

ANDRZEJ WERNICKI

artykuł przeglądowy

Profilaktyka zakażeń jelitowych wywoływanych u cieląt przez enterotoksyczne szczepy *Escherichia coli*

Katedra Prewencji i Klinika Chorób Ptaków Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

W patologii okresu neonatalnego cieląt, choroby przewodu pokarmowego uznawane są za zasadniczy problem zdrowotny stad bydła mlecznego. Są one przyczyną około 50% zejść śmiertelnych notowanych wśród cieląt w wieku do trzeciego tygodnia. Najwyższe wskaźniki zachorowalności i śmiertelności obserwuje się u zwierząt 2-5-dniowych (52).

W złożonej etiologii chorób przewodu pokarmowego cieląt, obok czynników środowiskowych oraz żywienia zwierząt, największe znaczenie odgrywiają czynniki zakaźne. Z przypadków klinicznych najczęściej izolowane są enterotoksyczne szczepy *Escherichia coli*, rota- i koronawirusy oraz *Cryptosporidium sp.* (17, 39, 47). Znacznie rzadziej stwierdza się pałeczki *Salmonella*, *Campylobacter sp.* (39, 50), *C. perfringens*, *Yersinia enterocolitica*, a także astrowirus, parwovirus, wirus Breda (10, 33) oraz calici-like (47) i BVD (38).

Enteropatogenne mikroorganizmy izolowane są również od zwierząt klinicznie zdrowych (7, 47, 59), wskazując tym samym, że rozwój choroby oraz nasilenie objawów klinicznych uwarunkowane jest zarówno poziomem odporności biernej (12, 35, 61) jak i kompleksowym oddziaływaniem środowiska i zarazków na organizm gospodarza. Zwiększona podatność cieląt noworodków na zakażenia przewodu pokarmowego wynika ponadto z niewielkiej produkcji kwasu solnego przez trawieniec, słabej motoryki jelit oraz braku jelitowej flory konkurencyjnej.

Przyjmuje się, że syndrom kliniczny charakteryzujący się uporczywą wodnistą biegunką, hipertermią, hipoglikemią oraz różnego stopnia odwodnieniem i kwasicą metaboliczną, wywoływany jest najczęściej przez kilka, synergistycznie oddziałujących, wymienionych czynników zakaźnych (23, 39).

Jednym z najbardziej istotnych czynników etiologicznych są enterotoksyczne szczepy *E. coli* (ETEC), uznawane za zasadniczą, bądź współdziałającą z innymi przyczynę około 50% biegunek zakaźnych (25, 39).

Pierwszym, a zarazem niezbędnym etapem w patogenezie jelitowych zakażeń *E. coli* jest kolonizacja przewodu pokarmowego przez szczepy posiadające zdolność adhezji do enterocytów śluzówki jelitowej.

Występowanie zjawiska adhezji jest możliwe dzięki obecności na powierzchni niektórych szczepów *E. coli* nitkowatych struktur (fimbrie, pile), łączących się swoiście z komplementarnymi receptorami występującymi na komórkach nabłonka jelit cienkich. Główne znaczenie w procesie kolonizacji, która obejmuje 60% jelit cienkich już po 16 godzinach od zakażenia (45), posiadają adhezyny swoiste, zawierające określone typy antygenów białkowych. Najbardziej typowe dla szczepów izolowanych od cieląt są antygeny K99(F5), F41, F17 oraz FY(Att25) (37). Występują one najczęściej u szczepów posiadających somatyczne antygeny O8, O9, O20 oraz O101.

Podstawową cechą chorobotwórczości ETEC jest produkcja toksyn, które są głównymi czynnikami odpowiedzialnymi za kliniczny obraz biegunek. Wśród ETEC izolowanych od cieląt, największe znaczenie w patogenezie biegunek, posiada toksyna ciepłostąła (stable toxin), określana skrótem ST. Z przypadków klinicznych, najczęściej izolowane są szczepy produkujące toksynę STa, które charakteryzują się ponadto wytwarzaniem fimbrii z antygenem K99 (64).

