

WIESŁAW DEPTUŁA, MICHAŁ STOSIK *

Wybrane wskaźniki nieswoistej i swoistej odporności u owiec zakażonych naturalnie wirusem parainfluenzy 3 (PI-3), adenowirusem 5 (Adeno-5) oraz wirusem syncytialnym (RSV)

Katedra Mikrobiologii Uniwersytetu Szczecińskiego, ul. Felczaka 3a, 71-412 Szczecin,
* Wojewódzkie Laboratorium Weterynaryjne, ul. Olbrychta 1, 65-356 Zielona Góra

Summary

Chosen parameters of unspecific and specific immunity in sheep naturally infected with parainfluenza-3 (PI-3), adenovirus-5 (Adeno-5) and syncytial virus (RSV)

The observations were done in two groups of healthy sheep. Group A—20 animals from 4 large scale farms, with antibodies to PI-3, Adeno-5 and RSV. In these farms symptoms of the respiratory tract infections were noted. Group B—10 animals (control) in one farm free of diseases. The following parameters were examined in blood taken from the external jugular vein at time 1, 30 and 60 days: ability to adsorb and to reduce NBT in a spontaneous and stimulated tests by neutrophils, myeloperoxidase activity of neutrophils (MPO), activity of serum lysozyme (LZ), content of serum IgG, IgM and IgA, titre of specific antibodies against PI-3, Adeno-5 and RSV. It was found that asymptomatic infection caused by PI-3, Adeno-5 and RSV decreased the activity of MPO, level of LZ, IgM and partially IgG and values of a stimulated test of NBT reduction. These changes predispose the activation of latent and asymptomatic viral and bacterial infections, which commonly appear in sheep.

Wśród zakaźnych chorób owiec coraz większy problem stanowią schorzenia wirusowe. Jak podaje wielu autorów (10, 12—19, 22—24) wirusy powodujące typowe schorzenia dróg oddechowych u bydła mogą być także czynnikami wywołującymi u owiec zapalenie narządu oddechowego. W Polsce pierwszy raport występowania bezobjawowych zakażeń wirusowych u owiec przedstawił w 1982 r. Baczyński i wsp. (2). Autorzy ci wykazali u 700 zdrowych owiec przeciwciała dla wirusa PI-3 u około 47% zwierząt, dla wirusa biegunki i zapalenia błon śluzowych (VDMD) u ok. 4%, dla reowirusa-3 u ok. 6%, zaś adenowirusa-3 u ok. 2%. Wyniki te potwierdzone zostały badaniami Saddoura (27), który stwierdził u ok. 50% owiec zdrowych, pochodzących z 8 gospodarstw z całej Polski, występowanie przeciwciał dla wirusa PI-3. Badania własne (9) przeprowadzone na około 1000 owcach pochodzących z wielkotowarowych owczarni w rejonie północno-zachodniej Polski, wykazały występowanie u 66% osobników przeciwciał dla wirusa PI-3, 9% dla adenowirusa-5 (Adeno-5) i 6% dla syncytialnego (RSV). W tych stadach obserwowano także, głównie w okresie wiosennym, dużo przypadków zachorowań owiec z objawami ze strony układu oddechowego. Te ostatnie fakty znalazły potwierdzenie w badaniach Baczyńskiego i wsp. (3), którzy obserwując 16 stad owiec, w których występowały zachorowania przebiegające z objawami ze strony układu oddechowego, stwierdzili u 50% zwierząt przeciwciała dla wirusa PI-3, 30% dla wirusa RSV i 30% dla adenowirusa-3. Autorzy ci podali także, że infekcja tymi wirusami najprawdopodobniej prowadzi do obniżenia ilości gammaglobulin, co może być przyczyną uaktualnienia się infekcji na tle wirusów po-

wolnych (wirusa adenomatozy, meadi-visna). Zgodne jest to z badaniami wielu autorów (cyt. 20), którzy wykazali tak u ludzi, jak i u zwierząt, że do uaktywnienia się zakażeń na tle wirusów powolnych dochodzi najczęściej wskutek osłabienia odporności.

