo narodzonych źrebiąt arabskich w porównaniu z ich matkami. Wybrano tę rasę, gdyż u arabów ujawniają się szczególnie często wrodzone niedobory odpornościowe (24). Jak dotychczas nie ma danych na temat tego typu defektów w zakresie układu dopełniacza u koni, lecz wiele wrodzonych niedoborów poszczególnych jego składników znanych jest u ludzi (2).

Struktura układu dopełniacza u koni nie różni się zasadniczo od tej u innych ssaków, lecz jego właściwości hemolityczne są bardzo słabe (4). Stąd powszechnie stosowana u innych gatunków metoda określania ogólnej aktywności dopełniacza przez oznaczenie jego miana hemolitycznego ma u koni mniejsze zastosowanie. Znacznie czulsza jest u tego gatunku metoda konglutynacji (4, 17), którą to zastosowano w niniejszej pracy.

### Materiał i metody

Do badań użyto surowice 51 źrebiąt arabskich z trzech stadnin oraz surowice dziesięciu ich matek. Krew z żyły jarzmowej pobierano jedynie od zwierząt klinicznie zdrowych. Grupa źrebiąt obejmowała zwierzęta obu pici, w wieku od jednego do 35 dni.

Aktywność dopełniacza określano metodą konglutynacji erytrocytów barana według Coombsa (29). Rozcieńczenia wykonywano w buforze weryonalowym o pH 7,3 z zawartością jonów Ca i Mg (14). Jako źródło konglutyniny służyła zmieszana surowica krów zinktywowana w temperaturze 56°C przez 30 minut i przechowywana w temperaturze -20°C. Do czasu wykonania testu przechowywano badane surowice w temperaturze -170°C, a po rozmrożeniu rozcieńczano od 1:2 do 1:256.

Aktywność dopełniacza w surowicy poszczególnych grup zwierząt przedstawiono w postaci średniego logarytmu odwrotności mian wraz z odchyleniem standardowym. Istotność różnic pomiędzy poszczególnymi średnimi sprawdzono testem t-Studenta.

### Wyniki i omówienie

Średnią aktywność dopełniacza w poszczególnych grupach zwierząt przedstawiono w tab. 1. Stwierdzono, że zwierzęta w wieku do 3 dni miały istotnie niższą aktywność dopełniacza niż źrebięta starsze ( $p < 0,05$ ) i kłaczki ( $p < 0,005$ ). U koni znane są sezonowe wahania niektórych parametrów hematologicznych i immunologicznych (12, 13). Ponieważ jednak

Tab. 1. Aktywność dopełniacza konglutynującego w surowicach źrebiąt i kłaczy (średni log odwrotności mian  $\pm$  odchylenie standardowe)

| Źrebięta w wieku     |                     | Kłaczki              |
|----------------------|---------------------|----------------------|
| 1-3 dni (n=4)        | 4-35 dni (n=47)     | (n=10)               |
| 1,279 $\pm$ 0,151 aA | 1,531 $\pm$ 0,207 b | 1,626 $\pm$ 0,155 bB |

Objaśnienia: a, b — średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy  $p \leq 0,05$ , AB — przy  $p \leq 0,005$ .

krw do oznaczania dopełniacza pobierano w tym samym czasie od zwierząt w różnym wieku, zaobserwowane różnice nie mogą wynikać z wahań sezonowych. Niższą aktywność dopełniacza w pierwszych dniach życia należy uznać za przejaw zmian związanych z wiekiem, jako że stwierdzono ją u zwierząt klinicznie zdrowych. Obserwacja ta pokrywa się z sugestią Barta i Barta (4) jakoby aktywność dopełniacza konglutynującego wzrastała u źrebiąt w pierwszym okresie po urodzeniu, osiągając między pierwszym a czwartym tygodniem życia wartości koni dorosłych. Wspomniane badania były jednak przeprowadzone na tak ograniczonym materiale, że nie pozwolił on na statystyczne sprawdzenie hipotezy. W niniejszej pracy wykazano, że istotnie w pierwszych dniach życia aktywność dopełniacza konglutynującego w surowicach źrebiąt jest znamienne niższa, ale też że wartości koni dorosłych osiągane są już około trzeciego dnia po urodzeniu. Mniejszą niż u zwierząt dorosłych aktywność dopełniacza w surowicy — mierzoną jego właściwościami hemolitycznymi — stwierdzono również u nowo narodzonych cieląt (20, 25), prosiąt (27) i jagniąt (26), a także u niemowląt (6). Przyczyny tego zjawiska nie są jasne. Sugerowano „zużycie” dopełniacza w pierwszej konfrontacji z drobnoustrojami środowiska pozamacicznego (20) lub obecność w sianie jego inhibitorów (30), albo też tworzenie przez IgG i beta-laktoglobulinę w sianie kompleksów, które po wchłonięciu do krwiobiegu noworodka miałyby aktywizować i „zużywać” dopełniacz (15). Wreszcie mniejsza aktywność dopeł-



niacza u noworodków tłumaczono po prostu rozcieńczaniem krwi w pierwszym okresie po urodzeniu (31).

