

preparatu, drobnoustroju użytego do testowania, a także odkażonej powierzchni.

Także aktywność prątkobójcza preparatu KN-10, przechowywanego jako 10% roztwór wodny, była mniej trwała niż przetrzymywanego w postaci nie rozcieńczonej. Pierwotne stężenie bójcze (0,5%) w stosunku do *M. avium* utrzymywało się 1–2 tyg., gdy preparat był przetrzymywany w temperaturze pokojowej i 2–8 tygodni w warunkach chłodni.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że preparat KN-10, sporządzony w Instytucie Chemii Przemysłowej na bazie kwasu nadoctowego, wykazuje dużą aktywność bakterio-, sporo- i wirusobójczą. W postaci wodnych roztworów działa on szybko w niskich stężeniach „*in vitro*”, a w odpowiednio wyższych — na powierzchniach różnych tworzyw. Powierzchnie gładkie łatwiej ulegają odkażeniu, chropowate wymagają natomiast wyższych stężeń preparatu. Podobne wyniki uzyskał Kretzschmar (9), badając działanie Wofasterilu. Preparat ten zabijał testowe drobnoustroje w niższych stężeniach — gdy nośnikiem było drewno, aluminium lub szkło, w wyższych zaś — gdy nośnikiem był beton lub płytki azbestowe. Także badania Krzywickiej (10, 11), Eggenspergera (3) i innych badaczy (3, 16) świadczą, że powierzchnie gładkie znacznie łatwiej poddają się odkażaniu kwasem nadoctowym niż porowate.

Dużą zaletą preparatów dezynfekcyjnych, sporządzonych na bazie kwasu nadoctowego, jest możliwość ich stosowania w pomieszczeniach częściowo obsadzonych zwierzętami, bez zagrożenia dla ich zdrowia. Badania przeprowadzone przez Heinze i wsp. (5) wykazały, że działanie 0,5% i 0,6% roztworu Wofasterilu przez 15 minut w ciągu doby, przez okres 29 dni nie powodowało zmian w obrazie krwi u myszek. Także badania przeprowadzone na cielętach i świnich (5) nie ujawniły ujemnego działania kwasu nadoctowego na obraz biało- i czerwonekrwinkowy.

Wnioski

1. Preparat KN-10 sporządzony na bazie kwasu nadoctowego jest dobrym środkiem dezynfekcyjnym, cechującym się silnym działaniem bakterio-, sporo- i wirusobójczym.

2. Zanieczyszczenia organiczne, takie jak: kał lub surowica krwi, w stosunkowo niewielkim stopniu obniżają aktywność roztworów tego preparatu.

3. Preparat KN-10, przetrzymywany w postaci nie rozcieńczonej, zachowuje swą pierwotną aktywność bójczą *in vitro* przez okres co najmniej 10 miesięcy. Roztwory wodne preparatu tracą stopniowo działanie bójcze, szybciej w temperaturze pokojowej, wolniej w chłodni.

Piśmiennictwo

1. Bayliss C. E., Waites W. M., King N. R.: J. appl. Bact 50, 379, 1981.
2. Cervova J.: Cs. Epidem. 17, 176, 1968.
3. Eggensperger H.: Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. B. 168, 517, 1979.
4. Fleming H. C.: Zentbl. Bakt. Parasitkde I 179, 97, 1984.
5. Heinze W.: Mh. Vet.-Med. 34, 212, 1979.
6. Heinze W., Werner E., Fischer A. R.: Mh. Vet.-Med. 36, 343, 1981.
7. Hussein S. N., Ruby K. R.: Vet. Res. 98, 257, 1976.
8. Karpiński T., Zórawski C., Skwarek P.: Medycyna Wet. 39, 562, 1983.
9. Kretzschmar Ch., Agerth R., Bauch R., Friedrich D.: Mh. Vet.-Med. 37, 324, 1972.
10. Krzywicka H., Sadowska B.: Roczniki PZH 21, 227, 1970.
11. Krzywicka H., Sadowska B.: Roczniki PZH 21, 595, 1970.
12. Krzywicka H., Sadowska B.: Roczniki PZH 22, 99, 1971.
13. Melicherikova V.: Csika Epidem. Mikrobiol. Immunol. 30, 105, 1981.
14. Paulas M.: Vet. Med. Praga 16, 193, 1971.
15. Sporckenbach J., Wiegiers K. J., Dernick R.: Zbl. Bakt. Hyg., I Abt. Orig. B. 173, 425, 1981.
16. Steiger A.: Desinfektion. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1983.
17. Werner H. P., Wewalka G.: Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B. 157, 387, 1973.
18. Zórawski C., Skwarek P., Pawiak R.: Mikrobiologiczne metody badania chemicznych środków dezynfekcyjnych do celów weterynaryjnych. IWet. Puławy, 1989.
19. Zórawski C., Skwarek P., Kłopotek A., Osińska L.: Medycyna Wet. 36, 77, 1991.