Fakty te oraz brak badań immunologicznych u owiec zakażonych wirusami pneumotropowymi, spowodowały podjęcie badań własnych. Miały one na celu określenie, czy w trakcie bezobjawowych zakażeń owiec wirusem PI-3, Adeno-5 i RSV dochodzić może do zmian w nieswoistej i swoistej odporności, platformy, która warunkuje m.in. występowanie wielu schorzeń warunkowo-zakaźnych i zakaźnych.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 35 owcach zdrowych, rasy merynos polski, w wieku 1—2 lat, pochodzących z ferm wielkotowarowych. Wśród badanych owiec wyodrębniono grupę A (20 zwierząt) pochodzącą z pięciu stad, gdzie występowały okresowo schorzenia manifestujące się objawami ze strony układu oddechowego i u których stwierdzono przeciwciała dla wirusa PI-3, Adeno-5 i RSV. Grupę B stanowiło 10 zwierząt zdrowych, które nie posiadały przeciwciał dla tych zarazków i pochodziły z jednego stada, w którym od wielu lat nie rejestrowano chorób zakaźnych i warunkowo-zakaźnych. U zwierząt badanych (grupa A i B) nie stwierdzono pasożytów wewnętrznych i zewnętrznych, a warunki środowiskowe (żywienie, bioklimat) w pomieszczeniach, w których przebywały zwierzęta, były zbliżone do siebie.

Krew do badań od 35 owiec pobrano w okresie jesienno-wiosennym, 3-krotnie w odstępach 1-miesięcznych. Występowanie przeciwciał dla wirusa PI-3 określono, stosując rutynowe techniki badawcze, w odczynie hamowania hemaglutynacji (HI), zaś dla Adeno-5 i RSV w OWD. Wirus PI-3 używany do odczynu HI — to szczep Lublin-1 z kolekcji prof. Buczka, zaś antygeny dla Adeno-5 i RSV oraz surowice dodatnie pochodziły z Wytwórni Surowic i Szczepionek w Lublinie. U zwierząt tych oznaczono niektóre etapy procesu fagocytozy granulocytów obojętnochłonnych krwi obwodowej, to jest zdolność pochłaniania przez te komórki wzorcowych bakterii (*Staphylococcus aureus* 209P), spontaniczną i stymulowaną lateksem redukcję NBT oraz aktywność mieloperoksydazy (MPO). Określono również ilość lizozymu (LZM), w surowicy krwi oraz ilość surowiczych immunoglobulin klasy G, M i A przy użyciu standardów firmy Miles (USA). Metody określające wskaźniki odporności opisano w pracy poprzedniej (11).

Miana przeciwciał dla wirusa PI-3 wyrażono w postaci średnich arytmetycznych (tab. 1).

Wyniki badań immunologicznych u owiec z grupy A i B, z poszczególnych pobrań, poddano analizie statystycznej testem t-Studenta ($p = 0.05$) i zestawiono również w postaci średnich arytmetycznych w tab. 2.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki badań przedstawione w tab. 1 wykazują, że jedynie badane zwierzęta grupy A posiadały przeciwciała dla wirusa PI-3, Adeno-5 i RSV. Z danych tab. 2 wynika, że te bezobjawowe infekcje u owiec powodują obniżenie aktywności niektórych wskaźników układu immunologicznego. Zmiany te dotyczą głównie nieswoistej odporności komórkowej (test NBT stymu-

Tab. 1. Miano przeciwciał dla wirusa PI-3, Adeno-5 i RSV u owiec grupy A i B

Rodzaj antygenów	Dzień badania					
	0		30		60	
	Grupa		Grupa		Grupa	
	A	B	A	B	A	B
PI-3	80*	—	122*	—	258*	—
Adeno-5	+	—	+	—	+	—
RSV	+	—	+	—	+	—

Objaśnienia: * — miano przeciwciał wyrażono jako odwrotność rozcieńczenia, (+) — odczyn dodatni, (—) — odczyn ujemny.

