

wątroby, ewentualnie nerek i śledziony, poszukuje się złogów hemosyderyny. W badaniu rozmazu krwi, który wykonać należy w dniu pobrania krwi, poszukuje się obecności *E. suis*, określa się wielkość, kształt oraz liczbę riketsji na powierzchni erytrocytów. W badaniu hematologicznym krwi oznacza się poziom hemoglobiny, hematokryt, liczbę erytrocytów, ustala się również obraz krwinek białych. W surowicy oznacza się poziom bilirubiny i ewentualnie zdolność wiązania żelaza. Na wynik dodatni badania wskazują następujące rezultaty: liczba erytrocytów od 1 do $2 \times 10^{12}/l$, poziom hemoglobiny 20-40 g/l, najczęściej 70-90 g/l, liczba leukocytów $20-50 \times 10^9/l$; w obrazie białokrwinkowym obserwuje się wzrost liczby limfocytów i monocytów. W badaniu bakterioskopowym rozmazy krwi należy barwić metodą May-Grünwalda oraz Giemsy lub metodą Giemzy – Romanowsky'ego. W stadium szczytowym obecność riketsji, układających się w postaci ziarnistości, stwierdza się w 80-100% erytrocytów. W stadium pośrednim i chronicznym choroby jedynie w niektórych (10% – 30%) erytrocytach obserwuje się pojedyncze ziarnistości, natomiast w stadium latentnym wynik badania bakterioskopowego jest ujemny (4).

Leczenie. W leczeniu Epe uwzględnić należy konieczność uwolnienia stada od świerzbu i wszawicy. Według Smitha (16) dobre efekty w profilaktyce i terapii omawianej choroby daje podawanie kwasu arsenilowego. W programie zwalczania Epe zaleca się stosowanie 99 ppm kwasu arsenilowego na 1 tonę paszy dla loch prośnych. Paszą tą należy karmić lochy przez cały okres ciąży. W okresie laktacji samicom należy podawać paszę z dodatkiem 50 ppm kwasu arsenilowego. Prosięta i warchlaki karmić paszą z dodatkiem 99 ppm kwasu arsenilowego. Zazwyczaj zbędne jest podawanie kwasu arsenilowego tucznikom. W stadach dotkniętych Epe żelazo aplikować należy prosiętom już w pierwszym dniu życia. W trzecim dniu życia warto podać oseskom żelazo w przyswa-

jalnej formie doustnej, np. w postaci preparatu MicroFerm. Bardzo celowe jest domięśniowe podanie zakażonym oseskom w 1. 3. i 5. dniu życia oksytetracykliny, np. w postaci bezpiecznej dla noworodków Engamycyny. Do chwili obecnej nie opracowano szczepionki przeciw eperytyrozoonozie, chociaż prowadzi się badania nad immunizacją jako środkiem zapobiegającym chorobie (16).

Piśmiennictwo

1. Breed R., Murray E. G., Smith N. R.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. IX wyd. The Williams and Wilkins Co., USA, 1984.
2. Bugnowski H., Horsch F., Muller D., Zepezauer V.: Mh. Vet.-Med. 41, 145, 1986.
3. Bugnowski H.: Mh. Vet.-Med. 43, 274, 1988.
4. Bugnowski H., Horsch F.: Mh. Vet.-Med. 43, 343, 1988.
5. Bugnowski H., Horsch F., Muller D., Sattler H., Zepezauer V.: Arch. exper. Vet. med. 43, 391, 1989.
6. Cerutti C. G.: Ann. parasit. 17, 114, 1939.
7. Doyle L. P.: J. A. vet. med. Ass. 81, 668, 1932.
8. Heinritz K.: Prakt. Tierarzt. 65, 42, 1984.
9. Henry S. C.: J. Am. vet. med. Ass. 174, 601, 1979.
10. Hoffmann H.: Tierärztl. Umsch. 39, 474, 1984.
11. Jiran E.: Veterinarstvi 39, 6, 1989.
12. Kinsley A. T.: Vet. Med. 23, 312, 1933.
13. Korn K., Mussgay M.: Zbl. Vet.-Med. B. 15, 617, 1968.
14. Modrić Z., Džakula N., Dagny S., Culjak K., Grabarević Ž., Milas Z.: Vet. Glasnik. 41, 233, 1987.
15. Savage A., Isa J. M.: Cornell Vet. 48, 10, 1958.
16. Smith A. R.: Eperythrozoonosis, w: Diseases of Swine. A. D. Leman, Iowa State Univ. Press, 1993.
17. Sugimoto M.: J. Soc. Trop. Agric. 7, 240, 1959.
18. Splitter E. J.: Am. J. vet. Res. 11, 324, 1950.
19. Taylor D. J.: Pig Diseases, The Burlington Press (Cambridge) Ltd., Foxton, Cambridge, 1990.
20. Truszczyński M.: Bakteriologia weterynaryjna, PWRiL, Warszawa 1984.
21. Więckowski W.: dane nie publikowane.

Adres autora: prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

STANISŁAW KLIMENTOWSKI, KRZYSZTOF RYPUŁA, RYSZARD ZIEMIŃSKI,
JANUSZ FOLWARCZNY, JAN RUŁKA*

Wykorzystanie testu ELISA do rozpoznawania niektórych chorób zakaźnych bydła przy użyciu prób mleka^{*)}

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, Pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

*Instytut Weterynarii, Al. Partyzantów 55, 24-100 Puławy

Summary

ELISA for the diagnosis of some infectious diseases of cattle by the use of milk samples

The aim of the investigations was the development of a milking system for the purpose of its use for control examinations of EEB, brucellosis and IBR using ELISA. The examinations were performed on 18 chosen farms and in 309 individual farms free of brucellosis and generally free of BLV and BHV-1. A total of 2250 milking cows from 4 voivodships in the south-west of Poland were examined. The blood was examined consecutively with by ELISA milk test for EBB by AGID and for brucellosis in the OKAP test. In the case of IBR SN was used only in the cows positive in ELISA milk test.

Positive results in the diagnosis of EBB infection were more often noted in the ELISA milk test (30 and 28 cases) than in AGID test using blood sera (17 and 17 cases). Both ELISA milk test and the classic serological test used to diagnose brucellosis were negative. In the examinations for IBR, in all but one case, all positive ELISA milk test results were confirmed by the SN test with blood sera. It is worth noting the presence in all tests of significant differences in color intensity both in positive and negative samples which indicates a high sensitivity and specificity of the tests.

Badania diagnostyczne testem ELISA w kierunku enzoptycznej białaczki bydła (EBB) i brucelozy w oparciu o pojedyncze

^{*)} Praca częściowo finansowana z projektu celowego KBN nr 5 5564.92/C/552

oraz zbiorcze próby mleka przeprowadza się powszechnie w krajach Unii Europejskiej (UE) i są one w niektórych z nich oficjalnie przyjętymi badaniami urzędowymi obok metod tradycyjnych, jak dla białaczki AGID, a brucelozy test płytowy (OKAP) i odczyn wiązania dopełniacza (OWD) (4, 5, 6, 7, 19, 20).

Również w przypadku IBR i BVD, które w wielu krajach UE zwalczane są na zasadach dobrowolności, test ELISA z mlekiem znalazł zastosowanie jako bezpieczna metoda alternatywna do tradycyjnie stosowanego odczynu seroneutralizacji (SNT) (3, 7, 15, 16). Ma to szczególne znaczenie ze względu na dość liczne badania bydła w kierunku IBR w obrocie eksportowo-importowym.

Obecność przeciwciał w mleku stwierdzili liczni autorzy, przy czym zawartość ich, z wyjątkiem okresu siarowego, w którym notuje się wzrost poziomu immunoglobulin, jest znacznie niższa aniżeli w surowicy krwi (1, 2, 12, 18). Dlatego wykorzystanie mleka w rozpoznawaniu chorób zakaźnych umożliwia jedynie wysoce czułe i swoiste testy ELISA. Pozwalają one wykryć jednego dodatniego reagenta w zbiorczej próbie pochodzącej od 50 krów w przypadku EBB oraz odpowiednio od 100 krów w przypadku brucelozy. Przy wprowadzeniu zabiegów powodujących zagęszczenie frakcji gamma-globulinowej mleka, próg liczby zwierząt może być podwyższony dwukrotnie. Oznacza to w praktyce ponad 20-krotnie niższe koszty badań kontrolnych w gospodarstwach wielkostadnych i kilkakrotne obniżenie tych kosztów w gospodarstwach chłopskich w porównaniu z kosztami badania krwi (17).

Biorąc pod uwagę niedobór środków budżetowych na zwalczanie chorób zakaźnych wskazanym jest wprowadzenie takich metod, które z jednej strony ograniczą zbędne wydatki, a z drugiej strony zapewnią rzetelne i miarodajne przeglądy serologiczne obrazujące występowanie chorób zakaźnych w kraju. W przypadku bydła mlecznego taką metodą jest badanie zbiorczych prób mleka. Korzyści z tym związane są następujące: uniknięcie zakażeń jatrogennych podczas pobierania krwi, uniknięcie sytuacji stresowych i tym samym strat produkcyjnych pojawiających się przy pobieraniu krwi oraz obniżenie wysokich kosztów związanych z pobieraniem oraz badaniem pojedynczych prób.

Celem badań własnych było opracowanie systemu pozytywności mleka i jego wykorzystania do okresowych badań kontrolnych testem ELISA w kierunku EBB, brucelozy i IBR zarówno w gospodarstwach wielkostadnych, jak i w gospodarstwach chłopskich oraz porównawcza ocena tego testu w odniesieniu do metod standardowych (AGID przy EBB, OKAP, OA i OWD przy brucelozie oraz SNT przy IBR).

Materiał i metody

Badania wykonano w 18 wybranych gospodarstwach wielkostadnych oraz w 309 gospodarstwach drobnotowarowych. Wszystkie gospodarstwa były wolne od brucelozy oraz w większości przypadków wolne od zakażeń BLV i BHV-1 lub będące w końcowej fazie uzdrawiania od EBB. Ogółem badaniami objęto ponad 2250 krów mlecznych na terenie 4 województw Polski południowo-zachodniej.

Krew do rutynowych badań diagnostycznych w ZHW pobierano z żyły jarzmowej, a uzyskaną surowicę poddawano badaniom w kierunku EBB odczynem ID oraz w kierunku brucelozy OKAP. W odniesieniu do IBR w teście SNT weryfikowano jedynie dodatnie wyniki testu ELISA z mlekiem.

Równocześnie z próbami krwi pobierano zbiorcze próby mleka do buteleczek poliwinylowych o objętości 60-80 ml z dodatkiem 0,02% azydku sodowego jako konserwantu, co po-

zwalało na ich przechowywanie w stanie nie zmienionym przez okres 4-6 tygodni. Ponadto do pobranego mleka dodawano 1-2 krople błękitu metylowego jako wskaźnika procesów oksy-redukcyjnych, zachodzących w przypadku psucia się mleka.

Do badań testem ELISA używano mleka chudego lub serwatki. W celu odtłuszczenia mleka pobrane próbki wirowano przez 10-15 minut przy 3000 obr./min, po czym ściągano śmietankę, a chude mleko pozostawiano do badań. Aby uzyskać serwatkę, odtłuszczone mleko poddawano działaniu 1% podpuszczki (0,1 ml/10 ml mleka) w łaźni wodnej przez 1 godz. w temperaturze 37°C. Następnie wirowano przy 2500 obr./min. przez 15 min., po czym ściągano serwatkę. W szczególnych przypadkach zagęszczano frakcję gamma-globulin mleka poprzez wysalanie serwatki nasyconym roztworem siarczanu amonu i ponowne zawieszenie w 10-krotnie mniejszej objętości rozpuszczalnika, uzyskując w ten sposób ich 10-krotne zagęszczenie.

Badania mleka testem ELISA wykonano przy użyciu gotowych zestawów diagnostycznych firmy „Dr Bommeli AG” (Liebefeld-Bern – CH) pod nazwą CHEKIT-Leucotest, CHEKIT-Brucellose i CHEKIT-Trachitest.

Wyniki i omówienie

W tab. 1-4 przedstawiono wyniki porównawczych badań surowicy krwi odczynem AGID i mleka testem ELISA w kierunku EBB. Uogólniając stwierdzono, że po stronie wyników ujemnych istnieje całkowita zgodność między porównywanymi odczynami zarówno w badaniach krwi, jak i mleka. Natomiast istotne różnice zaobserwowano po stronie wyników dodatnich. Dotyczyły one częstszego stwierdzania dodatnich wyników w badaniach mleka testem ELISA, aniżeli surowicy krwi odczynem AGID. Zjawisko to obserwowano ze szczególnym nasileniem w stadach zakażonych BLV (tab. 2).

Również w odniesieniu do gospodarstw drobnotowarowych znacznie częściej ujawniano obecność przeciwciał anti-BLV w badaniach mleka testem ELISA, aniżeli surowicy krwi odczynem AGID. Wyniki tych obserwacji dotyczyły głównie gospodarstw, w których we wcześniejszych badaniach stwierdzano odczynem AGID zakażenia BLV. W przeprowadzonych badaniach częściej wyniki dodatnie notowano zarówno w zbiorczych, jak i indywidualnych próbach mleka (tab. 1, 2).

Reasumując wyniki w gospodarstwach wielkostadnych na podstawie badań zbiorczych prób mleka, a następnie prób indywidualnych ujawniono obecność przeciwciał anti-BLV u 28 krów, natomiast w rutynowych badaniach surowicy krwi odczynem AGID u 17 krów. W odniesieniu do małych gospodarstw chłopskich różnice te były jeszcze wyższe – dodatnie wyniki w badaniach mleka testem ELISA stwierdzono u 30 krów, a w odczynie AGID surowicy krwi u 17 krów (tab. 3 i 4).

O dużej czułości i swoistości tego zestawu ELISA świadczą ryciny 1-4, które ilustrują wartości ekstynkcji netto badanych prób dodatnich i ujemnych oraz prób kontrolnych słabododatnich i ujemnych.

Analizując szczegółowo uzyskane wartości ekstynkcji można stwierdzić, że po stronie badanych prób ujemnych i prób kontrolnych ujemnych nie przekroczyły one 0,12 – 0,16. Natomiast wartości ekstynkcji badanych prób dodatnich i prób kontrolnych słabododatnich kształtowały się znacznie powyżej 0,25 (ryc. 1 i 2). Wyraźne różnice w natężeniu zabarwienia prób dodatnich (badanych i kontrolnych) i ujemnych pozwalają na pewny odczyt i końcową ocenę testu.

W przypadku badań w kierunku brucelozy możliwą była jedynie ocena porównawcza zastosowanych metod po stronie wyników ujemnych, co spowodowane było brakiem dostępu

Tab. 1. Wyniki badań serologicznych krwi AGID i mleka testem ELISA („Bommeli”) w kierunku EBB w gospodarstwach wielkostadnych

Gospodarstwa	Liczba badanych krów	Liczba krów z dodatnim wynikiem szt. (%)	
		ID	ELISA
Brzezice	40	1 (2,5)	2 (5)
Łąka Prudnicka	92	4 (4,4)	5 (5,4)
Pawłowice	31	2 (6,4)	6 (9,3)
Pruszwice	76	10 (13,1)	15 (19,3)

Tab. 2. Porównanie wyników badań AGID krwi i ELISA mleka w kierunku EBB w poszczególnych gospodarstwach wielkostadnych

Gospodarstwa	Numer badanej próby	AGID surowicy krwi	ELISA mleka		Ogółem zbadanych krów
			+	-	
Brzezice	1 n=40	ID	+	1	40
			-	1	
Łąka Prudnicka	1 n=53	ID	+	2	92
			-	0	
	2 n=39	ID	+	2	
			-	1	
Pawłowice	1 n=31	ID	+	2	31
			-	6	
Pruszwice	1 n=34	ID	+	4	76
			-	2	
	2 n=42	ID	+	6	
			-	3	

Tab. 3. Wyniki badań serologicznych krwi (AGID) i mleka (ELISA „Bommeli”) w kierunku EBB w gospodarstwach drobnotowarowych

Gminy	Liczba badanych krów	Liczba krów z dodatnim wynikiem szt. (%)	
		AGID	ELISA
Widawa	135	4 (2,6)	7 (4,6)
Św. Katarzyna	108	5 (4,6)	6 (5,5)
Środa Śląska	151	4 (2,6)	7 (4,6)
Kostomłoty	144	1 (0,7)	5 (3,4)
Osiek	185	1 (0,5)	3 (1,6)
Pęgów	315	2 (0,6)	2 (0,6)

do materiału terenowego podejrzanego o brucelozę. We wszystkich badaniach uzyskano pełną zgodność wyników ujemnych porównywanych metod przy jednoczesnym zachowaniu wyraźnych różnic w kontrolnych surowicach słabododatnich i ujemnych (ryc. 3 i 4).

Na podstawie badań testem ELISA w kierunku IBR zbiorczych prób mleka, a następnie prób indywidualnych ujawniono tylko w jednym gospodarstwie wielkostadnym u 2 krów-pierwiastek wyniki dodatnie, które potwierdzono także w SNT (ryc. 5). Natomiast w gospodarstwach drobnotowarowych na zbadanych 1038 krów z 309 zagród, dodatnie wyniki stwierdzono w 10 zagrodach u 10 krów (tab. 5). Z tej liczby siedem krów zbadano również w SNT, w którym w 6 przypadkach potwierdzono wyniki dodatnie.

Wartości ekstynkcji badanych prób ujemnych i prób kontrolnych ujemnych nie przekroczyły średnio 0,05, podczas

Tab. 4. Porównanie wyników badań AGID krwi i ELISA mleka w poszczególnych gospodarstwach drobnotowarowych w kierunku EBB

Gmina		próba zbiorcza ELISA mleka		próba indywidualna ELISA mleka	
		+	-	+	-
Widawa 21 gospodarstw 9 miejscowości	ID krwi	+	2	+	4
		-	3	-	7
Św. Katarzyna 48 gospodarstw 16 miejscowości	ID krwi	+	4	+	5
		-	1	-	1
Środa Śląska 100 gospodarstw 30 miejscowości	ID krwi	+	6	+	6
		-	1	-	7
Kostomłoty (42 gospodarstwa) (12 miejscowości)	ID krwi	+	2	+	2
		-	1	-	3
Osiek 54 gospodarstwa 5 miejscowości	ID krwi	+	1	+	1
		-	2	-	2
Pęgów 86 gospodarstw 16 miejscowości	ID krwi	+	1	+	1
		-	1	-	1

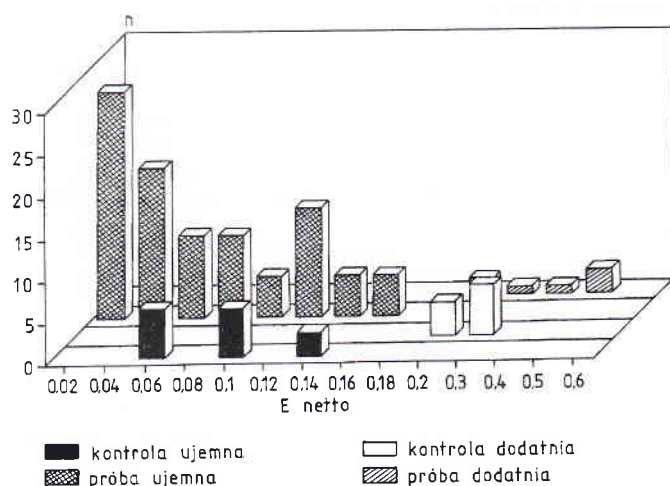
Tab. 5. Wyniki badań mleka testem ELISA w gospodarstwach drobnotowarowych w kierunku EBB

Gmina	Próba zbiorcza ELISA mleka		Próba indywidualna ELISA mleka	
	+	-	+	-
Widawa 21 gospodarstw 9 miejscowości	4	17	4	131
Św. Katarzyna 48 gospodarstw 16 miejscowości	1	47	1	107
Środa Śląska 100 gospodarstw 30 miejscowości	2	56	2	293
Osiek 54 gospodarstwa 5 miejscowości	0	84	0	185
Pęgów 86 gospodarstw 16 miejscowości	3	83	nie badano	

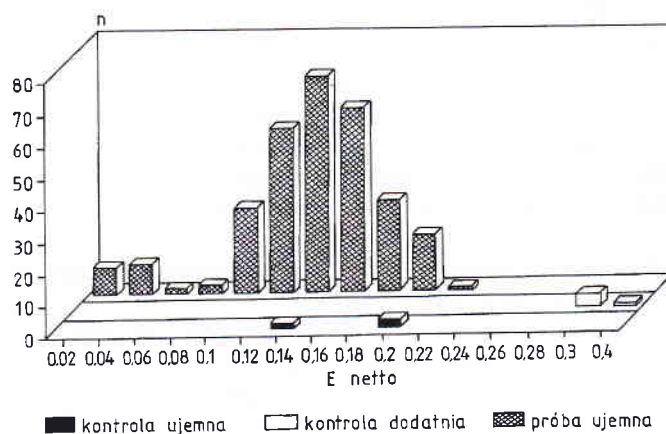
gdy wartości badanych prób dodatnich i prób kontrolnych dodatnich kształtowały się znacznie powyżej 0,3 (ryc. 5, 6).

Badania bydła w kierunku EBB, brucelozy i IBR testem ELISA w oparciu o próby mleka są w Europie stosunkowo liczne (4, 5, 6, 10, 14). Wiele prac poświęcono doskonaleniu i optymalizacji warunków testu w celu ograniczenia reakcji nieswoistych, określenia wartości „cutoff”, tj. wartości, od których wynik uznawany jest za dodatni, eliminacji wyników wątpliwych mieszczących się w tzw. „szarej strefie” oraz standaryzacji i warunków kontroli poszczególnych serii (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 17).

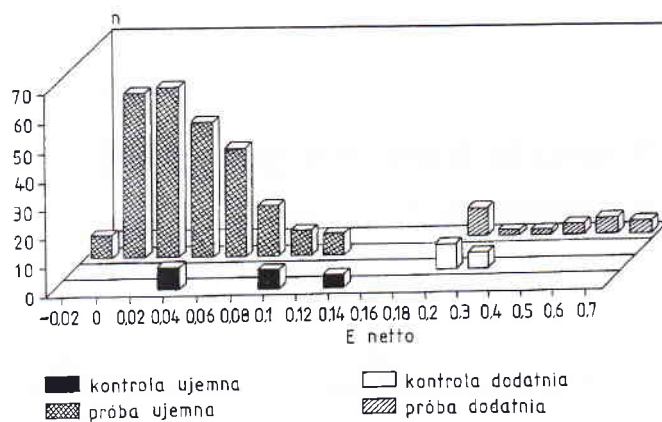
O przydatności testu ELISA w nadzorze epizootologicznym nad chorobami zakaźnymi świadczy publikacja Knösel i wsp. (13), którzy opisali przypadki wykrycia 6 ognisk brucelozy dzięki okresowym badaniom kontrolnym mleka testem ELISA na obecność przeciwciał anty-*Brucella*. Niewykrycie w porę



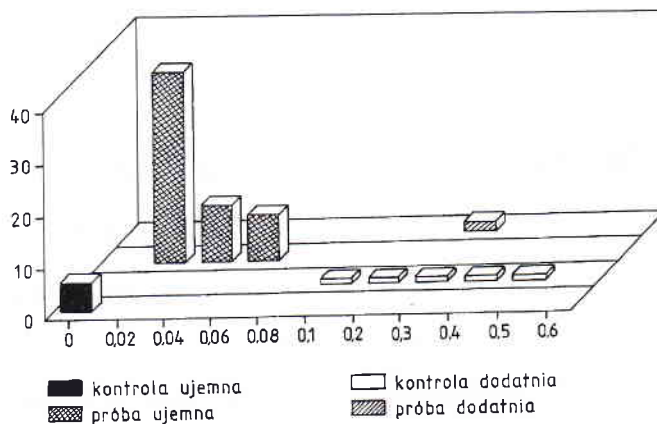
Ryc. 1. Względne wartości ekstynkcji zbiorczych prób mleka i prób kontrolnych w badaniach testem ELISA w kierunku EBB w gospodarstwach wielkostatdnych



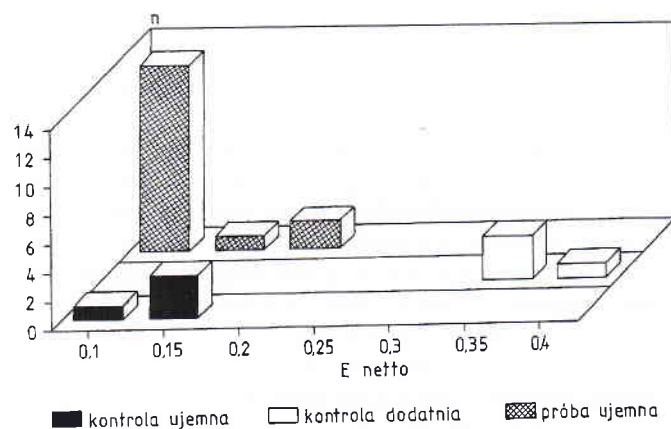
Ryc. 4. Względne wartości ekstynkcji zbiorczych prób mleka i prób kontrolnych w badaniach testem ELISA w kierunku brucellozy w gospodarstwach drobnotowarowych



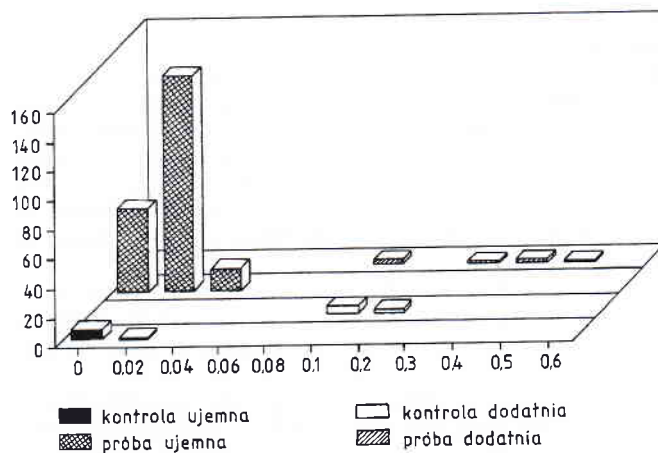
Ryc. 2. Względne wartości ekstynkcji zbiorczych prób mleka i prób kontrolnych w badaniach testem ELISA w kierunku EBB w gospodarstwach drobnotowarowych



Ryc. 5. Względne wartości ekstynkcji zbiorczych prób mleka i prób kontrolnych w badaniach testem ELISA w kierunku IBR w gospodarstwach drobnotowarowych



Ryc. 3. Względne wartości ekstynkcji zbiorczych prób mleka i prób kontrolnych w badaniach testem ELISA w kierunku brucellozy w gospodarstwach wielkostatdnych



Ryc. 6. Względne wartości ekstynkcji zbiorczych prób mleka i prób kontrolnych w badaniach testem ELISA w kierunku IBR w gospodarstwach drobnotowarowych

tych ognisk doprowadziłoby do poważnego zagrożenia epizootycznego.

Częstsze badania mleka testem ELISA pozwalają na w pełni bezpieczny nadzór epizootologiczny nad bydlęm mlecznym oraz na szybsze i skuteczniejsze postępowanie przeciwepizootyczne. Istotną zaletą zestawów ELISA jest również stabilność ich komponentów i możliwość zastosowania przez wiele lat oraz możliwość standaryzacji metody na arenie międzynarodowej.

Reasumując można stwierdzić, że obserwacje własne w pełni potwierdzają przydatność testu ELISA w diagnostycznych badaniach kontrolnych bydła mlecznego w oparciu o zbiorcze próby mleka. Test ten, dzięki swojej wysokiej swoistości i czułości oraz walorom ekonomicznym i możliwości standaryzacji, stanowi solidną metodę alternatywną w rozpoznawaniu chorób zakaźnych bydła, która ma szansę w pełni zastąpić dotychczasowe standardowe odczyny serologiczne.

Piśmiennictwo

1. Bause I., Schmidt F. W.: Tierärztl. Umsch. 35, 642, 1980.
2. Behrens F., Ziegelmeier R., Toth T., Keyserlingk M., Forschner E.: Berl. Munch. tierärztl. Wschr. 92, 527, 1979.

3. Böttcher J., Gottschalk E., Greiserwilke I., Moenning V., Bommeli W.: Rev. OIE 12, 461, 1993.
4. Eloït M., Vuillaume A., Duret C., Prevost P., Toma B.: Recl. Med. Vet. 163, 555, 1987.
5. Forschner E., Büniger I.: Dt. tierärztl. Wschr. 93, 112, 1986.
6. Forschner E., Büniger I.: Dt. tierärztl. Wschr. 93, 269, 1986.
7. Forschner E., Büniger I.: Dt. tierärztl. Wschr. 93, 328, 1986.
8. Forschner E., Büniger I., Krause H. P., Kütler D.: Dt. tierärztl. Wschr. 96, 473, 1989.
9. Forschner E., Lehmacher W.: Dt. tierärztl. Wschr. 99, 87, 1992.
10. Hof-Jorgensen R.: Vet. Immun. Immunopath. 22, 293, 1989.
11. Hof-Jorgensen R.: OIE Manual, T. 3, 1991.
12. Keyserlingk M.: Untersuchungen zum Verhalten maternaler BLV-Antikörper im Blutserum von Kälbern und ihre Bedeutung in tierseuchenrechtlichen sichten. Praca dokt. Hanower, 1980.
13. Knösel H., Hempel E., Forschner E.: Dt. tierärztl. Wschr. 98, 325, 1991.
14. Mammerickx M., Portetelle D., Burny A.: Zbl. Vet. Med. B 32, 526, 1985.
15. Moenning V., Plagemann P. G. W.: Adv. Virus Res. 41, 53, 1992.
16. Niskanen R.: Vet. Rec. 133, 341, 1993.
17. Pallesen U.: Dt. tierärztl. Wschr. 93, 319, 1986.
18. Straub O. C., Fischer C. W., Frerking H.: Tierärztl. Umsch. 33, 657, 1978.
19. Council Directive 88/406/EEC: Official Journal EC No L 194/1.
20. Council Directive 91/499/ECC: Official Journal EC No L 268/107.

Adres autora: dr hab. Stanisław Klimontowski, ul. Pierwiosnkowa 6, 53-225 Wrocław

MAGDALENA ZALESKA, KRZYSZTOF ANUSZ, JERZY KITA

Wpływ immunizacji przeciw influenzy koni na parametry odporności komórkowej^{*)}

Katedra Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Summary

Influence of immunization to equine influenza on the parameters of cellular immune responses

Six thoroughbred horses formed a study group which was immunized twice with a vaccine (Equigrip, Rhone-Merieux), the control group was six unvaccinated horses. Blood was collected for hematological examinations, cellular immune responses, specific humoral immunity (HI) at days 0, 17, 34, 83, 117 and 123 of the experiment. On day 117 of the experiment, 3 horses of the experimental group and 3 horses of the control group were infected intranasally with a mixture of 2 subtypes (A-1 and A-2) of the influenza virus. It is worth noting that 17 days after the first vaccination the lymphocyte stimulation index increased in all horses in the experimental group, while in four of the six unvaccinated horses (control) the index decreased. During this time a statistically significant increase of the specific antibodies titres was not found in vaccinated horses.

Six days after the infection, the fairly high level of specific humoral immunity was accompanied by a strong stimulation of cellular immunity, which was expressed as a statistically significant increase in the lymphocyte stimulation index (as determined by the specific blastic transformation test) and was higher in vaccinated horses. Reisolation of the virus, which was attempted five days after the challenge from the nasal cavities of vaccinated horses was unsuccessful, while influenza virus subtype 2 was isolated from each of the vaccinated horses.

Grype koni wywołują 2 podtypy wirusa influenzy A: H3N8/A-equi1/ i H7N7/A-equi2/. Wykazują one, podobnie jak wirusy influenzy A u ludzi i świń, zarówno zmienność antygenową (drift), jak i zmiany genetyczne (shift) (14, 23, 24, 25). Jest to choroba o wysokim współczynniku zakaźności i zachorowalności, zwłaszcza w populacji koni nie szczepionych. Występowanie jest zależne od statutu immunologicznego populacji narażonej na zakażenie, jej obrotu i koncentracji, właściwości antygenowych wirusa. Szczególnie szybko zakażenie rozprzestrzenia się na torach wyścigowych, w ośrodkach treningowych, gdzie częstotliwość kontaktów między końmi jest duża (13, 16, 20). Krótki okres inkubacji wirusa influenzy (1-3 dni) zwiększa gwałtowność rozprzestrzeniania się zakażenia.

W zwalczaniu influenzy stosuje się szczepienia koni zagrożonych. Wiadomo, że antygeny powierzchniowe obydwu podtypów myksowirusa influenzy nie reagują krzyżowo *in vitro* ani też nie indukują krzyżowej odporności *in vivo*. Dlatego też wszystkie szczepionki przeciw grypie koni zawierają antygeny obydwu podtypów z reguły w formie zainaktywowanej. Badaniami serologicznymi (SN, HI) potwierdzono dobre właściwości immunogenne tych szczepionek, jeśli szczepienia były prowadzone regularnie, zgodnie z zaleceniami producenta (9).

Znacznie mniej obserwacji poczyniono na temat odporności komórkowej zarówno w trakcie i po zakażeniu naturalnym, jak i po stosowaniu szczepień profilaktycznych. Jej rola jest z pewnością równie ważna, jak rola odporności humoralnej (10, 11, 15, 19, 21, 22).

^{*)} Praca wykonana w ramach grantu KBN 501021100 22