

krwi macior prosiętom w znacznym stopniu zapobiega kolibakteriozie.

#### Piśmiennictwo

1. Baljer G., Chorherr S., Plank H., Bostedt H., Schels H., Mayr A.: Zbl. Vet. Med. B 23, 364, 1976.
2. Childlow J. W., Blades J. A., Porter P.: Vet. Rec. 105, 437, 1979.
3. Dziąba K. A., Lambrecht G., Petzoldt K.: Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis. Vol. 8, (3/4) 267, 1985.
4. Evans P. A., Newby T. J., Stokes C. R., Patel D., Bourne F. J.: Scand. J. Immunol. 11, 419, 1980.
5. Köhler E. M.: Am. J. Vet. Res. 35, 331, 1974.

Adres autora: dr Stanisław Kostrzyński, ul. Michała Spisaka 48, 02-495 Warszawa-Ursus

**Костышинский С., Дзёмба К. — Пыткыя спецыфічнага прадотвараення колібактэрыоза паросят-сосунов**

Исследования провели на 830 поросятах от 78 свиноматок. Вакцину инактивировали температурой, изготовили ее из 2 штаммов среды *E. coli* O149 K91 K88 и O138 K81. Вакцину свиноматок вводили с кормом 5-кратно каждый второй день на 2 недели перед опоросом в дозе 5 мл  $5 \times 10^{10}$  бактерий/мл, а поросётам в течение первых 10 дней жизни по 1 мл  $1 \times 10^{10}$  перорально. Сыворотку вводили на 1 и 3 дни жизни в дозе 5 мл подкожно. Статистически существенное уменьшение падежа поросят в течение 6 недель жизни отметили по вакцинации свиноматок и поросят, а также дополнительно

после ввода сыворотки парентерально (процент падежа 2,2% на 188 поросят), по применению самой сыворотки (6,2% на 161 поросёнка). Получили также уменьшение падежа поросят после вакцинации свиноматок и поросят. Показатель падежа составил 12,7% на 142 поросят. В контрольной группе процент падежа составлял 29,5 на 241 поросёнка.

**Kostrzyński S., Dziąba K. — A trial of specific prophylactic of colibacillosis in sucking piglets**

The examinations were done on 830 piglets derived from 78 sows. A heat inactivated vaccine was prepared from 2 environmental isolates of *Escherichia coli* O149 K91 K88 and O138 K81. The vaccine was given perorally with food 5 times at 2 day intervals two weeks before parturition at a dose of 5 ml ( $5 \times 10^{10}$  bacterial cells/ml). The piglets were given the vaccine perorally for the first ten days of their life at a dose of 1 ml ( $1 \times 10^{10}$  bacterial cells/ml) and antiserum subcutaneously at 1st and 3rd day of life at a dose of 0.5 ml. Statistically significant lowering of piglets losses in the period of 6 weeks of life was noted after vaccination of sows and piglets and additionally after parenteral injection of immune serum (percent of losses 2.2 in 188 piglets), and after the application of antiserum alone (6.2% in 161 piglets). The lowering of losses in piglets was observed also after vaccination of sows and piglets. The index of losses was 12.7% per 142 piglets. In control group of animals it was 29.5% per 241 piglets.

JERZY NOWACKI, STANISŁAW KLIMENTOWSKI, STANISŁAWA LEWANDOWSKA \*

## Ocena odpowiedzi immunologicznej u ciężarnych myszy uodpornionych i zakażonych pałeczkami *L. monocytogenes*\*

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR,  
pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław  
\* Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynaryjnego AR,  
ul. C. Norwida 31, 50-375 Wrocław

*Listeria monocytogenes* należy do drobnoustrojów pasożytujących wewnątrzkomórkowo. Są one pochłaniane w miejscu wnikięcia przez wędrujące i osiadłe komórki fagocyтуjące, a następnie w większości przypadków w krótkim czasie zabijane. Odpowiedź typu komórkowego pojawia się wcześniej i wydaje się odgrywać główną rolę w obronie organizmu przed zakażeniem w odróżnieniu od odpowiedzi humoralnej, która spełnia funkcję kontrolną (1). Celem badań był dobór odpowiednich metod dla określenia odpowiedzi immunologicznej u zwierząt ciężarnych uodpornionych i zakażonych pałeczkami *L. monocytogenes*.

