

# Modulacja mechanizmów odporności w kokcydiozie drobiu

Katedra Farmakologii i Toksykologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Kokcydioza jest wysoce zaraźliwą, pasożytniczą chorobą ptaków, stanowiącą jeden z ważniejszych problemów epidemiologicznych i ekonomicznych w fermowym chowie drobiu. Choroba ta wywołana jest przez pierwotniaki z rodzaju *Eimeria*, z których największą chorobotwórczością odznaczają się *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. brunetti*, *E. maxima* i *E. acervulina*. Do zarażenia ptaków dochodzi wyłącznie przez przewód pokarmowy, a źródłem inwazji są zanieczyszczone kałem zawierającym oocysty pasza, woda, ściółka, sprzęt oraz chore na kokcydiozę ptaki. Po zakażeniu następuje w organizmie gospodarza cykl rozwojowy patogennych pierwotniaków, w czasie którego kolejne stadia rozwojowe kokcydów wnikają do komórek nabłonkowych różnych odcinków przewodu pokarmowego powodując uszkodzenia nabłonka jelitowego. Śmiertelność ptaków w przebiegu kokcydiozy kształtuje się od 30 do 100% i zależy zarówno od wieku ptaków jak również od rodzaju kokcydów.

Obecnie najbardziej rozpowszechnioną formą zapobiegania kokcydiozie jest podawanie w paszy leków chemioterapeutycznych hamujących namnażanie patogennych kokcydów. Jednakże, mimo stosowania chemioprophylaktyki, przypadki kokcydiozy klinicznej u drobiu nie należą do rzadkości. Związane to jest przede wszystkim ze spadkiem wrażliwości kokcydów na długotrwałe stosowanie preparatów kokcydiostatycznych (7, 36). Uważa się, że oporność kokcydów na kokcydiostatyki może wykształcić się na skutek mutacji szczepów lub ich przystosowania się polegającego na zmianie przepuszczalności błon komórkowych lub zmianie aktywności enzymów (5, 6). Nabywanie oporności kokcydów na stosowane kokcydiostatyki stwarza konieczność wprowadzania nowych, bardziej efektywnych leków hamujących rozwój pierwotniaka lub poszukiwania innych dróg zapobiegających występowaniu tej choroby.

Czynne uodpornianie kurcząt przeciwko kokcydiozie polegające na stosowaniu szczepionek zawierających patogenne, żywe szczepy kokcydów lub szczepy żywe lecz atenuowane nie chroni całkowicie przed zakażeniem naturalnym (22, 23, 43). Również próby uodporniania kurcząt nową generacją szczepionki, której otrzymanie oparte jest na zastosowaniu

technologii rekombinantów DNA nie przyniosło w pełni zadowalających efektów (24, 31, 37). Uzyskane wyniki badań świadczą o niewielkiej roli swoistych przeciwciał w zapobieganiu rozwojowi infekcji wywołanej przez kokcydia. Obecnie przyjmuje się, że odpowiedź humoralna w przebiegu kokcydiozy skierowana jest jedynie przeciwko zewnątrzkomórkowym stadiom rozwojowym pierwotniaka. Wykazano bowiem wzrost stężenia wydzielniczej immunoglobuliny A (sIgA) w żółci i błonie śluzowej jelit ptaków po pierwotnym zakażeniu *E. tenella* i *E. acervulina*, jednak reinfekcja ptaków nie spowodowała zwiększenia produkcji sIgA (25). Uważa się, że rola biologiczna jelitowej sIgA polega na zmniejszeniu inwazji niektórych rodzajów kokcydów przez ich opsonizację ułatwiającą proces fagocytozy oraz pobudzenie lizy pierwotniaka na skutek aktywacji dopełniacza (10). O znikomej roli limfocytów B w zakażeniu kokcydiami świadczą również badania Giambrone i wsp. (18) i Lillehoja (26), w których autorzy stosując hormonalną lub chemiczną bursęctomię nie obserwowali zmian w przebiegu pierwotnej, jak i wtórnej infekcji wywołanej przez kokcydia.

