

23. Matuszewska M., Komorowski Z.: *Medycyna Wet.* 39, 497, 1983.
24. Mayr A., Bohm H. O., Brill J., Woyciechowska St.: *Arch. ges. Virusforsch* 17, 216, 1965.
25. Mitchell D., Papp-Vid G., Gurrard A.: w Bryans J. T., Gerber H. red.: *Equine Infectious Diseases*, Veterinary Publications, Inc. Princeton, 1978.
26. Mumford J. A., Bates J.: *Vet. Rec.* 114, 375, 1984.
27. Patel J. R., Edington N., Mumford J. A.: *Archs Virol* 74, 41, 1982.
28. Patel J. R., Edington N.: *Vet. Microbiol.* 8, 301, 1983.
29. Rebhun W. C., Jenkis D. H., Riis R. C., Dill S. G., Dubovi E. J., Torres A.: *J. am. vet. med. ASS.* 192, 953, 1988.
30. Sabine M., Robertson G. R., Whally J. M.: *Aust. vet. J.* 57, 148, 1981.
31. Shimizu T., Ishizaki R., Ishii S., Kawakami Y., Kaji T., Sugimura K., Matumoto M.: *Jap. J. exp. Med.* 29, 643, 1959.
32. Studdert M. J., Simson T., Roizman B.: *Science* 214, 562, 1981.
33. Studdert M. J., Fitzpatrick D. R., Horner G. W., Westbury H. A., Gleeson L. J.: *Aust. vet. J.* 61, 345, 1984.
34. Thein P., Ludwig H., Meyer H.: *Tierarztl. Umsch.* 42, 23, 1987.
35. Thomson G. R., Mumford J. A., Smith J. M.: *Vet. Microbiol.* 4, 209, 1979.
36. Turtinen L. W., Allen G. P., Darlington R. W., Bryans J. T.: *Am. J. vet Res.* 43, 2:99, 1981.
37. Woyciechowska St., Kita J., Frymus T.: *Medycyna Wet.* 36, 388, 1980.
38. Woyciechowska St., Kita J., Frymus T., Górski J., Michalak T., Chmielewska A.: *Medycyna Wet.* 36, 525, 1980.
39. Yeargan M. R., Ollen G. P., Bryans J. T.: *J. clin. Microbiol.* 21, 694, 1985.

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

JADWIGA GRUNDBOECK-JUŠKO, JACEK KUŹMAK

Występowanie przeciwciał dla wirusa enzootycznej białaczki bydła w siarze krów białaczkowych

Zakład Biochemii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

U nowo narodzonych cieląt, u których mechanizmy odporności komórkowej i humoralnej nie są w pełni sprawne, nabycie odporności biernej za pośrednictwem siary stanowi główny warunek zabezpieczenia przed wirusem enzootycznej białaczki bydła (ebb). Ochronną rolę spełniają głównie przeciwciała indukowane przez glikoproteid gp 51 otoczki wirusa, które neutralizują cząstki wirusa lub blokują jego uwalnianie z zakażonych limfocytów (4).

Według niektórych autorów (7, 13) od 4% do 20% cieląt posiada swoiste przeciwciała przed podawaniem siary. Zwierzęta te zakażone śródmacicznie, a także w ostatnim okresie ciąży lub w trakcie porodu mogą być źródłem nowych zakażeń.

Van der Maaten i wsp. (18) eksperymentalnie wykazali, że podanie nowo narodzonym cielętom siary zawierającej przeciwciała przeciw gp 51 powoduje, że stają się one odporne na zakażenie drogą alimentarną. Autorzy ci podając cielętom inokulum zawierające 500 ml siary krów białaczkowych oraz odpowiednio 10^7 , 10^8 i 10^9 limfocytów pobranych od krów białaczkowych, otrzymali ujemny wynik w teście syncytialnym. Natomiast u dwóch cieląt kontrolnych karmionych siarą pozbawioną przeciwciał i zawierających 10^6 limfocytów otrzymano wynik dodatni w tym teście.

