

MOHAMED SADDOUR

Poziom przeciwciał dla wirusa PI3 w surowicach owiec

Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych
Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Znaczenie wirusa parainfluenzy 3 (PI3) jako czynnika etiologicznego zapaleń narządu oddechowego u owiec, stanowiło przedmiot badań wielu autorów (2, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 15, 17, 18, 20, 22, 24). Wykazano, że wirus PI3 powoduje najczęściej zakażenia o łagodnym przebiegu klinicznym (13, 14). W złych warunkach środowiska i zakażeniach komplikowanych przez bakterie szczególnie z rodzaju *Pasteurella*, może jednak powodować zachorowania o ciężkim przebiegu (21, 23, 24). Badania nad rozpowszechnieniem zakażeń wirusem PI3 w populacji owiec wskazują, że przeciwciała w stosunku do tego zarazka występują u 81% owiec w USA (10), 97% w Południowej Afryce (8), 80% we Francji (9), 54% w Wielkiej Brytanii (16). W Polsce, poza wycinkowymi badaniami Baczyńskiego i wsp. (1), brak jest prac dotyczących rozprzestrzenienia wirusa PI3 w populacji owiec. Wzrost pogłowia tego gatunku w latach 1970—1985, przekraczający 4 miliony i liczne sygnały z terenu o masowych zachorowaniach owiec wśród objawów zapaleń płuc, wskazują na celowość podjęcia badań nad tym problemem. Celem pierwszego etapu badań było rozpoznanie przyczyn zachorowań owiec ze szczególnym uwzględnieniem roli wirusa PI3.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań nad występowaniem przeciwciał w surowicach owiec z różnych rejonów kraju w stosunku do krajowego szczepu wirusa PI3 izolowanego od bydła (3).

Materiał i metody

Surowice. Badaniom poddano surowice owiec zdrowych w wieku powyżej 1 roku. Zwierzęta należały do różnych ras i pochodziły z wielu rejonów kraju.

Wirus. Krajowy szczep wirusa PI3 izolowany od bydła (3). Wirus namnażano w hodowli komórek nerek cieląt. Do nastawiania odczynu używano 4 jednostek hemaglutynacyjnych wirusa.

Krwinki. Odczyn wykonywano przy użyciu krwinek świńek morskich przygotowanych jako 0,5% zawiesina w PBS.

Wykonanie odczynu hamowania hemaglutynacji (HI). Do badań zaadaptowano metodę mikro używając plastikowych płytek „U” firmy „Plastomed”. Stosowano wzrastające rozcieńczenia surowic oraz stałą dawkę wirusa. W każdym przypadku nastawiano kontrolę surowicy na obecność hemaglutynin w stosunku do użytych krwinek, kontrolę wirusa i kontrolę krwinek.

Przygotowanie surowic. Z uwagi na silne właściwości hemaglutynacyjne w stosunku do krwinek świńek morskich, surowic owiec poddawanych tylko inaktywacji termicznej w temp. 56°C, podjęto próby usunięcia naturalnych hemaglutynin poprzez inaktywację nadjodanem potasu (KJO₄) wg metody Gamburga (12) lub metodą hemadsorpcji przy użyciu 2% zawiesiny krwinek świńek morskich, z puli przygotowanej do wykonania odczynu. Hemadsorpcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 24 godziny. Sprawdzono także skuteczność usuwania hemaglutynin naturalnych poprzez hemadsorpcję i działania KJO₄. Część surowic poddawano inaktywacji cieplnej, a następnie działaniu dwumerkaptotaolu (2ME). Inaktywację 2ME wykonano wg metody podanej w instrukcji badań serologicznych w kierunku brucellozy bydła (19).

W wynikach badań zestawiono i oceniono tylko te surowice, których miano hemaglutynin naturalnych po inaktywacji (jedną z użytych metod), nie przekraczało 1:8.