Obecnie uważa się, że oporność na kokcydiozę uzależniona jest od mechanizmów komórkowych miejscowego układu odpornościowego przewodu pokarmowego noszącego nazwę GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue). U drobiu GALT tworzą torba Fabrycjusza, grudki chłonne jelita ślepego, kępki Peyera oraz skupiska limfocytów rozmieszczonych pomiędzy komórkami nabłonka (limfocyty śródna-błonkowe) i w blaszce właściwej błony śluzowej wszystkich odcinków jelita. W skład tkanki limfatycznej związanej z jelitem wchodzi komórki prezentujące antygen (APC), takie jak makrofagi i komórki dendrytyczne, limfocyty T, limfocyty B, komórki NK (natural killer) oraz tzw. komórki M (29). Komórki M należą do nabłonka jelitowego, a ich funkcja polega na aktywnym transporcie cząsteczek antygeny do makrofagów błony śluzowej jelita, gdzie cząsteczki te podlegają dodatkowemu przetworzeniu, a następnie są prezentowane limfocytom (13). Grasiczozależne limfocyty stanowią dużą populację komórek rozproszoną pomiędzy komórkami nabłonka, które określa się jako limfocyty śródna-błonkowe (IEL-intraepithelial lymphocytes). W ogromnej więk-

szości są to limfocyty T o fenotypie  $CD8^+$ , czym różnią się od limfocytów T błazki właściwej błony śluzowej jelita, będących głównie limfocytami T o fenotypie  $CD4^+$ . Zarówno populacja limfocytów  $CD4^+$  odpowiedzialna za indukcję odpowiedzi immunologicznej, jak i populacja  $CD8^+$  odpowiedzialna za supresję i efekt cytotoksyczny posiadają na swej powierzchni receptory wiążące antygen TCR (T-cell receptor) typu  $\alpha\beta$  (29).

Badania Lillehoja (29) wykazały, że u drobiu liczba limfocytów śród nabłonkowych  $CD8^+$  i  $CD4^+$  zależna jest od wieku ptaka. Największy odsetek limfocytów T śród nabłonkowych o fenotypie  $CD8^+$  obserwowano pomiędzy 2 a 4 tygodniem życia (66–72%), a w 15 tygodniu odsetek tych komórek zmniejsza się do 34%. Natomiast odsetek limfocytów T śród nabłonkowych o fenotypie  $CD4^+$  wynosi pomiędzy 2 a 9 tygodniem życia ptaka około 15%, zmniejszając się w 15 tygodniu do 3%.

Wykazano ponadto u drobiu znaczną liczbę limfocytów T śród nabłonkowych zawierających na swej powierzchni receptory wiążące antygen (TCR) typu  $\gamma\delta$  (4). Powyższa populacja limfocytów T nie posiada na swej powierzchni cząsteczek  $CD4$  ani  $CD8$  i rozpoznaje antygeny nie połączone z cząsteczkami MHC – major histocompatibility complex (kompleks antygenów zgodności tkankowej). Limfocyty T z TCR $\gamma\delta$  wykazują zatem zdolność do spontanicznej, nie podlegającej MHC-restrykcji cytotoksyczności w stosunku do drobnoustrojów jak i komórek nowotworowych stanowiąc tym samym populację komórek o cechach charakterystycznych dla limfocytów T i komórek NK (natural killer). U drobiu liczba śród nabłonkowych limfocytów T z TCR $\gamma\delta$  wzrasta stopniowo po wylęgu do około 15 tygodnia życia stanowiąc w tym czasie 75% populacji limfocytów T (29).

Obecnie uważa się, że główną populacją komórek GALT odpowiedzialną za odporność na kokcydiozę są limfocyty T o fenotypie  $CD8^+$ , czyli cytotoksyczno-supresyjne. Trout i Lillehoj (49) stosując u kurcząt selektywną deplecję przeciwciałami monoklonalnymi anti- $CD4$ , anti- $CD8$  i anti-TCR $\alpha\beta$  odpowiednich subpopulacji limfocytów T wykazali, że wybiórcze wyłączenie aktywności limfocytów T  $CD4^+$  powoduje po pierwszej i po drugiej immunizacji *E. acervulina* lub *E. tenella* wzrost produkcji oocyst w stosunku do piskląt grupy kontrolnej, przy czym produkcja oocyst po drugiej immunizacji jest istotnie niższa niż po pierwszym zakażeniu. Otrzymany wynik wskazuje, że mimo całkowitego wyłączenia aktywności limfocytów T o funkcji wspomagająco-indukcyjnej (limfocyty  $CD4^+$ ) odpowiedź na zakażenie kokcydiami rozwija się. Natomiast selektywna deplecja limfocytów T  $CD8^+$  i TCR $\alpha\beta$  powoduje po pierwszym zakażeniu zmniejszenie wytwarzania oocyst w porównaniu z grupą kontrolną, a po powtórnym podaniu antygeny produkcja oocyst zwię-

ksza się, czyli odporność na zakażenie nie rozwija się. Na podstawie uzyskanych wyników badań autorzy sugerują, że populacja limfocytów T o fenotypie  $CD8^+$  jest odpowiedzialna za ochronę przed reinfekcją. Wcześniejsze badania Lillehoja i Bacona (30) również wykazały, że po pierwszym zakażeniu piskląt *E. acervulina* istotnie zmniejsza się ilość śród nabłonkowych limfocytów T o fenotypie  $CD8^+$ , natomiast po powtórnym zakażeniu ilość tych komórek istotnie zwiększa się w stosunku do grupy kontrolnej. Badania Lillehoja (28, 34) wskazują, że jedynie wzajemna interakcja obu populacji limfocytów T tj.  $CD4^+$  i  $CD8^+$  daje możliwość całkowitego zabezpieczenia kurcząt przed zakażeniem patogenicznymi kokcydiami. Związane jest to z syntezą i uwalnianiem przez limfocyty T  $CD4^+$  interleukiny-2 (IL-2) i interferonu  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), które jak wykazały badania Prowse i Pallistera (41) są endogennymi czynnikami przeciwdziałającymi przede wszystkim rozwojowi pierwotnej infekcji wywołanej przez *Eimeria*. Stwierdzono bowiem, że podanie kurczętom przy wtórnej immunizacji *E. tenella* cyklosporyny A leku, którego mechanizm działania związany jest z hamowaniem syntezy IL-2 przez limfocyty T  $CD4^+$  z równoczesną blokadą receptorów dla tej cytokiny (3) uwrażliwia ptaki na rozwój infekcji, co świadczy o dużej roli IL-2 w przebiegu kokcydiozy. Natomiast, podanie cyklosporyny A równocześnie z pierwotną immunizacją piskląt oocystami *E. tenella* zwiększa odporność na zakażenie (26). Autor powyższych badań sugeruje, że obserwowany wzrost odporności ptaków na pierwotne zakażenie *Eimeria* związany jest przypuszczalnie z bezpośrednim hamującym działaniem cyklosporyny A na rozwój pierwotniaka. Wykazano również, że podanie glukokortykosterydów (prednizolonu lub deksametazonu) przed pierwotnym zakażeniem kurcząt *E. acervulina* istotnie zmniejsza syntezę IL-2 i IFN- $\gamma$ , obniża odpowiedź proliferacyjną limfocytów T na konkanawalinę A (Con A) oraz zmniejsza ilość limfocytów T o funkcji cytotoksycznej, równocześnie podnosząc produkcję oocyst i śmiertelność zakażonych kurcząt (21, 33). Ponadto badania Lillehoja i wsp. (32) wskazują, że supernatant otrzymany z hodowli splenocytów kurcząt stymulowanych konkanawaliną A (Con A) lub sporozoitami i podany kurczętom dzień przed zakażeniem *E. tenella* lub *E. acervulina* całkowicie hamuje rozwój kokcydiozy. Autorzy powyższych badań uważają, że wytworzone przez limfocyty T i makrofagi czynniki rozpuszczalne (cytokiny) wywierają działanie immunomodulujące na układ odpornościowy ptaków przeciwdziałając rozwojowi infekcji, natomiast nie wywierają one bezpośredniego działania cytotoksycznego na sporozoity.

Dużą rolę w przeciwdziałaniu rozwojowi kokcydiozy odgrywają komórki NK. Lillehoj (27) wykazał, że po pierwszym zakażeniu *E. acervulina*, *E. tenella* lub *E. maxima* aktywność komórek NK śród-

nabłonkowych i śledzionowych zmniejsza się między 2–4 dniem od zakażenia, a następnie od ok. 7 dnia powraca do wartości kontrolnej. Natomiast po powtórny zakażeniu aktywność bójcza tych komórek wobec *Eimeria* wzrasta w stosunku do grupy kontrolnej. Wymieniony autor uważa, że zmniejszenie ilości oraz aktywności śródnabłonkowych komórek NK obserwowane w początkowej fazie pierwotnego zakażenia *Eimeria* związane jest, podobnie jak u ssaków, z immunoregulującym wpływem śródnabłonkowych limfocytów T cytotoksycznych i makrofagów (38). Wykazano ponadto, że zwiększeniu ilości śródnabłonkowych i śledzionowych komórek NK po powtórny zakażeniu *Eimeria* towarzyszy pojawienie się receptorów dla antygeny asialo-GM1 (27), co świadczy o pobudzeniu ich aktywności cytotoksycznej (20). Również makrofagi są komórkami odpowiedzialnymi za przeciwdziałanie rozwojowi kokcydiozy. Aktywność makrofagów wobec kokcydów zwiększa się po ich stymulacji przez IL-2 uwolnioną przez aktywowane limfocyty T CD4<sup>+</sup> (2).

W dostępnym piśmiennictwie niewiele jest danych dotyczących wykorzystania naturalnych bądź syntetycznych leków immunomodulujących do potencjalizacji efektów czynnego uodporniania kurcząt przeciwko kokcydiozie. Doświadczalnie udokumentowano adiuwantowy wpływ lewamizolu na odpowiedź poszczepienną kurcząt uodpornianych szczepionką „Coccivac” (Sterwin, Inc., Opelika, Al), która zawiera żywe oocysty patogennych dla drobiu rodzajów *Eimeria* (1, 15, 17).

Lewamizol jest lekiem nicieniobójczym, który podany w dawce wielokrotnie niższej niż przeciwbacza (0,5–5 mg/kg) wywiera działanie immunomodulujące. Działanie to związane jest z pobudzeniem różnicowania dojrzewania protymocytów i nabywania przez limfocyty T funkcjonalnej aktywności. W systematyce immunofarmakologicznej lewamizol należy według Haddena do grupy tzw. tymomimetyków klasy I, tj. substancji syntetycznych modulujących dojrzewanie protymocytów oraz funkcje efektorowe dojrzałych limfocytów T, podobnie jak czynią to hormony grasicy, których efekt działania związany jest z pobudzeniem syntezy endogennej substancji hormonopodobnej (42). Przyjmuje się również, że istotną częścią mechanizmu immunomodulującego działania lewamizolu jest jego cholinergiczny wpływ na leukocyty prowadzący do wzrostu poziomu wewnątrzkomórkowego 3' 5' cGMP, przy równoczesnym obniżeniu poziomu cAMP, co w układzie limfatycznym prowadzi do wzrostu proliferacji i zwiększenia zjawiska cytotoksyczności (19). Wykazano również, że lewamizol oddziałuje na odpowiedź immunologiczną poprzez regulację syntezy i uwalniania monokin i limfokin, stymulując wytwarzanie przez makrofagi IL-1 oraz przez aktywowane limfocyty T IL-2 (51). Lek ten podnosząc ogólną liczbę limfocytów T przywraca prawidłowy stosunek

limfocytów T CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> oraz nasila aktywność cytotoksyczną limfocytów T i komórek NK (46).

Immunomodulujące właściwości lewamizolu stanowiły podstawę do wykorzystania tego leku w celu wzmocnienia odporności komórkowej kurcząt uodpornianych szczepionką „Coccivac” na co wskazywałoby niedopuszczenie do wystąpienia klinicznej postaci kokcydiozy przy równoczesnym ograniczeniu spadku masy ciała ptaków szczepionych.

Badania Giambrone i wsp. (17) wykazały, że podanie lewamizolu brojlerom kurczym uodpornianym w 7 dniu życia szczepionką Coccivac, a następnie po 3 tygodniach doświadczalnie zakażonych inwazyjnymi oocystami *E. tenella*, nasila odporność tych ptaków przeciwko kokcydiozie. Korzystny wpływ lewamizolu wyrażał się: niższą produkcją oocyst, mniejszymi ubytkami masy ciała, zwiększoną przeżywalnością oraz mniejszymi zmianami anatomo-patologicznymi w przewodzie pokarmowym ptaków powtórnie zakażonych w porównaniu z grupą kontrolną. Autorzy ci określali adiuwantowe działanie lewamizolu w zależności od wielkości dawki (0,25–5 mg/kg), ilości kolejnych podań leku oraz czasu podania w stosunku do momentu szczepienia. Najsilniejszy efekt potencjalizujący odpowiedź poszczepienną wykazano po jednorazowym, dootrzewnym podaniu lewamizolu w dawce 0,25 mg/kg trzy dni przed szczepieniem. Podobnie Gawel (15) uzyskał zwiększenie odporności kurcząt mierzonych odpowiedzią na powtórne zakażenie inwazyjnymi oocystami *Eimeria* stosując jednorazowo lewamizol w dawce 0,25 mg/kg trzy dni przed podaniem szczepionki Coccivac. Z kolei Bedrnik i wsp. (1) stosując lewamizol w dawce 10 mg/kg w wodzie do picia w okresie rozwoju II generacji merozoitów po podaniu szczepionki Coccivac wykazali też korzystny wpływ tego leku na rozwój odporności przeciwko kokcydiozie.

W ostatnich latach coraz częściej zwraca się uwagę na możliwość wzmacniania odpowiedzi immunologicznej na antygeny szczepionkowe przez stosowanie witamin i mikroelementów. Szczególną rolę w nadzorze odporności przeciwwakacyjnej oraz indukcji odpowiedzi poszczepiennej odgrywa witamina E i selen. Zarówno witamina E, jak i selen warunkują aktywność peroksydazy glutationowej, enzymu odpowiedzialnego za stabilizację membran komórkowych chroniąc jednocześnie wielonasycone kwasy tłuszczowe przed utlenieniem (11, 12). Działanie biologiczne witaminy E związane jest zatem z hamowaniem uwalniania kwasu arachidonowego z fosfolipidów membran komórkowych, będącego substratem w procesie biosyntezy prostaglandyn, prostacyclin i tromboksanów (39). Obecnie uważa się, że następstwem hamującego wpływu witaminy E na syntezę prostaglandyn jest zwiększenie zarówno humoralnej jak i komórkowej odporności (14). Wykazano, że witamina E stymuluje proliferację limfocytów T, szczególnie

o funkcji indukująco-pomocniczej (47), i wywiera działanie potencjalizujące odpowiedź humoralną na antygeny grasiczozależne (48). Stwierdzono również potencjalizujące działanie witaminy E na odpowiedź humoralną na antygeny grasiczozależne, która uwarunkowana jest aktywacją makrofagów (9). Dlatego uważa się, że efekt adiuwantowego działania witaminy E może być związany z pobudzeniem makrofagów do wytwarzania czynników stymulujących, takich jak interleukina-1 (IL-1), które aktywują limfocyty T o funkcji indukcyjno-wspomagającej (16). Ze względu na korelację selenu z aktywnością biologiczną witaminy E w systemie peroksydazy glutationowej, wiele badań poświęcono właściwościom immunoadiuwantowym tego biopierwiastka (44, 45). Wykazano, że dodatek selenu do paszy przyczynia się do wzrostu poziomu przeciwciał, zwiększenia aktywności fagocytarnej neutrofilów i makrofagów, a także wzrostu liczby limfocytów T po stymulacji mitogenami (12, 35, 40, 50). Według opinii wielu badaczy działanie witaminy E i selenu sprowadza się głównie do zwiększenia odporności przeciwzakaźnej. Colnago i wsp. (8) wykazali u kurcząt otrzymujących witaminę E korzystniejsze efekty immunizacji przeciwko kokcydiozie oraz istotne zmniejszenie śmiertelności ptaków w czasie przebiegu tej choroby. Również korzystny wpływ na kształtowanie się odporności kurcząt uodpornianych w 10 dniu życia szczepionką Coccivac wykazał Gawel (15) stosując od 2 do 24 tygodnia życia ptaków jako dodatek do wody nieorganiczny związek selenu (selenian sodu; preparat Selcewet) w dawce 0,022 mg selenu/kg masy ciała lub selen w postaci połączenia organicznego (preparat Bioselen) jako dodatek do paszy w dawce 0,25 ppm. Efekt zwiększenia odporności na kokcydiozę u kurcząt doświadczalnie zakażonych inwazyjnymi oocystami w 8, 16 i 20 tygodniu eksperymentu, wyrażał się występowaniem słabszych zmian anatomopatologicznych w przewodzie pokarmowym, niższą produkcją oocyst oraz mniejszymi ubytkami masy w porównaniu do grupy kontrolnej.

Przedstawione mechanizmy odpowiedzi immunologicznej zachodzące w obrębie układu immunologicznego przewodu pokarmowego ptaków podczas infekcji inwazyjnymi oocystami *Eimeria* a także wzajemne oddziaływanie GALT z innymi składowymi układu odpornościowego m.in. z grasicą (52), winno inspirować do podejmowania dalszych intensywnych badań, zarówno eksperymentalnych jak i klinicznych, nad możliwością wykorzystania farmakologicznych immunomodulatorów wzmagających mechanizmy odporności komórkowej, które warunkują zwalczanie zakażeń wywołanych przez pasożyty. Istnieją naukowe podstawy do zastosowania dietylotiotiokarbaminianu sodowego (DTC), dwupeptydu muramylowego (MDP) czy też hormonów grasicy w celu potencjalizacji efektów poszczepiennych kurcząt czynnie uodpornianych przeciwko kokcy-

diozie, bowiem mechanizm działania wymienionych leków związany jest z bezpośrednim lub pośrednim wpływem na proces różnicowania i dojrzewania limfocytów T oraz funkcje efektorowe tych komórek.

#### Piśmiennictwo

1. Bednik P., Kucera J., Jurkovic P., Firmanova A.: Research in Avian Coccidiosis, Proc. Georgia coccidiosis, red. Mc Dougald L. R., Joyner L. P., Long P. L., Univ. Georgia Press 1986.
2. Bekhti K., Pery P.: Res. Immunology 140, 697, 1989.
3. Beveridge T.: Transplant. Proc. 34, 116, 1992.
4. Chai J. Y., Lillehoj H. S.: Immunology 63, 111, 1988.
5. Chapman H. D.: Avian Path. 7, 269, 1978.
6. Chapman H. D.: Parasitology 89, 9, 1084.
7. Chroustova E., Pinka K.: Vet. Med. Praga 32, 35, 1987.
8. Colnago G. O., Jensen L. S., Long P. L.: Poult. Sci. 63, 1136, 1986.
9. Corwin L. M., Shloss J.: J. Nutr. 110, 2497, 1980.
10. Davis P. J., Parry S. H., Porter P.: Immunology 34, 879, 1978.
11. Edney A. T. B., Burrows I. E., Burger I. H., Blaza S. E., Raibird A. L., Markwell P. J.: The Waltham Book of Dog and Cat Nutrition, Pergamon Press, Oxford 1988.
12. Eskew M. L., Scholz R. W., Reddy C. C., Todhunter D. A., Zarkower A.: Immunology 54, 173, 1985.
13. Feighery C.: Pol. J. Immunol. 19, 139, 1994.
14. Franchini A., Canti M., Manfreda G., Bertuzzi S.: Poult. Sci. 70, 1709, 1991.
15. Gawel A.: Zeszyty Nauk. AR, Wrocław 239, 105, 1994.
16. Gebremichael A. E., Levy M., Corwin L. M.: J. Nutr. 114, 1297, 1984.
17. Grambrone J. J., Klesius P. H.: Poult. Sci. 64, 1083, 1985.
18. Grambrone J. J., Klesius P. H., Eckman M. K., Edgar S. A.: Poult. Sci. 60, 2612, 1981.
19. Hadden J. W., Coffey R. G., Hadden E. M., Lopez-Corrales E., Sunshine G. H.: Cell. Immun. 20, 98, 1975.
20. Hargrove M. E., Ting C. C.: Cell. Immunol. 112, 123, 1988.
21. Isobe T., Lillehoj H. S.: Poult. Sci. 70, suppl. 1, 57, 1991.