W programach profilaktyki syndromu biegunkowego cieląt można wyróżnić kilka głównych kierunków postępowania. Podstawowym założeniem większości proponowanych metod jest zahamowanie adhezji, a tym samym kolonizacji jelit i toksycznego oddziaływania ETEC. Realizowane jest to głównie poprzez wykorzystanie metod immunologicznych. Specyficzny sposób nabywania przez cielęta odporności biernej a także zbyt krótki okres między porodem a zakażeniem eliminuje możliwość wykorzystania czynnej immunizacji tych zwierząt i sprawia, że podstawowym założeniem immunoprofilaktyki swoistej jest stymulacja syntezy matczynych przeciwciał siarowych. Pobrane wraz z siarą, w pierwszych godzinach życia cieląt, zapewniają bierną obronę w stosunku do większości patogenów, istotnych w patologii chorób zakaźnych okresu neonatalnego.

Ochronne przeciwciała, w stosunku do antygeny K99 oraz rotawirusa, zawarte są w klasie IgM oraz podklasie IgG1 immunoglobulin (21, 56, 62). Przyjęte przez noworodki, swoiście blokują obecne na powierzchni *E. coli* antygeny K99, hamując tym

samym możliwość adhezji ETEC do receptorów na enterocytach nabłonka jelitowego. W okresie pierwszych 36 godzin życia cieląt siarowe przeciwciała ulegają szybkiemu wchłanianiu z jelit, a ich koncentracja w surowicy wykazuje korelację między innymi z protekcją w chorobach przewodu pokarmowego. Jest to wynikiem zwrotnego przekazywania immunoglobulin surowicznych na powierzchnie błon śluzowych. Besser i wsp. (6) wykazali między innymi, że przyjęcie przez noworodka bezpośrednio po urodzeniu 100 g siarowych immunoglobulin podklasy IgG1 powoduje przechodzenie w okresie pierwszych 14 dni życia z surowicy do przewodu pokarmowego od 1 do 4 gramów tego białka.

Pomimo, że w warunkach naturalnych obecność przeciwciał w stosunku do antygeny K99, stwierdzana jest w siarze wielu krów, ich miana są zbyt niskie aby zapewnić noworodkom właściwą obronę przed zakażeniem i rozwojem choroby. Z tych też względów, celem zwiększenia koncentracji a także przedłużenia okresu wydzielania przeciwciał siarowych, powszechnie zastosowanie znalazły metody polegające na czynnej, swoistej immunizacji krów ciężarnych. Jako antygeny stosowane są w tym celu, w różnym stopniu oczyszczone adhezyny, a także pełne, inaktywowane komórki bakteryjne (1). Najkorzystniejszy efekt ochronny uzyskiwany jest po zastosowaniu antygenów K99, F41 oraz FY, bądź szczepów produkujących te antygeny (13). Stosowane szczepionki zawierają często w swoim składzie także rota-, corona- oraz parwovirusy. Poprzez wykorzystanie adiuwantów, w tym wodorotlenku glinu, saponiny oraz emulsji olejowych, zwiększa się skuteczność stosowanych preparatów, znacznie podnosząc efektywność szczepień. W tym celu prowadzone są również próby zastosowania kompleksu immunostymulującego (Iscom) (42). Duże nadzieje wiązane są także z możliwością zastosowania szczepionek przygotowanych z syntetyzowanej w warunkach laboratoryjnych toksyny STa połączonej w celu zwiększenia jej immunogenności z białkiem nośnikowym (20, 37).

Przyjęty powszechnie schemat szczepienia krów ciężarnych polega na dwukrotnym, parenteralnym (*i.m.* lub *s.c.*) podaniu szczepionki w ostatnim trymestrze ciąży. Istoty wpływ na efektywność szczepienia posiada czas podania drugiej dawki szczepionki. Za optymalny termin rewakcynacji przyjmuje się okres między 7 a 40 dniem przed porodem (1). Szczepienia przypominające wykonywane są najczęściej po upływie 12 miesięcy, jednak nie później niż 7 dni przed porodem. W efekcie parenteralnej immunizacji, u wszystkich szczepionych zwierząt wysoki poziom swoistych przeciwciał w siarze i mleku, utrzymuje się do piątego dnia laktacji, natomiast u 80% szczepionych krów stwierdzano je jeszcze 6 dnia po porodzie (3). Uzyskanie powyższego efektu jest niezwykle korzystne dla noworodków z uwagi na

najwyższą ich podatność na zakażenia ETEC występujące szczególnie w tym okresie życia.

