

21. Horsch F.: *Math-Nat. R.* 29, 5, 1980.
22. Idtse F. S.: *Vet. Small Anim. Clin.* 4, 543, 1984.
23. Jaśkowski L., Truszczyński M., Zebrowski L., Sadowski M., Matuszewicz J., Blwejnś-Kłosowska D.: *Zesz. probl. Post. Nauk rol.* 124, 93, 1971.
24. Jażdżewski J.: *Zesz. probl. Post. Nauk rol.* 30, 196, 1977.
25. Jenum P. A.: *Acta path. microbiol. immunol. Scand. Sect. C.* 93, 175, 1985.
26. Johnson F. W. A.: *Br. vet. J.* 139, 93, 1983.
27. Kaaden O. R., Lieberman H.: *Arch. Vet. med.* 20, 921, 1971.
28. Kurbanov J. A., Avzulov F. Z.: *Veterinarija, Moskwa* 4, 26, 1984.
29. Kurzeja K., Cach-Czaja K.: *Prz. hod.* 6, 179, 1982.
30. Mardh P. A., Holmes K. K., Oriol J. D., Piot. P., Schachter J.: *Chlamydial infections.* Elsevier Biochemical Press, Amsterdam 1982.
31. Martinov S.: *Vet. Med. Nauki, Sofia* 21, 33, 1975.
32. Martinov S. P., Popov G. V.: *Chlamydii i chlamydialnyje infekcii* Mc Agroinform. Sofia 1981.
33. Martinov S.: *Vet. Med. Nauki, Sofia* 10, 88, 1984.
34. Mc Kercher D. G., Wanola E. M., Ault. S. K., Theis H. H.: *Am. J. vet. Res.* 41, 922, 1980.
35. Millon A.: *Contribution a l'etude de la Chlamydie abortive ovine.* Praca dokt. Toulouse 1973.
36. Millon A., Giral M. F.: *Rev. Med. vet.* 129, 983, 1978.
37. Moss T. R., Steptoe P. C.: *J. Royal Soc. Med.* 77, 70, 1984.
38. Munro R., Hunter A. R., Mac Kenzie G., Martin D. A.: *J. comp. Path.* 92, 117, 1982.
39. Popov G. V., Martinov S. P.: *IV th Int. Symp. Vet. Lab. Diagn., Amsterdam* 1986, 925.
40. Sadowski J. M.: *Medycyna Wet.* 27, 466, 1971.
41. Sadowski J. M.: *Pol. Arch. wet.* 18, 201, 1975.
42. Sadowski J. M., Jaśkowski L., Szulc L., Truszczyński M.: *Pol. Arch. wet.* 16, 491, 1973.
43. Sadowski J. M., Szulc L., Hoffman-Woźniak K., Truszczyński M., Jaśkowski L.: *Pol. Arch. wet.* 16, 481, 1973.
44. Sadowski J. M., Truszczyński M.: *Medycyna Wet.* 28, 229, 1972.
45. Schmer N., Perez-Martinez J. A., Schnorr K., Storz J., Krauss H.: *IV th Int. Symp. Vet. Lab. Diagn., Amsterdam* 1986, 472.
46. Sheven P. E.: *Can. vet. J.* 21, 2, 1980.
47. Stellmacher H., Kielstein P., Horsch F., Martin.: *Mh. Vet. Med.* 38, 61, 1983.
48. Storz J., Krauss H.: *Chlamydial infections, w Handbook of bacterial infections in animals.* red. Blabel H., Schlisser T. Wyd. Fischer Verlag, Jena 1985, 447.
49. Tang F. T., Chang H. L., Huany Y. T., Wang K. C.: *Chin. Med. J.* 75, 429, 1957.
50. Taylor-Robinson D., Thomas B. J.: *Clin. Path.* 33, 205, 1980.
51. Travnicek M., Drvecky T., Balascak J.: *Vet. Med. Praha* 29, 133, 1984.
52. Travnicek M.: *Chlamydiezy potrat oviec. Ustav vet. osvety, Bratislava* 1982.
53. Truszczyński M., Sadowski J. M.: *Medycyna Wet.* 28, 391, 1972.
54. Truszczyński M., Sadowski J. M.: *Medycyna Wet.* 29, 389, 1973.
55. Thygeson T.: *Arch. Ophthalmol.* 15, 377, 1936.
56. Uzieblo B.: *Medycyna Wet.* 20, 726, 1964.
57. Wills J. M., Howard P. E., Millard W. G.: *IV th Int. Symp. Vet. Diagn. Amsterdam* 1986, 465.
58. Wilmore A. J., Abduljalil S. A., Persons V. H., Davson M.: *Br. vet. J.* 140, 468, 1984.
59. Zardowska-Stefanow B. E.: *Badania nad znaczeniem epidemiologicznym i rolą etiologiczną Chlamydia trachomatis w chorobach przenoszonych drogą piciową.* Praca dokt., AM Białystok 1983.