Obserwacje Ferrera i Pipera (5) wskazują, że przeciwciała siarowe zabezpieczają nowo narodzone cielęta przed zakażeniem kontaktowym w pierwszych miesiącach życia. U 17 cieląt karmionych siarą dodatnich matek, utrzymywanych razem z bydłem zakażonych do 3-go miesiąca życia nie obserwowano wyników dodatnich w teście syncytialnym. W kolejnych miesiącach ich liczba gwałtownie wzrosła, co można tłumaczyć zanikaniem przeciwciał siarowych i brakiem ich ochronnego działania. Podobnych dowodów dostarczyły badania Olso-

na i Kaja (11), którzy podawali owcom siarę krów białaczkowych, a następnie wprowadzali im limfocyty krów białaczkowych odpowiednio w 2, 4 i 17 miesięcy po inokulacji. Serologicznie ujemne pozostały jedynie zwierzęta inokulowane najwcześniej z wysokimi mianami przeciwciał.

Pozytywnym efektem spajania siary krów białaczkowych przeczą obserwacje licznych autorów, uważających siarę i mleko za potencjalne źródło zakażenia. Badania Strauba (16) i Kenyona i wsp. (8) dotyczące siary i mleka oraz Romero i wsp. (14), Bederke i wsp. (2) oraz Parafanovich i wsp. (12) dotyczące mleka dowiodły, że możliwie jest przeniesienie materiału zakaźnego w tych płynach ustrojowych, jakkolwiek w epizootii ebb tej drodze zakażenia nie przypisuje się większego znaczenia (9).

Odporność siarowa uwarunkowana jest ilością wchłoniętych przeciwciał, co ma ścisły związek z wysokością miana i czasem utrzymania się ich w siarze.

Celem niniejszej pracy było określenie tych parametrów oraz ich związku z mianem przeciwciał w surowicy krwi krów ciężarnych.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w stadzie K, w którym na około 3 miesiące przed planowanym wycieleniem wyselekcjonowano grupę 17 serologicznie dodatnich krów, rasy ncb w wieku od 4 do 9 lat. Wycielenia odbywały się sukcesywnie w całym okresie badań od lutego do kwietnia. Od zwierząt tych w 8 tygodniu przed porodem pobierano krew w ciągu 2 godz. po porodzie i przez kolejne dni aż do 7 dnia pobierano wydzielinę gruczołu mlekowego. Uzyskaną z 4 płatów wymienia wydzielinę łączono i około 10 ml takiej próby wirowano przy 3000 obr./min. przez 20 min. Odwirowaną warstwę tłuszczu odrzucano, ściągając pipetą odtłuszczoną wydzielinę. Miano przeciwciał oznaczano metodą immunodyszfuzji w żelu (ID) wg Miller i Van der Maatena (18) w modyfikacji J. Grundboeck i M. Grundboeck (6). 0,8 g agarozu (Fluka A. G.) z dodatkiem 8,5 g NaCl łączono ze 100 ml

0,05 M buforu Tris-HCl o pH 7,2 i trzymano na wrzącej łaźni przez około 30 min. Płynne podłoże rozlewano po 5 ml do suchych, czystych chemicznie, szklanych płytek Petriego o średnicy 6 cm. Celem żelifikacji podłoża płytki przechowywano 1–2 godz. w temp. 4°C. W ostudzonym żelu na każdej płytce wycinano sztancą 14 studzienek ułożonych w dwie rozety. Średnica każdej studzienki wynosiła 5 mm, a odległość między brzegami sąsiednich studzienek 3 mm. Do studzienek centralnych nanoszono antygen wirusa ebb wyprodukowany w Instytucie Weterynarii w ilości 25 µl. Studzienki obwodowe napełniano kolejnymi rozcieńczeniami badanego materiału. Przed przystąpieniem do oznaczania przeciwciał w siarze przeprowadzono dodatkowe badania, które wykazały, że wykrywane reakcje mają charakter swoisty dla antygenów wirusa ebb.

