

JERZY WIŚNIEWSKI, GRAŻYNA GRABOWSKA,
EDWARD TRYBAŁA, ZOFIA ROTKIEWICZ

Wpływ podania biotropiny i lewamizolu na wybrane wskaźniki odporności swoistej i nieswoistej u świń

Katedra Mikrobiologii Weterynaryjnej Wydziału Weterynaryjnego AR-T,
ul. Czapowskiego 13, bl. 105, 10-957 Olsztyn

Summary

The influence of Biotropin and Levamisole on some indices of specific and non-specific immunity in pigs

In piglets of the miniature pig there was assessed the influence of Levamisole or Biotropin on the humoral and cellular immune response against Aujeszky's disease virus and on some nonspecific indices of immunity.

It was found that the drugs did not influence humoral response, i.e. they did not increase the level of antibodies; however, they enhanced specific cellular response. In animals treated with the drugs there were observed an increase of migration inhibition of leukocytes and the augmented index of lymphocyte transformation. Besides, a higher concentration of lysozyme and the activity of phagocytes were noted.

Wiele tzw. polietiologicznych chorób zakaźnych zwierząt powodowanych jest przez zarazki słabo chorobotwórcze. Rozwojowi tych zakażeń sprzyjają niektóre czynniki środowiskowe, m.in. chemizacja rolnictwa. Wykazano bowiem, że pasza skażona pozostałościami pestycydów wywiera ujemny wpływ na odporność przeciwzakaźną (6, 8, 9, 19). Podobnie oddziałuje stres, nieodłącznie związany z technologią chowu przemysłowego (21, 22). Ponieważ wspomniane zarazki są najczęściej słabo immunogenne, indukują jedynie słabą, nieznaczoną odpowiedź immunologiczną organizmu gospodarza, co z kolei powoduje, że w przypadkach takich schorzeń jak: bronchopneumonia „crowding disease”, zanikowe zapalenie nosa u świń itp. klasyczne metody szczepień z reguły zawodzą. Poszukuje się zatem innych sposobów zapobiegania zakażeniom i stratom, np. przez stosowanie różnych szczepionek funkcjonalno-synergistycznych (15, 16, 18) lub stymulację naturalnych mechanizmów obronnych zwierzęcia. W tym celu znajdują zastosowanie różne preparaty immunostymulujące, zarówno naturalnego pochodzenia (biostymina, biotropina, panodyna, preparat FIBS, TFX, różne szczepionki *Propionibacterium*, BCG i inne) oraz związki syntetyczne (nitrogranulogen, izoprynozyna, lewamizol i cały szereg innych).

W weterynarii dość powszechnie stosowane są dwa z wyżej wymienionych stymulatorów — biotropina i lewamizol. Pierwszy podawany jest jako środek bodźcowy w różnych chorobach zakaźnych, przemiany materii i innych, drugi pod nazwą Nilwerm, używany jest do zwalczania nicieni. Podawane w odpowiednich dawkach, leki te wywierają stymulujący wpływ na odporność przeciwzakaźną (2, 5, 17). Z uwagi na to, że w piśmiennictwie jest niewiele danych (11, 14, 17) o zależności między przednią aktywnością nieswoistą a przebiegiem odpowiedzi immunologicznej w zakażeniach wirusowych, prześledzono wpływ pozajelitowego podania biotropiny lub lewamizolu na wybrane wskaźniki odporności swoistej i nieswoistej u świń uodpornionych wirusem choroby Aujeszkyego.

Materiał i metody

Zwierzęta. Doświadczenie przeprowadzono na 15 prosiętach świni miniaturowej — Getynga, obu płci, w wieku 3 miesięcy. Zwierzęta odchowane w sposób konwencjonalny, pochodzący z Ośrodka Badań Toksykologicznych ART w Olsztynie, w którym nie prowadzono szczepień przeciw chorobie Aujeszkyego (chA), a osobniki użyte w eksperymencie były serologicznie ujemne w stosunku do tego zarazka.

Wirus. Do badań użyto wirusa chA — szczepu TK900, zawartego w handlowej szczepionce „Suivac A”, produkcji Biowet Drwalew. Miano TCID₅₀ zarazka w hodowlach komórek linii PK15 wynosiło 10^{8,2}/0,1 ml. Wirusa używano do szczepień oraz jako antygenu w badaniach immunologicznych.

Biotropina, produkcji Biowet Drwalew, jest preparatem przeznaczonym do terapii bodźcowej zawierającym zabite szczepionki pałeczek okrężnicy, gronkowców, paciorkowców, włoskowca różycy, pałeczek *Salmonella* i *Pasteurella*, występujących u zwierząt domowych oraz jochinoli i wyciągi z tkanek. Preparat stosowano domięśniowo w dawce 5 ml na osobnika.

