

oraz stosunkowo niska immunogenność szczepionek sprawia, że program szczepień przeciwko *hardjo* raz rozpoczęty, musi być skrupulatnie kontynuowany. Przerwanie cyklu endemicznego powoduje wstrzymanie naturalnej immunizacji młodych zwierząt. Ponowne wprowadzenie *hardjo* do stada, które było przez jakiś czas szczepione, a następnie zaniechano szczepień, może spowodować wystąpienie klinicznej choroby, jak w stadzie wrażliwym (23). Bydło należy szczepić w 4—6 miesiącu życia. Podaje się 2 dawki szczepionki co 4 tygodnie. Ochrona poszczepienna trwa około 8—12 miesięcy, zatem doszczepianie należy przeprowadzać raz w roku w stadach zamkniętych lub co pół roku w stadach otwartych. Dodatkowo, w stadach z leptospirozą endemiczną, należy szczepić krowy w późnej ciąży. Uzyskuje się przez to bierną ochronę cieląt (18, 25).

Fakt szczepienia bydła przeciwko leptospirozie należy uwzględnić przy interpretacji wyników badań serologicznych, ze względu na miana poszczepienne utrzymujące się około 3 miesięcy (29). Różnice w budowie antygenowej serowariantów leptospir sprawiają, iż nie występuje pomiędzy nimi zjawisko krzyżowej odporności. Dlatego dla skutecznego zapobiegania leptospirozie należy stosować szczepionki przygotowane z serowariantów leptospir występujących endemicznie na danym terenie (18, 24). Z tego względu badania epizootologiczne leptospirozy są nieodzownym ogniwem każdego programu zwalczania tej choroby.

Ważną rolę w zwalczaniu leptospirozy była i jej zapobieganiu odgrywają dobre warunki zoohigieniczne stada. Limitują one skuteczność kontroli leptospirozy, gdyż redukują potencjalną ekspozycję na zakażenie. Zmniejszeniu ekspozycji na zakażenie leptospirami sprzyja usuwanie ze stada chronicznych siewców, kontrola gryzoni w środowisku oraz osuszanie terenu likwidujące możliwość przetrwania leptospir poza organizmem żywym.