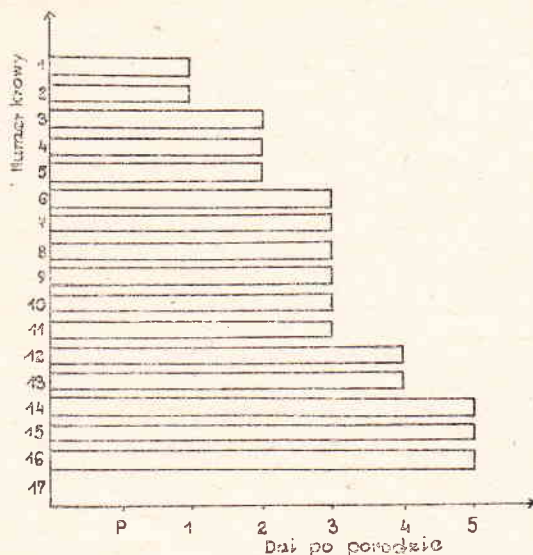
Odczytywanie i interpretację wyników odczynu przeprowadzono zgodnie z Instrukcją Nr 54 M.R. i G.Ż. z dnia 1983.02.20 (Nr WET 2 II 4411-4/83 (6) w sprawie serologicznego rozpoznawania enzootycznej białaczki bydła przy użyciu testu immunodyfuzji w żelu (ID).

Wyniki i omówienie

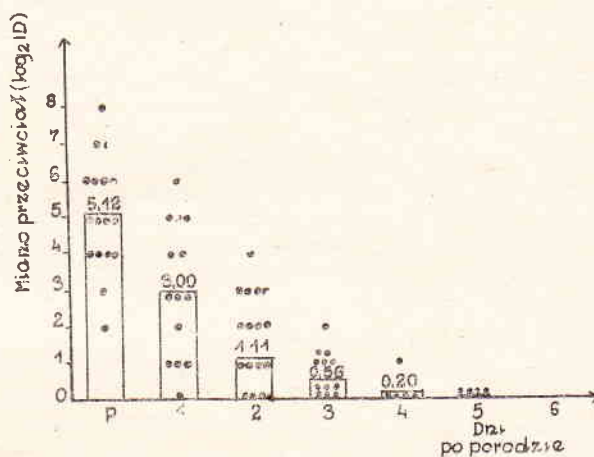
Na ryc. 1 przedstawiono trwałość przeciwciał w siarze w kolejnych dniach po porodzie. W dniu porodu stwierdzono ich obecność u 16 badanych krów. U jednego zwierzęcia siara pobrana bezpośrednio po porodzie nie wykazała obecności przeciwciał, jakkolwiek surowica krwi badana na 8 tygodni przed porodem dała wynik dodatni. W kolejnych dniach obserwowano stopniowe zanikanie przeciwciał w wydzielinie gruczołu mlekowego i już w 4 dniu stwierdzono je tylko u 30% zwierząt. U 3 krów przeciwciała obserwowane były do 5 dnia po porodzie.

Na ryc. 2 przedstawiono obserwowane wartości miana przeciwciał. W dniu porodu wysokie miana 128 i 256 wystąpiły w siarze krów, u których przeciwciała utrzymywały się najdłużej. Podobną reakcję obserwowano u dwóch krów z niskim mianem wynoszącym 4 i 8, u których przeciwciała zanikały już pierwszego dnia po porodzie. W kolejnych dniach obserwowano spadek miana. Bezpośrednio po wycieleniu u 70% zwierząt występowały wysokie miana (32–256), podczas gdy już drugiego dnia obserwowano niskie miana od 2 do 8. Średnie miano wynoszące w dniu porodu 5,12 log₂ było 5-krotnie wyższe od średniego miana obserwowanego w drugim dniu i 10-krotnie wyższe od średniego miana obserwowanego w trzecim dniu po porodzie.