Adres autor: dr Wiesław Deptuła, ul. Zwirowa 9/5, 66-400 Gorzów Wlkp.

JERZY KITA, BOHDAN KOWALSKI, JERZY BIENKOWSKI

Możliwość uwolnienia stada od enzootycznej białaczki bydła metodą izolacji przy zastosowaniu testu immunodufuzji w żelu agarowym

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

Wprowadzenie testów serologicznych do diagnostyki enzootycznej białaczki bydła (EBB) daje się od wyizolowania wirusa przez Miller i wsp. w 1969 r. (6). Po opracowaniu testu immunodufuzji (ID) podjęto badania nad zwalczaniem choroby (8). Pierwsze prace z tego zakresu pojawiły się już po kilku latach (5, 9, 10).

Próby uzdrawiania stad bydła podejmowane były w wielu krajach. Stosowano różne metody diagnostyki i różne rozwiązania epizootologiczne, począwszy od wybijania dodatnio reagujących zwierząt, przez izolację i odchów cieląt serologicznie ujemnych (1, 2, 7).

Celem pracy była próba uwolnienia od EBB, metodą izolacji, jednego z trzech stad w obrębie jednego gospodarstwa. Gospodarstwo to na podstawie badania hematologicznego uznane było jako wolne od EBB.

Materiał i metody

Badaniem objęto gospodarstwo Gryżyna, należące do Stadniny Koni Racot, posiadające trzy stada krów zarodowych, które pozostają w pełnym cyklu produkcyjnym.

Do programu uzdrawiania wybrano stado III z obsadą wynoszącą w okresie obserwacji od 79 do 83 krów. Budynek obory tradycyjny. Stado I z obsadą 80—83 krów przebywało również w oborze tradycyj-

nej. Stado II liczyło 81 krów, które przebywały w budynku typu fermowego (obora bezściółkowa, wolnostanowiskowa). Krowy z poszczególnych stad kontaktowały się przez wspólną porodówkę oraz sezonowo na pastwisku.

Badania diagnostyczne rozpoczęto w 1981 r. Wykonywano je metodą immunodufuzji w żelu agarowym przy użyciu antygenu przygotowanego we własnym zakresie oraz antygenów Pitman-Moora i Hoechst jako kontrolnych.

Antygen przygotowywano w skali laboratoryjnej w oparciu o hodowlę komórkową linii stałej FLK zakażonej persistentnie wirusem EBB oraz metodą opisaną przez Miller i Van der Maaten (4). Antygen każdorazowo sprawdzano z surowicą i antygenem standardowym.

W XVI badaniu, czyli w piątym roku realizacji programu, wyniki testu immunodufuzji (TIMD) zostały poddane badaniu kontrolnemu w teście ELISA.