Piśmiennictwo

1. Bahaman A. R., Marshall R. B., Heilstrom J. S.: New. Zeland Vet. J. 32, 143, 1984.
2. Colares-Pereira M., Rocha T. R.: Zoonoses Congress Intern. Particip. Vith Joint Meeting Europ. Leptospira Work., Brno, 29.08—1.09.1988, s. 7, 29.
3. Ellis W. A., Montgomery J., Cassels J. A.: Res. Vet. Sci. 39, 292, 1985.
4. Ellis W. A., O'Brien J. J., Bryson D. G., Mackie D. P.: Vet. Rec. 117, 101, 1985.
5. Ellis W. A., O'Brien J. J., Neill S., Hanna J.: Vet. Rec. 110, 178, 1982.
6. Ellis W. A., O'Brien J. J., Cassels J. A.: Res. Vet. Sci. 39, 296, 1985.
7. Faure S.: Guidelines for the control of leptospirosis, WHO Offset Publication No 67, 49, 1982.
8. Hathaway S. C., Pritchard D. G., Little T. W. A.: Zbl. Bakt. Hyg. A 257, 527, 1984.
9. Hathaway S. C., Todd J. N., Headlam S. A., Jeffrey M.: Vet. Rec. 115, 623, 1984.
10. Herr S., Riley A. E., Naser J. A., Roux D., De Lange J. F.: Onderstepoort J. Vet. Res. 49, 57, 1982.
11. Houwers D. J., Bokhout B. A., Koger P., Peterse D. J., Terpstra W. J.: Zoonoses Congress Intern. Particip. Vith Joint Meeting Europ. Leptospira Work., Brno, 29.08—1.09.1988, s. 7, 31.
12. Kemenes F.: Zoonoses Congress Intern. Particip. Vith Joint Meeting Europ. Leptospira Work., Brno, 29.08—1.09.1988, s. 7, 34.
13. Le Febvre R. B.: J. Clin. Microbiol. 25, 2236, 1987.
14. Marshall R. B., Winter P. J., Thierman A. B., Ellis W. A.: Vet. Rec. 177, 689, 1985.
15. Milner A. P., Wilks O. R., Calvert K.: Australian Vet. J. 56, 327, 1980.
16. Nowak J.: Medycyna Wet. 32, 406, 1983.
17. Oie S., Hironaga K., Kashiro A.: Antimicrobial Agents and Chemotherapy 24, 965, 1983.
18. Pinney C. C.: Southwestern Vet. 37, 51, 1986.
19. Prescott J. E., Nicholson R. B., Martin S. W., Lesnik T.: Can. J. Vet. Res. 52, 210, 1988.
20. Schonberg A., Hahn B.: Zoonoses Congress Intern. Particip. Vith Joint Meeting Europ. Leptospira Work., Brno, 29.08—1.09.1988, s. P 21.
21. Slee K. J., McOrist S., Skilbeck N. W.: Australian Vet. J. 60, 204, 1983.
22. Songer J. C., Chillelli C. J., Marshall M. M., Noon T. H., Meyer R.: Am. J. Vet. Res. 44, 1763, 1983.
23. Stalheim O. H. V.: J. Am. Vet. Med. Ass. 182, 1156, 1983.
24. Thiermann A. B.: J. Am. Vet. Med. Ass. 183, 838, 1983.
25. Thiermann A. B.: J. Am. Vet. Med. Ass. 184, 722, 1984.
26. Thompson J. C.: J. Comp. Path. 96, 517, 1986.
27. Thompson J. C., Manktelow B. W.: J. Comp. Path. 95, 529, 1986.
28. Trap D., Gaumont R.: Rep. 10th Conf. Region. Commission OIA for Europe, London, 20.09—1.10.1982, s. II/7.
29. Tripathy D. N., Smith A. R., Hanson L. E.: Am. J. Vet. Res. 36, 1735, 1975.
30. Tshimoto M., Kida H., Yanagawa R., Inui S.: Jpn. J. Vet. Sci. 45, 811, 1983.
31. Zwierz J., Karmańska K., Konarska D.: Medycyna Wet. 22, 85, 1966.

Adres autora: dr Teresa Kocik, ul. Telimeny 61, 80-240 Gdańsk

JERZY MOLENDĄ, ANNA CZAJKOWSKA, ELŻBIETA SOBIECH, ZBIGNIEW SEMKA

Zastosowanie koagulacji do wykrywania antygenów K88, K99, 987P i F41 u *Escherichia coli* patogennych dla zwierząt*)

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Rodakowskiego 6, 50-966 Wrocław

Summary

The apply of coagglutination to detect K88, K99, 987P and F41 antigens in *Escherichia coli* pathogenic for animals

Using of coagglutination test for the detection of adhesive antigen K88, K99, 987P and F41 on *E. coli* pathogenic for animals was investigated. The preparations of the adhesive antigens have been prepared from *E. coli* reference strains: K12:K88, K12:K99, O9:K103, 987P, O101:F41 and were inoculated into rabbits. The immune sera had been used in preparing of the coagglutination reagents, employed in the examinations. The same efficacy both of the tests were stated when the results of the adhesive antigen detection on the reference strains and on the strains isolated from animals with colibacillosis by conventional agglutination and coagglutination had been compared. On some of the strains however, the other adhesive antigen could be recorded only by use of the coagglutination. It was concluded, that the coagglutination as a simple and real test should be employed in the laboratory diagnostics of the pathogenic *E. coli*.