#### Materiał i metody

Badania wykonano na 104 myszach dorosłych i pochodzących od nich 114 oseskach rasy BALB/c klinicznie zdrowych. Przed przystąpieniem do badań sprawdzono na 30 myszach właściwości biologiczne szczepów *L. monocytogenes* użytych do doświadczenia.

Do uodpornienia myszy zastosowano własną szczepionkę złożoną z 2 serotypów listerii 1 i 4b w ilości

$10^8$  komórek w 1 ml zawieszonych w płynie fizjologicznym o pH 7,6 zawierającym 5% glicerolu i 2% sacharozy (3). Do zakażeń użyto zawiesiny zjadliwych szczepów *L. monocytogenes* nr 70/81 — serotyp 1 i 105/81 — serotyp 4b o gęstości  $10^8$  w 1 ml.

Myszy podzielono na cztery grupy (tab. 1, 2, 3). W grupie I uodporniono 40 myszy szczepionką po 0,2 ml podskórnie przed pokryciem. Następnie usypiano po 8 myszy i przeprowadzono badania immunologiczne po 1 i 2 tyg. od uodpornienia. Dla sprawdzenia odporności pozostałe 24 myszy zakażono po 4 tyg. od zastosowania szczepionki zawiesiną zjadliwych listerii po 0,2 ml podskórnie. Myszy po zakażeniu badano po 1, 2, 3, 4 i 6 tyg. Ich potomstwo w 4 tyg. życia poddało badaniom biologicznym i immunologicznym. Grupę II stanowiło 46 myszy, z czego 16 badano immunologicznie przed uodpornieniem, natomiast 30 uodporniono w drugiej połowie ciąży, a ich potomstwo zakażono (po 0,05 ml podskórnie) w tyg. życia celem sprawdzenia przekazanej odporności. Badania immunologiczne przeprowadzono 2-krotnie w odstępach tygodniowych, a po uodpornieniu w 1 i 4 tyg. Grupa III i IV stanowiły kontrolę do właściwego doświadczenia. W grupie III 12 myszy nie uodpornionych zakażono w drugiej połowie ciąży. W grupie IV potomstwo 6 myszy nie uodpornionych i nie zakażonych zakażono w wieku 3—4 tyg.

Wszystkie myszy badano klinicznie, a po uspieniu immunologicznie, sekcyjnie i bakteriologicznie. Badania immunologiczne obejmowały: odczyn aglutynacji metodą wzrostową, test z czerwienią obojętną, test

\*) Praca wykonana w ramach Centralnego Programu Badań Podstawowych nr 05.06.

Tab. 1. Wpływ uodpornienia czynnego myszy przeciw listeriozie na odporność i przeżywalność matek i ich potomstwa

Grupa myszy	Myszy - matki			Potomstwo		
	ogólna liczba w grupie	uodpornione	zakazone	ogólna liczba w grupie	zakazone	niezakazone
I-uodpornionych przed pokryciem i zakazonych w drugiej połowie ciąży	przeżyło	40	24 <sup>x</sup>		10	10
	40 padło	0	0	20	0	0
II-uodpornionych w drugiej połowie ciąży	przeżyło	30			20	20
	46 <sup>xx</sup> padło	0		40	0	0
III-zakazonych w drugiej połowie ciąży	przeżyło		4			0
	12 padło		8	18		18
IV-ciężarnych nie uodpornionych i nie zakazonych	przeżyło				4	
	6 padło				32	

Objaśnienia: x — myszy zakazane po uodpornieniu, xx — 16 myszy badano przed uodpornieniem.