Adres autora: prof. dr hab. Cezariusz Zórawski, ul. 20-lecia PRL 6 m. 16, 34-100 Puławy

JERZY KITA, KRZYSZTOF ANUSZ, MAGDALENA ZALESKA, STEPHEN LEŚNIEWSKI

Wstępne wyniki badań nad monitorowaniem zakażeń stad bydła wirusem IBR/IPV przez wykorzystanie zbiorczych próbek mleka w teście ELISA

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

Summary

Preliminary results on the monitoring of cattle herds for IBR/IPV infections using bulk milk in the ELISA

Bulk milk samples were tested for the presence of antibody to IBR/IPV virus using the ELISA (Bommeli, Ch). Of 4 large dairy herds 2 were infected. Six asymptomatic infected animals were found in each of the positive herds.

IBR/IPV virus antibodies were not found in individual milk samples from small family farms.

These results confirm the monitor cattle herds, which will allow to be able to identify the epizootologic situation in the country and eventually the undertaking of a control program.

Przeprowadzone badania są wstępem do wprowadzenia programu monitorowania zakażeń stad bydła wirusem IBR/IPV.

Podstawą stosowanych programów zwalczania zakażeń wirusem IBR/IPV jest diagnostyka laboratoryjna, ujawniająca zwierzęta serologicznie dodatnie (1, 3, 4, 5, 8, 10). W diagnostyce serologicznej najczęściej stosuje się jedną z kilku odmian testu seroneutralizacji (SN) lub test ELISA.

Test seroneutralizacji nie zawsze jest skuteczny, ponieważ w dużym stopniu zależy od jakości hodowli komórkowych w laboratoriach diagnostycznych. Jego wykonanie jest czasochłonne, a wynik znany dopiero

po kilku dniach. Wadą jest również to, że na wynik mogą mieć wpływ niespecyficzne inhibitory, często obecne w surowicy krwi (3).

Test ELISA jest szczególnie przydatny w dużych programach zwalczania zakażeń wirusem IBR/IPV. Istnieje wtedy konieczność wykonywania wielu tysięcy badań serologicznych. Wykazano, że test ten jest co najmniej tak czuły, jak test seroneutralizacji, przy tym tańszy i szybszy, co pozwala w krótkim czasie przebadać dużą liczbę próbek (4, 7, 9). Jedyną trudnością, jaka występuje w teście ELISA jest interpretacja reakcji barwnej w przypadku próbek surowic reagujących między słabo pozytywnie a negatywnie. Jednak statystycznie tylko 5 na 1000 próbek prezentuje takie reakcje. W teście SN w takich przypadkach nie ma żadnej reakcji. Jeszcze czulszym od testu ELISA jest Blocking ELISA (2, 7).

Biorąc pod uwagę stosowane programy zwalczania zakażeń wirusem IBR/IPV, ogromną zaletą testu ELISA jest możliwość badania pojedynczych lub zbiorczych próbek mleka (7). Metoda koncentracji przeciwciał w mleku pozwala na określenie sytuacji epizootologicznej zakażenia wirusem IBR/IPV w całym stadzie po zbadaniu zbiorczej próbki mleka. Ta metoda kontroli serologicznej jest szczególnie przydatna w stadach, w których przez dłuższy czas nie stwierdzono obecności zwierząt serologicznie dodatnich. Jeśli natomiast w takim stadzie jedno z okresowych badań serologicznych zbiorczej próbki mleka wykaże obecność zwierząt serologicznie dodatnich, należy zbadać próbki surowic lub pojedyncze próbki mleka od wszystkich zwierząt, a następnie wyeliminować zwierzęta serologicznie dodatnie.

Celem pracy była ocena metody rozpoznawania zakażeń stad bydła wirusem IBR/IPV, opartej na badaniach zbiorczych próbek mleka w teście ELISA.

Materiał i metody

Pobrano pojedyncze próbki mleka od 604 krów, rasy ncb, w wieku od 2 do 9 lat, z gospodarstw należących do ośrodków hodowli zarodowej (OHZ) na terenie województwa leszczyńskiego, szczecińskiego i piotrkowskiego. Pobrano również pojedyncze próbki mleka od 18 krów z gospodarstw indywidualnych z terenu województwa piotrkowskiego.

Jeden zestaw pojedynczych próbek mleka od krów z poszczególnych stad łączono w próbki zbiorcze (liczba pojedynczych próbek mleka w próbce zbiorczej zależała od liczby krów w stadzie). 18 pojedynczych próbek od krów z gospodarstw indywidualnych połączono w 1 próbkę zbiorczą (tab. 1). Drugi zestaw tych samych pojedynczych próbek mleka zachowano w celu wykrycia zwierząt serologicznie dodatnich w stadach, w których w zbiorczej próbce mleka stwierdzono obecność przeciwciał przeciwko wirusowi IBR/IPV.