Miano przeciwciał w surowicy krwi było istotnie skorelowane z mianem przeciwciał w siarze i okresem ich utrzymywania się (ryc. 3). Test korelacji przy r=0,850 i p<0,001 wykazał występowanie stałej zależności między mianem przeciwciał w siarze i mianem w surowicy krwi krów ciężarnych. Prosta regresji y=1,15 +3,042, która podaje wartość miana przeciwciał w siarze dla poszczególnego miana w surowicy krwi wskazuje, że średnie miano przeciwciał w siarze jest około 8 razy wyższe od miana w surowicy krwi krów ciężarnych określonego na 2 miesiące przed porodem. Stwierdzo-



Ryc. 1. Dynamika utrzymywania się przeciwciał w siarze w kolejnych dniach po porodzie

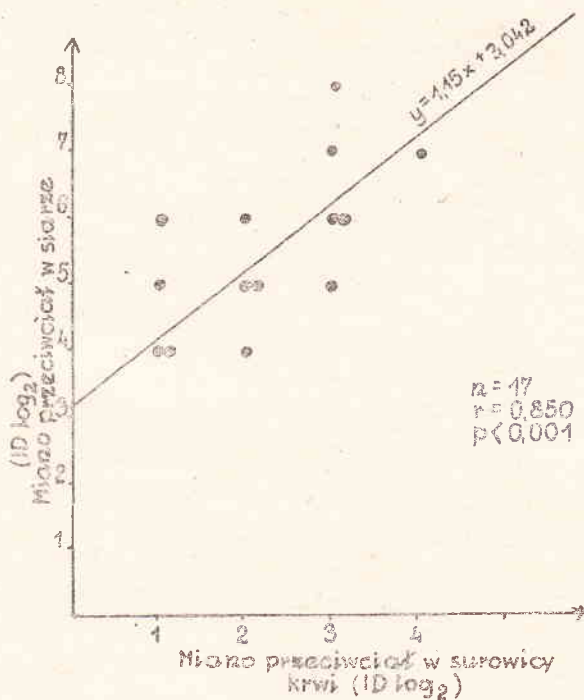


Ryc. 2. Kształtowanie się miana przeciwciał w siarze w kolejnych dniach po porodzie

no także istnienie wysokiej korelacji (r=0,777, p<0,001) między czasem utrzymywania się przeciwciał w siarze a wysokością miana w surowicy krwi krów ciężarnych.

Analizowane zależności dotyczyły przeciwciał przeciw antygenowi p24. Ich obecność stwierdzono w tych próbach siary, w których miano przeciwciał przeciw gp51 było wysokie, wyższe lub równe 32.

Uzyskane rezultaty dotyczące czasu utrzymywania się przeciwciał w siarze zgodnie są z wynikami Matthaeusa i Strauba (10), którzy obserwowali wysokie miano (128) pomiędzy 1 a 2 godziną po porodzie. Beier i wsp. (3) badając dwie krowy z niskim i wysokim mianem przeciwciał w surowicy krwi, stwierdził obecność przeciwciał w siarze tych zwierząt do 2 i 5 dnia po porodzie. Obserwacje tych autorów utwierdzają uzyskane wyniki wskazujące na is-



Ryc. 3. Zależność między mianem przeciwciał w sianie i w surowicy krwi

totny wpływ ($r=0,850$) miana przeciwciał w surowicy krwi na miano w sianie, a także na jego związek z czasem utrzymywania się przeciwciał w sianie, co wykazali Bouse i wsp. (1) stwierdzając wysoką korelację ($r=0,896$) przy ($p=0,01$) pomiędzy tymi wartościami.