lowany) i humoralnej (MPO i LZM) oraz swoistej odporności humoralnej (Ig klas M i częściowo G). Obserwowany spadek wartości redukcji NBT przez komórki PMN dowodzi osłabienia niektórych etapów procesu fagocytozy. Rezultaty te potwierdzają wiele wcześniejszych obserwacji, przedstawionych w pracach przeglądowych i badawczych, a dotyczących infekcji wirusowych u ludzi i zwierząt laboratoryjnych (21) oraz bydła (11). Częściowo jest to także zgodne z badaniami Abramsona i wsp. (1) oraz Brittena i Underwooda (5), którzy wykazali, że zakażenie zwierząt laboratoryjnych wirusem PI-3 oraz adenowirusami powoduje osłabienie niektórych etapów procesu fagocytozy oraz prowadzi do dysfunkcji monocytów i makrofagów. Podobnie Davies i wsp. (7), badając zakażone eksperymentalnie wirusem PI-3 owce, wykazali istotne zmiany w ilości enzymów bójczych zależnych od tlenu w granulocytach obojętnochłonnych. Te ostatnie wyniki zgodne były głównie z rezultatami badań własnych dotyczących wartości testu NBT i aktywności MPO. Wydaje się zatem, że obserwowana u owiec grupy A zmniejszona aktywność granulocytów obojętnochłonnych w teście NBT i MPO oraz obniżona ilość LZM może tłumaczyć patogenezę powstania „okoliczności” uaktywniania się u owiec bezobjawowych zakażeń wirusowych oraz występowania bezpośrednio po nich schorzeń bakteryjnych. Potwierdzają to także badania Crange i wsp. (6) oraz Smith i wsp. (29), którzy u zwierząt laboratoryjnych zakażonych wirusem RSV, obserwowali osłabioną zdolność bójczą komórek PMN krwi obwodowej i aktywność systemu dopełniacza, a także częste występowanie zakażeń bakteryjnych. Według Bohlendera i wsp. (4) zakażenie cieląt wirusem RSV powoduje obniżenie aktywności w tzw. pierwszej linii obronnej dróg oddechowych, w tym także w barierach anatomiczno-fizjologicznych.

Brak u zwierząt grupy A zmian w zakresie zdolności pochłaniania granulocytów obojętnochłonnych może świadczyć, że podczas zakażeń owiec wirusami pneumotropowymi najprawdopodobniej nie dochodzi do zmian w receptorach powierzchniowych komórek fagocytujących. Obserwacje te po części są zgodne z wynikami przedstawionymi przez Ramakrishnana i Agrawala (26), którzy u świnek morskich zakażonych eksperymentalnie wirusem PI-3 nie obserwowali zmian w zakresie zdolności agregacji i przylegania makrofagów — cech, które są warunkowane także receptorami FcIg i C na powierzchni makrofagów.

Obserwowany obraz w zakresie surowiczych immunoglobulin u owiec grupy A tj. obniżenie ich ilości, głównie IgM i częściowo IgG, jest zgodny z badaniami przeprowadzonymi u cieląt, które zakażone były wirusem RSV (30). Te ostatnie wyniki oraz rezultaty badań

Tab. 2. Wskaźniki odporności komórkowej i humoralnej u owiec grupy A i B

Badane parametry	Dzień badania						
	0		30		60		
	Grupa		Grupa		Grupa		
	A	B	A	B	A	B	
Zdolność pochłaniania	Indeks pochłaniania (l.b.)	10,8	10,1	9,8	10,2	8,8	10,3
	% komórek pochłaniających	12,0	14,0	15,0	14,0	17,0	16,0
Test NBT (l.b.)	spoczynkowy	10,0	9,0	11,0	10,0	7,5	9,0
	stymulowany	14,0	28,0*	17,0	32,0*	18,0	30,0*
Aktywność MPO (współczynnik)	0,41	0,90*	0,29	0,68*	0,11	0,49*	
LZM (mg/l)	0,19	0,38*	0,15	0,43*	0,18	0,58*	
Immunoglobuliny (g/l)	G	18,0	28,7*	14,3	18,3	13,9	15,3
	M	0,75	1,44*	0,58	1,45*	0,45	1,24*
	A	0,11	0,17	0,16	0,13	0,12	0,11

Objaśnienia: * — różnice statystycznie istotne przy $p = 0,05$; l.b. — liczby niemianowane.

własnych nie potwierdzają w pełni obserwacji na cielętach i owcach zakażonych eksperymentalnie wirusem PI-3 (8, 22, 28), u których stwierdzono obniżenie głównie surowiczych IgG, IgG₁, IgG₂, a także IgA. Wydaje się jednak, że ta (8, 22, 28) odmienność w zakresie spadku ilości surowiczych podklas i klas Ig, mogła powstać jako efekt odmiennego stanu klinicznego badanych owiec i cieląt. Obserwowany u owiec grupy A głównie spadek ilości Ig klasy M jest zgodny z wynikami Proberta i wsp. (25) oraz Tsaia (31), którzy wskazali, że u bydła przede wszystkim surowicze IgM i IgG stanowią główne elementy odporności przeciwzakaźnej i są podstawowymi czynnikami wzmagającymi bójczość oraz cytotoksyczność, zależną od przeciwciał, granulocytów obojętnochłonnych wobec wirusa PI-3. Stąd należałoby przyjąć hipotezę, że zmniejszona u owiec grupy A aktywność fagocytarna granulocytów obojętnochłonnych łączy się z obniżoną ilością surowiczych IgM i częściowo IgG u tych zwierząt. Wiadomo przecież, że procesy bójcze granulocytów obojętnochłonnych (fagocytoza, cytotoksyczność, cytoliza) monocytów-makrofagów, a nawet limfocytów związane są z substancjami zawartymi w surowicy, głównie jednak surowiczymi Ig klasy M i G.