Zbiorcze i pojedyncze próbki mleka do testu ELISA (Bommeli, Szwajcaria) przygotowywano według metody opisanej przez Forschnera i Büngera (6). Do próbek dodawano 10% podpuszczkę w ilości 0,2 ml/10 ml mleka. Po inkubacji (1 godzina, 37°C) próbki wirowano 20 minut przy 900 g. Po usunięciu tłuszczu zlewano serwatkę i wytrącano kazeinę 40% siarczanem amonu w ilości 14 ml/14 ml serwatki. Po wymieszaniu na wytrząsarce przez 30 minut próbkę odstawiano na 1 godzinę, a następnie wirowano przy 1650 g przez 20 minut. Po odlaniu supernatantu osad rozpuszczano w buforze do rozcieńczeń. Do oceny kolorymetrycznej wyników testu ELISA używano czytnika Mini-reader MR 590 (Dynatech, USA).

Na podstawie dotychczasowych badań zaleca się, aby próbka zbiorcza mleka, badana testem ELISA, nie pochodziła od większej liczby zwierząt niż 50, lub nieznacznie przekraczała tę liczbę. Istnieje wtedy pewność uzyskania

Tab. 1. Wyniki badania serologicznego zbiorczych próbek mleka w kierunku wykrycia przeciwciał przeciwko wirusowi IBR/IPV

Liczba próbek zbiorczych (p.z.)	Liczba próbek pojedynczych w p.z.	Gospodarstwo	Województwo	Liczba p.z. dodatnich (ELISA)
1	18	GI	I	—
2	41	PGR	I	1
3	34	OHZ	II	1
4	40	OHZ	III	—
3	60	OHZ	III	—

Objaśnienia: GI — Gospodarstwo Indywidualne, PGR — Państwowe Gospodarstwo Rolne, OHZ — Ośrodek Hodowli Zarodowej, I — piotrowskie, II — szczecińskie, III — leszczyńskie.

wyniku dodatniego nawet wtedy, gdy tylko jedno zwierzę spośród tych, od których pochodzi próbka zbiorcza, jest zakażone (7).

Wyniki i omówienie

Obecność przeciwciał przeciwko wirusowi IBR/IPV stwierdzono w 1 próbce zbiorczej mleka na 3 badane z OHZ-N oraz w 1 na 2 badane z woj. piotrkowskiego (tab. 1). Tak więc na 4 badane stada bydła hodowli wielkostadnej 2 okazały się zakażone. W każdym z nich badanie serologiczne pojedynczych próbek mleka wykazało 6 zwierząt zakażonych bezobjawowo.

Wyniki potwierdzają celowość serologicznych badań monitorowych stad bydła, co pozwoli w przyszłości na określenie sytuacji epizootologicznej kraju i ewentualne podjęcie programu zwalczania. Przykładem potwierdzającym skuteczność programów zwalczania zakażeń wirusem IBR/IPV, których podstawą jest kontrola serologiczna, jest Szwajcaria. Kraj ten jest obecnie wolny od zakażenia (3, 4).

Pocieszającym jest fakt, że nie stwierdzono obecności przeciwciał przeciwko wirusowi IBR/IPV w próbce zbiorczej mleka utworzonej z próbek pojedynczych mleka od krów z gospodarstw indywidualnych.

Piśmiennictwo

- Bauer K., Gebermann H., Schittdiel E., Winterall G.: Tierarztl. Umschau 35, 594, 1980.
- Bitsch V.: Mat. Sesji nauk. Postępy w diagnostyce i zwalczaniu zakażeń wirusem IBR/IPV u bydła. Katedra Epizootologii Wydz. Wet. SGGW-AR, Sekcja Epizootologiczna PTNW, Warszawa 1985, s. 5 (maszynopis).
- Bommeli W.: Mat. Sesji nauk. Postępy w diagnostyce i zwalczaniu zakażeń wirusem IBR/IPV u bydła. Katedra Epizootologii Wydz. Wet. SGGW-AR, Sekcja Epizootologiczna PTNW, Warszawa 1985, s. 20 (maszynopis).
- Bommeli W.: Curr. Topics Vet. Med. Animal Sci. 22, 242, 1982.
- Deputa W.: Medycyna Wet. 46, 385, 1990.
- Forschner E., Bünger I.: Dt. tierärztl. Wschr. 93, 112, 1988.
- Forschner E., Bünger I., Küttler D., Mehrkens L.: Dt. tierärztl. Wschr. 93, 281, 1988.
- Frey H. R., Hirschert R., Teichmann U., Schröder R.: Dt. tierärztl. Wschr. 81, 607, 1974.
- Kita J., Anusz K., Kowalski B.: Program stopniowego uwalniania SH i UZ od zakażeń wirusem IBR/IPV. Wstępne badania serologiczne inwentaryzacyjne w wybranych SH i UZ. Sprawozdanie z działalności naukowo-badawczej za 1986 r., Instytut Wet. Puławy, 1984, s. 158.
- Saunders J. R., Wetzstein M. A., Prior M. G.: Can. Vet. J. 13, 240, 1972.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Kita, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa