

Stężenie rtęci w poszczególnych narządach było w różnym stopniu skorelowane (tab. 2). Najwyższa zależność występowała między stężeniami w wątrobie, mięśniach i w korze nerek. Nie stwierdzono współzależności między koncentracją tego metalu w wymienionych narządach a częścią rdzenną nerek. Potwierdza to wysuniętą tezę o niewielkiej wartości diagnostycznej badania rdzenia nerek przy ocenie stopnia skażenia zwierząt tym metalem.

Porównując wyniki innych badań (1, 2, 6, 7), a także biorąc pod uwagę dopuszczalne zakresy tolerancji wynikające z badań toksykologicznych i aktualnej oceny skażenia środowiska (3, 5) należy uznać, że stwierdzone poziomy rtęci w tkankach bydła pochodzącego z Litwy były niskie i nie odbiegały od wartości stwierdzanych u bydła w Polsce i w Czechach. Przy ocenie tej należy jednak wziąć pod uwagę fakt, że badaniami objęto jedynie bydło młode, podczas gdy w badaniach innych autorów wiek zwierząt był bardziej zróżnicowany i obejmował również zwierzęta starsze.

Ponieważ koncentracja rtęci wzrasta z wiekiem (1, 3, 6), dlatego też wartości stężeń, szczególnie maksymalnych, u zwierząt starszych mogły być wyższe, niż w tkankach bydła pochodzącego z Litwy.

Piśmiennictwo

1. Cibulka J.: Pohyb olova, kadmia a rtuti v zemědělské výrobě a biosfere. SZN, Praha 1986.
2. Cizorodne latky v potravinach a surowinach živočišného původu. Inform. Bull. SVS CR, UVO Pardubice 1992.
3. Nikonorow M., Urbanek-Karłowska B.: Toksykologia żywności. PZWL, Warszawa 1987.
4. Program prevence a detekce vyskytu cizorodných latek. Inform. Bull. SVS CR, UVO Pardubice 1991.
5. World Health Organization Tech. Rep. Ser. 505, 1972.
6. Żarski T.P., Kryński A., Dębski B., Samek M., Marvan F.: Ann. Warsaw Agric. Univ.-SGGW, Anim. Sci. 26, 9, 1991.
7. Żmudzki J., Szkoda J., Juskiewicz T.: Medycyna Wet. 47, 413, 1991.

Adres autora: prof. dr hab. Tadeusz P. Żarski, ul. Krasińskiego 28a/1 01-769 Warszawa

JAN RUŁKA, JAN STEC*, BOŻENA KOZACZYŃSKA*, STANISŁAW KLIMENTOWSKI**

Immunogenność wirusa enzootycznej białaczki bydła (BLV) u cieląt zakażonych komórkami FLK i limfocytami krwi białaczkowej

Pracownia Patologii Komórkowej i *Zakład Biochemii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, ** Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, Pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

Summary

Immunogenicity of enzootic bovine leukaemia virus in calves infected with FLK cells and lymphocytes from leukaemic cattle

The aim of the study was to compare the effectiveness of calves infected with bovine leukaemia virus with that gained after the administration of FLK-BLV cells and lymphocytes of a leukaemic cow. The experiment was carried out on two groups of animals aged from 6 to 8 months. Each group of the cows was infected intravenously with the same dose of 1.2×10^5 FLK cells or lymphocytes. The third group involving two animals served as the control one. The sera of calves were tested at 2, 4, 6 weeks and 2, 3, 4 and 5 months after infection. The geometric mean titer of FLK infected calves was 3.9; 50.8; 101.6; 80.0; 64.0; 63.5 and 51.2 and in the group infected with lymphocytes – 0.0; 511.6; 776.0; 2051.0; 1559.0; and 504.1, respectively. Serological examinations by means of the ELISA test revealed specific antibodies at two weeks after infection in the FLK group and at four weeks in the lymphocyte treated group. The highest titers were observed at six weeks in the sera of calves of the first group and at two months in case of the second group. It was found that the highest titer of antibodies in the calves infected with lymphocytes was 20-fold higher than that of FLK cells infected animals.

(13, 27). Choroba cechuje się wzrostem limfocytów subpopulacji typu-B od 40-80% ogólnej liczby limfocytów krwi obwodowej, wobec 15-20% limfocytów bydła zdrowego (9, 16). Wyjaśniono etiologiczny związek choroby z zakaźnością limfocytów krwi zwierząt chorych na białaczkę (1-6, 14, 20, 28). Przeniesienie choroby występuje po dostaniu się do wrażliwego organizmu limfocytów bydła zawierających w swoim genomie prowirusowy DNA-BLV (2, 4, 20).

Wyraźną zależność efektywności zakażenia zwierząt wirusem BLV od liczby użytych limfocytów bydła białaczkowego wykazało wielu autorów (m.in. 5, 12, 24, 25). Istotnym elementem w procesie zakażenia jest również droga wprowadzenia zarazka. Infekcyjność wirusa BLV wykazano zakażając zwierzęta drogą dożylną, domięśniową, śródskórną, podskórną, dootrzewnową, doustną, donosową, a nawet drogą rektalną (6-8, 15, 21). Wykazano ponadto możliwość przenoszenia wirusa enzootycznej białaczki bydła przez owady (2).

Celem podjętych badań było porównanie efektywności zakażenia cieląt wirusem BLV uzyskanym z komórek FLK/BLV/ i limfocytów krwi obwodowej krowy chorej na białaczkę oraz określenie testem ELISA miana przeciwciał swoistych w ich surowicy krwi.

Materiał i metody

Enzootyczna białaczka bydła (ebb) jest zakaźną, nowotworową chorobą układu limfatycznego o chronicznej proliferacji limfocytów, wywołaną przez retrowirus typu-C

Wirus BLV-FLK. Źródłem wirusa były komórki FLK (Fetal Lamb Kidney) zakażone permanentnie wirusem enzootycznej białaczki bydła zebrane w 96 godzin

po pasażu. Uzyskane po trypsynizacji komórki wirowano 15 min. przy 2500 obr/min. i zawieszano w 10 ml 0,9% NaCl. Następnie dwukrotnie je zamrażano i rozmrażano, po czym zakażano cielęta w dawce $1,2 \times 10^5$ /ml.

Wirus BLV z limfocytów krwi obwodowej krowy białaczkowej. Żadaną liczbę komórek uzyskano wg metody Weinholda (26), po czym dwukrotnie je zamrażano i rozmrażano. Cielęta zakażano analogiczną dawką komórek, jak w przypadku wirusa BLV uzyskanego z FLK.

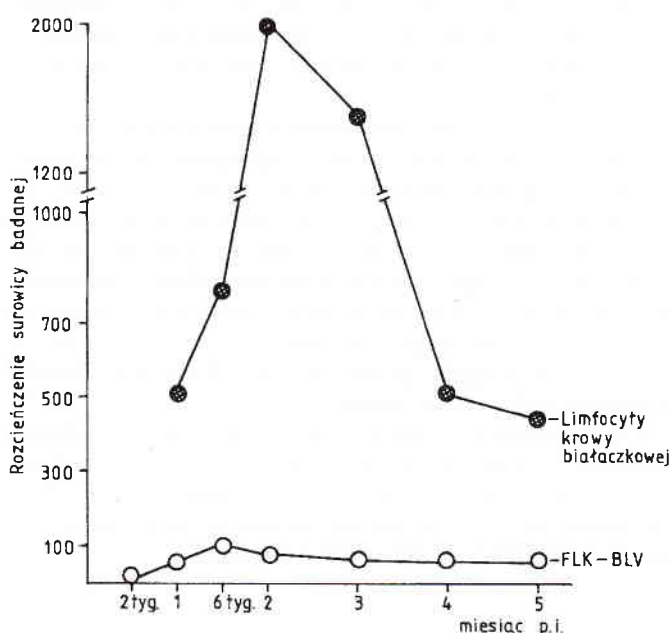
Test ELISA. Badania wykonano wg metody podanej przez Steca i wsp. (23). Wyniki liczbowe poziomu miana przeciwciał swoistych w teście ELISA podano w postaci średniej geometrycznej GMT (Geometric Mean Titer).

Zwierzęta. Do badań użyto 10 cieląt rasy ncb w wieku 6 – 8 miesięcy pochodzących z gospodarstwa uprzednio zakażonego. Surowice badanych cieląt przed zakażeniem wykazywały ujemny wynik testu ELISA. Wymienione cielęta zakażono dożylnie w dwu oddzielnych grupach: grupa I – zakażona dawką $1,2 \times 10^5$ komórek FLK-BLV i grupa II – zakażona identyczną dawką limfocytów krwi krowy białaczkowej. Grupę kontrolną stanowiły cielęta nie zakażone. Próbkę krwi do badań serologicznych pobierano od cieląt z żyły jarzmowej po 2, 4 i 6 tygodniach oraz po 2, 3, 4 i 5 miesiącach od zakażenia.

Dawką wymienionych limfocytów była krowa, w której badaniem hematologicznym wykazano 74 500 limfocytów w 1 ul krwi oraz stwierdzono dodatni wynik badania serologicznego dla BLV w odczynie immunodifuzji w żelu (ID).

Wyniki i omówienie

Uzyskane rezultaty przedstawiono na ryc. 1. Przeprowadzone badania wykazały pełną zakaźność wirusa BLV uzyskanego zarówno z komórek FLK, jak i limfocytów krwi krowy białaczkowej oraz istotne różnice w dynamice odpowiedzi immunologicznej zakażonych cieląt. Średnie miano GMT przeciwciał odpornościowych w wymienionych terminach badań w grupie I – zakażonej komórkami FLK



Ryc. 1. Poziom miano przeciwciał dla BLV (ELISA) w surowicy cieląt zakażonych

wynosiło: 3.9, 50.8, 101.6, 80.0, 64.0, 63.5 i 51.2, zaś w grupie II – zakażonej limfocytami krwi obwodowej krowy białaczkowej, odpowiednio: 0.0, 511.6, 776.0, 2051.0, 1559.0, 512.0 i 504.1.

Należy zaznaczyć, że pierwsze dodatnie wyniki kontroli przeciwciał anty BLV w grupie cieląt zakażonych komórkami FLK, notowano w 2 tygodnie po zakażeniu. Przez kolejne 4 tygodnie obserwowano ich wzrost (GMT = 1:101,6), po czym wykazano stopniowy spadek miana (z 1:80 po 2 miesiącach do 1:51,2 po 5 p.i.).

W grupie cieląt zakażonych limfocytami krowy białaczkowej, obecność dodatnich wyników testu ELISA notowano dopiero po 4 tygodniach od zakażenia, jednakże odpowiedź serologiczna była tu znacznie wyższa niż w grupie I i utrzymywała się na wysokim poziomie w okresie 5 miesięcy p.i. Najwyższe miano przeciwciał swoistych dla BLV w tej grupie cieląt notowano w 2 miesiące p.i. (GMT = 1:2051) i było ono 20-krotnie wyższe od najwyższego miana przeciwciał stwierdzonych w grupie cieląt zakażonych komórkami FLK.

Kontrola serologiczna przeciwciał swoistych dla BLV w surowicy krwi cieląt nie zakażonych, w badanym okresie czasu, dała wynik ujemny.

Czas wystąpienia dodatnich wyników przeciwciał swoistych w surowicy krwi cieląt badanych zgodny jest z rezultatami innych autorów (6, 11, 15, 19, 21, 22, 28). Obserwowane różnice mian przeciwciał anty BLV świadczą o znacznie wyższej immunogenności wirusa enzootycznej białaczki bydła uzyskanego z limfocytów krwi obwodowej. 20-krotnie wyższe miano GMT przeciwciał swoistych w surowicy cieląt zakażonych limfocytami krowy białaczkowej przemawia za silniejszą stymulacją układu immunologicznego, a tym samym za obecnością większej ilości strukturalnych białek wirusa BLV w limfocytach krwi niż w komórkach FLK.

Wielu autorów podkreśla efektywność zakażenia owiec i krów limfocytami krwi bydła białaczkowego (m.in. 15, 21, 24). Miller i wsp. (15) badając 17 doświadczalnie zakażonych krów, wykazali w okresie od 2 do 8 tygodni p.i. dodatni wynik miana przeciwciał w teście RIA. Autorzy stwierdzili u 8 zwierząt wcześniej przeciwciała przeciw antygenowi gp51 niż antygenowi p24. Ressang i wsp. (17) zakażając owce i kozy krwią bydła białaczkowego, wykazali obecność swoistych przeciwciał odpornościowych w okresie od 1 do 3 miesięcy po zakażeniu. W kolejnym badaniu (18), w grupie 4 cieląt, które kontaktowały się z bydem zakażonym BLV, autorzy stwierdzili dodatni wynik odczynu ID i ELISA po upływie 3 miesięcy jedynie u jednego z nich. U 3 pozostałych cieląt, w okresie 6 miesięcy p.i. nie stwierdzono dodatniej reakcji serologicznej dla wirusa BLV.

Podobne wyniki uzyskali również Mammerickx i wsp. (11) oraz Roberts i wsp. (19). Mammerickx i wsp. (11) zakażając podskórnie i doustnie 28 owiec i 10 krów, wykazali zakaźność krwi bydła, owiec i kóz zakażonych wirusem BLV. Swoiste przeciwciała odpornościowe dla wirusa BLV, w odczynie immunodifuzji i RIA, pojawiły się między 15 a 30 dniem po zakażeniu. Roberts i wsp. (19) wykazali, że przeciwciała przeciwko antygenowi glikoproteidowemu gp51 pojawiły się znacznie wcześniej i utrzymywały się znacznie dłużej niż przeciwciała przeciw antygenowi p24.

Zależność efektywności zakażenia wirusem enzoptycznej białaczki była od liczby wprowadzonych do organizmu zwierząt limfocytów była białaczkowego wykazało wielu autorów (m.in. 5, 12, 24, 25). Straub (24) stwierdził, że 1000 leukocytów krwi była zakażonego wirusem BLV może stanowić efektywną dawkę zakaźną. Mammerickx i wsp. (12) wykazali, że do wywołania pełnego obrazu choroby należy użyć 926 limfocytów krwi białaczkowej. Stirtzinger i wsp. (25) wykazali wyraźną odpowiedź serologiczną u owiec już po 2 tygodniach po zakażeniu ich limfocytami krwi owcy białaczkowej. Badania Gateia i wsp. (5) z kolei potwierdziły pełną zakaźność 200 limfocytów krwi obwodowej krwi białaczkowej dla owiec zakażonych drogą doustną. Wszystkich 5 owiec zakażonych wykazywało dodatni wynik odczynu immunodiffuzji dla przeciwciał anty gp51 w okresie od 3 do 24 tygodni. Grundboeck i wsp. (6) wskazują na efektywność zakażenia wirusem BLV drogą doustną i dootrzewnową. Mammerickx i wsp. (10) podkreślają możliwość zakażenia wirusem BLV drogą doustną. Ciekawe rezultaty w badaniach nad efektywnością zakażenia była drogą rektałną uzyskali Henry i wsp. (7). Schmer i Pearson (22) jednoznacznie podkreślają, że przenikanie białych krwinek przez ściany przewodu pokarmowego jagniąt, w pierwszych dniach po urodzeniu, sprzyja penetracji wirusa BLV do organizmu drogą jelitową.

Przeprowadzone badania własne wskazują nie tylko na efektywność drogi doustnej przy zakażeniu cieląt wirusem enzoptycznej białaczki, uzyskanego z komórek FLK lub limfocytów krwi krów białaczkowych, lecz i na wyraźną stymulację ich układu immunologicznego oraz na istotne różnice w poziomie odpowiedzi serologicznej.

Piśmiennictwo

1. Box F., Bruck C., Mammerickx M., Portetelle D., Ghysael J., Cleuter Y., Ledorsq M., Dekegel D., Burny A.: Cancer Res. 39, 1118, 1979.
2. Buxton B.A., Schultz R.D.: Can. J. comp. Med. 48, 365, 1984.
3. Cockerell G.L., Parodi A.L., Levy B.: Vet. Immun. Immunopathol. 13, 189, 1986.
4. Evermann J.F., Di Giacomo R.F., Ferrer J.F., Parodi S.M.: Am. J. vet. Res. 17, 1885, 1986.

5. Gatei M.H., Mc Lennam M.W., Levin M.F., Daniel R.C.W.: J. Vet. Med. B 36, 652, 1989.
6. Grundboeck M., Grundboeck-Juško J., Ruška J., Szczotka M.: Arch. exp. Vet. Med. 10, 356, 1986.
7. Henry E.T., Levine J.F., Coggins L.: Am. J. vet. Res. 48, 634, 1987.
8. Hopkins S.G., Di Giacomo R.F., Evermann J.F.: J. Inf. Dis. 158, 1133, 1988.
9. Kumar S.O., Paul P.S., Pomeroy K.A., Johnson D.W., Muscoplat C.C., Van Der Maaten M.J., Miller J.M., Sorensen D.K.: Am. J. vet. Res. 39, 45, 1978.
10. Mammerickx M., Dekegel D., Burny A., Portetelle D.: Vet. Microbiol. 1, 347, 1976.
11. Mammerickx M., Portetelle D., Burny A., Lennan M.: Zntbl. Vet. Med. B. 27, 291, 1980.
12. Mammerickx M., Portetelle D., De Clerco K., Burny A.: Leukemia Res. 11, 353, 1987.
13. Miller J.M., Miller L.D., Olson C., Gillette K.G.: J. natn. Cancer Inst. 43, 1297, 1969.
14. Miller J.M., Van Der Maaten M.J.: J. natn. Cancer Inst. 62, 425, 1979.
15. Miller J.M., Schmer M.J.F., Van Der Maaten M.J.: Am. J. vet. Res. 42, 5, 1981.
16. Paul P.S., Pomeroy K.A., Johnson D.W., Miscoplat C.C., Handwerger B.S., Soper F.S., Sorensen D.K.: Am. J. vet. Res. 38, 873, 1977.
17. Rensang A.A., Baars J.C., Calafat J., Mastenbroek N., Quak J.: Zntbl. Vet. Med. B. 23, 602, 1976.
18. Rensang A.A., Mastenbroek N., Quak J.: Zntbl. Vet. Med. B 29, 137, 1982.
19. Roberts D.H., Lucas M.H., Wibberley G., Chasey D.: Vet. Rec. 110, 222, 1982.
20. Roberts D.H., Lucas M.H., Wibberley G., Swallow C.: Vet. Rec. 116, 310, 1985.
21. Roberts D.H., Lucas M.H., Wibberley G.: Vet. Immun. Immunopathol. 11, 351, 1986.
22. Schmer K.L., Pearson L.D.: J. Reprod. Immunol. 6, 329, 1984.
23. Stec J., Grundboeck-Juško J., Grundboeck M.: Medycyna Wet. 41, 117, 1985.
24. Straub O.O.: Fifth Intern. Symposium of Bovine Leukosis. CBC Edit. O.O. Straub. Luxemburg. 293, 1984.
25. Stirtzinger T., Valli V.E.O., Miller J.M.: Can. J. Vet. Res. 52, 222, 1988.
26. Weinhold E.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 78, 406, 1965.
27. Van Der Maaten M.J., Miller J.M., Bothe A.D.: J. Natn. Cancer Inst. 52, 491, 1974.
28. Van Der Maaten M.J., Miller J.M., Schmer M.J.F.: Vet. Microbiol. 7, 411, 1982.