Odczynnik koagulacji jest szybką i specyficzną metodą wykrywania antygenów typowo-swoistych u bakterii takich, jak: *Diplococcus pneumoniae* (9), *Salmonella* (1, 17), czy *Legionella pneumophila* (4). Znalazł także zastosowanie w diagnozowaniu antygenów CFA I i CFA II u enterotoksycznych szczepów *E. coli* (ETEC) patogennych dla człowieka (5, 7) oraz antygenów fimbrialnych K88 i K99 u szczepów powodujących zachorowania zwierząt (14). Koagulacja jest testem bardziej czułym od aglutynacji szkiełkowej, wykrywającym znacznie mniejsze ilości antygeny, w tym również antygenów znajdujących się w ekstraktach komórek bakteryjnych (5, 7, 17). Do jej wykonania niezbędne są odczynniki swoście reagujące z odpowiednimi antygenami badanych bakterii. Odczynniki te przygotowuje się przez adsorpcję surowic diagnostycznych na komórkach gronkowców złocistych. W metodzie tej wykorzystywana jest zdolność wybiórczego wiązania fragmentu Fc cząsteczki IgG przez białko A, wytwarzane w znacznej ilości przez szczep Cowan I *S. aureus*. W połączenia

*) Praca zrealizowana w ramach tematu CPBR 33/10.4/86.

te więc nie są zaangażowane fragmenty Fab cząsteczki immunoglobuliny G, zawierające receptory dla antygenów. Zatem, przy połączeniu się receptorów przeciwciała z komplementarnymi receptorami antygenów następuje agregacja komórek gronkowców, obrazująca dodatni wynik reakcji.

Celem podjętych badań była adaptacja odczynu koagulacji do diagnozowania antygenów adhezyjnych K88, K99, 987P i F41 wytwarzanych przez ETEC patogenne dla zwierząt. Podjęto więc próbę wyprodukowania i zastosowania w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej odczynników koagulacyjnych, wykrywających adhezyny pałeczek okrężnicy, uznane za czynniki chorobotwórczości tych bakterii.

Materiał i metody

Przygotowanie preparatów antygenów adhezyjnych K88, K99, 987P i F41. Do przygotowania powyższych antygenów adhezyjnych użyto referencyjnych szczepów *E. coli* D-1762 (K12:K88), D-1761 (K12:K99), i O9:K103, 987P otrzymanych z Statens Serum Institut, *E. coli* and Klebsiella Centre w Kopenhadze oraz szczepu *E. coli* O101:F41 pochodzącego z Bezirksinstitut für Veterinärwesen w Dreźnie. Ponadto antygen K88 przygotowano także z terenowego szczepu *E. coli* O149:K91, K88, wyosobnionego od prosiąt padłych na kolibakteriozę. Preparaty każdej adhezyny przygotowano dwiema różnymi metodami w celu porównania jakości uzyskanych antygenów.

Metoda I, wg Morrisa i wsp. (12). Z wyrosłych po 18-godzinnej hodowli w temp. 37°C na podłożu agarowym z dodatkiem 5% krwi baraniej szczepów referencyjnych, sporządzono zawiesiny w PBS pH 7,3 o koncentracji 10¹⁰ komórek w 1 ml. Bakterie wytrząsano przez 90 minut w łaźni wodnej o temperaturze 60°C (łaźnia wodna z wstrząsarką) przy 120 obr/min. Po usunięciu osadu (wirowanie 3000 × g przez 20 minut), supernatant precypitowano obniżając kwasem solnym jego pH do wartości 4,0. Powstały supernatant rozpuszczano w dwukrotnie mniejszej od początkowej objętości PBS i ponownie precypitowano przez obniżenie pH. Postępowanie to powtarzano jeszcze dwukrotnie, rozpuszczając ostatni precypitat w 1/5 początkowej objętości PBS.

Metoda II, wg Bijlsma i wsp. (2). Szczepy *E. coli* wyrosłe po 18 godzinach hodowli w temp. 37°C na podłożu agarowym (Tryptic Soy Agar, Difco), zmywano 0,05 M buforem TRIS HCl + M NaCl pH 7,4 i przygotowywano zawiesinę o koncentracji 10¹¹ bakterii w 1 ml. Zawiesinę tę homogenizowano przy 20 000 obr/min. przez 30 minut (homogenizer typ 302, Mechanika Precyzyjna Warszawa) umieszczając pojemnik homogenizera w łaźni z lodem. Potem homogenat wirowano przy 50 000 × g przez 60 minut (ultrawirówka VAC 602, Janetzki), zbierano supernatant i precypitowano go siarczanem amonowym (60% nasycenia roztworu) w temp. 4°C. Precypitat oddzielano przez wirowanie (15 000 × g przez 15 minut) i rozpuszczano w niewielkiej ilości PBS, pH 7,3 i dializowano wobec wody destylowanej w celu usunięcia jonów SO₄⁻.