Lewamizol. W badaniach używano preparatu handlowego o nazwie „Nilverm inieccio” (produkcji Biowet Gorzów), zawierającego 7,5% roztwór *Levamisolum hydrochloricum*. Stosowano go domięśniowo w dawkach 1,5 mg preparatu czynnego/kg m.c.

Oznaczanie wskaźników odporności swoistej. Odczyn seroneutralizacji (SN) w modyfikacji Bartoszcze i Larskiego (1) wykonywano mikrometodą, w stosunku do 100 TCID₅₀ wirusa i stosując trzykrotne powtórzenia. Miano obliczano metodą Reeda-Muencha i wyrażano w postaci średnich geometrycznych mian (sgm).

Odczyn hamowania migracji leukocytów (LMI) krwi obwodowej wykonywano na płytkach z agarozą, metodą opisaną przez Emmricha i Felbera (5) wobec antygenu swoistego (w naszym przypadku była to wystandaryzowana dawka wirusa chA równa 10^{-3,2}/ml zawiesiny leukocytów). Kontrolę stanowiły leukocyty nie eksponowane na antygen. Wynik dodatni próby wyraża się co najmniej 20% hamowaniem migracji leukocytów w stosunku do kontroli.

Test transformacji blastycznej (TB) z komórkami krwi obwodowej wykonywano sposobem podanym przez Gocha i wsp. (7) z użyciem tymidyny znakowanej trytem (3HTdR, produkcji Instytutu Badań Izotopowych w Pradze; aktywność swoista preparatu wynosiła 25CimM). Wynik odczytywano licznikiem firmy Beckman i obliczano współczynnik RI (reactivity index będący stosunkiem liczby cpm próby badanej do cpm próby kontrolnej). Za dodatni wynik przyjmowany jest RI \geq 2.

Oznaczanie wskaźników odporności nieswoistej. Poziom lizozymu w surowicy krwi obwodowej oznaczano w sposób standardowy wobec szczepu *Micrococcus lysodeicticus*, a wynik przeliczano na uq/ml. Zdolność fagocytarną komórek krwi obwodowej określano w stosunku do szczepu 209P *Styphylococcus aureus* i wyrażano w postaci indeksu fagocytarnego (I) oraz odsetka komórek niefagocytujących (NF).

Uzyskane dane poddano analizie statystycznej testem t-Studenta.

Układ doświadczenia. Prosięta podzielono losowo na 3 równe liczbowo grupy, z których jednym wprowadzono domięśniowo po 5 ml biotropiny (grupa B), drugim podskórnie lewamizol w objętości 2 ml (grupa L), a osobnikom grupy trzeciej, kontrolnej, po 2 ml płynu fizjologicznego. Następnego dnia zwierzęta wszystkich grup zaszczepiono podskórnie dawką 1,5 ml szczepionki Suivac, a 3 i 5 dnia po wakcynacji zwierzętom odpowiednich grup aplikowano ponownie odnośne preparaty, tą samą drogą i w tych samych dawkach. Krew do badań pobierano od wszystkich

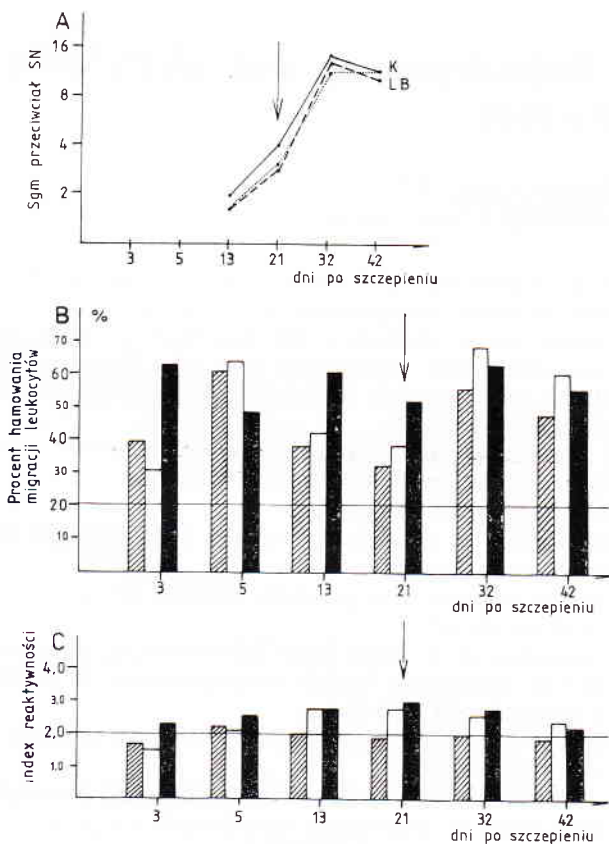
osobników przed stymulacją oraz w 3, 5, 13 i 21 dniu po szczepieniu.

