

WIESŁAW DEPTUŁA, BEATA TOKARZ

Nieswoista odporność humoralna u lisów polarnych – niebieskich zakażonych naturalnie wirusem nosówki (CDV)

Katedra Mikrobiologii Wydziału Biologii i Nauk o Morzu Uniwersytetu Szczecińskiego,
ul. Felczaka 3a, 71-417 Szczecin

Summary

Unspecific humoral immunity in the polar blue foxes naturally infected with the distemper virus

Dynamic and activity of myeloperoxidase and serum lysozyme, globulins, total protein in the polar blue foxes infected naturally with the distemper virus (CDV) was examined. The two step examinations were done. In the first step the value and activity of the above mentioned parameters of unspecific humoral immunity was registered twice in 24 sick and 22 healthy foxes during sickness and just before death. In the second step the examinations were performed on 10 healthy and 12 sick foxes at the day 1, 4, 7, 10 and 13 of the disease e.g. from the appearance of the first clinical signs up to the death of the examined animals.

Clinical observations, anatomopathological and virological (direct immunofluorescence test using a conjugate prepared by the Biowet Nitra, Czechoslovakia) tests were performed simultaneously with immunological tests. A complex evaluation of breeding system on 5 farms at the first step and on 3 farms at the second step of studies was also done. It was found that the natural infection of foxes with CDV increases the activity of myeloperoxidase and blood serum lysozyme and decreases the level of serum globulins.

Nosówka wśród chorób wirusowych u lisów hodowlanych stanowi nadal pierwszoplanowy problem. Brak jest natomiast, za wyjątkiem obserwacji własnych (1–4, 6) badań immunologicznych u lisów zdrowych oraz zakażonych naturalnie i eksperymentalnie wirusem CDV.

Stąd celowym wydało się prześledzenie u lisów chorych na nosówkę reakcji nieswoistej odporności humoralnej — oznaczając ilość lizozymu (LZM), aktywność mieloperoksydazy (MPO) oraz ilość globulin i białka całkowitego. Praca ta jest kontynuacją badań dotyczących profilu immunologicznego u lisów naturalnie zakażonych CDV (1–4, 6).

Materiał i metody

Doświadczenie przeprowadzono w dwóch etapach w okresie od września do grudnia na 2–4-letnich samicach lisów polarnych — niebieskich pochodzących z 8 ferm drobnotowarowych (w I etapie z 5 ferm — 46 lisów, w drugim z 3 ferm — 22 lisy). Lisy chore (24 sztuki) w I etapie pochodziły z czterech ferm, gdzie nosówka występowała, zaś w II (12 sztuk) z dwóch ferm. Lisy zdrowe (22 sztuki) w I etapie i 10 zwierząt w II etapie, pochodziły z dwóch ferm wolnych od choroby. Podziału zwierząt na chore i zdrowe dokonano na podstawie objawów klinicznych oraz w oparciu o test immunofluorescencji bezpośredniej (IFb), pobierając materiał z rogówki.

W ośmiu badanych fermach poddano także ocenie siedlisko hodowlane poprzez określenie lokalizacji fermy, liczby zwierząt na fermie, rodzaju i jakości obsługi, warunków utrzymania zwierząt w klatkach i w obejściu fermy oraz higieny żywienia (jakość karmy i jej czystość). W ocenie tej uwzględniono także stosowanie lub niestosowanie profilaktyki swoistej (szczepienie przeciwko nosówce, chorobie Rubartha i salmonellozie) i nieswoistej (podawanie witamin lisom młodym i dorosłym).

U zwierząt w I etapie badań krew pobrano z żyły dopustowej, dwukrotnie w odstępach 4–14 dni. Pierwsze pobranie krwi oraz rejestrację objawów klinicznych, jak też ocenę siedliska hodowlanego dokonano u lisów badanych

w momencie stwierdzenia u nich objawów chorobowych wskazujących na nosówkę. Drugie — w kilka godzin przed ich śmiercią. W II etapie doświadczenia krew od zwierząt pobrano 1, 4, 7, 10, 13 dnia choroby, z tym, że ze względu na fakt, że wśród lisów chorych w tym etapie badań były padnięcia, liczba zwierząt objętych badaniem zmniejszyła się na koniec doświadczenia z 12 do 6. Równocześnie z pobieraniem krwi wykonano ocenę kliniczną zwierząt i zoohigieniczną środowiska.