W szczepionych stadach, efekty profilaktyki mierzone wskaźnikami zachorowalności i śmiertelności cieląt w porównaniu do stad, w których nie prowadzono szczepień, są zadowalające. Między innymi, Eichhorn i wsp. (16) uzyskali zmniejszenie przypadków zachorowań z 50-60% w okresie poprzedzającym szczepienia do 15-20% po zastosowaniu szczepionki, przy równoczesnym obniżeniu odsetka cieląt padłych z 10 do 0,6%. W podobnych obserwacjach Petermann i wsp. (46) uzyskali obniżenie zachorowalności i śmiertelności, odpowiednio o 84,8% oraz 11,2%. W badaniach Bachmann i wsp. (4), prowadzonych na 4161 cielętach należących do 209 stad, w okresie poprzedzającym szczepienie krów, w 97,1% stad odsetek cieląt chorych przekraczał 25%, przy czym w 50,3% stad śmiertelność cieląt była wyższa niż 10%. Po przeprowadzeniu szczepień 42% stad było całkowicie wolnych od biegunki, a w ponad 91% nie zanotowano padnięć cieląt w pierwszych 14 dniach życia. Jedynie u 8,9% cieląt, pochodzących od szczepionych krów obserwowano kliniczne objawy choroby, przy czym wskaźnik śmiertelności nie przekraczał 2%. Podobne efekty, w postaci obniżenia wskaźników zachorowalności i śmiertelności cieląt uzyskali między innymi Myers (41), Acres i wsp. (1), Nagy i wsp. (43) oraz Carnaglia i wsp. (11).

Zastosowanie doustnej drogi podania antygenów szczepionkowych u krów ciężarnych, w przeciwieństwie do ludzi oraz trzody chlewnej, nie przyniosło oczekiwanych wyników (38).

Istotny wpływ na wartość immunologiczną siary, w tym także na koncentrację zawartych w niej immunoglobulin posiada żywienie krów ciężarnych, długość okresu zasuszenia oraz stan zdrowotny gruczołu mlekowego. Dla noworodków, które odłączono od matek bezpośrednio po urodzeniu, decydujące znaczenie w uzyskaniu optymalnego poziomu biernej odporności siarowej ma między innymi czas pierwszego pojenia siarą, jej ilość, temperatura, sposób oraz częstotliwość podawania.

Poza obecnością swoistych przeciwciał, wydzielina gruczołu mlekowego przeżuwanca zawiera także inne składniki, uczestniczące w reakcjach obronnych noworodka, mające istotne znaczenie w odporności przewodu pokarmowego (60). Dokładne poznanie ich biologicznej aktywności umożliwiło między innymi efektywne zastosowanie w profilaktyce i terapii chorób przewodu pokarmowego izolowanej z siary laktoferyny oraz systemu laktoperoksydazy (54).

W profilaktyce i terapii wielu zakaźnych jednostek chorobowych, występujących zarówno u ludzi jak i zwierząt, coraz powszechniej wykorzystywane są przeciwciała heterologiczne (ksenogeniczne). Stosowane przy ich udziale metody postępowania polegają na wzbogaceniu siary lub zamienników mleka frakcją globulinową, uzyskaną z siary i surowicy

szczepionych zwierząt (14, 19) lub podawaniu noworodkom czystych immunoglobulin albo przeciwciał monoklonalnych (9, 12, 55, 58). Wykazano, że podanie ciałem w pierwszych 12 godzinach życia przeciwciał monoklonalnych, swoistych dla antygeny K99 istotnie redukuje kliniczne objawy zakażenia eksperymentalnego oraz śmiertelność cieląt o ponad 50% (51).