Z profilaktycznym postępowaniem uwzględniającym spajanie siary białaczkowych krów związane jest niebezpieczeństwo zakażenia tą drogą. Vasiliev i Kondaurow (19), którzy analizowali morfologiczne elementy siary stwierdzili, że w pierwszym dniu po porodzie zawiera ona prawie 4,6 mld komórek w 1 cm^3 z czego ponad 40% stanowią limfocyty B. Wiadomo także, że niebezpieczeństwo zakażenia wirusem ebb jest związane głównie z zainfekowanym limfocytom. Potwierdzeniem *in vivo* możliwości zakażenia drogą alimentarną są obserwacje Van der Maatena i Miller (17), którzy bezpośrednio po porodzie indukowali infekcję u cieląt doustnym podawaniem dużej liczby limfocytów krwi białaczkowej. W warunkach normalnych niebezpieczeństwo to wielokrotnie się przy podawaniu wydzieliny zapalnej lub z domieszką krwi.

Obserwowane w badaniach własnych wysokie miano przeciwciał przeciw gp51 blokujące uwalnianie wirusa z zakażonych limfocytów wydają się neutralizować i zabezpieczać cielęta prze zakażeniem, którego źródłem może być siara. Wiadomo również, że wrażliwość cieląt na taką infekcję zanika po 24–36 godzinach po porodzie, kiedy błona śluzowa przewodu pokarmowego staje się nieprzepuszczalną dla limfocytów.

W postępowaniu uwzględniającym podawanie siary należy wziąć pod uwagę krowy serologicznie dodatnie, których siara nie zawiera przeciwciał, a co może być spowodowane zaburzeniami hormonalnymi, zmianami zapalnymi gruczołu mlekowego, czy błędami przy zasuszeniu.

Fakt, że praktycznie od 3 dnia po porodzie w wydzielinie obserwuje się bardzo wysokie miano przeciwciał lub ich brak wskazuje na konieczność inaktywacji wirusa drogą pasteryzacji (15). Fakt ten, jak i możliwość spajania siary białaczkowych krów mogą mieć istotne znaczenie w przygotowaniu programów zwalczania ebb w hodowli wielostadnej.

Wnioski

1. Miano przeciwciał w surowicy krwi jest istotnie skorelowane z mianem przeciwciał w sianie oraz okresem ich utrzymywania się.

2. Średnie miano przeciwciał w sianie jest ośmiokrotnie wyższe od miana w surowicy krwi określanego na 2 miesiące przed porodem.

Piśmiennictwo

1. Bruse D., Schmidt F.W.: Tierarztl. Umsch. 35, 642, 1980.
2. Bederke G., Schmidt F.W., Tolle A., Ubershar S.: Zentbl. Vet. Med. B 6, 701, 1970.
3. Beier D., Ebertus R., Anders A.: Mh. Vet.-Med. 40, 560, 1985.
4. Driscoll D.M., Onuma M., Olson C.: Arch. Virol. 55, 139, 1977.
5. Ferrer J.F., Piger Ch. E.: Cancer Res. 41, 4906, 1981.
6. Grundboeck-Juško J., Grundboeck M.: Instrukcja 54 MRIGZ 1983.
7. Jacobsen K.L., Buil R.W., Miller J.M., Herdt T.H.: Prev. Vet.-Med. 1, 255, 1982/1983.
8. Kenyon S.J., Gupta P., Ferrer J.F.: Fourth Int. Symp. Bovine Leukosis, Bologna 1980, s. 289.
9. Łosieczka K., Klimontowski S.: Medycyna Wet. 44, 43, 1988.
10. Matthaeus W., Straub O.C.: Forth Inter. Symp. Bovine Leukosis, Bologna 1980, s. 112.
11. Olson C., Kaja R.W.: Fourth Inter. Symp. Bovine Leukosis, Bologna 1980, s. 191.
12. Parafanovich M., Zdanow V. M., Kolomits N. D., Lazarenko A.A.: Ann. Rech. Vet. 9, 781, 1978.
13. Piper Ch.E., Ferrer J.F., Abt D.D.: J. Natl. Cancer Inst. 62, 165, 1979.
14. Romero C.H., Cruz G.B., Rowe Ch.A.: Trop. Anim. Health Prod. 15, 215, 1983.
15. Rubino M.J., Douhamk J.: Am. J. vet. Res. 42, 1553, 1981.
16. Straub O.C.: Fifth Inter. Symp. Bovine Leukosis, Tubingen 1984, s. 278.
17. Van der Maaten M.J., Miller J.M.: Adv. Comp. Leukemia Res. 29, 1977.
18. Van der Maaten M.J., Miller J.M., Schmerr M.J.: Am. J. vet. Res. 42, 1498, 1981.
19. Vasiliev A.A., Kondaurow B.J.: Veterinarija 12, 52, 1982.