Wyniki i omówienie

Wyniki badania wybranych wskaźników odporności swoistej wirusa choroby Aujeszkyego przedstawiono na ryc. 1. Jak z wykresu wynika, dynamika odpowiedzi humoralnej na szczepienie jest dość nietypowa. Przeciwciała w surowicy stwierdzono bowiem dopiero po rewakcytacji, ale za to już po 24 godzinach, co z kolei wskazuje na typową reakcję anamnestyczną. Wydaje się zatem prawdopodobne, że pierwsze szczepienie spowodowało aktywację limfocytów B i indukcję odpowiedzi humoralnej, ale dopiero po drugim kontakcie z wirusem (rewakcytacji) ilość przeciwciał wzrosła do wykrywalnego poziomu. Ponieważ nie stwierdzono w tym zakresie różnic między grupami doświadczalnymi i kontrolną,

opisaną reakcję należy łączyć przyczynowo raczej z rodzajem zwierząt użytych w doświadczeniu niż z aplikowanymi preparatami. Z powyższego wynika, że przed i poszczepienna nieswoista stymulacja nie zwiększa mian przeciwciał, przynajmniej u tego rodzaju świń. Inaczej jest w zakresie odpowiedzi typu komórkowego. Podanie lewamizolu lub biotropiny zwiększało w sposób statystycznie znamienne hamowanie migracji leukocytów i zwiększało mierzoną indeksem reaktywności, aktywność mitogenną (blastyczną) limfocytów — ryc 1. Dane te przemawiają za tym, że użyte immunomodulatory wywarły dodatni wpływ na odporność komórkową, co z kolei potwierdza przyjmowaną powszechnie tezę, że lewamizol wpływa głównie na odpowiedź komórkową. Stwierdzono również, że preparaty te wyraźnie stymulowały, poza swoistą odpornością komórkową, również odporność nieswoistą, czego dowodem jest wzmocnienie aktywności fagocytarnej oraz zmniejszenie odsetka granulocytów nefagocytujących u osobników grup doświadczalnych (tab. 1).

W piśmiennictwie istnieje wiele danych, wskazujących na dodatni wpływ podawania różnych immunostymulatorów i to zarówno w medycynie, jak i w weterynarii. Obszerny przegląd krajowych wyników badań w zakresie dwu spośród nich — lewamizolu i nitrogranulogenu — przedstawiają Dębowy i Światała (4). Z doniesienia tego wynika, że wymienione stymulatory wpływały korzystnie na zdrowotność i odchów cieląt i prosiąt, wzmacniały wyniki leczenia cieląt chorych na bronchopneumonię i prosiąt z objawami kolibakteriozy. Korzystny wpływ stosowania najczęściej dotąd badanego lewamizolu nie jest jednak, w świetle innych badań, tak jednoznaczny. Przykładowo Irwin i wsp. (11) wykazali brak stymulacji w odniesieniu do mian przeciwciał u cieląt zakażonych wirusem IBR, a Jenkins i wsp. (13) u prosiąt chorych na dyzenterię. Paulik i wsp. (19) nie uzyskali wzrostu mian przeciwciał po podaniu lewamizolu, zaś Confer i wsp. (3) wykazali zjawisko odwrotne — stymulację odpowiedzi humoralnej u bydła zakażonego wirusem białaczki. W szeregu doświadczeń, w których uwzględniono wpływ podawania lewamizolu na takie czynniki, jak: oporność na zakażenie, ogólną zdrowotność, wyniki odchowu lub wpływu na przebieg leczenia w przypadku mastitis, uzyskano także rozbieżne wyniki (4, 14, 20). Z powyższego wynika, że wpływ podania danego stymulatora jest trudny do przewidzenia. Bardzo trafne w tym względzie wydają się wnioski Mullera i wsp. (18), którzy stwierdzają m.in., że efektywność aktywacji zależy od zarazka oraz od patogenyzy danej choroby zakaźnej, a stymulacja danego wskaźnika odpornościowego nie jest równoznaczna ze zwiększeniem faktycznej odporności. Autorzy sądzą, że podawanie stymulatorów jest uzasadnione w przypadkach, gdy można przewidzieć



Ryc. 1. Wyniki testów: SN (A), LMI (B) i TB (C) u prosiąt stymulowanych lewamisolem lub biotropiną
 Objaśnienia: strzałki — stymulacja, K — kontrola, L — lewamisol, B — biotropina.