Możliwości jakie stwarzają w profilaktyce i terapii przeciwciała heterologiczne zainicjowały zainteresowanie żółtkiem jaja kurzego jako alternatywnym źródłem przeciwciał w stosunku do białek odpornościowych ssaków. Szersze zainteresowanie tą problematyką ośrodków naukowych obserwowane jest w okresie ostatnich dziesięciu lat i dotyczy możliwości wykorzystania przeciwciał żółtkowych w profilaktyce i terapii wirusowych i bakteryjnych chorób przewodu pokarmowego. W doświadczalnych zakażeniach rotawirusem u osesków mysich (5) i kociąt (24) uzyskano między innymi wysoki stopień działania ochronnego stosując *per os* swoiste przeciwciała występujące we frakcji białek rozpuszczalnych żółtka jaja, które pochodziły od immunizowanych rotawirusem kur. Zbliżony efekt ochronny, polegający na niedopuszczeniu do rozwoju zakażenia wywołanego przez ETEC uzyskał u królików O'Farrelly i wsp. (44).

Ostatnio grupa eksperymentatorów z Niemiec oraz Japonii zainicjowała badania nad możliwością wykorzystania przeciwciał żółtkowych w profilaktyce i terapii kolibakteriozy trzody chlewnej (63, 65). Ustalono, że doustne podanie prosiętom przeciwciał, o mianie 625 lub 2500, w istotny sposób łagodzi objawy choroby, całkowicie zapobiegając zejściom śmiertelnym w kolibakteriozie indukowanej przez ETEC z antygenami K88, K99 oraz 987P (65). Podobny efekt profilaktycznego wykorzystania przeciwciał kurzych, zastosowanych w formie wysuszonego proszku uzyskanego z frakcji białek rozpuszczalnych żółtka jaja, wykazał Ikemori i wsp. (26) w doświadczalnej kolibakteriozie cieląt noworodków. Kuhlmann i wsp. (34) uważają, że kliniczne zastosowanie przeciwciał żółtkowych może z powodzeniem objąć także inne zakaźne choroby przewodu pokarmowego takie jak: salmonelozę, zakażenia corona- i rotawirusami cieląt, a także zakażenia o podobnym charakterze, występujące u noworodków innych gatunków zwierząt oraz ludzi.

Za profilaktycznym wykorzystaniem przeciwciał żółtkowych przemawia wiele względów, wynikających z ich właściwości biologicznych i fizykochemicznych oraz prostych metod izolacji. Nie bez znaczenia są także względy ekonomiczne, w tym łatwość przechowywania, konserwacji oraz ewentualnego konsumpcyjnego wykorzystania jaj.

Indukowane antygenem humoralne czynniki obronne obejmują u ptaków immunoglobuliny klasy IgG, IgM oraz IgA (48, 49). W okresie nieśności kur znaczna część tych immunoglobulin jest prze-

kazywana do jaja. Żółtkowa koncentracja IgG, określanych ze względu na różnice strukturalne z IgG ssaków, także jako IgY (2), przyjmuje wartość od 3 do 25 mg/ml, co umożliwia uzyskanie z jednego jaja od 40 do 500 mg immunoglobulin tej klasy (22). W przeliczeniu na kilogram masy ciała, jest to wartość około 20-krotnie przewyższająca ilość immunoglobulin uzyskiwanych z siary krów (28).

Ważną cechą żółtkowych immunoglobulin jest znaczna ich oporność na wpływ wysokiej temperatury oraz obniżonego pH (27). Według danych Lösch i wsp. (34), żółtkowe przeciwciała zachowują około 80% pierwotnej aktywności, przy ponad 95% zawartości immunoglobulin, podczas 4 min. gotowania. Natomiast 120-minutowe przetrzymywanie żółtek w środowisku o pH 1,2 redukuje jedynie około 50% aktywności zawartych w nich przeciwciał. Ze względu na doustną drogę podania przeciwciał żółtkowych istotne znaczenie odgrywa ich oporność na proteolityczne oddziaływanie enzymów trawiennych. O wyjątkowej stabilności przeciwciał żółtkowych świadczy także fakt zachowania powyżej 95% swoistych mian przeciwciał, po około 10-letnim przechowywaniu w temp. 4°C w 0,9% NaCl z 0,1% zawartością NaN₃ (31). Biologiczna aktywność tych przeciwciał utrzymuje się również po 6-miesięcznym przechowywaniu w temp. pokojowej oraz po około 30-dniowym okresie, w temp. 37°C (32).