Adres autora: dr Jan Ruška, ul. Lubelska 17/6, 24-100 Puławy

SHPIGEL N.Y., ELAD D., YERUKAM I., WINKLER M., SARAN A.: Zakażenie wywołane przez *Corynebacterium pseudotuberculosis* w stadzie bydła mlecznego w Izraelu. (An outbreak of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in an Israeli dairy herd). Vet. Rec. 133, 89-94, 1993 (4)

Corynebacterium pseudotuberculosis, czynnik etiologiczny serowaciejącego zapalenia węzłów chłonnych u owiec i kóz, wywołuje zachorowania u bydła mlecznego w Izraelu. Choroba przebiegała w postaci skórnej, zapalenia gruczołu mlekowego, formie trzewnej i w formie mieszanej. Większość krów chorowała w lecie. Odsetek śmiertelności wynosił 13,7%. W formie skórnej na którą zachorowało 30 krów ropiejące ziarninaki występowały w skórze tułowia. Zapalenie wymienia przebiegało w formie subklinicznej lub klinicznej u 5 krów. W formie trzewnej choroby był zajęty górny odcinek dróg oddechowych. Postać skórna uległa samowyleczeniu podczas gdy zapalenie gruczołu mlekowego nie ustępowało pomimo stosowanego leczenia. Zapalenie prowadziło do silnego spadku mleczności. Większość wyisobnionych szczepów *C. pseudotuberculosis* była wrażliwa na norfloksacyne, cefalosporyny, metycylinę, kanamycynę i furazolidon, oporna na ampicylinę, linkomycynę i neomycynę.

BOSS P., MONCTON R.P., NICOLET J., BURNENS A.P.: Wykrywanie genów produkujących toksynę u patotypów *E. coli* izolowanych od świń metodą sond nieradioaktywnych. (Nachweis von toxinogenen verschiedener *E. coli* pathotypen beim Schwein mit nichtradioaktiv markierten sonden). Schweiz. Arch. Tierheilk. 134, 31-37, 1992 (1)

Przebadano metodami serologicznymi oraz stosując sondy nieradioaktywne znakowane digoksygeniną-d VTP, szczepy hemolityczne *Escherichia coli* izolowane z 86 świń z chorobą obrzękową lub biegunką na obecność genów odpowiedzialnych za produkcję enterotoksyny lub toksyny Shiga-like. Metodą aglutynacji szkiełkowej wykazano, że 38 szczepów posiada antygen 0149:K88, 28 szczepów antygen 0138:82B i 20 szczepów antygen 0141. Izolaty *E. coli* o antygenie 0149:K88 pochodzące od świń z biegunką reagowały z sondami dla genów LT i LTb zaś izolaty o strukturze antygenowej 0138:82B reagowały z sondą SLTII. *E. coli* izolowane z choroby obrzękowej i biegunek cechowały się różnorodnością genów warunkujących toksyczność. Wszystkie izolaty pochodzące od świń z biegunką posiadające antygen 0141 reagowały z sondą LT, STap i SLTII.