Zawartość białka w przygotowanych preparatach oznaczano wg metody Bradforda (3), doprowadzając jego koncentrację do około 2,5 mg/ml (ultrafiltracja, Amicon, membrana PM 10).

Przygotowano dwa rodzaje surowic odpornościowych przeciw antygenom adhezyjnym K88, K99, 987P i F41: pierwszy, uodporniający króliki szczepami referencyjnymi wg metody Farisa i wsp. (7), drugi — przygotowanymi preparatami antygenów zgodnie z metodą Rönberga i Wadströma (16). W razie konieczności surowice absorbowano bezfimbriałnymi odmianami szczepów użytych do uodpornienia lub szczepami heterologicznymi (6, 7).

Swoistość przygotowanych surowic i antygenów badano posługując się odczynami: mikroaglutynacji płytowej, immunodifuzji żelowej i immunoelektroforezy. Odczyn mikroaglutynacji płytowej wykonano wg metody zastosowanej we wcześniejszych badaniach (10). Odczyn immunodifuzji wykonywano na pokrytych żelom (1% agarozą w PBS pH 7,3) szkiełkach podstawowych w ilości 0,13 ml/cm². W żelu wycinano baseniki o średnicy 3 mm w układzie rozetowym, stosując odstępy 5 mm. Odczyn immunoelektroforezy wykonywano mikrometodą w aparacie OE 103 (Labor Muszeripari, Budapest). Rozdziału dokonywano

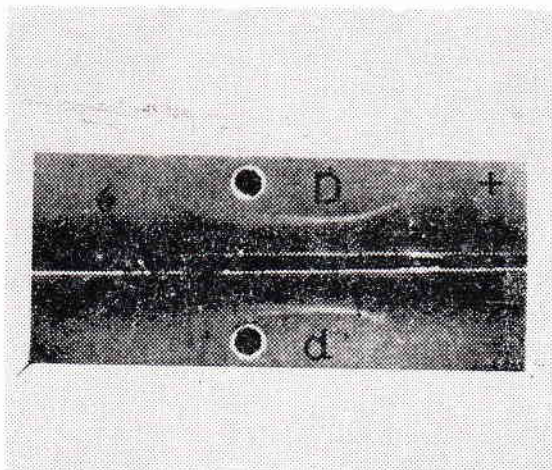
buforze weronalowym pH 8,6 o sile jonowej 0,1, stosując napięcie 6V/cm przez 60 minut. Płytki z nośnikiem żelowym umieszczano w komorze wilgotnej na 24 godziny w temperaturze pokojowej, po czym odczytywano wyniki.

Przygotowanie odczynników koagulacyjnych. Osad 24-godzinnej hodowli bulionowej gronkowca złocistego (*S. aureus* ATCC 12598, CCM brno) przemycano trzykrotnie w PBS, a następnie zawieszano w PBS z dodatkiem 0,5% formaliny i przetrzymywano w temp. 37°C przez 3 godziny, po czym — po ponownym przemyciu — sporządzano 10% zawiesinę bakterii w PBS z dodatkiem 0,1% azydru sodu. W celu związania białka A gronkowca z fragmentem Fc IgG przeciwciał do 1 ml przygotowanej zawiesiny dodawano 0,1 ml odpowiedniej surowicy i przetrzymywano w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Potem, po oddzieleniu bakterii (wirowanie 3000 × g przez 30 minut) i trzykrotnym przemyciu, sporządzano z nich 2% (obj./obj.) zawiesinę w PBS z dodatkiem 0,1% azydru sodu i kontrolowano swoistość otrzymanych odczynników wobec szczepów referencyjnych.