W modelu postępowania profilaktycznego, istotne znaczenie odgrywają także inne sposoby zapobiegania adhezji, a tym samym kolonizacji jelit i toksycznemu oddziaływaniu *E. coli*. Wykorzystywane w tym celu metody polegają między innymi na zastosowaniu chemioterapeutyków, które hamują wytwarzanie adhezyn, a także gotowych receptorów lub ich analogów, będących alternatywnym substytutem w stosunku do miejsc receptorowych na enterocytach śluzówki jelitowej (29, 36). Ograniczenie ryzyka zakażeń w wyniku stosowania analogów receptorów wykazano między innymi po zastosowaniu glikoproteinowych polisacharydów, uzyskiwanych z plazmy bydłowej (40) oraz po doustnym podaniu roztworu mannozy. Pozytywne efekty zanotowano także w wyniku stosowania węglowodorów aromatycznych (18) oraz antybiotyków w dawkach niższych od minimalnego stężenia hamującego (15). Mechanizm działania antybiotyków polega w tym przypadku na hamowaniu wytwarzania adhezyn przez komórkę bakteryjną lub indukowaniu syntezy fimbrii osłabionych funkcjonalnie. Ustalono między innymi, że szczepy inkubowane na podłożach z zawartością streptomycyny wykazują brak lub istotne zmniejszenie ilości wytwarzanych fimbrii. Zredukowanie adhezyjnych właściwości *E. coli* uzyskano także przy zastosowaniu półsyntetycznej pochodnej pleuromuliny – tiamuliny w dawce obejmującej stężenia od 1/10 do 1/40 minimalnego stężenia hamującego w przypadku antygeny K88 oraz od 1/2 do

1/10 MIC dla adhezyn K99 (30). Znaczący wpływ na osłabienie wytwarzania fimbrii K99 wywiera również spiramycyna i tylozyna (35).

W celu zabezpieczenia przewodu pokarmowego przed kolonizacją wywołaną przez ETEC, stosowane są ponadto metody wykorzystujące zjawisko tzw. konkurencyjnej ekсклюzy (*competitive exclusion*). W mechanizmach tych, polegających na eliminacji ze środowiska jelit jednych drobnoustrojów przez inne, stosowana jest flora bakteryjna współzawodnicząca z patogenem o miejsca receptorowe występujące na enterocytach śluzówki jelitowej. Zadawalające efekty uzyskiwane są po zastosowaniu probiotyków, które wykazują ponadto aktywność bakteriobójczą, zdolność neutralizacji enterotoksyn, hamowanie syntezy toksycznych amin oraz właściwości immunostymulujące (53). W celach profilaktycznych i leczniczych wykorzystuje się najczęściej szczepy *Str. faecium*, *Bifidobacterium bifidum* oraz *Lactobacillus*.

Równie istotnym elementem postępowania profilaktycznego jest zapewnienie cielętom optymalnych warunków środowiska, w tym temperatury i wilgotności powietrza, a także odpowiedniej wielkości kojca. W stadach o dużej liczebności należy przestrzegać zasady grupowania cieląt z uwzględnieniem ich wieku, co zapobiega zbędnej ekspozycji noworodków na patogeny występujące u zwierząt starszych. Cielęta chore, będące głównym rezerwuarem ETEC oraz źródłem bakteryjnego zanieczyszczenia środowiska, powinny być izolowane i leczone.