W ciągu pierwszych 2 lat realizacji programu badania wykonywano co 6 miesięcy. Eliminację krów ze stada III rozpoczęto dopiero po dwóch badaniach serologicznych, a polegała ona na przenoszeniu zwierząt reagujących dodatnio do jednego z dwu pozostałych stad w gospodarstwie. Na ich miejsce wprowadzano jałówki pochodzące z tego samego zespołu gospodarstw, u których 2—3-krotnie badania serologiczne dawały wyniki ujemne. W latach 1983—1985 w zależności od sytuacji enzootycznej badania serologiczne zwierząt stada III wykonywano co 2—4 miesiące.

W trakcie badań analizowano dynamikę zakażenia wirusem EBB w tym stadzie oraz przyczyny eliminacji krów z podziałem na hodowlane i będące wynikiem zakażenia wirusem EBB.

Tab. 1. Wyniki I i XXII badania serologicznego krów w stadzie III gospodarstwa G z uwzględnieniem wieku zwierząt

Wiek (lat)	Badania I					Badanie XXII	
	liczba krów	procent	wynik+ (%)	wynik słabo dodatni (%)	wynik- (%)	liczba krów	wynik- (%)
1-2	4	51	—	—	100	17	24,6
3-4	30	37,9	10,0	—	86,7	20	29,0
5-6	27	34,2	26,0	3,3	74,1	23	33,4
7-8	9	11,4	66,8	—	33,3	5	7,2
9-10	7	8,9	71,4	—	28,6	4	5,8
pow.10	2	2,5	50,0	—	50,0	—	—
Razem	79	100	27,8	1,3	70,9	69	100

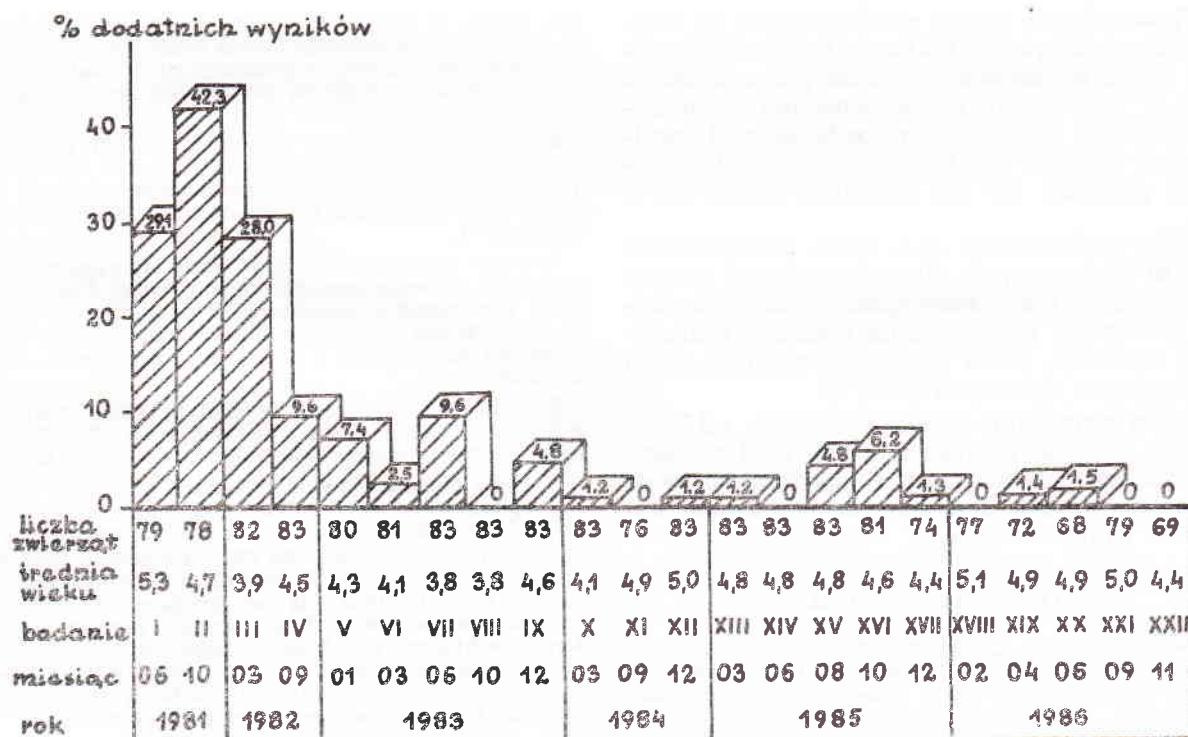
Wyniki i omówienie

Wyniki I i XXII badania serologicznego przedstawia tab. 1. Spośród 79 krów dodatnio reagowało 27,8%, a słabo dodatnio 1,3%, co łącznie stanowi 29,1%. Biorąc pod uwagę strukturę wieku stada w badaniu I najliczniej były reprezentowane krowy w wieku 3—4 i 5—6 lat. Najwyższy procent zakażenia wirusem EBB występował w grupach wiekowych 7—8 lat (66,7%) i 9—10 lat (71,4%). Wzrost wskaźnika zakażeń u krów w wieku powyżej 4 lat wykazali w swoich badaniach także Kaja i wsp. (3) oraz Kita i wsp. (4).

Kształtowanie się dynamiki zakażenia w okresie pięcioletnich badań przedstawia ryc. 1. Ponieważ przebieg uzdrawiania stada może być pomocny w projektowaniu analogicznych programów w innych gospodarstwach, postanowiono przedstawić go nieco szerzej.

W II badaniu wyraźnie wzrósł procent krów reagujących dodatnio (42,3%), co związane było z tym, że dotychczas nie usuwano ze stada krów zakażonych. Fakt ten pomógł jednak w uruchomieniu programu uzdrawiania, którego roczne opóźnienie było z epizootiologicznego punktu widzenia wysoce niekorzystne.

W III badaniu, po eliminacji krów serologicznie dodatnich, procent zakażenia obniżył się do



Ryc. 1. Wyniki badań serologicznych w kierunku enzootycznej białaczki bydła (EBB) w stadzie uzdrawianym

poziomu I badania. Wyraźnie mniejszą liczbę krów zakażonych wirusem EBB w stadzie odnotowano dopiero po IV badaniu serologicznym (9,6%). W 1983 r. zwiększono częstotliwość badań: procent zakażenia w badaniu V wyniósł 7,4%, zaś w VI — 2,5%.

Badanie VII pozwoliło odnotować w teście ID 8 krów reagujących dodatnio (w tym 5 słabo dodatnio). Zwierzęta te uprzednio reagowały ujemnie. W tej grupie znalazły się dwie sztuki reagujące ujemnie od I badania, cztery od III badania i dwie od V badania. Wiek krów wahał się od 3 do 8 lat. Ze stada wyeliminowano jedynie trzy krowy, pięć pozostawiono ze względów hodowlanych.

W VIII badaniu wszystkie krowy reagowały ujemnie, a więc zwierzęta poprzednio reagujące słabo dodatnio obecnie dawały odczyn ujemne. Okresowe zanikanie przeciwciał poza okresem okołoporodowym nie jest dostatecznie wyjaśnione. Fakt ten może utrudniać lub znacznie przedłużać okres uzdrawiania stada.

W IX badaniu cztery sztuki spośród reagujących w VII badaniu słabo dodatnio zareagowały dodatnio; w przypadku jednej krowy wynik ten utrzymał się do X badania.

Po upływie 6 miesięcy w XI badaniu odnotowano brak seroreagentów dodatnich. Badanie XII i XIII wykryło po jednej dodatnio reagującą sztukę.

Badanie XIV — ponowny brak reakcji dodatnich. Badanie XV — cztery sztuki reagujące, w tym jedna słabo dodatnio. Ponieważ był to sezon pastwiskowy, krowy zakażone EBB nie zostały wyeliminowane.

W badaniu XVI procent zakażenia wyniósł 6,2 (5 sztuk). W tym momencie pojawiła się groźba przerwania programu uzdrawiania. W tej sytuacji wyniki testu ID zweryfikowano testem ELISA. Badaniu poddano surowice wszystkich krów reagujących ujemnie w teście ID, a program zwalczania EBB nadal kontynuowano. Wynik testu ELISA potwierdził wszystkie reagujące ujemnie zwierzęta w TIMD. W badaniu XVII dodatnio zareagowała jałówka wprowadzona do stada po XIII badaniu, dotychczas trzykrotnie reagująca ujemnie. Badanie XVIII nie wykazało obecności seroreagentów dodatnich w uzdrawianym stadzie, jednak w XIX i XX badaniu ponownie stwierdza się po jednym zakażonym zwierzęciu. Dopiero w kolejnych badaniach XXI i XXII nie wykryto zwierząt reagujących dodatnio.

W okresie pięcioletnich badań utrzymano strukturę wieku badanego stada; nadal najliczniej reprezentowane są krowy w wieku 3—4 lata (33,8%) oraz 5—6 lat (41,5%). Procent krów wyeliminowanych w okresie 5 lat przedstawia tab. 2. Najwyższy procent odnotowano pomiędzy I a V badaniem. Przyczyną eliminacji zwierząt były zarówno względy produkcyjno-hodowlane, jak i usuwanie zwierząt w ramach programu uwalniania stada od EBB.

Tab. 2. Procent krów wyeliminowanych w kolejnych badaniach w trakcie uzdrawiania stada

Nr badania	Procent wyeliminowanych zwierząt	
	łącznie	dodatnich reagentów
I - II	7,5	2,6
II - III	31,6	27,0
III - IV	24,4	19,5
IV - V	20,5	10,8
V - VI	9,6	9,6
VI - VII	3,7	0
VII - VIII	8,4	3,6
VIII - IX	3,6	0
IX - X	10,8	0
X - XI	20,5	2,4
XI - XII	7,2	2,4
XII - XIII	0	0
XIII - XIV	6,0	2,4
XIV - XV	4,8	0
XV - XVI	3,6	0
XVI - XVII	17,3	6,2
XVII - XVIII	8,1	1,3
XVIII - XIX	7,8	0
XIX - XX	8,3	1,4
XX - XXI	7,3	1,5
XXI - XXII	41,6	0

Ogółem w stadzie III obserwacją objęto 234 krowy. W okresie pięcioletnich badań ze względów hodowlanych i dodatnich reakcji z antygenem EBB wyeliminowano z niego 157 krów (67,1%), w tym reagujących dodatnio — 69 (29,5%). Zwierzęta reagujące dodatnio w teście ID stanowiły 43,9% ogółu wyeliminowanych zwierząt. Z kolei przeciętna eliminacji w innych stadach gospodarstwa obejmuje w przybliżeniu 30% krów rocznie. W przypadku stada uzdrawianego roczna eliminacja objęła około 39% zwierząt, w tym reagujących dodatnio 17%.

Niepowodzenia w toku realizacji programu uzdrawiania stada, a ściślej otrzymywanie zmiennych wyników w kolejnych badaniach można w pewnym stopniu odnieść do wyników pracy Mammericka (7), który w toku 3-letnich badań również stwierdzał obecność nowych, dodatnich reagentów. Niepowodzenie w uzdrawianiu przypisuje on raczej sprawom porządkowym, aniżeli błędom metodycznym. Zwraca uwagę na brak aseptyki przy pobieraniu krwi, nieprawidłową identyfikację i niewłaściwy system zwierząt na listach, a także błędne oznakowanie próbek z krwią przeznaczoną do badań serologicznych. Szczególnie podkreśla też sprawę przestrzegania rygorów przy eliminacji właściwych zwierząt i wprowadzaniu nowych do stada objętego programem uzdrawiania.

