

3. Komitet d/s przestrzegania zasad prawa patentowego. Komitet zbiera i przekazuje członkom A.E.T.A. informacje o patentach. Udziela pomocy w uzyskaniu patentu i ostrzega przed naruszeniem prawa.
4. Komitet wydawnictw zawodowych. Celem tego komitetu jest wydawanie regularnego biuletynu oraz rozsyłaniu informacji o działalności A.E.T.A.
5. Komitet d/s rozwoju i informacji. Komitet udziela informacji o metodach przenoszenia zarodków osobom mającym zamiar podjąć pracę w tym kierunku. Propaguje on również działalność stowarzyszenia na terenie USA.
6. Komitet kontroli działalności stowarzyszenia. Do zadań komitetu należy analiza działalności różnych struktur stowarzyszenia, kontrola finansów, zatrudnienia i pracy stałego sekretariatu.
7. Komitet organizacyjno-programowy. Przy współpracy ze stałym sekretariatem komitet ten organizuje coroczne sympozja naukowe stowarzyszenia, ustala ich program, zaprasza prelegentów oraz przygotowuje pozastatutowe zebrania i konferencje naukowe.
8. Komitet d/s współpracy z organami administracji państwowej w zakresie przestrzegania przepisów epizootycznych. Wraz z państwową służbą weterynaryjną komitet

opracowuje przepisy regulujące obrót zarodkami na terenie USA, jak też eksport i import zarodków. Komitet informuje stacje o aktualnej sytuacji epizootycznej kraju i przekazuje równocześnie stosowne zalecenia odpowiednich władz administracyjnych.

Do grudnia 1985 r. w American Embryo Transfer Association zrzeszonych było 108 stacji przenoszenia zarodków u bydła, koni, trzody chlewnej, owiec i kóz, które prowadziły działalność w 30 stanach (w Teksasie pracowało 20 zespołów).

Na prawach członkostwa wspierającego do A.E.T.A. należało 48 instytucji takich jak: zrzeszenia hodowlane, wytwórnie sprzętu weterynaryjnego i zootechnicznego, producenci preparatów hormonalnych i leków oraz osoby prywatne.

W roku 1985 egzaminy weryfikacyjne złożyły 44 stacje, uzyskując wymaganą przez stowarzyszenie licencję.

Należy jednak zaznaczyć, że w tym samym czasie działało w USA równocześnie wiele zespołów, które wykonywały transplantacje nie informując o tym stowarzyszenia, gdyż nie uznały one potrzeby i konieczności zrzeszania się w jednej organizacji.

Adres autora: dr Edward Wierchoś, Instytut Zootechniki, 32-083 Balice k/Krakowa

## CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZDZISŁAW GLIŃSKI, JAN JAROSZ \*

### Mechanizmy działania patogennego *Varroa jacobsoni*

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR,  
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin  
\* Pracownia Patologii Owadów Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS,  
ul. Akademicka 15, 20-033 Lublin

Warroza, choroba czerwia i pszczoł, wywołana przez roztocze *Varroa jacobsoni Oudemans*, stanowi nadal najpoważniejsze zagrożenie nie tylko dla rozwoju, ale i dla istnienia gospodarki pasiecznej (16, 23, 26, 27). Specyficzna biologia pasożyta, który przechodzi cykl rozwoju na czerwiu zasklepionym, brak u pszczoły skutecznych mechanizmów obrony przed pasożytem przy nadal względnie niskiej efektywności leków akarycydnych i ich częstym działaniem ubocznym na czerw, pszczoły i matkę, uniemożliwia całkowitą likwidację zarażenia (8). W klimacie umiarkowanym, dzięki ochronnemu działaniu kłębu zimowego, samice pasożyta przeżywają na zimujących pszczołach, co przyczynia się do utrzymania inwazji w rodzinie mimo, że namnożenie pasożyta ustaje przy braku czerwia. Jeszcze groźniejsza sytuacja istnieje w klimacie subtropikalnym i tropikal-

nym, ponieważ przy ciągłym czerwieniu matki roztocze rozmnaża się na czerwiu przez cały rok, zaś obserwowane przerwy w składaniu jajeczek przez samice *V. jacobsoni* w najgorętszych porach roku są bardzo krótkie. Dodatkowy problem stanowi względnie szybka adaptacja roztocza do stosowanych w terapii preparatów roztoczoobójczych, a także obserwowane szybkie zwiększenie podatności lokalnych ras pszczoł na zarażenie (23).

Jakkolwiek *V. jacobsoni* rozwija się na czerwiu pszczelim i trutowym, to jednak przy cyklu rozwojowym trwającym średnio 7—9 dni, roztocze odbywa jeden cykl rozwojowy w komórkach z czerwiem krytym robotnic i dwa cykle rozwoju na krytym czerwiu trutowym. Charakter zmian patologicznych jest wyraźnie uzależniony od stadium rozwoju czerwia, w jakim zostaje on zaatakowany i od nasilenia in-

wazji. Przy silnej inwazji, oprócz czerwia zasklepionego, ulega porażeniu też czerw niezasklepiony (7). Larwy zasklepione porażone niewielką ilością pasożytów przechodzą dalsze przeobrażenie, w przebiegu którego występują zaburzenia rozwojowe manifestujące się brakiem lub deformacją skrzydełek, nówek i skróceniem odwłoków. Czerw porażony większą liczbą pasożytów zamiera. Inwazja *V. jacobsoni* u robotnic charakteryzuje się osłabieniem, skróceniem długości życia i masowym padaniem: w silnie osłabionych rodzinach pod koniec lata i jesienią, w rodzinach silniejszych w trakcie zimowania i wiosną (6).