Ważną rolę w profilaktyce syndromu biegunkowego cieląt odgrywa dezynfekcja pomieszczeń. Z uwagi na znaczną wrażliwość *E. coli* na większość stosowanych powszechnie preparatów dezynfekcyjnych, przy ich wyborze należy uwzględnić dużą oporność innych czynników etiologicznych, szczególnie zaś rotawirusa i *Cryptosporidium sp.* Ustalono, że inaktywacja rotawirusa następuje po 2-godzinnej ekspozycji na działanie 5% lizolu lub 10% roztwór formaldehydu. W przypadku *Cryptosporidium sp.* zalecana jest 18-godzinna ekspozycja na 5% amoniak, 10% formaldehyd lub 3% nadtlenuk wodoru (57).

Reasumując należy stwierdzić, że w profilaktyce swoistej zakażeń przewodu pokarmowego cieląt wywoływanych przez ETEC, największe znaczenie odgrywają metody immunologiczne. Postęp wiedzy w zakresie patogenezы oraz rozwój technologii produkcji preparatów wykorzystywanych w immunoprofilaktyce, w tym nowych generacji szczepionek, adiuwantów oraz przeciwciał heterologicznych w tym monoklonalnych i żółtkowych, w połączeniu z przestrzeganiem podstawowych zasad higieny stwarza obiecujące perspektywy profilaktyki syndromu biegunkowego.