Reakcja konglutynacji polega na zlepianiu przez konglutyninę — białko surowicy bydlęcej — erytrocytów opłaszczonych przeciwciałami i dopełniaczem. W metodzie Coombsa jako przeciwciała wykorzystuje się naturalnie występujące w surowicy bydlęcej immunoglobuliny skierowane przeciw antygenom Forsmana. Tworzą one z erytrocytami barana kompleksy antygen-przeciwciało. Przyłączenie się do nich trzech podjednostek pierwszego fragmentu dopełniacza (C1q, C1r, C1s) wyzwala łańcuch reakcji enzymatycznych obejmujących kolejne aktywowanie dalszych fragmentów dopełniacza: C4, C2 i C3. Fragment C3 ulega przy tym rozszczepieniu na niskocząsteczkową, rozpuszczalną komponentę C3a i wielkocząsteczkową, związany z kompleksem antygen-przeciwciało fragment C3b (21). Z fragmentami C3b, opłaszczonymi na powierzchni erytrocytów, łączy się konglutynina powodując przy tym aglutynację (17). Ponieważ miana dopełniacza w populacji źrebiąt rozkładały się wokół średniej w sposób zbliżony do normalnego, można stwierdzić, iż nie wykryto w nich jakichkolwiek upośledzeń funkcjonalnych w obrębie fragmentów C1, C4, C2, a zwłaszcza C3 — kluczowego elementu dla wielorakich funkcji układu dopełniacza. Wprawdzie określenie ogólnej aktywności dopełniacza jest metodą mało czułą, by wykryć drobne niedobory ilościowe komponent C1, C4 i C2, ale jest zalecane jako wstępna droga do ujawniania drastycznych defektów układu dopełniacza u zwierząt (24) wobec braku handlowo dostępnych oczyszczonych jego fragmentów pochodzących od poszczególnych gatunków. Warto wspomnieć, że użyte w niniejszej pracy źrebięta przebadano również pod kątem bardzo częstego u tej rasy tzw. skojarzonego podwójnego defektu immunologicznego i nie stwierdzono jakichkolwiek przejawów wrodzonego upośledzenia odporności komórkowej czy humoralnej (16). Jedyne obserwowane dotychczas w populacji koni w Polsce zaburzenia stanu odporności źrebiąt to niedobory immunoglobulin siarowych (9).

Panuje przekonanie, że zwiększona podatność noworodków na infekcje wynika z niedojrzałości układu odpornościowego (3). Istnieją jednakże pod tym względem duże różnice między gatunkami. Źrebię rodzi się w stanie silnie hipogammaglobulinemii, jedynie z niewielkimi ilościami IgM w surowicy (10). Początek syntezy IgG można wykazać między 16 a 24 dniem po urodzeniu (18), a liczba limfocytów B we krwi osiąga wartość koni dorosłych około 40 dnia życia (7, 8). Wynika to jednak najprawdopodobniej nie tyle z niedojrzałości układu odpornościowego, co z braku stymulacji antygenowej *in utero*, jako że już płody końskie są w stanie wytwarzać przeciwciała w odpowiedzi

na szereg antygenów (19). Podobnie sugerowano, że reaktywność limfocytów nowo narodzonych źrebiąt na fitohemaglutyninę osiąga trzeciego dnia życia poziom koni dorosłych (23). Również źrebięta szczepione w wieku około dwóch tygodni przeciw herpeswirusowi koni typu 1 (*rhinopneumonitis equorum*) nie wykazują słabszej reakcji immunologicznej niż immunizowane w wieku 3—4 miesięcy (8). Tak więc wydaje się, że źrebię osiąga stan kompetencji immunologicznej w bardzo krótkim czasie po urodzeniu. W poprzednim doniesieniu wykazaliśmy, że nowo narodzone źrebięta nie wykazują żadnego upośledzenia funkcji granulocytów i monocytów, mierzonej zdolnością re-adukcji NBT oraz ich wkładem do aktywności lizozymu w surowicy (11). Jak wynika z niniejszej pracy również i pod względem aktywności dopełniacza — przynajmniej jego fragmentów C1, C4, C2 i C3 — źrebięta już od około trzeciego dnia życia nie wykazują różnic w porównaniu z końmi dorosłymi.