W przeprowadzonych badaniach napotkano również na podobne trudności. Dla prawidłowego przebiegu zwalczania EBB, zwłaszcza metodą izolacji, musi być w pełni zapewniona i właściwie ustawiona współpraca pomiędzy trzema ogniwami — gospodarstwem, lekarzem weterynarii odpowiedzialnym za program uzdrawiania i laboratorium diagnostycznym. W badaniach własnych duży wpływ na niepowodzenie akcji uzdrawiania miały: opóźnione przekazywanie wyników z laboratorium oraz zbyt

późna eliminacja zwierząt po każdym badaniu serologicznym.

Wnioski

1. Uzdrawianie stada metodą izolacji jest możliwe tylko w gospodarstwach wielkotowarowych posiadających kilka stad bydła.

2. W pierwszym okresie uwalniania stada od EBB badania serologiczne należy przeprowadzać co 8 tygodni aż do czasu otrzymania u wszystkich zwierząt dwukrotnego wyniku ujemnego; następne badania można przeprowadzać co 6 miesięcy względnie raz w roku w zależności od sytuacji enzootycznej w stadzie.

3. Ważnym elementem programu uzdrawiania jest szybkie usuwanie ze stada zwierząt reagujących dodatnio.

4. Powodzenie w uzdrawianiu zależy od dobrej współpracy gospodarstwa, lekarza praktyka i laboratorium diagnostycznego.

Piśmiennictwo

1. Flensburg J. C., Hoff-Jorgensen R.: V Symp. Bov. Leuk. CEC 1984, s. 475.
2. Jazbec I., Gregorovic V., Skusek F.: V Int. Symp. Bov. Leuk. CEC 1984, s. 461.
3. Kaja R. W., Olson C., Stauffacher R. H., Hardie A. R.: V Int. Symp. Bov. Leuk. 1984, s. 323.
4. Kita J., Kowalski B., Dobrowolski W., Bienkowski J.: Medycyna Wet. 41, 359, 1985.
5. Van Der Maaten M. J., Müller J. M., Schmerr M. J. F.: V Int. Symp. Bov. Leuk. CEC 1984, s. 433.
6. Müller J. M., Miller L. D., Olson C., Gillette K. G.: J. Nat. Cancer Inst. 43, 1297, 1969.
7. Mammerick M.: V Int. Symp. Bov. Leuk. CEC 1984, s. 443.
8. Olson C.: Bovine Pract. 14, 115, 1979.
9. Olson C., Kaja R. W., Stauffacher R. H., Stroziński L. L.: V Int. Symp. Bov. Leuk. CEC 1984, s. 457.
10. Schmidt F. W.: V Int. Symp. Bov. Leuk. CEC 1984, s. 421.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Kita, ul. Wąski Dunaj 7 m. 8, 00-256 Warszawa

Кита Я., Ковальский С., Беньковский Е. — **Возможность освобождения стада от энзоотического лейкоза скота методом изоляции при применении метода иммунодиффузии в агаровом геле**

Цель исследований состояла в попытке освобождения от энзоотического лейкоза скота (ЭЛС) ме-

тодом изоляции одного из трех стад в пределах одного крупнотоварного хозяйства. Исследования продолжались 6 лет и ведутся в дальнейшем. Основой изоляции коров, инфицированных вирусом ЭЛС, был положительный результат иммунодиффузии в агаровом геле (ИД) на основе собственного антигена при начальной частоте исследований каждые 6 мес., затем каждые 2—4 мес. До настоящего времени коровы были подвергнуты 22 серологическим исследованиям при помощи критерия ИД и однократной оценке его результатов критерием ELISA.