Reasumując należy stwierdzić, że naturalne bezobjawowe infekcje owiec wirusem PI-3, Adeno-5 i RSV, powodują głównie zmiany w nieswoistej odporności humoralnej (MPO, LZM) oraz częściowo w swoistej odporności humoralnej (IgM i IgG) i nieswoistej odporności komórkowej (test NBT). Wydaje się, że zmiany w obrębie tych wskaźników tworzyć mogą dobrą platformę do uaktywnienia się wielu infekcji wirusowych i zakażeń bakteryjnych, tak często występujących bezpośrednio po zakażeniach wirusowych.

Piśmiennictwo

- Abramson J. S., Lyles D. S., Heller K. Y., Bass D. A.: *Inf. Immunity* 37, 794, 1982.
- Baczyński Z., Dzierżawski A., Skulmowska-Kryszkowska D.: *Bull. vet. Inst. Puław* 25, 24, 1984.

3. Baczyński Z., Skulmowska-Kryszkowska D., Rokosz J., Salwa A.: *Zycie wet.* 42, 33, 1987.
4. Bohlender R. E., McCune M. W.: *Modern Vet. Pract.* 8, 13, 1982.
5. Britten V., Underwood J. C. E.: *Experientia* 37, 504, 1981.
6. Crange M. P., Gardner P. S., McIntosh K.: *Clin. Exp. Immunol.* 43, 78, 1981.
7. Davies D. H., Long D. L., McCarthy A. R., Herng M.: *Vet. Microbiol.* 123, 11, 1986.
8. Deptuła W., Buczek J.: *Medycyna Wet.* 39, 391, 1983.
9. Deptuła W.: Raport o stanie zdrowia zwierząt gospodarskich woj. gorzowskiego. Wyd. Urzędu Woj., Gorzów 1984.
10. Deptuła W.: Odporność a środowisko. Mat. XIII Konf. Pracow. Biochem. ZHW w kraju. Inst. Wet. Puławy, Woj. Zakład Wet. Gorzów Wlkp. 1988, s. 5.
11. Deptuła W.: Wskaźniki odporności u bydła zakażonego wirusem IBR/IPV (Bovine herpesvirus 1 — BHV1) oraz ich wykorzystanie w profilaktyce otrętu w wychowalni buhajów. Praca hab., AR Lublin 1988, s. 107.
12. Erasmus B. J., Bashoff S. T., Pietras L. A.: *Bull. Off. int. Epizoot.* 68, 657, 1967.
13. Faye P., Charton A., Layec C.: *Bull. Acad. vet.* 40, 203, 1967.
14. Field E. W., Smith M. H.: *Am. J. vet. Res.* 45, 1641, 1984.
15. Fischman H. R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 118, 725, 1965.
16. Hussain A.: *Diss. Abst. Int. B* 43, 3856, 1983.
17. Hussain A., Mohanty S. B.: *Zbl. Vet. Med. B* 31, 203, 1984.
18. Jensen R.: *Diseases of sheep*. Febriger, Philadelphia 1974.
19. Johnson K., Morein B.: *Res. vet. Sci.* 22, 83, 1977.
20. Liberski P. P.: *Post. Hig.* 41, 54, 1987.
21. Mogensen S.-C.: *Viral interference with the function of phagocytic cells; w: Bacterial and viral inhibition and modulation host defences*. Mogensen S. C. (wyd.), Academic Press, London 1984, s. 89.
22. Morein B.: *Studies on the immune response of bovine respiratory tract to parainfluenza-3 virus*. Praca dokt., Univ. Stockholm 1973.
23. Moreno-Lopez J.: *Studies on cell-mediated immune response of the cattle to parainfluenza-3 virus*. Praca dokt., Univ. Uppsala 1977.
24. Pospišil Z., Machatkova M., Menšík J., Rodak G.: *Acta vet. Brno* 44, 369, 1975.
25. Probert M., Stott E. J., Thomas L. H.: *Inf. Immunity* 15, 576, 1977.
26. Ramakrishnan I., Agrawal S. C.: *J. Med. Microbiol.* 13, 529, 1980.
27. Saddaur M.: *Medycyna Wet.* 43, 97, 1987.
28. Smith W. D.: *Studies of the immune response of the ovine respiratory tract of to parainfluenza-3 virus*. Praca dokt., Univ. Edinburgh 1975.
29. Smith T., McIntosh K., Fishant M., Henson P. M.: *Inf. Immunity* 33, 43, 1981.
30. Thoms L. H., Stott E. J., Collins A. P., Jebbett J.: *Br. J. Exp. Pathol.* 65, 19, 1984.
31. Tsai K. S., Thomson R. G.: *Inf. Immunity* 11, 783, 1975.