22. Joyner L. P., Norton C. C.: Parasitology 67, 333, 1973.
23. Jungmann R., Mielke D.: Mh. VetMed. 44, 464, 1989.
24. Kim K. I., Jenkins M. C., Lillehoj H. S.: Inf. Immun. 57, 2434, 1989.
25. Lillehoj H. S.: Secretory IgA response in SC and FP chickens experimentally inoculated with *Eimeria tenella* and *acervulina*, red. McGhee J. R., Bienenstock J., Orga P. L.: Recent Advances in: Mucosal Immunology, new York, Plenum Publishing Corp. 1987.
26. Lillehoj H. S.: Inf. Immun. 55, 1616, 1987.
27. Lillehoj H. S.: Inf. Immun. 57, 1879, 1989.
28. Lillehoj H. S.: Poult. Sci. 70 suppl. 1, 73, 1991.
29. Lillehoj H. S.: Poult. Sci. 72, 1306, 1993.
30. Lillehoj H. S., Bacon L. D.: Avian Dis. 35, 294, 1991.
31. Lillehoj H. S., Jenkins M. C., Bacon L. D.: Immunology 71, 127, 1990.
32. Lillehoj H. S., Kang S. Y., Keller L., Sevoian M.: Exp. Parasitology 69, 54, 1989.
33. Lillehoj H. S., Nichols M. B., Lowe M. B.: Poult. Sci. 72 suppl. 1, 20, 1993.
34. Lillehoj H. S., Trout J. M.: Avian Path. 22, 3, 1993.
35. Marsch J. A., Dieter R. R., Combs G. F.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 166, 228, 1981.
36. Mazurkiewicz M.: Medycyna Wet. 37, 671, 1981.
37. Miller G. A., Bhogal B. S., McCandless R., Strausberg R. L., Jesse E. J., Anderson A. C., Fuchs C. K., Nagle J., Likel M. H., Strasser J. M., Strausberg S.: Inf. Immun. 57, 2014, 1989.
38. Mowat A. M., Tait R. C., Mackenzie M. D., Davies J., Parrot D. M. V.: Clin. Exp. Immunol. 52, 191, 1983.
39. Panganamala R. V., Cornwell D. G.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 393, 376, 1982.
40. Peplowski M. A., Mahan D. C., Murray F. A.: J. Anim. Sci. 51, 344, 1981.
41. Prowse S. J., Pallister J.: Avian Pathol. 18, 619, 1989.
42. Renoux G., Renoux M.: J. Exp. Med. 145, 466, 1977.
43. Shirley M. W., Bellatti M. A.: Avian Path. 13, 657, 1984.
44. Spalholz J. E., Martin J. L., Gerlach M. L., Heinzlerling R. H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 143, 685, 1973.
45. Spalholz J. E., Martin J. L., Gerlach M. L., Heinzlerling R. H.: Inf. Immun. 8, 841, 1973.
46. Symoens J., Rosenthal H.: J. Reticuloendothelial Soc. 21, 175, 1977.

47. Tanaka J., Fujiwara H., Torisu M.: *Immunology*, 38, 727, 1979.  
 48. Tengerdy R. P., Heinzerling R. H., Nockles C. F.: *Inf. Immun.* 44, 221, 1973.  
 49. Trout J. M., Lillehoj H. S.: *Poult. Sci.*, 73, suppl. 1, 16, 1994.  
 50. Turner R. J., Wheatley L. E., Beck N. F. G.: *Vet. Immun., Immunopathol.* 8, 119, 1985.

51. Whitecomb M. E., Merluzzi V. J., Cooperband S. R.: *Cell Immun.* 21, 272, 1976.  
 52. Van der Waaij D.: *Med. Microbiol., Immunol.* 175, 335, 1986.