Исследования указали на возможность освобождения стада от ЭЛС. При предпринимании программы излечения серологические исследования следует проводить каждые 8 недель до получения у всех животных 2-кратного отрицательного результата. Следующие исследования проводятся 2-кратно каждые 6 мес. с возможностью перехода на ежегодное исследование в зависимости от энзоотической ситуации. Важным элементом программы излечения является быстрое удаление из стада положительных сарореагентов.

Kita J., Kowalski B., Bienkowski J. — **Possibility of eradication of enzootic bovine leukosis by the use of the immunodiffusion test and isolation of infected animals**

The aim of the work was an attempt to establish a herd free from enzootic bovine leukosis (EBL) by means of serological examinations and isolation of infected animals (the examination concerned one herd out of three within the same farm). The study has been carried out for 5 years. At the first two years the animals were tested every 6 months and later on every 2—4 months. During the 5 years programme the animals were tested 22 times by the use of the immunodiffusion test and an antigen of own production, and once with ELISA test. The observations point to the possibility to establish a herd free from EBL. To begin the sanitation programme serological tests should be performed every 8 weeks; two consecutive examinations with serological negative results betoken that the next examinations may be done every 6 months or even once a year depending on the enzootic situation on the farm. An important element of such sanitation programme consists in the elimination of the infected animals directly after testing.

FLORENT G. — **ELISA do jednorazowego rozpoznania parwowirusy psów. (Enzyme — linked immunosorbent assay for single serum diagnosis of canine parvovirus disease).** Vet. Rec. 119, 471—480, 1986 (19)

Ze względu na czasochłonność, duże koszty i konieczności posiadania dobrze wyposażonych laboratoriów, rozpoznanie chorób wirusowych na podstawie izolacji i identyfikacji czynnika etiologicznego jest zastępowane badaniami serologicznymi. W przypadku parwowirusy bardzo przydatny okazał się odczyn ELISA, który umożliwia zdiagnozowanie ostrej postaci choroby na podstawie stwierdzenia obecności swoistych przeciwciał w immunoglobulinie klasy IgM surowicy. Jako antygen stosowano wirus namnożony na hodowli komórek nerki psa oczyszczony przez ultrawierowanie w gradiencie sacharozы. W badaniach stosowano surowice szczepień w wieku 8 miesięcy zakażonych do jamy nosowej i jamy gębowej $10^{5.0}$ TCID₅₀ wirusa wyosobnionego z klinicznie chorych psów. Swoiste przeciwciała pojawiały się w immunoglobulinach klasy IgG i IgM już po 10 dniach po zakażeniu, przy czym przeciwciała obecne w klasie IgM zanikały po 25 dniach po zakażeniu.

G.

EVERMAN J. F., DIGIACOMO R. F., FERRER J. F., PARISH S. M. — **Przenoszenie wirusa białaczki bydła za pośrednictwem krwi. (Transmission of bovine leukosis virus by blood inoculation).** Am. J. vet. Res. 47, 1885—1887, 1986 (9)

Przebadano możliwość doświadczalnego przenoszenia wirusa białaczki bydła (BVL) za pośrednictwem krwi od krów chorych na białaczkę. Jako biorców użyto cielęta w wieku 4—6 tygodni pochodzące ze stad wolnych od tej choroby przez co najmniej 8 lat. W grupie I liczącej 4 cielęta krew pobrana od krów (10 μ l) podano domięśniowo, dożylnie, podskórnie względnie śródskórnie. Po 8 tygodniach wszystkie zwierzęta reagowały dodatnio w odczynie immunodiffuzji agarowej. W grupie II złożonej również z 4 cielęta podano cielętom po 0,1 ml krwi rozcieńczonej 1:100 PBS. Po 14 tygodniach po iniekcji wszystkie cielęta reagowały dodatnio w odczynie immunodiffuzji. Wystąpienie zakażeń wirusem białaczki nawet po iniekcji krwi rozcieńczonej potwierdza możliwość przenoszenia wirusa BLV podczas podawania leków w formie iniekcyjnej.

G.