Tab. 1. Porównanie metod usuwania właściwości hemaglutynacyjnych surowic owiec w stosunku do krwinek świńek morskich

Sposób inaktywacji	Liczba surowic	Liczba surowic hemaglutynujących w mianie							% surowic hemaglutynujących w mianie						
		2	4	8	16	32	64	128	2	4	8	16	32	64	128
56°C—30'	19	0	0	0	0	0	2	17	0	0	0	0	0	10,5	89,5
56°C—30' +KJO ₄	84	16	1	5	6	4	8	44	19	1,2	6	7,1	4,8	9,5	52,4
56°C—30'+ hemadsorpcja	343	185	18	27	43	30	12	28	53,9	5,2	7,8	12,5	8,7	3,5	8,1
56°C—30'+ hemadsorpcja +KJO ₄	55	36	0	1	0	1	0	17	65,5	0	1,8	0	1,8	0	31
56°C—30'+ +2ME	239	93	9	15	30	26	29	37	39,2	3,7	6,3	12,6	11	12	15,6

Tab. 2. Miano przeciwciał w surowicach owiec w odczynie HI w stosunku do wirusa PI3

Rejon kraju	Liczba surowic	Liczba surowic o mianie							% surowic o mianie ≥ 16
		2	4	8	16	32	64	128	
1	142	44	9	24	31	22	5	7	45,8
2	140	52	9	10	22	15	11	21	49,3
3	67	21	6	5	9	3	11	12	52,2
4	20	2	1	7	6	4	0	0	50,0
5	30	1	1	3	8	7	8	2	83,3
6	25	10	4	3	4	4	0	0	32,0
7	8	0	0	0	3	3	2	0	100,0
8	6	4	0	0	1	0	0	1	33,3
Razem	438	134	30	52	84	58	37	43	50,6
%	—	30,5	6,8	11,8	19,2	13,2	8,4	9,8	50,4

Wyniki i omówienie

Właściwości hemaglutynacyjne, w stosunku do krwinek świnek morskich, surowic owiec, których miana hemaglutynin naturalnych osiągały nawet rozcieńczenie 1:128 (tab. 1), uniemożliwiły w praktyce wykorzystanie odczynu hamowania hemaglutynacji dla określenia poziomu przeciwciał w stosunku do wirusa PI3. Hemaglutyniny te inaktywowano przed wykonaniem odczynu HI przy pomocy metod nie niszczących przeciwciał, szczególnie klasy G. Stosowany w takich przypadkach, głównie do usuwania inhibitorów nieswoistych KJO₄, okazał się w tym przypadku mało skuteczny. Spośród 84 surowic, których miano hemaglutynacyjne w stosunku do krwinek świnek morskich wynosiło powyżej 1:32, poddanych działaniu KJO₄, tylko w 22 surowicach zostało ono sprowadzone do 1:8 i poniżej, a więc do miana umożliwiającego ocenę poziomu przeciwciał dla wirusa PI3. Przyjmując analogicznie jak u bydła, za najniższe miano pozytywne surowic zahamowanie hemaglutynacji w rozcieńczeniu 1:16, po inaktywacji surowic KJO₄, tylko u 26% surowic można ocenić poziom przeciwciał i wskazać na brak lub przebyte zakażenie wirusem PI3 (tab. 1). Po hemadsorpcji surowic zawierającą krwinek przeznaczonych do wykonania odczynu w 66,9% można było określić poziom przeciwciał w stosunku do wirusa PI3. Procent ten nie ulegał zwiększeniu istotnemu po dodatkowej inaktywacji surowic KJO₄. Zastosowanie do inaktywacji surowic 2ME, pozwalało na ocenę w odczynie HI 49% badanych prób (tab. 1). Przedstawione wyniki wskazują zatem, że określanie poziomu przeciwciał w surowicach owiec odczynem HI wymaga wstępnych zabiegów zmierzających do usunięcia zarówno inhibitorów nieswoistych, jak i naturalnych hemaglutynin obecnych w surowicach u dużego procentu owiec, pochodzących nawet z jednego stada i pozornie jednolitych pod względem rasy. Na zagadnienia te zwracają uwagę niektórzy badacze, stosując obok inaktywacji cieplnej, inaktywację KJO₄, preparatem RDE (receptor destroying enzym), adsorpcję surowic

kaolinem lub używanymi w teście HI krwinkami (8, 9, 10). Baczyński i wsp. (1) nie podają, czy w badanych surowicach owiec inaktywowali niespecyficzne inhibitory i hemaglutyniny, co nie pozwala na porównanie wyników.