Piśmiennictwo

1. Acres S., Forman A., Kapitany R.: Am. J. vet. Res. 43, 569, 1982.
2. Ambrosius H., Hodge D.: Vet. Immunol. Immunopathol. 17, 57, 1987.
3. Bachmann P., Baljer G. i wsp.: J. Vet. Med. B 31, 660, 1984.
4. Bachmann P.: Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 3, 819, 1984.
5. Bartz C., Conklin R., Tunstall C., Steele J.: J. infect. Dis. 142, 439, 1980.
6. Besser T., McGuire T., Gay C., Pritchett L.: Infect. Immun. 62, 2234, 1988.
7. Blanco M., Blanco J., Blanco J. G., Ramos J.: Am. J. Vet. Res. 54, 1446, 1993.
9. Booman P., Wissink H. i wsp.: Vet. Immunol. Immunopathol. 34, 259, 1992.
10. Brown D., Morgan J., Bridger J.: Vet. Rec. 126, 337, 1990.
11. Carnaglia E., Fernandez F. i wsp.: Vet. Microbiol. 30, 191, 1992.
12. Comles D. K., Grabb J. H. i wsp.: Agri-Practice 14, 13, 1993.
13. Contrepolis M., Girardeau J.: Infect. Immun. 50, 947, 1985.
14. Crawley M. L., Fisher J. L., Owen B. D.: Anim. Feed Sci. Technol. 47, 245, 1994.
15. Deneke C., Thorne G., Larson A.: J. infect. Dis. 152, 1032, 1985.
16. Eichhorn W., Bachmann P. i wsp.: Tierärztl. Umsch. 37, 599, 1982.
17. Fagen J. G., Dwyer P. J., Quinlan J. F.: Irish Vet. J. 47, 313, 1994.
18. Falkowski W., Edwards M., Schaeffer A.: Immunology 52, 863, 1986.
19. Francisco S., Quigley J.: Am. J. vet. Res. 54, 1051, 1993.
20. Larsen J. C., Bhatnagar P. i wsp.: Infect. Immun. 55, 1077, 1987.
21. Geene J.: Tijdschr. Diergeneesk. 110, 345, 1985.
22. Hatta H., Kim M., Yamamoto T.: Biol. Chem. 54, 2531, 1990.
23. Hess R., Bachmann P. i wsp.: J. Vet. Med. B 31, 585, 1984.
24. Hiraga C., Kodama Y. i wsp.: J. Jpn. Ass. Infect. Dis. 64, 118, 1990.
25. Holley D., Allen S., Barnett B.: Am. J. vet. Res. 45, 2613, 1984.
26. Ikemori Y., Kroki M. i wsp.: Am. J. vet. Res. 53, 2005, 1992.
27. Jurgens L.: Reinigung von IgG und IgG-Antikörpern aus dem Eidotter und Bestimmung Temperaturresistenz und Sauretaetigkeit dieser Immoproteine, Praca dokt., Lud Maximilians Univ. Munchen 111, 1987.
28. Kühlmann R., Wiedemann V. i wsp.: J. Vet. Med. B 35, 610, 1988.
29. Larsen J., Moller K. i wsp.: Dansk Veterinaertidsskrift 69, 313, 1986.
30. Larsen J.: Res. vet. Sci. 45, 134, 1988.
31. Larsson A., Wejtke P. i wsp.: J. immun. Meth. 156, 79, 1992.
32. Larsson A., Balow R. i wsp.: Poult. Sci. 72, 1807, 1993.
33. Liebler E., Klüver S. i wsp.: Dt. tierärztl. Wschr. 99, 195, 1992.
34. Lösche U., Schraner I. i wsp.: J. Vet. Med. B 33, 609, 1986.
35. Lopez J., Allen S., Mitchell J., Quinn M.: J. Dairy Sci. 71, 1288, 1988.
36. Loubeyre C., Desnottes J., Moreau N.: J. Antimicrob. Chemotherapy 31, 37, 1993.
37. Moon H.: Curr. Topics Microbiol. Immun. 151, 147, 1990.
38. Moon H., McDonald J.: Am. J. vet. Res. 44, 493, 1986.
39. Moore D., Zeman D.: J. Am. Vet. Med. Ass. 198, 1969, 1991.
40. Mouricout M., Petit J., Carias J., Julien R.: Infect. Immun. 58, 98, 1990.
41. Myers L.: Am. J. vet. Res. 41, 1952, 1980.
42. Nagy B., Höglund S., Morein B.: J. Vet. Med. B 37, 728, 1990.
43. Nagy B., Kulcsar A., Nagy Gy.: Acta Microbiol. Hung. 31, 243, 1984.
44. O'Farrelly O., Branton D., Wanke C.: Infect. Immun. 60, 2593, 1992.
45. Pearson G., Logan E.: Vet. Rec. 105, 159, 1979.
46. Petermann H., Desmetre Ph., Chomel R.: Wien. tierärztl. Mschr. 71, 156, 1984.
47. Reynolds D., Morgan J. i wsp.: Vet. Rec. 119, 34, 1986.
48. Schraner I., Dorn W., Lösche U.: J. Vet. Med. B 34, 407, 1987.
49. Schraner I., Lösche U.: Poult. Sci. 65, 360, 1986.
50. Schulze F.: Dt. tierärztl. Wschr. 99, 458, 1992.
51. Sherman D., Acres S. i wsp.: Infect. Immun. 42, 653, 1983.
52. Simensen E.: Acta Agric. Scand. 32, 411, 1986.
53. Sissons J.: J. Sci. Food Agric. 1, 1989.
54. Still J., Delahaut P. i wsp.: Ann. Rech. Vet. 21, 143, 1990.
55. Thiriart Cl., Collignon C. i wsp.: Ann. Med. Vet. 131, 275, 1987.
56. Trainin Z., Ungar-Waron H.: The Ruminant Immune System. Butler J. 1981, s. 169.
57. Vermunt J. J.: Aust. vet. J. 71, 33, 1994.
58. Ward R., Mcneal M., Sheridan J.: J. Virology 64, 5070, 1990.
59. Wernicki A., Rzedzicki J.: Medycyna Wet. 44, 137, 1988.
60. Wernicki A., Rzedzicki J.: Medycyna Wet. 45, 599, 1989.
61. Wernicki A., Rzedzicki J.: Annales UMCS, DD 45, 1991.
62. Wickstrom M., Gay C. i wsp.: Vet. Microbiol. 13, 259, 1987.
63. Wiedemann V., Kühlmann R. i wsp.: J. Vet. Med. B 37, 163, 1990.
64. Woodward M., Kearsley R. i wsp.: Vet. Microbiol. 22, 277, 1990.
65. Yokoyama H., Peralta R. i wsp.: Infect. Immun. 60, 998, 1992.

Adres autora: dr hab. Andrzej Wernicki, ul. Królowej Jadwigi 6/58, 20-282 Lublin