Tab. 1. Wyniki badania fagocytozy i oznaczania poziomu lizozymu u prosiąt stymulowanych lewamisolem (L) lub biotropiną (B) K — kontrola

Grupa		Dni po I szczepieniu				Dni po II szczepieniu			
		0	3	5	13	21	32	42	
Lizozym	K	2,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	3,1 ± 0,3	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,7 ± 0,4	
	L	2,5 ± 0,4	3,1 ± 0,7	3,5 ± 0,1	3,4 ± 1,0	*3,6 ± 0,3	2,5 ± 0,6	3,1 ± 0,5	
	B	2,4	2,9 ± 0,4	*3,9 ± 0,3	*3,7 ± 0,3	*4,1 ± 0,2	2,5 ± 0,6	3,5 ± 0,6	
Fagocytoza	K	I	13 ± 2,5	22 ± 3,0	12 ± 1,8	19 ± 0,9	12 ± 0,6	14 ± 1,8	14 ± 1,4
		NF	5% _o	3% _o	9% _o	12% _o	12% _o	12% _o	10% _o
	L	I	—	21 ± 2,0	*18 ± 1,5	*25 ± 1,9	**21 ± 1,7	*22 ± 2,2	**23 ± 0,3
		NF	—	2% _o	3% _o	2% _o	4% _o	6% _o	3% _o
	B	I	—	23 ± 1,7	*17 ± 0	*27 ± 2,0	**19 ± 0,3	18 ± 2,5	*21 ± 1
		NF	—	10% _o	8% _o	1% _o	9% _o	8% _o	5% _o

ekspozycję zwierząt na zakażenie oraz u młodych osobników mających osłabiony układ odpornościowy.

Piśmiennictwo

1. Bartoszcze M., Larski Z.: *Med. Dośw.* 30, 37, 1978.
2. Bunner C. J., Muscoplat C. C.: *J. Am. vet. med. Ass.* 176, 1159, 1980.
3. Confer A. W., Hall S. M., Espe B. H.: *Am. J. vet. Res.* 46, 2440, 1985.
4. Dębowy J., Świtła M.: *Nowości Wet.* 17, 208, 1987.
5. Emmrich F., Felber F.: *Immunologische Arbeitsmethoden*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1980.
6. Ford E. J., Abdelsalam E. B.: *Vet. Rec.* 112, 106, 1983.
7. Goch H., Tchórzewski H., Niedwobok J., Tkaczewski W., Offierska M., Soczyńska W.: *Immunol. Pol.* 6, 239, 1981.
8. Grabowska-Swięcicka G.: *Acta Acad. Agricult. Techn. Olsten. Veterinaria* 19, Supplementum A, 1991.
9. Grabowska G., Wiśniewski J.: *Mat. V Symp. Wirusol. Puławy* 1991, s. 141.
10. Grabowska G., Wiśniewski J., Dynarowicz I.: *Immunologia Pol.* 11, 23, 1986.

11. Irwin M. R., Holmberg C. A., Knight H. D., Hjerpe C. A.: *Am. J. vet. Res.* 37, 223, 1976.
12. Irwin M. R., Knight H. D.: *Inf. Immunity* 12, 1698, 1975.
13. Jeankins M. E., Hurdle C.: *Brit. Vet. J.* 145, 565, 1989.
14. Maaten van der, Schmerr M. J. F., Miller J. M., Dacks J. M.: *Can. J. comp. Med.* 47, 474, 1983.
15. Mayr A.: *Wien. Tierärztl. Mschr.* 71, 305, 1984.
16. Mayr A., Büttner G., Wolf H., Meyer H., Czerny C.: *J. Vet. Med. B* 36, 81, 1989.
17. Mulcany G., Quin P. J., Hannau J.: *J. Vet. Pharmacol.* 14, 156, 1991.
18. Müller G., Heilmann P., Steinbach G.: *Allerg. Immunol.* 34, 270, 1988.
19. Paulík S., Slanina S., Dubaj L., Borošková Z., Benková M., Šteheny S.: *Vet. Med. Praga* 34, 705, 1989 (ref. *Vet. Bull.* 60, 6477, 1990).
20. Purswell B. J., Dawe D. L., Brown, Williams D. J.: *Am. J. vet. Res.* 49, 856, 1988.
21. Świątecki A., Wiśniewski J.: *Acta Acad. Agricult. Techn. Olsten.* 17, 25, 1988.
22. Wiśniewski J., Grabowska G., Rotkiewicz Z., Fitko R.: *Medycyna Wet.* 44, 31, 1989.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Wiśniewski, ul. Dworcowa 10 m. 57, 10-436 Olsztyn