W tab. 2, zestawiono wyniki badań surowic owiec, których po inaktywacji jedną z podanych metod użyto do określenia poziomu przeciwciał w stosunku do wirusa PI3. Jak wynika z danych tab. 2, procent surowic neutralizujących właściwości HA wirusa PI3 w mianie 1:16 wahał się od 32 do 100, obejmując średnio 50,4% badanych zwierząt. Dane te są zbliżone do wyników badań cytowanych we wstępie autorów (8, 9, 10, 16) i zdają się wskazywać, że występowanie wirusa PI3 w populacji owiec w Polsce jest bardzo rozpowszechnione. Przedstawione wyniki badań serologicznych (tab. 2) pozwalają sądzić, że wirus PI3 stanowi duże zagrożenie dla owiec jako potencjalny czynnik przyczynowy bronchopneumonii. Dla wyjaśnienia roli tego zarazka w występujących obecnie enzootiach tego schorzenia konieczne są dalsze badania.

Piśmiennictwo

- Baczyński Z., Dzierżawski A., Skulimowska-Kryszkowska B.: Bull. vet. Inst. Puławy 25, 24, 1982.
- Belak S., Palfi V.: Acta vet. hung. 24, 281, 1974.
- Buczek J., Jastrzębski T., Zbikowska K.: Medycyna Wet. 30, 31, 1974.
- Carter M. E., Hunter R.: N. Z. vet. J. 18, 226, 1970.
- Cuadrado P. R.: Bull. Wildl. Hlth. Org. 33, 803, 1965.
- Cutlip R. C., Lehmkühl H. D.: Am. J. vet. Res. 43, 2101, 1982.
- Ditchfield J.: Vet. Rec. 79, 773, 1966.
- Erasmus B. J., Boshoff S. T., Pieterse L. A.: Bull. Off. int. Epizoot. 68, 657, 1967.
- Faye P., Charton A., Layec Cl.: Bull. Acad. vet. 40, 203, 1967.
- Fischman H. R.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 118, 725, 1965.
- Fischman H. R.: Am. J. Epidem. 85, 272, 1967.
- Gamburg V. P.: Acta Virol. 5, 317, 1961.
- Giauffret A., Russo P., Dhennin M.: Bull. Acad. vet. Fr. 45, 207, 1972.
- Haralambiev H., Ivanov J., Stamenov B.: Vet. Med. Nauki Sofia 6, 69, 1969.
- Hore D. E.: Vet. Rec. 79, 466, 1966.
- Hore D. E.: Br. vet. J. 125, 311, 1969.
- Lehmkühl H. D., Cutlip R. C.: Am. J. Vet. Res. 43, 626, 1982.
- Lehmkühl H. D., Cutlip R. C.: Vet. Microbiol. 8, 437, 1983.
- Min. Rol. Dep. Wet. Nr Wetgb-642-27 (75).
- Parks J. B., Post G., Thorne T.: J. Am. vet. med. Ass. 161, 569, 1972.
- Sharp J. M., Glimour N. J. L., Thompson D. A., Rush-ton B.: J. comp. Path. 88, 237, 1978.
- Shingh V. P., Pathak F. C.: Indian J. Microbiol. 17, 52, 1977.

23. *St. George T. D.*: Aust. vet. J. 45, 315, 1969.
 24. *St. George T. D.*: Aust. vet. J. 18, 226, 1970.

Adres autora: lek. wet. Mohamed Saddour, ul. Przyjaźni 22/36, 20-314 Lublin

Saddour M. — Уровень противотел для вируса PI3 в сыворотках овец

Исследовано уровень противотел в сыворотках овец относительно вируса PI3. Показано, что по удалении натуральных гемагглютининов, отмечаемых в сыворотках крупного процента овец, реакция HI может применяться для исследования уровня противотел. Принимая за самый низкий положительный титр разбавление 1:16, показано, что 50.4% сывороток овец обладает противотелами

относительно вируса PI3. Исследования указывают на большое распространение вируса PI3 в популяции овец в стране.