Adres autora: prof. dr hab. Jadwiga Grundboeck-Juško, ul. Kościuszki 19/6, 24-100 Puławy

Грундбек-Юсько Я., Кузьмак Я. — Присутствие антител против вируса энзоотического лейкоза крупного рогатого скота в молозиве молочных коров

Исследовали уровень антител в сыворотке крови 17 положительных серологически коров в период 8 недель перед родами, 2 часа после родов, а также через 7 очередных дней.

Секрет молочной железы брали от этих коров 2 часа после родов и ежедневно 7 дней.

Уровень антител в сыворотке крови и молозиве исследовали тестом ID.

Констатировали корреляцию между уровнем титра антител в сыворотке крови и молозиве, а также периодом их сохранения в молозиве. Средний титр в молозиве является 8-кратно выше титра в сыворотке крови беременных коров, определенного на 2 месяца перед родами.

Grundboeck - Juško J., Kuźmak J. — Appearance of antibodies for bovine leukosis virus (BLV) in colostrum of dairy cows

In 17 serologically positive cows, aged 4—9 years, the titres of BLV-antibodies in blood serum have been estimated eight weeks before delivery, two hours post partum, and then within seven succeeding days. The secretion of mammary gland was collected from these

cows two hours post partum, as well as every day during next week. Both blood serum and colostrum were examined by means of ID test. It has been stated a relationship between the titres of BLV-antibodies in blood sera and in colostrum, as well as between the titre and the survival time of the antibodies in colostrum. The mean titre of antibodies in colostrum occurred to be about eight times higher than that in blood serum of pregnant cows, two months before delivery.

BRONISŁAW KOZAKIEWICZ, LUBOMIR PALKOVIČ*

Pierwszy przypadek masowej inwazji *Cryptosporidium* sp. w fermie gęsi (*Anser anser* L.)*

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Grunwaldzka 250, 60-166 Poznań
* Instytut Parazytologii Czechosłowackiej Akademii Nauk, Branisovska 31, 370 05 Ceske Budejovice, CSRS

Po opisanu w 1907 roku po raz pierwszy przez Tyzsera (17) *Cryptosporidium muris* u myszy — dopiero w ostatnich latach zwrócono uwagę na powszechne występowanie tej parazytozy u kręgowców (9, 12, 20). Szczególnie podkreśla się znaczenie *Cryptosporidium* sp. jako istotnego czynnika enteropatogenicznego u ssaków, w tym szczególnie u cieląt, jagniąt i ludzi (1, 3, 5, 6, 7, 16, 19).

Z kolei kryptosporydii u ptaków opisane zostały po raz pierwszy w 1929 roku przez Tyzsera (18), który stwierdził tego pierwotniaka pasożytniczego w jelitach ślepych kurczęcia (*Gallus domesticus* L.). W 1974 roku Proctor i Kemp w Ames, w stanie Iowa (USA) poddali autopsji jedno gąsienicę w wieku 25 dni, u którego w błonie śluzowej jelita grubego, na podstawie przeprowadzonego badania ultrastrukturalnego — stwierdzili różne stadia rozwojowe kryptosporydii i uznali tego pierwotniaka jako nowy gatunek „*Cryptosporidium anserinum* sp. n.” (15). Jak z powyższego wynika dopiero po upływie 45 lat od daty wykrycia kryptosporydii u kurczęcia — zostały po raz pierwszy stwierdzone kokcydii z rodzaju *Cryptosporidium* u gęsi. Jest to dotychczas jedyna w piśmiennictwie światowym publikacja na temat naturalnego zarażenia kryptosporydiami gęsi domowej.