Adres autora: prof. dr hab. Wiesław Deptuła, ul. Seledynowa 62/4, 70-781 Szczecin

JERZY LECH GUNDEŁACH, ANDRZEJ BERNARD SADZIKOWSKI

Zachowanie się wybranych wskaźników biochemicznych w przebiegu doświadczalnej inwazji i superinwazji *Fasciola hepatica* u cieląt

Katedra Parazytologii i Klinika Chorób Pasożytniczych Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Summary

Biochemical indices in the course of experimental invasion and superinvasion of calves due to *Fasciola hepatica*

There was assayed the level of glucose, total bilirubin and the activity of choline esterase (ChE), asparagine aminotransferase (GOT), γ -glutamylotranspeptidase (γ -GT) in sera of calves infested once, twice or three times with *Fasciola hepatica* metacercaria (1650, 1650 plus 1550 or 1650 plus 600 plus 1500 respectively). In animals infested there was found an increase of GOT activity only in the prepatent period and a significant augmentation of γ -GT activity four weeks after infestation to the end of the experiment.

γ -GT may be regarded as an indicative enzyme of the liver damage by *F. hepatica* in cattle. It is interesting that no influence of superinvasion was stated with respect to biochemical parameters.

Badania zmian poziomu wskaźników biochemicznych u zwierząt zarażonych *Fasciola hepatica* przynoszą informacje o niektórych mechanizmach uszkadzającego oddziaływania motylic na organizm żywiciela. Mają także istotny cel praktyczny, pozwalają bowiem na wybór parametrów ważnych ze względów diagnostycznych do oceny stopnia uszkodzenia wątroby przez mo-

tylice oraz kontroli poprawy stanu zdrowia zwierząt po leczeniu.

Celem pracy było określenie zmian niektórych wskaźników biochemicznych w przebiegu doświadczalnej inwazji i superinwazji *Fasciola hepatica* u bydła oraz analiza przydatności badanych parametrów do diagnostyki.

Materiał i metody

Do badań użyto 12 cieląt rasy ncb, w wieku ok. 8—10 tyg., o masie ciała 51—93 kg, wolnych od inwazji pasożytów. Cielęta podzielono na 4 grupy, zwierzęta trzech grup, tj. 1, 2 i 3 zarażono metacerkariami *Fasciola hepatica* uzyskanymi przy użyciu ślimaków *Lymnea tomentosa*. Pozostałe 3 cielęta wolne od inwazji stanowiły grupę kontrolną (K). Układ doświadczenia przedstawiono w tab. 1.

W trakcie doświadczenia wykonywano badania kopro-skopowe w celu ustalenia długości okresu prepatentnego, a 23 tyg. po zarażeniu zwierzęta uśmiercono i poddano sekcji, określając intensywność inwazji motylicy wątrobowej.

Krew do badań biochemicznych pobierano w odstępach tygodniowych do 11 tyg. inwazji, następnie dwutygodniowych (do 17 tyg.) i trzytygodniowych (do 23 tyg., tj. do końca doświadczenia). W surowicach oznaczano: poziom glukozy metodą Nelson — Samogyi w modyfikacji Kinga — Garnera; poziom bilirubiny całkowitej metodą Jędrasika — Groffa; aktywność esteraazy cholinowej (ChE) me-

Tab. 1. Plan doświadczenia oraz wyniki badań parazytologicznych cieląt (n = 3)

Grupa	Dawka metacerkarii				Intensywność inwazji		Procentowy wynik inwazji	
	0 tydz.	4 tydz.	8 tydz.	razem	u poszczegól- nych zwierząt	średnio w grupie	u poszczegól- nych zwierząt	średnio w grupie
1	1650	0	0	1650	17, 33, 51	33,7	1,03; 2,0; 3,09	2,04
2	1650	0	1500	3150	11, 17, 17	15,0	0,34; 0,53; 0,53	0,46
3	1650	600	1500	3750	38, 55, 91	61,0	1,01; 1,46; 2,42	1,63
K	0	0	0	0	0, 0, 0	0	0; 0; 0	0