Saddour M. — The level of PI-3 antibodies in sera of sheep

The level of antibodies against PI-3 virus in sera of sheep was examined. It was found that after depletion of natural haemagglutinins, present in a high percentage of sheep, HI test might be used to assay the level of the antibodies. Assuming a dilution 1:16 as a lowest positive titre, it was found that 50.4% of sheep sera had antibodies against PI-3 virus. The studies point to a wide spread of the virus among sheep population in Poland.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

MAREK SWITOŃSKI

Chromosomy lisa polarnego i lisa pospolitego a nieplodność ich mieszańców

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR,
 ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań

Lis polarny i lis pospolity, to dwa różne gatunki należące do dwóch różnych rodzajów taksonomicznych, które można krzyżować ze sobą w celu uzyskiwania mieszańców (bastardów). Dla hodowcy krzyżowanie takie może przedstawiać szereg zalet, bowiem w jego wyniku uzyskuje mioty o wyżej liczebności, zbliżonej do tej, jako jest typowa dla lisa polarnego, a pochodzące z nich mieszańce mają okrywą włosową o wyższej wartości, bo zbliżoną do lisa pospolitego. Chociaż sezony rozplodowe obu gatunków są przesunięte względem siebie, to udaje się dokonać kojarzenia na pograniczu obu okresów, a przy stosowaniu sztucznej inseminacji rozwiązanie problemu jest jeszcze łatwiejsze.

W wypadku pomyślnego przeprowadzenia krzyżowania powstaje pytanie, czy uzyskane mieszańce można zachować do dalszej hodowli. Pozostawienie takich zwierząt w stadzie podstawowym miałyby jedynie wówczas sens, jeżeli istniałyby podstawy do przypuszczeń, że zwierzęta te będą płodne. Punktem wyjścia do takich rozważań jest pytanie, czy w gonadach (jajnikach i jądrach) mogą przebiegać prawidłowe procesy gametogenezy kończące się produkcją funkcjonalnych plemników i komórek jajowych. Na proces ten, którego zasadniczą częścią jest podział mejotyczny, wpływają w głównej mierze podobieństwa i różnice pomiędzy garniturami chromosomowymi obu gatunków wyjściowych. Jak zatem przedstawiają się

kariotypy obu gatunków (kariotyp — to uszeregowany w pary homologiczne zestaw chromosomów występujących w komórce somatycznej)?

Lis polarny

Za podstawową diploidalną liczbę chromosomów u tego gatunku przyjmuje się $2n=50$ (7). Kiedy jednak przeprowadzono badanie populacyjne u lisów fermowych w różnych krajach, takich jak: Szwecja, Finlandia (4), Dania (2), Norwegia (9) oraz Polska (12), to okazało się, że najczęściej obserwowano osobniki o 49 chromosomach (ryc. 1), a rzadziej o 50 lub 48 chromosomach. Sytuacja taka wywołana jest występowaniem dziedzicznej aberracji chromosomowej, tzw. translokacji Robertsona (fuzja centryczna), polegającej na połączeniu się w centromerze dwóch chromosomów akrocentrycznych pochodzących z różnych par homologicznych. W wypadku lisa polarnego dotyczy to jedynych dwóch akrocentrycznych par chromosomowych: nr 23 i nr 24 (ryc. 2). W efekcie zależnie od kariotypu rodziców w potomstwie występują określone rodzaje kariotypów, tak jak jest to przedstawione w tab. 1 (15). Znaczenie tego polimorfizmu kariotypowego, szczególnie w aspekcie płodności zwierząt, było przedmiotem kilku prac badawczych (2, 9, 12). Jakkolwiek uzyskane wyniki nie są w pełni jednoznaczne, to wydaje się, że samice o kariotypie $2n=48$ są bardziej płodne od pozostałych