#### Piśmiennictwo

1. Adinolfi M.: Ontogeny of components of complement and Lysozyme, w Ciba Foundation Symposium: Ontogeny of acquired immunity. Elsevier, Excerpta Medica, North-Holland, Amsterdam 1972.
2. Alper C. A., Rosen F. S.: Progr. Immun. 11, 1, 201, 1974.
3. Banks K. L.: J. am. med. Ass. 181, 1053, 1982.
4. Barta O., Barta V.: The equine complement system, w red. Bryans J. T., Gerber H.: Equine infectious diseases, t. 4, Vet. Publ. Inc., Princeton, New Jersey, USA, 1978.
5. Denislenko V. N.: Veterinarija, Moskwa nr 5, 82, 1976.
6. Fireman P., Zuchowski D. A., Taylor P. M.: J. Immun. 103, 25, 1969.
7. Frymus T., Schollenberger A.: Zentbl. VetMed. B 26, 722, 1979.
8. Frymus T.: Zentbl. VetMed. B 27, 742, 1980.
9. Frymus T., Kita J.: Medycyna Wet. 38, 272, 1982.
10. Frymus T.: Medycyna Wet. 38, 634, 1982.
11. Frymus T., Degórski A., Kowalski B., Crisman M.: Zentbl. VetMed. B 32, 280, 1958.
12. Gill J., Szwarcoka-Przebie T., Krupska U., Peptowska Z.: Bull. Acad. pol. Sci. Ser. Sci. Biol. 26, 719, 1978.
13. Gill J., Kownacka M.: Bull. Acad. pol. Sci. Ser. Sci. Biol. 27, 143, 1979.
14. Kabat E. A., Mayer M. M.: Experimental immunochemistry. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, USA, 1967, s. 149.
15. Kilshaw P. J., Slade H.: J. Reprod. Immun. 3, 227, 1981.
16. Kita J., Frymus T., Crisman M. V., Perryman L. E.: Survey of Arabian foals in Poland for immune system disorders. Brit. vet. J. w druku.
17. Lachmann P. J.: Adv. Immun. 6, 479, 1967.
18. McGuire C., Crawford T. B.: Am. J. vet. Res. 34, 1299, 1973.
19. Morgan D. D., Bryans J. T., Mock R. E.: J. Reprod. Fert., Suppl. 23, 735, 1975.
20. Mueller R., Boothby J. T., Carroll E. J., Panico L.: Am. J. vet. Res. 44, 747, 1983.
21. Mueller-Peddinghaus R.: Dt. tierarztl. Wschr. 90, 374, 1983.
22. Nikolajczuk M.: Arch. Immun. Ther. 26, 471, 1978.
23. Pachciarz J. A., Lamb L. M.: Maturational development of T mitogen responsiveness in equines. Univ. Kentucky, Lexington, USA, 1977. Dane niepubl.
24. Perryman L. E.: Adv. vet. Sci. comp. Med. 23, 23, 1979.
25. Renshaw H. W., Eckblad W. P., Tassinari P. D., Everson D. O.: Immunology 34, 801, 1978.
26. Renshaw H. W., Litteneker N. M.: Zentbl. VetMed. B 25, 689, 1978.
27. Renshaw H. L., Gilmore R. J.: Immunology, 41, 203, 1980.
28. Stossel T. P., Alper C. A., Rosen F. S.: Pediatrics 42, 173, 1973.
29. Słopek S.: Immunologia praktyczna, PZWL, Warszawa 1972.
30. Triglia R. P., Linscott W. D.: Mol. Immun. 17, 741, 1980.
31. Woodard L. F., Eckblad W. P., Olson D. P., Bull R. C., Everson D. O.: Cornell Vet. 70, 266, 1980.

Adres autora: dr Tadeusz Frymus, ul. Dunikowskiego 5 m. 15, 02-704 Warszawa

Фримус Т., Кита Ф. — Конглютинирующий комплекс в сыворотке крови новорожденных чистокровных арабских жеребят

В сыворотках 51 арабского жеребенка и 10 их матерей определили активность конглютинирующе-

го комплемента. Сыворотки происходили от клинически здоровых животных. Группа жеребят охватывала животных обоего пола возрастом 1—35 дней.

Средний лог обратного числа титров комплемента у жеребят в первые 3 дня жизни составлял  $1,279 \pm 0,151$  ( $n=4$ ) и был существенно ниже величины, отмеченной у жеребят возрастом 4—35 дней ( $1,531 \pm 0,207$ ;  $n=47$ ;  $p < 0,05$ ) как и среднего у кобыл ( $1,626 \pm 0,155$ ;  $n=10$ ;  $p < 0,005$ ). Зато средняя активность комплемента у старших жеребят не отличалась существенно от величины, отмеченной у кобыл ( $p > 0,05$ ).

Ну у одного из исследованных жеребят не отметили симптомов дефекта в пределах конглютинирующих свойств комплемента.