NBT i określenie aktywności fagocytarnej przy użyciu met. chemiluminescencji (test Chl). Odczyn aglutynacji wykonywano rozcieńczając surowicę badaną bulionem tryptozowym w postępie geometrycznym. Jako antygeny użyto zawiesiny żywych zjadliwych szczepów listerii serotyp 1 i 4b splukanych z 48 h hodowli agarowej (28°C) o gęstości 10<sup>8</sup> w 1 ml dodając po kropli do każdego rozcieńczenia. Równocześnie nastawiano kontrole dodatnie i ujemne surowicy i antygeny. Próby odczytywano po 24 h inkubacji w cieplarni w temp. 28°C. Aktywność fagocytarną poprzez pochłanianie czerwieni obojętnej przez komórki żerne krwi obwodowej określano przy użyciu 0,05% czerwieni obojętnej inkubowanej 15 min. w temp. 37°C z zawiesiną komórek (1×10<sup>9</sup>) z dodatkiem inaktywowanej cielęcej surowicy płodowej. Wynik podano w procentach komórek pochłaniających czerwień obojętną. Test redukcji NBT wykonano wg Raman i Poland (4) w modyfikacji własnej. Krew żylną pobierano na heparynę (10 j w 1 ml krwi). Wkrótce po pobraniu mieszano w silikonowanych probówkach 0,2 ml krwi z równą objętością 0,1% NBT (Merck) w PBS o pH 7,4. Mieszaninę inkubowano 15 min. w temp. 37°C oraz 15 min. w temp. pokojowej. Po inkubacji pobierano 0,05 ml mieszaniny i dodawano 1 ml N,N-dimetyloformamidu (POCh Gliwice). Złogi formazanu rozpuszczano poprzez 10 min. wstrząsanie. Następnie wiorowano 3 min. przy 1000 g. Ekstynkcję supernatantu mierzono przy 546 nm używając spektolu (Carl Zeiss Jena). Wynik aktywności fagocytarnej komórek żernej krwi obwodowej podano w wartości: ekstynkcja/1000 granulocytów. Metodą chemiluminescencji określano aktywność fagocytarną neutrofilii stymulowaną opsonizowanymi cząsteczkami zymosanu A wg metodycznych przesłanek Müller-Peddinghausa i wsp. (2) w modyfikacji własnej. Pełną krew pobierano na heparynę, rozporcjowaną po 0,5 ml i do momentu badania przechowywano w pojemniku z lodem, maksymalnie 2—3 godz. Skład badanej mieszaniny stanowiło: 480 µl PBS, 40 µl badanej krwi, 10 µl luminolu (Sigma) o stężeniu 19 mg/1,5 ml oraz 20 µl zopsonizowanego zymosanu A (Sigma) o stężeniu 50 mg/ml.

Czas inkubacji i pomiaru chemiluminescencji przy pomocy miernika ultrasłabego świecenia BL 82 w temp. 37°C trwał 30 min. Wynik podano po przeliczeniu maksymalnej wartości cpm/1000 granulocytów obojętnochłonnych.

### Wyniki i omówienie

Myszy uodpornione, jak również uodpornione i następnie zakazane w przebiegu całego doświadczenia klinicznie nie wykazywały odchyleń od normy. Potomstwo w 4 tyg. życia pochodzące od matek uodpornionych i zakazanych oraz od matek tylko uodpornionych po zakażeniu zjadliwymi pałeczkami listerii nie padało. Spośród 12 myszy zakazanych w drugiej połowie ciąży bez uodpornienia — 8 padło między 4 a 6 dniem po zakażeniu. Potomstwo zakazane w wieku 3—4 tyg. pochodzące od myszy nie uodpornionych i nie zakazanych padło w 1 tyg. po zakażeniu (tab. 1).

Po uśpieniu u myszy uodpornionych oraz myszy uodpornionych i następnie zakazanych, poza nieznacznym powiększeniem śledziony tylko w 1 tyg. od uodpornienia lub zakażenia innych zmian nie stwierdzono. Natomiast u myszy zakazanych sekcyjnie obserwowano silnie zaznaczoną anemię, ogniska martwicze w wątrobie, powiększenie śledziony i wątroby oraz w niektórych przypadkach zamarłe zarodki.

U myszy nie uodpornionych, padłych po zakażeniu, potwierdzono bakteriologicznie listeriozę.