Obserwacje kliniczne u lisów w I i II etapie doświadczenia prowadzono metodami rutynowymi, zaś badania bakteriologiczne i anatomopatologiczne (AP) w I etapie u 24 lisów padłych z grupy zwierząt chorych i 22 zwierząt ubitych z grupy zdrowych oraz u 12 zwierząt padłych z grupy lisów chorych i 10 zwierząt ubitych spośród lisów zdrowych w II etapie doświadczenia, wykonano według metod obowiązujących w Zakładach Higieny Weterynaryjnej. Ponadto w mózgu, w płucach, śledzionie i wątrobie, u lisów padłych i ubitych, tak w I, jak i II etapie badań, poszukiwano w oparciu o test IFb wirusa CDV, stosując koniugatę produkcji Bioveta Nitra (CSSR).

Nieswoistą odporność humoralną określono oznaczając ilość surowiczego lizozymu (LZM) metodą płytkową wobec *Micrococcus lysodeicticus* firmy „Serva” oraz aktywność mieloperoksydazy (MPO) w komórkach polimorfonuklearnych (kom. PMN) według metody Grahama opisaną przez Zawistowskiego (cyt. 6). Ilość globulin określono metodą Stona (cyt. 6), zaś ogólną ilość białka całkowitego metodą biuretową.

Wyniki dotyczące charakteryzowanych ferm, z których pochodziły zwierzęta oraz badania kliniczne, AP i wirusologiczne podano opisowo. Wyniki badań immunologicznych przedstawiono w postaci średnich arytmetycznych oraz wartości minimalnych i maksymalnych w tabeli 1 i 2 i poddano analizie statystycznej testem t-Studenta przy $p = 0,05$, porównując rezultaty między lisami chorymi a zdrowymi.

Wyniki i omówienie

Dane dotyczące oceny siedliska hodowlanego wykazały, że nosówka nie występowała jedynie w dwóch obiektach, skąd pochodziły lisy grup kontrolnych (po jednym w każdym etapie badań), gdzie stosowano swoistą profilaktykę. Analiza ta udowodniła także, że przebieg choroby u lisów z 4 ferm w I etapie badań i z 2 ferm w II etapie, gdzie nosówka występowała, był zróżnicowany. Nasilenie objawów chorobowych, a także zmiany AP u padłych i ubitych zwierząt współgrały ze stosowaniem nieswoistej profilaktyki oraz warunkami środowiskowymi, w tym głównie szeroko pojętą „higieną chowu”. W fermach, gdzie owe warunki były „słabsze”, a także nie stosowano profilaktyki nieswoistej, choroba miała przebieg „ostrzejszy” i trwała krócej.

Wyniki badań wirusologicznych wykonane testem IFb potwierdziły rozpoznanie objawowe choroby, które manifestowało się m.in. podwyższoną temperaturą, osłabionym apetytem lub jego brakiem, zapaleniem spojówek oraz — w zależności od nasilenia choroby — wyciekami surowiczo-ropnym z nosa. Wykazały one, że w materiale pobranym do badań (mózg, śledziona, płuca, wątroba i rogówka) występował w różnej ilości wirus CDV.

Badania anatomopatologiczne lisów chorych ujawniły różny stopień zmian AP w narządach wewnętrznych, w tym m.in. stany zapalne płuc i jelit cienkich, degenerację wątroby oraz wychudnięcie padłych lisów.

Tab. 1. Wyniki badań immunologicznych u lisów chorych i zdrowych w I etapie badań

Grupa zwierząt	Liczba zwierząt	Badanie	Wartości	LZM mg/l	Aktywność MPO (l. b.)	Globuliny g/l	Białko całkowite g/l
Chore	24	I	$\bar{x}$	0,40 *	0,72 *	28	87
			min. max.	0,15—0,65	0,54—1,15	13—36	56—120
Zdrowe	22		$\bar{x}$	0,25	0,49	43 *	68
			min. max.	0,10—0,45	0,34—0,78	37—63	57—109
Chore	24	II	$\bar{x}$	0,45	0,81 *	31	93
			min. max.	0,25—1,25	0,31—1,58	23—39	63—120
Zdrowe	22		$\bar{x}$	0,43	0,32	50 *	71
			min. max.	0,15—0,65	0,20—0,45	49—58	58—96

Objaśnienia: l.b. — liczby bezwzględne, * — różnice statystycznie istotne przy $p \leq 0,05$.