Ze względu na znaczenie warrozy jako choroby prowadzącej do likwidacji pasiek, dotychczasowe badania dotyczyły dwóch problemów o zasadniczym znaczeniu praktycznym: biologii *V. jacobsoni* oraz metod zwalczania choroby. Badania podstawowe natomiast nad charakterem zmian i zaburzeń patologicznych i ich przyczynami, o charakterze poznawczym, nie były dotychczas przedmiotem wyczerpujących analiz. Wiązało się to z faktem szybkiego cofania się zaburzeń czynnościowych po likwidacji inwazji oraz nieodwracalnością anatomicznych zmian rozwojowych. Duży postęp w badaniach mechanizmów patogenyzy *V. jacobsoni* przyniosło wprowadzenie współczesnych, a przy tym dokładnych metod analizy biochemicznej, często z wykorzystaniem technik elektroforezy żelowej i pierwiastków znakowanych, oraz metod immunologicznych, które umożliwiają analizę zmian patologicznych na poziomie komórkowym, a nawet molekularnym.

Jedynie wyjątkowo w patogenyzy chorób zakaźnych i inwazyjnych owadów, podobnie jak u wyższych bezkręgowców i kręgowców łącznie z ssakami, jeden mechanizm jest przyczyną wystąpienia zmian i zaburzeń chorobowych. Zasadniczo współdziała ze sobą ściśle kilka, a nawet kilkanaście mechanizmów, zaś efekt ostateczny jest sumą działań jednostkowych na poziomie molekularnym, komórkowym i całego organizmu.

Efektom działania patogennego roztocza są zaburzenia w gospodarce białkowej, wodno-elektrolitowej, równowadze neurohormonalnej, strukturze i funkcji mechanizmów odpornościowych gospodarza, zarówno ramienia komórkowego, jak i humoralnego odporności (9). W działaniu patogennym *V. jacobsoni*, który jest pasożytem zewnętrznym czerwia i pszczoł wykorzystującym jako źródło pożywienia hemolimfę, uwzględniać należy zarówno mechaniczne uszkodzenia powłok ciała, które stanowią wrota zakażenia, utratę hemolimfy (5, 33), jak i biochemiczny wpływ substancji wytwarzanych przez pasożyta, które przedostają się do jamy ciała w trakcie jego żerowania. Nadal nie jest w pełni wyjaśniona rola tego roztocza jako mechanicznego lub biologicznego przenosiela zarazków, chociaż istnieją pewne sug-

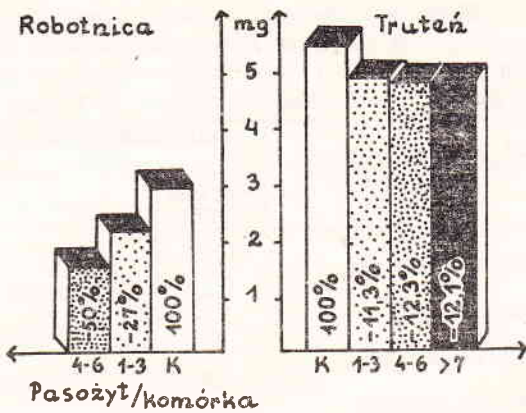
stie, że padanie pszczoł robotnic jest następstwem posocznicy bakteryjnej, względnie zakażenia wirusowego (20, 29).

Zaburzenia w składzie i funkcjach hemolimfy. Zmiany w hemolimfie pszczoły są nie tylko efektem bezpośredniego działania *V. jacobsoni* na poszczególne jej składowe, ale przede wszystkim odzwierciedlają one zaburzenia w szlakach syntezy białek, w tym białek aktywnych w procesach odpornościowych. W następstwie zmian strukturalnych i ilościowych, które narastają kaskadowo w miarę nasilenia i czasu trwania inwazji, rozwijają się zaburzenia w gospodarce wodno-elektrolitowej. Te rozległe zaburzenia łącznie z rozwojem posocznicy natury bakteryjnej lub wirusowej prowadzą w efekcie do rozregulowania istotnych dla życia funkcji organizmu gospodarza.

Zarówno u poczwerek robotnic, jak i u trutni inwazja obniża objętość hemolimfy, przy czym spadek ten zaznacza się najsilniej u czerwia trutowego. U poczwerek robotnic zarażenie 1—3 roztoczami obniżało objętość hemolimfy średnio o 23,6% tj. z 115,56  $\mu$ l do 82,23  $\mu$ l, podczas gdy przy zarażeniu od 4 do 6 pasożytami obserwowano nawet 40% spadek objętości hemolimfy (33). Natomiast u poczwerek trutni przy objętości hemolimfy wynoszącej u osobników zdrowych 165,17  $\mu$ l inwazja od 1 do 3 roztoczy obniżała objętość hemolimfy o 18,2%, zaś inwazja 4—6 pasożytów o 21,92%. Statystycznie istotna utrata hemolimfy jest następstwem jej pobierania przez nimfy i postacie dojrzale *V. jacobsoni*. Młode roztocza w ciągu 1,5 godzin mogą pobrać  $0,86 \pm 0,002$   $\mu$ l hemolimfy, w ciągu 3 godzin od  $1,21 \pm 0,02$  do  $1,30 \pm 0,06$   $\mu$ l (31). Jakkolwiek zapłodnione samice roztocza jednorazowo pobierają mniejszą ilość hemolimfy, to jednak dzięki częstemu ssaniu ilość hemolimfy zużytkowana przez nie jest zbliżona do ilości pobieranej przez niedojrzałe osobniki.

Stężenie białek hemolimfy u czerwia robotnic wykazuje wyraźne tendencje spadkowe wraz z nasileniem inwazji. Spadek stężenia białek wynosił przy obecności 1—3 pasożytów w komórce do 27%, natomiast przy obecności 4—6 roztoczy osiągnął on aż 50%. U czerwia trutowego niezależnie od liczby pasożytów w komórce spadek ten wahał się od 11,3 do 12,3% (ryc. 1), co odpowiada utracie przez gospodarza od 4.842 do 4.900  $\mu$ g białka hemolimfy (33). Natomiast u zarażonych robotnic utrata hemolimfy na skutek silnej inwazji dochodzi do 40, a niekiedy do 50% (30), czemu towarzyszy obniżenie liczby hemocytów o około 30,5% i białek hemolimfy o 15—20% (28). Utrata dużych ilości białek hemolimfy jest powszechnie uważana za jedną z przyczyn skrócenia długości życia pszczoł średnio o połowę (33).

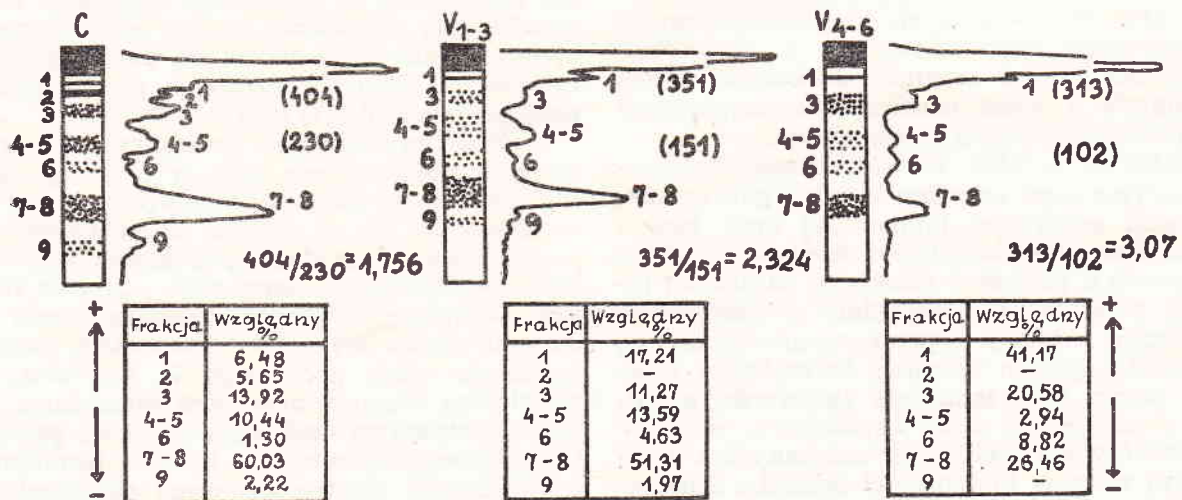
Pewien głębszy wgląd w mechanizm patogennego działania *V. jacobsoni* przyniosły ba-



Ryc. 1. Zawartość białka całkowitego (mg) w hemolimfie poczwarek robotnic i trutni w zależności od nasilenia inwazji *V. jacobsoni* (33)

dania biochemiczne hemolimfy czerwia trutowego porażonego pasożytem (9). Podobnie jak u ssaków, skład biochemiczny krwi owada jest bardzo czułym wskaźnikiem zaburzeń i zmian w procesach metabolicznych i odpornościowego organizmu. Zawsze obserwowane w przebiegu inwazji ilościowe i strukturalne zmiany w składzie białek hemolimfy, którym towarzyszy postępujący zanik ciała tłuszczowego, zahamowanie wzrostu i rozwoju, zaburzenia w poziomie kwasów nukleinowych w tkankach, jednoznacznie wskazują, że inwazja *V. jacobsoni* wpływa na mechanizmy kontroli homeostazy na poziomie całego organizmu. Badania na czerwiu trutowym wykazały, że pasożytnictwo zmienia skład białek hemolimfy, zwłaszcza frakcji niskocząsteczkowych białek katodowych (ryc. 2). Nasilenie tych zmian jest uzależnione od natężenia inwazji. Zmieniają się nie tylko stosunki ilościowe frakcji białek migrujących do niemigrujących w żelu poliakrylamidowym, całkowita ilość białek zasadowych, ale nawet zanikają wraz z natężeniem inwazji niektóre