Wyniki badań immunologicznych myszy uodpornionych przeciw listeriozie przed pokry-

Tab. 2. Wyniki badań immunologicznych myszy uodpornionych przeciw listeriozie przed pokryciem i zakażonych w drugiej połowie ciąży (grupa I) oraz ich potomstwa zakażonego w 4 tygodniu życia

Testy immunologiczne	Badania w tygodniach											
	myszy								potomstwa		myszy nie	
	przed uodpornieniem		po uodpornieniu		po uodpornieniu i zakażeniu				zakażonego	nie zakażonego	uodpornionych	zakażonych
	1	0	1	2	1	2	3	4	6	1	1	1
Aglutynacja (miano)	0	0	1:20	1:40	1:160	1:160	1:320	1:320	1:320	1:40	0	1:40
Z czerwienia obojętna (%)	6,7 ±2,8	5,7 ±1,8	10,6 ±1,5	9,7 ±1,5	10,0 ±1,4	6,5 ±2,1	13,2 ±2,2	10,8 ±1,1	12,0 ±1,4	10,5 ±1,6	9,25 ±1,7	7,5 ±2,9
Redukcji NBT (aktywność /1000 neutrofilii)	0,7 ±0,5	0,7 ±0,3	0,75 ±0,15	1,7 ±0,8	0,6 ±0,1	0,85 ±0,1	0,9 ±0,3	1,0 ±0,2	0,75 ±0,1	1,2 ±0,5	0,5 ±0,2	0,4 ±0,2
Chł (cpm / 1000 neutrofilii)	23,0 ±8,6	26,5 ±7,0	33,0 ±11,2	41,1 ±15,5	81,6 ±46,2	49,3 ±13,0	68,5 ±17,0	26,9 ±8,4	21,5 ±7,3	82,2 ±41,9	28,8 ±12,6	46,8 ±0,5

Tab. 3. Wyniki badań immunologicznych myszy uodpornionych przeciw listeriozie w drugiej połowie ciąży (grupa II) i ich potomstwa zakażonego w 4 tygodniu życia

Testy immunologiczne	Badania w tygodniach							
	myszy				potomstwa		potomstwa od myszy nie uodpornionych i nie zakażonych	
	przed uodpornieniem	po uodpornieniu	zakażonego	nie zakażonego	1	1	1	
	1	0	1	4	1	1	1	
Aglutynacja (miano)	0	0	0	1:80	0	0	0	
Z czerwienia obojętna (%)	6,7 ±2,8	5,7 ±1,8	11,0 ±2,6	5,6 ±2,1	9,8 ±0,6	9,7 ±1,5	6,5 ±2,1	
Redukcji NBT (aktywność /1000 neutrofilii)	0,7 ±0,5	0,7 ±0,3	0,95 ±0,4	0,82 ±0,3	0,88 ±0,3	0,81 ±0,3	0,52 ±0,2	
Chł (cpm / 1000 neutrofilii)	23,0 ±8,6	26,5 ±7,0	135,6 ±50,0	59,6 ±44,6	50,0 ±24,2	46,8 ±20,5	18,2 ±5,5	

ciem i zakażonych w drugiej połowie ciąży oraz ich potomstwa zakażonego i nie zakażonego przedstawia tab. 2. Z tabeli tej wynika, że u myszy uodpornionych stwierdzono miana aglutynacyjne od 1:20 po 1 tyg. do 1:40 po 2 tyg. U myszy tej grupy następnie zakażonych miana aglutynacyjne wzrosły od 1:160 (1 i 2 tydz.) do 1:320 (3—6 tydz.). Obecność aglutynin w mianie 1:40 stwierdzono jedynie w grupie potomstwa zakażonego. Aktywność fagocytna komórek żernych w grupie kontrolnej (przed uodpornieniem) we wszystkich trzech testach była znacznie niższa aniżeli po uodpornieniu lub po uodpornieniu i zakażeniu. W teście z czerwienią obojętną w grupie myszy uodpornionych aktywność żerna komórek wzrosła prawie 2-krótnie, natomiast najwyższe wartości notowano w grupie myszy uodpornionych i zakażonych w 3 i 6 tyg. po zakażeniu. W teście redukcji NBT najwyższe wartości ektywności obserwowano u myszy w 2 tyg. po uodpornieniu oraz u myszy uodpornionych i zakażonych od 3 do 4 tyg. Natomiast w teście Chł aktywność fagocytna była nieznacznie podwyższona