Tab. 2. Wyniki badań immunologicznych u lisów chorych i zdrowych w II etapie badań

Grupa zwierząt	Liczba zwierząt	Dzień badania	Wartości	LZM mg/l	Aktywność MPO (l. b.)	Globuliny g/l	Białko całkowite g/l
Chore	12	1	$\bar{x}$	1,15 *	0,68 *	42	78
			min. max.	0,45—2,30	0,25—0,85	35—55	65—85
Zdrowe	10		$\bar{x}$	0,45	0,43	45	74
			min. max.	0,15—0,75	0,15—0,65	38—58	60—82
Chore	9	4	$\bar{x}$	1,35 *	0,91 *	39	93
			min. max.	0,50—2,25	0,55—1,15	29—43	78—114
Zdrowe	10		$\bar{x}$	0,75	0,25	44	77
			min. max.	0,5—0,95	0,10—0,35	31—61	64—85
Chore	8	7	$\bar{x}$	0,45	0,45	18	78
			min. max.	0,15—0,85	0,15—0,65	7—37	65—85
Zdrowe	10		$\bar{x}$	0,65	0,43	45 *	72
			min. max.	0,55—1,15	0,15—0,75	37—58	63—81
Chore	7	10	$\bar{x}$	0,75	0,72 *	31	61
			min. max.	0,45—1,15	0,35—1,15	17—45	55—91
Zdrowe	10		$\bar{x}$	0,90	0,25	38	68
			min. max.	0,55—1,25	0,20—0,45	32—46	61—72
Chore	6	13	$\bar{x}$	1,25 *	0,34 *	21	115
			min. max.	0,55—1,95	0,15—0,45	14—29	85—235
Zdrowe	10		$\bar{x}$	0,45	0,20	39 *	65
			min. max.	0,15—0,35	0,18—0,68	21—41	55—82

Objaśnienia: l.b. — liczby bezwzględne, * — różnice statystycznie istotne przy $p \leq 0,05$.

W grupie zwierząt pochodzących z ferm wolnych od choroby tak w I etapie, jak i w II, nie rejestrowano objawów nasuwających podejrzenie o jakąkolwiek chorobę. Wyniki testu IFb z rogowki u tych zwierząt były ujemne. Także po zabiciu tych zwierząt nie stwierdzono — oprócz jednego lisa w II etapie badań, u którego zarejestrowano przekrwienie płuc i błony śluzowej jelit cienkich, zmian AP i dodatnich wyników testu IFb.

Analiza wartości wskaźników krwi wykazała wyraźny, lecz nie identyczny wzrost LZM i MPO u lisów chorych oraz dość regularny spadek ilości globulin (tab. 1 i 2). Zmiany te dla MPO i globulin w I etapie badań

utrzymały się przez cały okres obserwacji, zaś LZM jedynie na początku trwania choroby. W II etapie badań zmiany dla MPO przypadały na 1, 4, 10, 13 dzień, LZM 1, 4 i 13, zaś globulin na 7 i 13 dzień. Nie stwierdzono tak w I, jak i II etapie zmian w ilości białka całkowitego.

Otrzymane wyniki w zakresie obrazu klinicznego, zmian AP i badań IFb, udowodniły w pełni, że przyczyną tej choroby był wirus CDV. Potwierdziły one także, że uzyskane dane nie odbiegają od wyników cytowanych w badaniach przedstawionych przez innych autorów (cyt. 1—4, 6 oraz 8).

Wyniki badań immunologicznych, ze względu na brak analogicznych obserwacji u lisów, można porównać i to jedynie w zakresie ilości globulin, do wartości u psów zakażonych wirusem CDV (cyt. 6 oraz 5, 8). Trzeba jednakże stwierdzić, że obserwowana tak w I, jak i II etapie badań podwyższona ilość LZM i aktywność MPO u lisów chorych potwierdza udział i rolę komórek PMN w obronności lisów zainfekowanych wirusem CDV. Zgodne jest to z wynikami badań własnych, przedstawionych wcześniej u lisów (1—4, 6) oraz Thomsena (7) u psów, którzy wskazali na dużą rolę czynników nieswoistej odporności humoralnej w infekcjach wirusowych. Briggs i wsp. (cyt. 6) oraz Thomsen (7) wykazali również, że LZM i MPO stanowią podstawową barierę odporności w chorobach nowotworowych u ludzi, zwierząt laboratoryjnych i psów. Także Long i wsp. (cyt. 6) udowodnili, że enzymy bójcze komórek PMN zbliżone w działaniu do MPO, zwiększają swoją aktywność u psów zainfekowanych wirusem CDV. Trzeba jednak dodać, że ilość LZM oraz aktywność MPO zmniejsza się u lisów chorych w miarę zbliżania się do końca choroby. Jak się wydaje sugeruje to, że obserwowany obraz w zakresie zmian (LZM i MPO) jest skutkiem swoistego supresyjnego oddziaływania wirusa nosówki u zwierząt chorych. Jest też dowodem udziału tych czynników w odporności przeciwwirusowej. Potwierdzałoby to nie tylko obserwacje własne (1—4), ale także Krakowki i wsp. (cyt. 6), którzy wykazali również zwiększoną aktywność komórek mononuklearnych w postaci zwiększonej syntezy IL-1 u psów zakażonych wirusem CDV.