frakcje białek katodowych (9). U czerwia trutowego porażonego 1—3 roztocami zawartość frakcji niemigrującej obniżała się średnio o 13,1%, przy silnym zarażeniu (4—6 roztoczy) o około 22,5% w porównaniu do kontroli. Zawartość białek zasadowych drobnocząsteczkowych obniżała się odpowiednio o 34,3% i 55,6%, zaś stosunek białek migrujących do niemigrujących w żelu drastycznie wzrastał z 1,77 w kontroli do 2,32 u czerwia słabo i do ponad 3 u czerwia silnie porażonego. Jeszcze bardziej istotne zmiany dotyczyły poszczególnych frakcji białkowych. Zawartość wolno migrującej frakcji 1 wzrasta prawie ośmiokrotnie, frakcji 7—8 obniża się o 14,5% u słabo i aż o 55,9% u silnie porażonych osobników, podczas gdy frakcji 2 całkowicie brak w hemolimfie porażonego czerwia. Jest interesujące, że stężenie frakcji 9 o ruchliwości elektroforetycznej odpowiadającej lizozymowi obniża się stopniowo aż do całkowitego zaniku przy porażeniu czerwia 4 lub więcej roztocami. Zaobserwowanych zmian nie można wiązać wyłącznie z mechaniczną utratą hemolimfy przez gospodarza w następstwie pasożytywania *V. jacobsoni*. Wskazują one, że inwazja inicjuje też patologiczne zmiany jakościowe, których odbiciem są modyfikacje biochemiczne składu białek hemolimfy pszczoły. Sugerują one przy tym udział substancji wydzielanych przez pasożytującego roztocza bądź w selektywnym niszczeniu określonych białek krwi, bądź ich wpływ poprzez ciało tłuszczowe na mechanizmy biosyntezy białek i na procesy odporności humoralnej, na co wskazuje zanik frakcji białka lizozymu. Substancje te wpływają negatywnie także na procesy odporności komórkowej, za czym przemawia zarówno obniżenie ogólnej liczby hemocytów, jak i daleko idące zmiany w obrazie jakościowym krwinek i zdol-



Ryc. 2. Frakcje niskocząsteczkowych białek zasadowych krwi czerwia trutowego zdrowego (C) porażonego 1—3 ( $V_{1-3}$ ) lub 4—6 ( $V_{4-6}$ ) *V. jacobsoni* po rozdziale na 24% żelu poliakrylamidowym (9)

nościach fagocytarnych hemocytów mierzonych testem NBT (dane nieopublikowane).

Rola enzymów proteolitycznych pasożyta w patogenezie choroby. Za jeden z ważnych czynników patogenezy wielu owadobójczych drobnoustrojów i pasożytów uznano ich aktywność proteolityczną (17, 18, 19, 31, 32). Proteazy patogenów, oprócz działania destrukcyjnego na tkanki owadogospodarza, niszczą też struktury białkowe odpowiedzialne za odporność. Inhibitory aktywności enzymów proteolitycznych wytwarzane przez owada stanowią zatem jeden z mechanizmów obronnych przed destruktywnym działaniem proteaz bakterii, grzybów i pasożytów chorobotwórczych dla owadów. Jakkolwiek homogenaty jelita środkowego *V. jacobsoni* cechuje bardzo niska aktywność proteolityczna endopeptydaz oraz jedynie śladowa aktywność egzopeptydaz wobec czułych substratów syntetycznych dla proteaz, za wyjątkiem karboksydazy A (31, 32), to jednak spadek aktywności proteolitycznej tych enzymów pasożyta aż o 75% w obecności hemolimfy *A. mellifera* może przemawiać za występowaniem u pszczoły mechanizmu obrony przed patogennym działaniem roztocza oraz wskazywać na znaczenie enzymów proteolitycznych *V. jacobsoni* w patogenezie warrozy.

Zaburzenia humoralnych mechanizmów odporności. Pomimo znacznego postępu badań nad kinetyką indukcji, biochemią, spektrum wrażliwych drobnoustrojów oraz mechanizmami działania czynników odporności humoralnej u owadów, zarówno rola lizozymu u pszczoł zaatakowanych przez *V. jacobsoni*, będącego głównym czynnikiem odporności humoralnej (15, 16, 22, 24), jak i innych polipeptydów odpornościowych występujących u niektórych rzędów owadów nie była dotychczas przedmiotem badań. Dotyczy to zwłaszcza udziału cekropin (4, 12, 25) i attacy (14, 21) — nowych klas indukowanych polipeptydów odpornościowych o aktywności bakteriobójczej w stosunku do bakterii gram ujemnych i gram dodatnich, występujących w hemolimfie motyli (*Lepidoptera*).

Mając na uwadze, że aktywność przeciwbakteryjna typu cekropin stanowi główny mechanizm odporności humoralnej krwi larw i poczwerek łuskooskrzydłych, obecność tego mechanizmu u pszczoł w przebiegu naturalnej inwazji pasożytniczej, względnie w następstwie sztucznej indukcji poprzez wprowadzenie do hemocelu żywych komórek *Enterobacter cloacae*, szczep  $\beta$ -12, induktora aktywności cekropin i attacy w krwi *Lepidoptera*, mogłaby wyjaśnić wiele problemów związanych z patogenezą warrozy i odporności pszczoły. Stosując bardzo czułe metody badania aktywności typu cekropin i attacy w krwi owadów z użyciem organizmu testowego *Escherichia coli* K-12,

Tab. 1. Aktywność lizozymu we krwi zdrowych larw wyprostowanych robotnicy *Apis mellifera*, larw porażonych *V. jacobsoni* i larw indukowanych do jamy ciała żywymi komórkami *E. cloacae*  $\beta$ -12 (cyt. 11)

Źródło pochodzenia hemolimfy	Aktywność lizozymu ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	wartość średnia	zakres
Larwy <i>A. mellifera</i>		
— kontrola	5,5	5,0—6,5
— 24 h po indukcji	20,0	17,0—23,0
— 48 h po indukcji	50,0	44,0—58,0
— 72 h po indukcji	100,0	92,0—120,0
— zakażenie <i>V. jacobsoni</i> :		
jeden roztocz	3,3	2,5—4,0
dwa roztocze	3,5	3,0—3,7
trzy i więcej	3,7	3,5—4,0
Larwy <i>G. mellonella</i>		
— kontrola	580,0	70,0—760,0
— 24 h po indukcji	5300,0	4200,0—8010,0

szczep D 31 oraz dwóch metod oznaczania działania bakteriobójczego: metoda cylinderkowo-dyfuzyjna i metoda „kropli” nie wykazano aktywności typu cekropin wobec bakterii gram ujemnych ani we krwi czerwia porażonego *V. jacobsoni*, ani we krwi czerwia po wprowadzeniu do hemolimfy około  $2,6 \times 10^4$  komórek *E. cloacae* w fazie logarytmicznego wzrostu (11). Ta efektywna dawka bakterii nie indukowała u czerwia pszczoły aktywności typu cekropin w okresie do 72 godzin po iniekcji induktora. U gąsienic *Galleria mellonella* (*Lep.: Pyralidae*) użytych jako testowy organizm referencyjny, iniekcja żywych komórek *E. cloacae* indukowała w hemolimfie aktywność bakteriologiczną skierowaną wobec bakterii gram ujemnych już po 24 godzinach, przy czym aktywność ta wyraźnie wzrastała po 48 godzinach po indukcji (11) (tab. 1).

Brak aktywności typu cekropin we krwi czerwia indukowanego oraz w przebiegu naturalnej inwazji roztocza wskazuje, że u pszczoł — podobnie jak u innych *Hymenoptera* — — kluczową rolę w likwidacji zakażeń bakterii, które przenikają do jamy ciała odgrywa lizozym. Jednakże, aktywność bakteriologiczna lizozymu obniża się aż do całkowitego zaniku u czerwia silnie porażonego *V. jacobsoni*, co potwierdza nasze wcześniejsze obserwacje (9) nad selektywnym uszkodzaniem przez pasożyta niskocząsteczkowych białek hemolimfy o ruchliwości elektroforetycznej odpowiadającej lizozymowi. Względnie niski wrodzony poziom lizozymu w hemolimfie zdrowego czerwia, który wyraźnie wzrasta po wprowadze-

Tab. 2. Drobnoustroje z rodziny *Enterobacteriaceae* wyosobnione z *V. jacobsoni* (cyt. 10)

Pochodzenie <i>V. jacobsoni</i>	Rodzaj drobnoustrojów	Data izolacji drobnoustrojów								
		28. marca			14 kwietnia			7 maja		
		% pasoży- tów	gęstość zakres	$\bar{x}$	% pasoży- tów	gęstość zakres	$\bar{x}$	% pasoży- tów	gęstość zakres	$\bar{x}$
<i>V. jacobsoni</i> z czerwia	<i>Citrobacter freundii</i>	75,0	10—40	55	75,0	10—90	40	37,5	20—60	37
	<i>Alcaligenes sp.</i>	25,0	30—70	50	50,0	30—70	42	25,0	40—70	55
	<i>Citrobacter sp.</i>	37,5	10—20	10	50,0	20—70	37	25,0	20—30	25
	<i>Hafnia alvei</i>	0	—	—	37,5	10—60	35	12,5	20	20
	<i>Escherichia coli</i>	0	—	—	25,0	10—30	20	0	—	—
	<i>Enterobacter cloacae</i>	0	—	—	50,0	10—90	47	0	—	—
	<i>Klebsiella sp.</i>	0	—	—	25,0	10—70	40	0	—	—
<i>V. jacobsoni</i> z pszczoł	<i>Citrobacter freundii</i>	75,0	10—460	151	50,0	30—70	42	37,5	20—70	43
	<i>Alcaligenes sp.</i>	37,5	60—250	180	50,0	40—90	70	62,5	20—90	54
	<i>Citrobacter sp.</i>	37,5	30—90	63	50,0	40—80	57	37,5	30—70	43
	<i>Hafnia alvei</i>	0	—	—	37,5	20—90	51	37,5	20—80	48
	<i>Escherichia coli</i>	0	—	—	62,5	30—90	72	25,0	20—70	45
	<i>Enterobacter cloacae</i>	0	—	—	25,0	40—11	75	37,5	10—60	40
	<i>Klebsiella sp.</i>	0	—	—	37,5	20—70	60	37,5	30—80	60

niu do jamy ciała zawiesiny żywych komórek *E. cloacae* (około 20-krotny wzrost aktywności po 72 godzinach), obniża się o 30—40% u czerwia porażonego *V. jacobsoni*. Stąd też można wnioskować, że ten pasożyt zewnętrzny odżywiający się krwią pszczoły wydziela w trakcie żerowania bliżej nieokreśloną substancję, lub że tę rolę odgrywają proteazy, które porażają ramię odporności humoralnej pszczoły ułatwiając przez to rozwój zakażeń bakteryjnych i wirusowych, zainicjowanych bezpośrednio lub pośrednio przez pasożytującego roztocza. Istnienie u pasożyta tzw. „systemu przełamania obrony gospodarza” (counter defence system) potwierdzają badania nad enzymami proteolitycznymi *V. jacobsoni* oraz nad ich interakcją z hemolimfą pszczoły (31).

Przenoszenie zakażeń bakteryjnych przez *V. jacobsoni* i występowanie posocznicy. Uszkodzenia ciągłości oskórka u czerwia i błon międzysegmentalnych u pszczoł podczas żerowania roztocza stanowią wrota zakażenia dla drobnoustrojów, które występują na powierzchni ciała i w otoczeniu gospodarza lub są przenoszone mechanicznie bądź w sposób biologiczny przez *V. jacobsoni*. Pasożyty odżywiające się krwią są z reguły pozbawione tubylczej mikroflory w przewodzie pokarmowym, typowej i charakterystycznej dla danego gatunku, która nie zmienia się w zależności od rodzaju diety i niszy ekologicznej. *V. jacobsoni* także nie posiada charakterystycznej mikroflory zaadaptowanej do przewodu pokarmowego (10). Wiele pasożytów jest całkowicie pozbawionych bakterii, drożdży i pleśni, u innych osobników ilość tych drobnoustrojów, jak i ich skład gatunkowy zmienia się w zależności od pory roku, diety i stadium rozwojowego pszczoły, na którym roztoczek pasożytuje (tab. 2).

Chociaż w badaniach własnych nie stwierdzono wyraźnych zależności między poszcze-

gólnymi typami morfologicznymi drobnoustrojów związanych z roztoczem, w przewodzie pokarmowym *V. jacobsoni* dominowały bakterie, a wśród nich przeważały gatunki z rodziny *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter freundii*, *Alcaligenes sp.*, *Citrobacter sp.*, *Hafnia alvei*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella sp.*) oraz z rodziny *Micrococaceae* (*Staphylococcus epidermidis*, *Sarcina lutea*, *Mircococcus sp.*). W ogólności flora bakteryjna roztoczy pasożytujących na pszczołach jest bardziej zróżnicowana i bardziej liczebna w porównaniu do flory pasożytów porażających czerw zasklepiony, zwłaszcza w okresie optymalnego kwitnienia roślin nektarodajnych i pyłkodajnych. Ponieważ drobnoustroje związane z *V. jacobsoni* występują w treści jelitowej niektórych, a nie wszystkich pasożytów w małej ilości i ponieważ skład gatunkowy flory zmienia się w zależności od pory roku i stadium rozwojowego pszczoły, roztoczek posiada zatem tylko przygodną florę jelitową, której skład w dużym stopniu zależy od pory roku, odżywiania, stadium rozwojowego pszczoł, a także od składu drobnoustrojów zanieczyszczających środowisko bytowania pszczoł. Fakt, że roztoczek nie posiada gęstych populacji drobnoustrojów typowych dla jelita *V. jacobsoni*, które mogłyby pełnić istotne funkcje w odżywianiu i stanowić barierę jelitową hamującą namnażanie drobnoustrojów pobieranych z pożywieniem wskazuje, że pasożyt może pełnić rolę wektora mechanicznego, a być może i biologicznego zakażeń. Potwierdza to zarówno obecność *Hafnia alvei* w treści przewodu pokarmowego pasożyta (10) oraz częste występowanie posocznicy i masowych padnięć pszczoł wywołanych przez ten drobnoustrój w rodzinach porażonych warrozą (13, 29). Już w 1975 r. Kutzenko (20) zwrócił uwagę na przenoszenie *H. alvei* w rodzinach porażonych *V. jacobsoni*. Ostatecznego potwierdzenia roli *V. jacobsoni*

jako mechanicznego i biologicznego przenosi-ciela zakażeń bakteryjnych i grzybiczych dostarczają badania nad rekonstrukcją flory jelitowej roztocza z użyciem drobnoustrojów saprofitycznych, jak również patogennych dla czerwia i pszczoł o pewnych ściśle określonych stabilnych cechach wzrostowych i biochemicznych.

V. jacobsoni jako induktor latentnych zakażeń wirusowych. Nagromadzono dane dotyczące przenoszenia przez V. jacobsoni (1, 2, 3) wirusów chorobotwórczych dla pszczoł oraz indukcji u pszczoł wirusowych zakażeń latentnych (34). Wyniki rozległych badań Ball (1, 2) i Ball i Aleen (3) zdają się wskazywać, że wirus ostrego paraliżu pszczoł (APV) stanowi główną przyczynę masowych padnięć w rodzinach silnie porażonych warrozą. Roztocze zakażając się dużymi ilościami wirusa podczas żerowania na imago lub poczwarkach przenoszą wirus na zdrowe osobniki w rodzinie. Uważa się, że poczwarki ulegają zarażeniu przez roztocza, które żerowały uprzednio na zakażonych pszczołach. Żerowanie roztocza, które prowadzi do uszkodzenia tkanek i zaburzeń mechanizmów odporności może indukować rozwój latentnych zakażeń APV poprzez uwalnianie wirionów z uszkodzonych komórek i stymulację ich replikacji w świeżo zakażonych komórkach pszczoły (3).

Warroza a grzybica otorbielakowa. Rola V. jacobsoni w przenoszeniu zakażeń wywołanych przez inne wirusy poza APV i bakterie chorobotwórcze dla czerwia i pszczoł nie była dotychczas przedmiotem dokładniejszych badań. Wydaje się natomiast, że obserwowane przez nas nasilenie grzybicy otorbielakowej czerwia w rodzinach, w których występuje warroza może wiązać się zarówno z biernym przenoszeniem zarodników grzyba przez roztocza, z ułatwieniem przenikania strzępek przez uszkodzony przez pasożyta oskórek, osłabieniem odporności czerwia na zakażenie jak również z obniżeniem odporności behawioralnej rodziny pszczelej przez inwazję pasożyta. Udział tych składowych w patogeniezie grzybicy otorbielakowej w rodzinach porażonych V. jacobsoni powinny wyjaśnić będące w toku badania nad kształtowaniem się odporności, dynamiką inwazji V. jacobsoni a częstotliwością i nasileniem zmian patologicznych wywołanych przez *Ascospaera apis*.

Jakkolwiek całokształt zmian i wzajemnych relacji pomiędzy wieloma czynnikami biorącymi udział w patogeniezie warrozy jest obecnie nadal nie wyjaśniony w pełni, a interpretacja niektórych mechanizmów aktywnych w patogeniezie tej choroby nie jest wyczerpująco udokumentowana, to jednak nagromadzone dane jednoznacznie wskazują na istotny udział w patogeniezie warrozy przynajmniej kilku me-

chanizmów. Można do nich zaliczyć mechaniczne odjadanie gospodarza, zaburzenia w odporności humoralnej czerwia i pszczoł oraz odporności behawioralnej rodziny, występowanie zakażeń wtórnych kończących się z reguły posocznica oraz indukcje latentnych zakażeń wirusowych.

#### Piśmiennictwo

1. Ball B. V.: Allgemeine Dt. ImkerZtg. 17, 177, 1983.
2. Ball B. V.: Die Biene 119, 200, 1983.
3. Ball B. V., Aleen M. F.: Fundamental and Applied Aspects of Invertebrate Pathology. Samson R. A., Wageningen 1986, s. 151.
4. Boman H. G., Nilsson-Faye I., Paul K., Rasmuson T. jr.: Infection and Immunity 10, 136, 1974.
5. Cromroy H. L., Kloft W. J.: Apiakta 15, 61, 1980.
6. De Jong D., De Jong P. H., Goncalves L. S.: J. Apic. Res. 21, 165, 1982.
7. De Jong D., Morse R. A., Eickwort G. C.: Ann. Rev. Entomol. 27, 229, 1982.
8. Gliński Z.: Medycyna Wet. 41, 323, 1985.
9. Gliński Z., Jarosz J.: Apidologie 15, 329, 1984.
10. Gliński Z., Jarosz J.: Apidologie 17, 1986 w druku.
11. Gliński Z., Jarosz J.: Apidologie 17, 1986 w druku.
12. Hoffmann D., Hultmark D., Boman H. G.: Insect Biochem. 11, 537, 1981.
13. Horn H.: Allgemeine Dt. ImerZtg. 18, 328, 1984.
14. Hultmark D., Engström A., Anderson K., Steiner H., Bennich H., Boman H. G.: The EMBO J. 2, 571, 1983.
15. Jarosz J.: Biol. Zentbl. 98, 459, 1979.
16. Jarosz J.: Biol. Zentbl. 104, 193, 1985.
17. Kučera M., Madziara-Borusiewicz K.: Acta entomol. Bohemoslav. 79, 401, 1982.
18. Kučera M.: J. Invertebr. Pathol. 43, 190, 1984.
19. Kučera M.: J. Invertebr. Pathol. 45, 41, 1985.
20. Kutzenko D. M.: Blagobechtschensk 2, 50, 1975.
21. Lee J. Y., Edlund T., Ny T., Faye I., Boman H. G.: The EMBO J. 2, 577, 1983.
22. Mohring W., Messner B.: Biol. Zentbl. 87, 439, 1968.
23. Popa A.: Bull. Off. int. Epiz. 93, 1423, 1981.
24. Powning R. F., Davidson W. J.: Comp. Biochem. Physiol. 45 B, 669, 1973.
25. Qu X., Stetner H., Engström A., Bennich H. G.: Eur. J. Biochem. 127, 219, 1982.
26. Ritter W.: Anim. Res. Dev. 14, 17, 1981.
27. Rousseau M.: Rev. Fr. Apicult. 373, 139, 1979.
28. Sadov A. V.: Veterinarija, Moskwa 9, 67, 1978.
29. Shabanov M.: Acta microbiol. Bulg. 15, 78, 1984.
30. Sidorov N. G.: Veterinarija, Moskwa 7, 65, 1977.
31. Tewarson N. C.: Nutrition and reproduction in the ectoparasitic honey bee (*Apis sp.*) mite, *Varroa jacobsoni*. Praca dokt. Univ. Tubingen, 1983.
32. Tewarson N. C., Jany K. D.: Apidologie 13, 383, 1982.
33. Weinberg K. P., Madel G.: Apidologie 16, 421, 1985.
34. Wiegand F. P.: Fundamental and Applied Aspects of Invertebrate Pathology. Samson R. A., Wageningen 1986, s. 152.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Gliński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

**SMITH J. R., JOHNSON R. H.: Obserwacje nad stosowaniem inaktywowanej szczepionki przeciwko parwowirowi psów. (Observations on the use of an inactivated canine parvovirus vaccine). Vet. Rec. 118, 385—387, 1986 (14)**