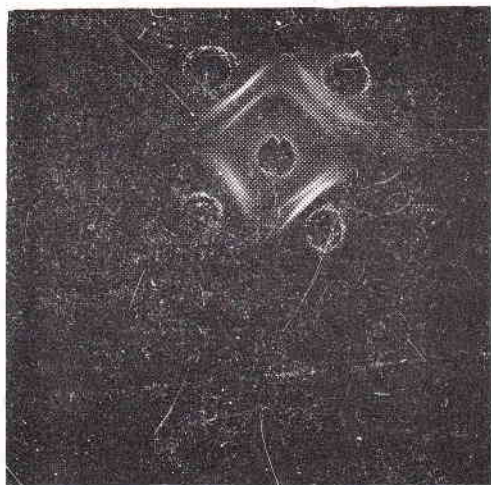
Wykonanie odczynu. W około 50 mcl odpowiedniego odczynnika koagulacyjnego zawieszano 1 kolonię badanego szczepu *E. coli*. Wystąpienie aglutynacji w okresie 30 sekund odczytywano jako wynik dodatni.

Wyniki i omówienie

Swoistość przygotowanych antygenów adhezyjnych kontrolowano odczynami immunoelektroforezy i immunodifuzji żelowej wobec surowic przeciw szczepom użytym do ich produkcji oraz przeciw przygotowanym antygenom. Antygeny K88, K99, i 987P w odczynie immunoelektroforezy reagowały z homologicznymi przeciwciałami wytworzeniem prążków precypitacyjnych w strefie anody. Wskazuje to na ich ujemny ładunek elektryczny, charakterystyczny dla tych odmian adhezyn (11). Antygen F41 w podobnych badaniach wykazywał dodatni ładunek elektryczny, co wg Morrisa i wsp. (12) jest właściwością znamioną dla tych fimbrii swoistych. Nie stwierdzono różnic między preparatami tych samych adhezyn uzyskanymi różnymi metodami, porównywanymi w odczynie immunoelektroforezy (ryc. 1). Przebieg prążków precypitacyjnych dowodzi bliskiego podobieństwa, jeśli nie identyczności struktury immunochemicznej porównywanych preparatów. Nie stwierdzono także różnic między poszczególnymi preparatami antygenu K88, otrzymanymi czy to ze szczepu laboratoryjnego, czy pochodzącego od prosiąt z kolibakteriozą (ryc. 2). Uzyskane antygeny adhezyjne posiadały znaczną swoistość serologiczną, czego dowodzą ich dodatnie reakcje w odczynie immunodifuzji żelowej je-



Ryc. 1. Odczyn immunoelektroforezy preparatów antygenu K99, przygotowanych wg metody I (D) i II (d) wobec przeciwciał anti-*E. coli* K12:K99



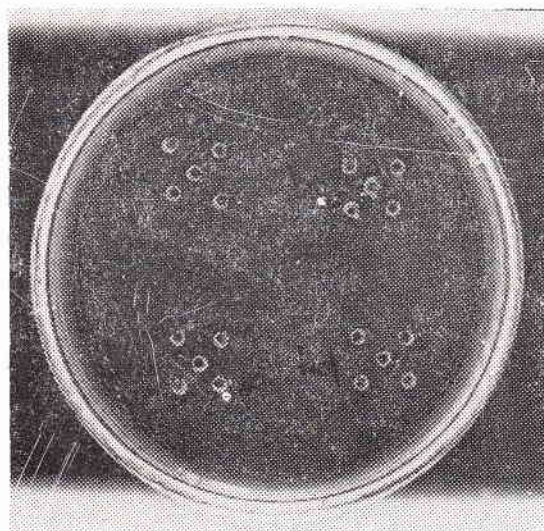
Ryc. 2. Wyniki immunodyfuzji preparatów antygeny K88, przygotowanych metodami I i II z szczepów: laboratoryjnego K12:K88 i terenowego O149:K91, K88 wobec przeciwciał anty-K88 (surowica OK149:K91, K88 adsorbowana szczepem *E. coli* O149:K91)

Objaśnienia: Antygen przygotowany ze szczepu O149:K91, K88 wg metody I (a) i II (b); antygen przygotowany ze szczepu K12:K88 wg metody I (c) i II (d).

dynie w układzie homologicznym, przy braku reakcji krzyżowych (ryc. 3).