Frymus T., Kita J. — **Conglutinating complement in the sera of neonatal Arabian foals**

The activity of the conglutinating complement was determined in the sera of 51 clinically normal Arabian foals and their 10 dams. The group of foals included animals of both sexes, aged from one to 35 days. The mean log of the titre in the foals 1—3 days old was  $1,279 \pm 0,151$  ( $n=4$ ) and was significantly lower than the value found in foals 4—35 days old ( $1,531 \pm 0,207$ ;  $n=47$ ;  $p < 0,05$ ) as well as in the sera of mares ( $1,626 \pm 0,155$ ;  $n=10$ ;  $p < 0,005$ ). There was no significant difference between the activity of the complement in the foals older than 3 days and in the mares. In no one of the foals examined any signs of a deficiency of the conglutinating activity of the complement could be found.

## PROFILAKTYKA I HIGIENA PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ

KAZIMIERZ FILUŚ, KRYSZYNA IWANCUK,  
JAN JANKOWSKI, RYSZARD S. PAŁACH

### Wskaźniki fizyczne bioklimatu przy odchowie młodych indyków rzeźnych na różnych podłożach\*)

Zakład Zoohigieny Wydziału Zootechnicznego ART, 10-957 Olsztyn-Kortowo

Coraz większe trudności występujące przy uzyskaniu ściółki dobrej jakości oraz wysoki jej koszt są głównymi przyczynami wdrożenia metody bezściółkowego utrzymania drobiu, w tym młodych indyków rzeźnych. Znajdują tu zastosowanie podłogi wykonane z siatki, klatki i baterie (2, 3, 4, 6). Z dotychczasowych badań wynika, że efekty produkcyjne uzyskiwane w tej metodzie odchovu indyków uzależnione są od rodzaju stosowanych podłoży, a także konstrukcji klatek (1, 2, 3). Rodzaj podłoża wpływa na zwierzęta bezpośrednio przez kontakt organizmu z podłożem oraz pośrednio przez ewentualne zmiany poziomu czynników bioklimatu pomieszczenia, od których w znacznym stopniu zależą wyniki odchovu.

Celem badań było określenie warunków bioklimatycznych kształtujących się podczas odchovu młodych indyków rzeźnych utrzymywanych na różnych podłożach.

#### Materiał i metody

Badania przeprowadzono w indyczniku zlokalizowanym w fermie Stary Dwór należącej do Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie. Materiał doświadczalny stanowiły średniociężkie młode indyki rzeźne rasy białej szerokopierśnej. Utrzymywano je w trzech grupach po 320 sztuk na podłożach wykonanych z siatki metalowej o grubości drutu 3 mm i wymiarach oczek  $25 \times 25$  mm (grupa A), piasku (grupa B) oraz na ściółce słomianej (grupa C). Obsada ptaków na  $1 \text{ m}^2$ , żywienie, a także program świetlny były jednakowe dla wszystkich grup i zgodne z obowiązującą

w kraju technologią odchovu młodych indyków rzeźnych (3). Wyodrębnienie we wspólnej hali powierzchni i strefy każdego z trzech podłoży pozwoliło na ujednolicenie wpływu cech pomieszczenia na parametry mikroklimatu w obrębie różnych podłoży.

Pomiary wybranych czynników fizycznych bioklimatu pomieszczenia (temperatury, wilgotności względnej i ruchu powietrza oraz ochładzania) wykonano w okresie 5 ostatnich tygodni odchovu indyków. Przeprowadzono je na wysokości głów ptaków co 4 godziny tj. o godz. 2, 6, 10, 14, 18, 22 w dwóch miejscach nad każdym podłożem oraz na zewnątrz pomieszczenia. Temperaturę oraz wilgotność względną powietrza mierzono psychrometrem aspiracyjnym Asmanna, zaś ruch powietrza i ochładzanie katatermometrem suchym Hilla według ogólnie przyjętych metod stosowanych w zoohigienie (7).

Istotność różnic między średnimi badanymi czynnikami bioklimatycznymi ustalono na podstawie wyników analizy wariancji wykonanej dla układu ortogonalnego (9). Określono też w każdej grupie procentowy udział indyków padłych i wybrakowanych oraz przyczyny tych zjawisk.

#### Wyniki i omówienie

Wartości średnie czynników bioklimatycznych badanych w miejscach przebywania indyków przedstawiono w tab. 1. Z właściwości fizycznych bioklimatu największy wpływ na zdrowie i produktywność zwierząt wywiera kompleksowe działanie temperatury i wilgotności powietrza (1, 3). Pod koniec odchovu indyków brojlerów zalecane jest stosowanie w pomieszczeniach temperatur w granicach  $28,5, 16—29,16 \text{ K}$  ( $12—18^\circ\text{C}$ ) przy wilgotności względnej powietrza wynoszącej 60—75% (2, 5,

\*) Pracę wykonano przy współpracy z COBRD w Poznaniu.