WOJCIECH SZWEDA, HENRYK JANOWSKI, RYSZARD GRZECHNIK*, EWA BRZESKA*

Analiza sytuacji epizootycznej choroby Aujeszkiego w woj. olsztyńskim w latach 1987–1991

Katedra Epizootiologii Wydziału Weterynaryjnego AR-T, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn-Kortowo

* Wojewódzki Zakład Weterynarii, ul. Głowackiego 6, 10-488 Olsztyn

Summary

Analysis of epizootic situation of Aujeszky's disease in the Olsztyn voivodeship in 1987–1991

The detailed analysis of evolution of Aujeszky's disease (AD) in the Olsztyn voivodeship in 1987–1991 was performed. In 1987 this situation aggravated. There were 12 outbreaks of AD, 6 in farms of pigs, 5 in cattle farms and 1 in a fur animal farm. Two main reasons of such situation were underlined, intensive and uncontrolled pig movement without their serological examinations and breeding of pigs and cattle in the same stable.

To improve the epizootic situation in November 1987 the obligatory and strict pig movement control measures were introduced. They caused a considerable decrease of new outbreaks in next years. In 1990–1991 losses caused by AD in 2 dogs in individual farmers and in a dog and cat in owners living in towns and in 2 deers were noted.

Badania nad chorobą Aujeszkiego (chA), prowadzone od kilkunastu lat przez Klinikę Chorób Zakaźnych we współpracy z Wojewódzkim Zakładem Weterynarii w Olsztynie, wykazały niekorzystną, pogarszającą się sytuację epizootyczną choroby w woj. olsztyńskim. Szczegółową analizę i ocenę rozwoju tej sytuacji w latach 1976–1986 przedstawiono w innej pracy (12).

Badania dowiodły, że w związku z szerokim rozprzestrzenieniem wirusa chA w populacji świń w woj. olsztyńskim oraz w innych województwach, co potwierdziły wyniki badań serologicznych świń sprowadzanych do ferm woj. olsztyńskiego, istnieje potrzeba prowadzenia przeglądów serologicznych stad w kierunku chA, zwłaszcza w chlewniach zarodowych i reprodukcyjnych. Ponadto należy kontynuować rozpoznawanie serologiczne w klinicznie wolnych chlewniach i tuczarniach usytuowanych w bezpośrednim sąsiedztwie obór, cielętników i jałowników.

Za szczególnie istotny uznano wymóg obowiązkowego badania serologicznego wszystkich świń stada podsta-

wowego wprowadzanych do ferm nowo tworzonych, ponieważ w kilku przypadkach stwierdzono zapowietrzenie ferm już w momencie ich zasiedlania, zakończone po pewnym czasie wybuchem chA (13). Badania takie powinny być również wykonywane przy przerzutach świń między fermami.

Z przeprowadzonej analizy epizootologicznej wynikało, że w celu poprawy wyników zwalczania chA w latach następnych należałoby:

- uznać chA za zwalczaną z urzędu i podlegającą obowiązkowi zgłaszania;
- wydać instrukcję regulującą metody jej zwalczania i zapobiegania;
- przygotować w kraju bazę laboratoryjną do prowadzenia masowych badań serologicznych w oparciu o ujednoczoną metodykę;
- ustalić kryteria urzędowego uznawania chlewni za wolne od chA;
- wprowadzić obowiązek okresowych badań serologicznych świń w chlewniach zarodowych i reprodukcyjnych oraz w fermach PTTCh;
- kompletować nowe stada i zasiedlać fermy i chlewnie świniami pochodzącymi ze stad uznanych za wolne od chA;
- przyjąć zasadę, że do obrotu hodowlanego mogą być dopuszczane tylko serologicznie ujemne loszki i knurki hodowlane.

Pilna potrzeba opracowania i drożenia programu zwalczania i zapobiegania chA w woj. olsztyńskim doprowadziła do powstania projektu własnej instrukcji, uwzględniającej różne warianty zwalczania i zapobiegania chorobie w zależności od sytuacji epizootycznej i typu chowu świń. Skuteczność poszczególnych z nich została sprawdzona w różnych fermach świń w woj. olsztyńskim.

W większości państw europejskich (Austria, Bułgaria, Czecho-Słowacja, Dania, Francja, Niemcy, Węgry, Włochy, Luxemburg, Rumunia, Hiszpania, Szwecja, Anglia,