Stwierdzono natomiast różnice w reakcji antygenów K88 w odczynie immunodyfuzji żelowej z monospecyficznymi przeciwciałami anty K88, pochodzącymi z surowic: anty-K12:K88, adsorbowanej szczepem K12:K99 oraz anty-OK149:K91, K88, adsorbowanej odmianą bezfimbriałną tego szczepu. Te ostatnie przeciwciała ujawniały podwójne prążki precypitacyjne (ryc. 2), podczas gdy z pierwszymi występowały tylko pojedyncze linie (ryc. 3). Sugeruje to obecność w tych preparatach determinant nie wykrywanych przez przeciwciała indukowane przez laboratoryjny szczep K12:K88.

Powyższe badania wykazały swoistość przygotowanych antygenów adhezyjnych, wobec czego użyto ich do produkcji surowic odpornościowych, potrzebnych do przygotowania odczynników koaglutynacyjnych. Założono przy tym, że indukcja przeciwciał preparatami adhezyn, a nie szczepami referencyjnymi, znacznie zredukuję zakres odpowiedzi immunologicznej, ograniczając ją w głównej mierze do dominującego antygeny. Swoistość poszczególnych immunosurowic kontrolowano odczynem mikroaglutynacji płytowej. Miana z antygenami homologicznymi osiągały wysokość 1:1024 do 1:2048, a niskie miana w układach heterologicznych usuwano przez absorpcję. Surowic tych użyto do produkcji odczynników koaglutynujących antygeny adhezyjne *E. coli* K88, K99, 987P i F41, kontrolując ich swoistość w reakcjach ze szczepami referencyjnymi oraz 152 szczepami wyosobnionymi od prosiąt, cieląt i jagniąt padłych na kolibakteriozę. Wyniki tych badań przedstawiono w tabeli 1. U około 20% szczepów z przypadków chorobowych zdiagnozowano jedynie antygeny adhezyjne, ponieważ dokonanie pełnej serotypizacji nie było możliwe przy pomocy posiadanego zestawu surowic diagnostycznych. Nie stwierdzono jednak rozbieżności wyników identyfikacji tych antygenów dokonanej za pomocą surowic diagnostycznych i odczynników koaglutynacyjnych. U kilku szczepów wyosobnionych z przypadków chorobowych stwierdzono obecność dwóch odmian fimbrii swoistych. Występowanie drugiej adhezyny stwierdzono jedynie w odczynie ko-



Ryc. 3. Ocena swoistości preparatów antygenów adhezyjnych przy zastosowaniu odczynu immunodyfuzji żelowej

Objaśnienia: Surowice przeciw preparatom adhezyn: K88 (I), K99 (II), 987P (III), F41 (IV). Antygeny adhezyjne K88 (1), K99 (2), 987P (3), F41 (4).

Tab. 1. Ocena swoistości odczynników koaglutynacyjnych

Serotyp	Liczba szczepów	Liczba szczepów reagujących z odczynnikami koaglutynacyjnymi			
		K88	K99	987P	K41
K12:K88*	1	1	—	—	—
O149:K91, K88	74	74	—	4	—
O141:K85, K88	7	7	—	—	—
O115:K88	2	2	—	—	—
O147:K89, K88	2	2	—	—	—
O157:K88*	1	1	—	—	—
O8:K97, K88	4	4	—	—	—
O138:K81	3	—	—	—	—
O138:K82	6	—	—	—	—
O141:K85	3	—	—	—	—
O9:K103, 987P*	1	—	—	1	—
O?:987P	12	4	—	12	—
K12:K99*	1	—	1	—	—
O101:K99	19	—	19	—	1
O?:K99	14	—	14	—	1
O101:F41*	1	—	—	—	1
O?:F41	6	—	—	—	6

Objaśnienie: * — szczepy referencyjne.

glutynacji. Właściwości takie wykazano u 4 szczepów serotypu O149:K91, K88 syntetyzujących również antygen 987P oraz u 4 szczepów 987P⁺ o nie oznaczonej przynależności serotypowej, które wytwarzały także adhezynę K88. Podobnie reagowały 2 pochodzące od cieląt szczepy K99⁺, u których oprócz K99 stwierdzono także fimbrie F41.