Adres autora: dr hab. Bożena Obmińska-Domoradzka, ul. Mickiewicza 20a, 51-619 Wrocław

MICHAŁ REICHERT

*artykuł przeglądowy*

## Profilaktyka enzootycznej białaczki bydła w świetle ostatnich badań

Zakład Biochemii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Enzootyczna białaczka bydła jest chorobą nowotworową wywoływaną przez retrowirus (BLV) o zasięgu światowym (7). Jej występowanie jest przyczyną strat ekonomicznych spowodowanych obniżoną produktywnością i skróceniem okresu eksploatacji wysokomlecznych krów zakażonych wirusem, brakiem przydatności do spożycia tusz ze zmianami nowotworowymi i restrykcjami w obrocie mięsem i produktami przetwórstwa mleka pochodzącego od zakażonych zwierząt (3, 4, 35). W niektórych krajach europejskich np. w Belgii, Irlandii, Luksemburgu, Norwegii udało się znacznie ograniczyć występowanie enzootycznej białaczki bydła w hodowli poprzez usuwanie z niej dodatnich seroreagentów. Z uwagi jednak na olbrzymie koszty takiej operacji, dotyczy to zwłaszcza krajów gdzie choroba występuje endemicznie, zastosowanie skutecznych szczepień niewątpliwie byłoby lepszym rozwiązaniem. Literatura dotycząca badań nad uzyskaniem szczepionki przeciwko BLV dostarcza wyników, które napawają optymizmem jak też i mało zachęcających. Niniejsza praca jest próbą podsumowania dotychczasowych osiągnięć w pracach nad szczepionką przeciwko BLV.

Pierwsze próby uzyskania szczepionki przeciwko enzootycznej białaczce bydła zostały podjęte przez Miller i Van Der Maaten w 1978 r. (14) przy użyciu chemicznie inaktywowanych wirionów pochodzących z supernatantu hodowli linii ciągłej nerki płodowej jagnięcia – FLK zakażonej wirusem białaczki (BLV). Badania była następnie kontynuowane przez tych autorów w latach 1983–1984 (15, 16) przy użyciu antygeny trawionego glikozydazą. Autorzy decydując się na taką modyfikację chcieli się przekonać czy możliwa jest immunizacja zwierząt przy pomocy antygeny pozbawionego komponentu węglowodanowego. Oparli się przy tym na wcześniejszych danych Portetelle i wsp. (22) oraz Schmerr

i wsp. (30), z których wynikało, iż reakcja precypitacji, na której opierają się testy diagnostyczne dotyczy przede wszystkim węglowodanowego komponentu antygeny gp51. Gdyby immunizacja przy pomocy tak zmodyfikowanego antygeny była skuteczna, to można by ją stosować w celach profilaktycznych bez równoczesnego wywoływania powstawania przeciwciał. Jest oczywiste, jakie korzyści dawałoby to w sytuacji równolegle prowadzonej przy pomocy antygeny gp51 akcji diagnostycznej. Niestety okazało się, że antygen gp51 trawiony glikozydazą nie był w stanie wywołać dostatecznej odporności na zakażenie wirusem u badanych cieląt, gdyż nie indukował odpowiedzi humoralnej. Lepsze wyniki osiągnęli Patrascu i wsp. stosując inaktywowany wirus wraz z adiuwantem olejowym celem stymulacji odporności (21). Autorzy ci uzyskali odporność u 18 spośród 20 immunizowanych zwierząt po zastosowaniu czelendź (challenge).

Na uwagę zasługują również próby uzyskania odporności przeciwko BLV podjęte w 1984 r. przez Onumę i wsp. (20). W doświadczeniach zastosowano dwa rodzaje antygeny, tj. białka wirusowe gp51 i p24 oczyszczone z wirusa, ponadto utrwalone glutaraldehydem komórki FLK zakażone wirusem i fibroblasty owcze transformowane BLV (komórki SF-28). Najlepsze wyniki w protekcji owiec po zastosowaniu czelendź osiągnięto stosując glikoproteiny wirusowe i komórki FLK. Warto wspomnieć również o badaniach przeprowadzonych przez Kono i wsp. (10). Autorzy ci stosowali w swoich doświadczeniach wirus oczyszczony z supernatantu hodowli FLK przez precypitację siarczanem amonu. Następnie wirus poddawany był lizie detergentem o nazwie Triton X-100. Preparat podawano w postaci iniekcji wraz z kompletnym adiuwantem Freund. Czelendź przy użyciu owczych limfocytów zakażonych BLV stosowano po upływie 2 tygodni