u myszy po uodpornieniu, jej wyraźny wzrost obserwowano u myszy uodpornionych i zakażonych od 1 do 3 tygodnia. We wszystkich 3 testach wykazano tylko u potomstwa zakażonego wyraźny wzrost aktywności fagocytnarnej. W grupie myszy tylko zakażonych obserwowano spadek aktywności fagocytnarnej.

W grupie myszy uodpornionych przeciw listeriozie w drugiej połowie ciąży i ich potomstwa zakażonego w 4 tyg. życia (tab. 3) obecność aglutynin notowano tylko u myszy matek w 4 tyg. po uodpornieniu (miano 1:80). Natomiast u potomstwa zakażonego i nie zakażonego, pochodzącego od myszy uodpornionych i nie uodpornionych, nie stwierdzono aglutynin. W pozostałych testach obserwowano szczególnie wysoki wzrost aktywności fagocytnarnej w 1 tyg. po uodpornieniu. Nie obserwowano natomiast wyraźnych różnic pomiędzy potomstwem zakażonym i nie zakażonym. Wartości te pozostawały jednak znacznie wyższe w porównaniu z potomstwem grupy kontrolnej — pochodzących od myszy nie uodpornionych i nie zakażonych.

W próbach biologicznych stwierdzono, że szczepienie czynne myszy zarówno przed pokryciem, jak i w drugiej połowie ciąży miało istotny wpływ na odporność matek oraz ich potomstwa. Uzyskane wyniki w testach immunologicznych potwierdzają, że odporność komórkowa pojawia się znacznie wcześniej po uodpornieniu lub zakażeniu aniżeli odpowiedź humoralna (5). Niskie miana przeciwciał obserwowano w 1 i 2 tyg. po uodpornieniu szczepami immunogennymi niezjadliwymi. Wysoki wzrost poziomu przeciwciał wystąpił u myszy uodpornionych i następnie zakażonych szczepami zjadliwymi (miano 1:160 do 1:320).

Wzrost aktywności fagocytarnej komórek żernych krwi obwodowej obserwowano od 1 tyg. po uodpornieniu. Szczególnie wysokie wartości notowano od 1 do 3 tyg. po zakażeniu. Wysoką aktywność żerną komórek obserwowano również u potomstwa zakażonego pochodzącego od matek uodpornionych w przeciwieństwie do potomstwa od myszy nie uodpornionych.

### Wnioski

1. Żywa szczepionka przeciw listeriozie podana myszom przed pokryciem, jak i w drugiej połowie ciąży ma działanie ochronne dla matek i ich potomstwa.

2. Odczyn aglutynacji, test NBT, test z czerwienią obojętną i test chemiluminescencji są przydatne dla oceny odporności typu humoralnego i komórkowego u myszy uodpornionych i zakażonych pałeczkami *L. monocytogenes*.

### Piśmiennictwo

1. Collins F. M., Campbell S. G.: Vet. Immunol. Immunopathol. 3, 5, 1982.
2. Müller-Peddinghaus R., Hoppe G., Schumacher W.: Zentbl. Vet. Med. 30, 559, 1983.
3. Nowacki J., Lewandowska S., Konopa M., Przymus J.: Medycyna Wet. 40, 458, 1984.
4. Raman U., Poland R. L.: Pediatric Res. 9, 334, 1975.
5. Wachnik Z., Przymus J., Kromolowski W.: Medycyna Wet. 37, 224, 1981.