Przygotowane odczynniki koaglutynacyjne zachowywały przydatność diagnostyczną przez okres co najmniej roku.

Odczyn koaglutynacji wykrywał antygeny K88, K99, 987P i F41 u badanych szczepów *E. coli* tak samo efektywnie, jak konwencjonalne testy aglutynacji szkiełkowej i probówkowej. Stwarza to więc możliwość łatwego i szybkiego wykrywania tych adhezyn u pałeczek okrężnicy wyosobnionych z materiału patologicznego. Powtarzalność wyników gwarantuje stabilność i swoistość odczynników koaglutynacyjnych, wynikające z wybiórczego wiązania frakcji IgG surowic diagnostycznych przez białko A wskaźnikowego szczepu Cowan I. Rzetelność testu jest tym większa, im bardziej oczyszczonych

antygenów używa się do produkcji przeciwciał. Posłużenie się frakcją IgG w miejsce pełnej surowicy do przygotowania odczynnika koaglutynacyjnego w niewielkim stopniu zwiększa jego swoistość, ponieważ białko A wybiórczo wchodzi w połączenia tylko z fragmentem Fc cząsteczki IgG (8). Stąd zastosowanie do indukcji przeciwciał możliwe wysoko oczyszczonych antygenów zmniejsza liczbę epitopów w materiale antygenowym, zmniejszając tym samym prawdopodobieństwo wystąpienia reakcji krzyżowych surowicy.

Swoistość koaglutynacji, równą testowi immunoenzymatycznemu w wykrywaniu fimbrii K88 i K99 wykazał wcześniej Murray (14). Wydaje się zatem, że test ten ze względu na dużą swoistość i prostotę wykonania powinien znaleźć powszechne zastosowanie w diagnozowaniu ETEC patogennych dla zwierząt przez laboratoria weterynaryjne, usprawniając, a często początkując w nich wykrywanie tych adhezyn.

U niektórych szczepów stwierdzono obecność dwóch różnych odmian fimbrii swoistych np. K88 i 987P albo K99 łącznie z F41. Do niedawna uważano, że patogenne dla konkretnego gatunku zwierząt *E. coli* syntetyzują charakterystyczny dla nich typ fimbrii swoistych i że jeden szczep wytwarza jedną odmianę tych adhezyn (18). Nieliczne doniesienia o wyosobnieniu szczepów z adhezynami uważanymi za swoiste dla jednego gatunku zwierząt z zachorowań u innych, wydawały się być wyjątkami, potwierdzającymi regułę (12). Ostatnio jednak wzrasta liczba izolacji szczepów wytwarzających więcej niż jedną odmianę fimbrii swoistych. Stwierdzono je w różnych kombinacjach np. K88 + 987P (15) lub K88 + F41 albo K88 + F41 + F165 (6). Być może u takich szczepów ujawniają się pod presją czynników eko-

logicznych determinowane genetycznie możliwości syntezy nowych adhezyn, zwiększających ich patogenną aktywność.

Wnioski

1. Odczyn koaglutynacji jest wysoce swoistym testem umożliwiającym wykrywanie antygenów adhezyjnych (fimbrii swoistych) u patogennych dla zwierząt pałeczek okrężnicy.