W oparciu o lokalnie wyizolowany szczep parwowirusa psów (K3) po 3—5 pasażach sporządzono formalinizowaną szczepionkę. Jedna dawka szczepionki zawierała 20 tys. jednostek hemaglutynacyjnych. Stwierdzono występowanie ściślej zależności między jednorazowym szczepieniem i jej działaniem ochronnym. Swoiste przeciwciała pojawiły się po 48 godz. po szczepieniu, reakcja anamnesticzna po 24 godz. po szczepieniu. U szczepionych szczepień o mianie przeciwciał w odczynie HI powyżej 256 zakażenie doustne wirusem K3 nie indukowało żadnych zmian hematologicznych i serologicznych. Natomiast u szczepionych szczepień o mianie przeciwciał w odczynie HI 16—128 po zakażeniu występowała przejściowa limfopenia, wydalanie wirusa z kałem przez 48 godz. i wzrost miana przeciwciał w odczynie HI powyżej 8192 przy braku jakichkolwiek zmian klinicznych. Wśród 514 psów zaszczepionych jednorazowo nie wystąpiła parwowirowa w okresie 3 lat.

G.

## OD REDAKCJI:

W ramach serwisu informacyjnego FELINFO, poświęconego chorobom kotów, publikujemy kolejny artykuł przeglądowy, nadesłany Redakcji przez prof. dr Mariana C. Horzinka z Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu w Utrechcie, Holandia. Autorem artykułu, dotyczącego białaczki kotów, jest prof. dr Manfred Reinacher z Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu w Giessen, RFN. Zamieszczamy równocześnie znak firmowy serwisu FELINFO.



MANFRED REINACHER

## Pośmiertne wykrywanie zakażeń wirusem białaczki kotów

Instytut Patologii Weterynaryjnej Uniwersytetu w Giessen, RFN

W 1964 r. Jarret opisał po raz pierwszy retrowirus, wyisobniony od kota chorego na białaczkę. U kotów sztucznie zakażonych tym wirusem występowały typowe objawy białaczki; stąd też wyizolowany wirus określono jako wirus białaczki kotów (Feline leukemia virus — FeLV).

U kotów i innych zwierząt domowych pod pojęciem białaczki rozumie się złośliwą proliferację komórek krwi lub ich prekursorów. Nie we wszystkich jednak przypadkach białaczki kotów można wykazać obecność wirusa FeLV. Występują bowiem również zakażenia latentne, którym towarzyszy jedynie transformacja komórek. Przemawiają za tym liczne obserwacje przeprowadzone na kotach narażonych na zakażenie wirusem FeLV, u których pomimo wystąpienia objawów klinicznych choroby nie udało się wykazać obecności wirionów FeLV. Białaczkę obserwowano też w hodowli kotów SPF wolnych od 10 lat od zakażenia wirusem FeLV (2). Na podstawie wyników badań doświadczalnych i dochodzeń epizootologicznych można przyjąć, że większość kotów w swoim życiu styka się z wirusem białaczki, pomimo to tylko u niektórych osobników występuje trwałe zakażenie tym wirusem kończące się zejściem śmiertelnym. Z reguły proces chorobowy trwa miesiące, a nawet lata. Warto podkreślić, że padanie zwierząt w większości przypadków nie jest wynikiem nowotworzenia; jest ono następstwem schorzeń towarzyszących infekcji wirusem FeLV. Niedokrwistości i niedoborom immunologicznym, które rozwijają się na skutek zakażenia wirusem FeLV, towarzyszą bowiem zakażenia wtórne. Niniejsza praca dotyczy badań nad częstotliwością występowania zakażeń wirusem FeLV w populacji kotów oraz charakteru zmian anatomiczno-patologicznych.

### Materiał i metody

W Instytucie Patologii Weterynaryjnej Uniwersytetu Justusa Liebiga w Giessen przebadano w ostatnich 5 latach metodami immunohistologicznymi ponad 1000 kotów w celu wykazania obecności w tkankach antygeny wirusa FeLV. W celu wykazania występowania ewentualnych korelacji pomiędzy wynikami badań histopatologicznych, mikrobiologicznych, parazytologicznych i toksykologicznych a obserwacjami klinicznymi, uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej testem chi-kwadrat, testem Fischera i Kruskal-Wallis.

### Wyniki i omówienie

#### Białaczka

Białaczce najczęściej towarzyszy zakażenie wirusem FeLV. Prawdopodobieństwo trwałego zakażenia tym wirusem jest uzależnione od postaci białaczki. Ze względów praktycznych wyróżnia się cztery zasadnicze postacie choroby:

- postać grasiczna — zmiany nowotworowe są usytuowane głównie w śródpiersiu przedsercowym;
- postać wieloogniskowa, w której trudno umiejscowić główne zmiany nowotworowe; mogą one bowiem dotyczyć licznych obwodowych węzłów chłonnych, a także i śledziony;
- postać alimentarna (postać jelitowa); charakteryzuje się zmianami nowotworowymi występującymi w przewodzie pokarmowym i w węzłach chłonnych, względnie też zmiany te ograniczają się wyłącznie do węzłów chłonnych przewodu pokarmowego;
- postaci niesklasyfikowane; należą tu wszystkie pozostałe formy białaczki. W większości przypadków są to chłoniako-mięsaki mikroskopowych rozmiarów, występujące z reguły w nerkach.