Wyniki odnoszące się do ilości globulin u lisów chorych są zgodne z rezultatami Krakowki, Longa, Win-

tersa (cyt. 3) oraz Sorjonena i wsp. (5), jak też Tpljutasa i wsp. (8). Wykazali oni (cyt. 3 oraz 5, 8) u psów chorych na nosówkę zmniejszoną ilość globulin w surowicy oraz płynie mózgowo-rdzeniowym. Dodać należy jednak, że zgodnie z poglądami wielu autorów (cyt. 6), spadek ilości globulin u lisów chorych jest raczej rezultatem ogólnobiologicznej reakcji organizmu (głównie w surowicy), a mniej efektem swoistego oddziaływania wirusa CDV. Również trzeba dodać, że według autorów tureckich (8) infekcja ta u psów powoduje obniżenie ilości białka całkowitego o około 20% oraz zmianę w stosunku albumin do globulin na niekorzyść u zwierząt chorych na nosówkę.

Reasumując należy stwierdzić, że w trakcie naturalnego przebiegu nosówki u lisów dochodzi do dużych zmian w ilości LZM i aktywności MPO, co świadczyłoby o udziale nieswoistej odporności humoralnej w obronności u lisów zakażonych CDV.

Piśmiennictwo

1. Deptuła W., Górski J.: Bull vet. Inst. Puławy, 30/31, 17, 1987/88.
2. Deptuła W., Puchala Cz.: Mat. VII Kongresu PTNW, Lublin 2, 477, 1983.
3. Deptuła W., Tokarz B.: Medycyna Wet. 46, 341, 1990.
4. Deptuła W., Tokarz B.: Medycyna Wet. 47, 204, 1991.
5. Sorjonen D. C., Cox N. R., Swango L. J.: J. Am. vet. Ass. 195, 977, 1989.
6. Tokarz B.: Wskaźniki hematologiczne i immunologiczne u lisów polarnych-niebieskich zakażonych naturalnie wirusem nosówki (CDV). Praca magisterska, AR Lublin, 1988 (maszynopis).
7. Tomsen M. K.: The role of neutrophil-activating mediators in canine health and disease — with special reference to the role of leukotriens in inflammatory dermatoses. Praca hab. Dept. Pharmacol., Leo Pharmaceutical Products, Ballerup — Denmark 1991.
8. Tpljutasa A., Kurtdele A., Fidanici V. R., Borku M. K.: Vet. Dergisi Ankara Univ. 36, 154, 1989.

Adres autora: prof. dr hab. Wiesław Deptuła, ul. Felczaka 3a, 74-417 Szczecin

HIGIENA ŻYWNOŚCI

JAN ŻMUDZKI, KRYSZYNA MICHALSKA *

Odległość od rany postrzałowej a zawartość ołowiu w tkankach dzików, saren i jeleni

Zakład Farmakologii i Toksykologii Instytutu Weterynarii,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

* Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Grunwaldzka 250, 60-166 Poznań

Summary

Distance from rifle-shot wound and lead concentrations in wild pig, roe and deer tissues

The concentration of lead in muscle, liver and kidney of wild animals was determined. Muscle samples were taken in rifle-shot wound and in a different distance from it (10, 20, 30 and more cm).

The levels of lead in muscle were dependent on distance from rifle-shot wound. High concentrations of lead found in this study can be harmful to consumers. Lead content in muscles was in a range from 0.06 to 1493.7 mg/kg.

To protect consumer health following steps should be taken: banning lead bullets, maximum tissue cutting around rifle-shot wound and increasing number of lead determinations in wild animal tissues.

zwierząt łownych, a także przetworach z dziczyzny (np. pasztet z dzika) stwierdza się stężenia ołowiu sięgające kilkudziesięciu mg/kg (1, 3, 4, 5, 6, 7). Zdarza się, że odsetek próbek, w których znajdują się podwyższone stężenia Pb sięga nawet kilku procent. Prace wielu autorów i badania własne wskazują, że skażenia tkanek zwierząt dzikich ołowiu to przede wszystkim skażenia wtórne, wynikające z zanieczyszczeń tym pierwiastkiem ran postrzałowych (1, 4, 5, 6, 7). Stosowane w Polsce kule do broni myśliwskiej zawierają w ponad 95% ołów.

Stąd celowym wydawało się określenie miejsc szczególnego zagrożenia w tuszach zwierząt dzikich wynikających z zanieczyszczeń ołowiu ran postrzałowych. W pracy prześledzono rozmieszczenie ołowiu w mięśniach, nerkach i wątrobach dzików, saren i jeleni.

Materiał i metody

Do badań pobrano próbki nerek, wątroby i mięśni od 20 dzików, saren i jeleni odłowionych w regionie wielko-

Jednym z poważniejszych problemów higienicznych i toksykologicznych związanych ze spożywaniem dziczyzny są często wysokie stężenia ołowiu. W tkankach