W publikacjach z okresu ostatnich kilku lat podkreśla się znaczenie inwazji *Cryptosporidium* sp. u kurcząt, zwłaszcza brojlerów (4, 10, 12, 13). U ptaków *Cryptosporidium* sp. występuje nie tylko w jelitach, jak ma to miejsce u ssaków, ale również m.in. w jamie nosowej, krtani, tchawicy, oskrzelach, zatoce podoczodołowej i w worku spojówkowym (2, 4, 10, 12, 13, 14).

Materiał i metody

Materiałem do badań były gęsi w wieku od 2 tygodni do 3 miesięcy losowo wybrane z 7 ferm, w tym 6 należących do producentów indywidualnych i z 1 fermi stanowiącej własność Rolniczej Spółdzielni Pro-

*) Praca wykonana w ramach CPBR 10.4.

dukeyjnej „B” na terenie Wielkopolski. W poszczególnych fermach znajdowało się od około 1200 do 4000 gęsi.

Próby do badań na obecność oocyst *Cryptosporidium* sp. były pobierane w poszczególnych fermach od 36 do 50 losowo wybranych gąsienic. W Fermie Drobiu RSP „B” w Poznaniu — w celu przetestowania różnych metod użyto rurki rektalne oraz strzykawkę jednorazową do pobierania wypluczyny z jamy dziobowej i steku. Technika pobierania prób polegała na wprowadzeniu do jamy dziobowej około 2 ml roztworu fizjologicznego przy użyciu strzykawkę jednorazowej o pojemności 2 ml, przy czym w miejsce igły znajdował się gumowy wężyk o średnicy 2 mm i długości około 5 cm. Płyn natychmiast wysano z powrotem do strzykawkę. Natomiast ze steku pobierano wypluczyny przy użyciu wymienionej strzykawkę bez wężyka gumowego. Następnie 1—2 kropli osobno z każdej strzykawkę umieszczano na szkiełku podstawowym, przykrywano nakrywkowym i badano preparat pod imersją przy powiększeniu 1000X. Technika pobierania prób przy użyciu rurek rektalnych była identyczna jak przy badaniu cieląt na obecność *Cryptosporidium* sp. (8). Ponadto spośród gąsienic wycludzonych z objawami biegunki w RSP „B” — wybrano losowo 3 gąsienice, które bezpośrednio po dokonaniu uboju diagnostycznego — poddano uzupełniającym badaniom na obecność oocyst i form rozwojowych *Cryptosporidium* sp. W tym celu przeprowadzono badania preparatów histologicznych oraz barwionych metodą Giemsa rozmazów z krtani, tchawicy, oskrzeli, worka spojówkowego, jelit, steku i torebki Fabrycjusza. Ponadto przeprowadzono badania bakteriologiczne wymienionych 3 gąsienic. Preparaty histologiczne były wykonane przez Pracownię Anatomohistopatologiczną, a badania bakteriologiczne przez Pracownię Awiatologii ZHW w Poznaniu.

W Fermie Drobiu RSP „B” poddano szczegółowej analizie epizootologicznej warunki środowiskowe. W fermie tej poza około 3200 gąsienicami znajdowało się około 14700 kur niosek oraz około 7500 kurcząt przeznaczonych na nioski. W tych samych kolejnych dniach, w odstępie minimum 1 tygodnia od losowo wybranych 50 gąsienic i 50 kurcząt były pobrane próby do badań na obecność oocyst *Cryptosporidium* sp. W pierwszym dniu badania gąsienice miały 41 dni, a kurczęta 10 dni, z tym, że od kurcząt były pobierane do badań wypluczyny z jamy dziobowej i z kloaki. Powyższe badania miały na celu ustalenie, czy istnieje możliwość zarażenia się kurcząt tym samym gatunkiem, który występuje u gęsi i został określony przez Proctora i wsp. (15) za nowy odrębny gatunek „*C. anserinum*”. W uzupełnieniu należy podać, że stado gąsienic korzystało ze stojącej wody, która