Adres autora: dr Jerzy Nowacki, ul. Mikolaja Reja 42 m. 14, 50-338 Wrocław

Новацкий Е., Климентовский С., Левандовская С. — Оценка иммунологического ответа у беременных мышей, иммунизированных и зараженных палочками *L. monocytogenes*

Исследования выполнили на мышях породы BALB/c. Для иммунизации мышей применили собственную живую невирулентную вакцину против листериоза. Мышей исследовали клинически, а после усыпления иммунологически (реакция агглютинации, критерий ИВТ, критерий с нейтральным красным, критерий химиoluminesценции), секционно и бактериологически. В биологических пробах отметили, что активная вакцинация мышей как перед случкой, так и во второй половине беременности, существенно влияла на иммунитет матерей и их потомства. В реакции агглютинации низкие титры противотел наблюдали на 1 и 2 неделе после иммунизации. Высокий рост уровня противотел отметили у мышей, иммунизированных и затем зараженных вирулентными штаммами. Рост фагоцитарной активности макрофагов периферической крови наблюдали

через неделю после иммунизации. Особенно высокие величины отмечали 1—3 недели после заражения. Высокую фагоцитарную активность клеток показали у зараженного потомства от иммунизированных матерей в противоположность потомству от неиммунизированных мышей.

Nowacki J., Klimentowski S., Lewandowska S. — Immune response of pregnant mice immunized and infected with *Listeria monocytogenes*

The examinations were performed on mice, BALB/c breed, immunized with the vaccine containing attenuated strain of *Listeria monocytogenes*. The mice were assessed clinically and post mortem by means of immunological tests (agglutination, NBT test, the test with neutral red, and the chemiluminescence test), grossly and bacteriologically. It was found that active immunization of non-pregnant mice and in the second half of pregnancy influenced the immunity of mothers and their progeny. Low titres of agglutinins were observed in the 1st and 2nd week since immunization. High levels of the titres were noticed in mice immunized and infected with virulent strains. An increase of phagocytic cells of the peripheral blood was observed in the first week after vaccination. Particularly high values were found between the 1st and the 3rd week since infection. A high phagocytic activity of cells was noticed in the progeny infected which had come from mothers immunized in contrast to the progeny derived from non-immunized mice.

ALEXANDER D. J., MACHEMIE J. S., RUSSEL P. H.: Два типа вируса болезни Newcastle выделенные у птиц неупоминенных в Западной Австралии выкритые при употреблении противцел моноклональных. (Two types of Newcastle disease virus isolated from feral birds in Western Australia detected by monoclonal antibodies). Aust. vet. J. 63, 365—367, 1986 (11)

Trzynaście izolatów wirusa choroby Newcastle wyizolowanych od ptaków dzikich w okresie 1979—1980 i jeden szczep pochodzący od kaczki cechowała niska zjadliwość dla kurcząt. Przy użyciu przeciwciał monoklonalnych stało się możliwe wyróżnienie w obrębie wyosobnionych szczepów dwóch grup. Pięć szczepów reagowało z przeciwciałami monoklonalnymi wyprodukowanymi dla 9 znanych grup wirusa choroby Newcastle wyróżnionych przez Russel i Alexander, dziewięć izolatów reagowało tylko z przeciwciałami monoklonalnymi dla 4 grup wirusa choroby Newcastle.

G.

IKAWA H., NAMUSHIMA T., KOHNO T.: Bakteriologia zakrzepicy żyły częściej doogonowej u bydła rzeźnego. (Bacteriology of caudal vena cava thrombosis in slaughter cattle). Vet Rec. 120, 184—186, 1987 (8A)

Zakrzepica żyły częściej doogonowej cechuje się u bydła niedokrwistością, przyśpieszeniem oddechów, kaszlem, zaostreniem szmerów oskrzelowych i bólami w klatce piersiowej. Te objawy są następstwem septycznych zatorów w płucach i w mięśniu serca na skutek erozji ropni wątroby. Zakrzepicę zdiagnozowano u 0,032% bydła poddanego ubojowi w rzeźni w Osaka w okresie 18 miesięcy. W każdym przypadku w żyłę częściej doogonowej występowały zakrzepy. Badanie bakteriologiczne zatorów w żyłę częściej doogonowej, wątroby, nerek i śledziony wykazało, że wśród wyosobnionych drobnoustrojów dominuje *Fusobacterium necrophorum* i *Corynebacterium pyogenes*.

G.