2. Test ten ze względu na dużą swoistość i prostotę wykonania może w poważnym stopniu usprawnić rutynową diagnostykę laboratoryjną kolibakteriozy zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Baloda S., Faris A., Krovacek K., Wadström T.: *Toxicon* 21, 785, 1983.
2. Bijlsma J. G. W., de Nijs A., van der Meer C., Frik J. F.: *Infect. Immunity* 37, 891, 1982.
3. Bradford M. M.: *Anal. Biochem.* 72, 248, 1976.
4. Ehret W., Ruchdeschel G.: *Zbl. Bakt. Hyg. A* 259, 433, 1985.
5. Evans D. G., Evans D. J.: *Infect. Immunity* 27, 638, 1978.
6. Fairbrother J. M., Lariviere Johnson W. M.: *Am. J. vet. Res.* 49, 1325, 1988.
7. Faris A., Liungh A., Wadström T.: *Zbl. Bakt. Hyg. A* 259, 477, 1985.
8. Kronval G., Seal S., Finstad J., Williams R. C. Jr.: *J. Immunol.* 104, 140, 1970.
9. Kronval G.: *J. med. Microbiol.* 6, 187, 1973.
10. Molenda J.: *Pol. Archiw. Vet.* 23, 31, 1981.
11. Morris J. A., Stevens A. E., Sojka W. J.: *J. gen. Microbiol.* 99, 353, 1977.
12. Morris J. A., Thorns C. J., Scott A. C., Sojka J. W., Rutter J. M.: *Infect. Immunity* 6, 918, 1982.
13. Morris J. A., Thorns C. J., Wells G. A. H., Scott A. C., Sojka W. J.: *J. gen. Microbiol.* 129, 2753, 1983.
14. Murray C. J.: *Austr. Vet. J.* 64, 239, 1987.
15. Pohl P., Lintermans P., van Muijlem K., Kaeckenbeeck A., Daube G., Mainil J.: *Ann. Med. Vet.* 133, 431, 1989.
16. Rönnerberg B., Wadström T.: *J. gen. Microbiol.* 17, 1021, 1983.
17. Spennungsen B., Lindbrg A.: *Acta path. Microbiol. Scand.* 86, 283, 1982.
18. Truszczyński M.: *Post. Mikrobiol.* 23, 3, 1984.

Adres autora: doc. dr hab. Jerzy Molenda, ul. Rodakowskiego 6, 50-966 Wrocław

PATOLOGIA I TERAPIA

JANUSZ A. MADEJ

Wrocław

Nowotworzenie jako forma bezładnej „regeneracji” tkanek

Wzrost i rozwój organizmu należą do bardzo złożonych procesów, określanymi mianem zmian rozplemowych lub postępowych. Przez wzrost rozumie się nieodwracalne zwiększenie rozmiarów tkanki lub organizmu, natomiast rozwój czyli ontogeneza dotyczy osobniczego rozwoju ustroju. Ontogeneza związana jest z tym z wytwarzaniem tkanek i organizmów, reprodukcją komórek, starzeniem się ich i w końcu z naturalną śmiercią ustroju. A więc rozwój ontogenetyczny jest to precyzyjnie kontrolowany proces wzrostu i różnicowania się komórek. Oddzielenie obu pojęć, tj. wzrostu i rozwoju jest prawie niemożliwe, gdyż oba te procesy przebiegają z reguły równolegle i są ściśle ze sobą powiązane (7).

I. Wzrost komórek

Okres wzrostu komórek nosi miano cyklu komórkowego, długość którego z reguły trwa 18–24 godzin, przy czym najdłużej przebiega interfaza, tj. czas od zakończenia podziału komórek do rozpoczęcia nowej fazy. W interfazie wyróżnia się takie fazy, jak: G₁, S

i G₂ (G — „gap” — przerwa, S — synteza, głównie DNA). Stanem spoczynkowym komórek jest faza G₀. Wchodzenie komórek w cykl z fazy G₀ wymaga aktywacji i regulacji szeregu reakcji biochemicznych, np. w komórkach dzielących się wzrasta ilość tzw. niestabilnego białka — unstable protein — U-protein (7). W momencie osiągnięcia przez narząd lub tkankę liczby komórek charakterystycznych dla organizmu dorosłego (np. u człowieka ok. 10¹⁵ komórek) liczba komórek będących w cyklu zmniejsza się, a następnie utrzymuje na stałym poziomie. Jest to stan homeostazy mitotycznej (16).

Cykl życiowy komórek prawidłowych nie różni się specjalnie od obserwowanego w komórkach nowotworowych. Różnicę stanowi utrata przez komórki nowotworowe mechanizmów regulujących podział komórek, tj. umożliwiających komórkom prawidłowym przejście lub pozostanie w fazie G₀ cyklu komórkowego (8).

Wśród licznych czynników regulujących procesy wzrostu wyróżnia się polipeptydowe czynniki wzrostu (PGF — polypeptide growth factors) określane mianem hormonów wzrostu (17, 23). Odpowiedź komórki na