

ZYG MUNT CYGAN, BOGDAN KUCHARSKI

## Diagnostyka laboratoryjna bradsotu owiec

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Lublinie  
Kierownik: dr TADEUSZ DĄBROWSKI

Bradsot owiec jest na ogół mało znanym i rzadko występującym w Polsce, ostrym schorzeniem zakaźnym, wywołanym przez *Clostridium septicum* lub *Clostridium oedematiens*. Z uwagi na różną etiologię, patogenezę i zmiany anatomopatologiczne Miessner (11), Schoop (17) i Hutyra (7) wyróżniają dwie odmienne formy bradsotu, określane jako bradsot północny i zakaźne martwicowe zapalenie wątroby.

Czynnikiem etiologicznym tzw. bradsotu północnego jest *Clostridium septicum*, zaś zakaźnego martwicowego zapalenia wątroby *Clostridium oedematiens*.

Bradsot północny był stwierdzany m. in. w Islandii przez *Dungala* (3) oraz *Miessnera* i wsp. (11), we Włoszech przez *Ghinelli* (4), w Tasmanii przez *Dumaresq* (2) i w Niemczech przez *Quandera* (16). Zakaźne martwicowe zapalenie wątroby zostało opisane w Australii przez *Turnera* (20), w Anglii przez *Jamiesona* (8) i *Parkera* (14) oraz w Chile i w Stanach Zjednoczonych AP (cyt. za 7).

*Turner* (20) i *Jamieson* (8) uważają, że w większości przypadków zakaźne zapalenie wątroby jest wywoływane przez *Cl. oedematiens* typu B (*Cl. Gigas*).

W Polsce bradsot owiec opisali dotychczas *Osiński* (13), *Gołaszewski* (5) oraz *Stępkowski* i wsp. (18). Czynnikiem etiologicznym schorzenia był głównie *Cl. oedematiens*. Tylko *Gołaszewski* (5) wyisobnił w jednym z opisanych przypadków *Cl. septicum*.

Prace wymienionych autorów podają dokładnie kliniczny przebieg choroby oraz stwierdzone zmiany anatomopatologiczne, nie uwzględniają natomiast metod izolacji i identyfikacji zarodka. Wydaje się zatem celowe omówienie techniki laboratoryjnego diagnozowania bradsotu owiec, w oparciu o przypadek tego schorzenia stwierdzony w jednym z tuł. PGR.

### Material i metody

W PGR Ż. woj. lubelskiego padło nagle 12 owiec wśród objawów morzyskowych i obrzęku płuc. Według informacji kierownika gospodarstwa i powiatowego lek. wet., padłe owce znajdowały się w bardzo dobrej kondycji, wiek ich nie przekraczał 2 lat. Bezpośrednio przed zachorowaniem owce zostały nakarmione zmrożoną karmą.

Do badań laboratoryjnych otrzymano wycinki narządów wewnętrznych, mięśni i jelit od 3 owiec.

Badanie anatomopatologiczne nadesłanych próbek wykazało liczne pęcherzyki gazu, wydobywające się przy uciśnięciu narządów wewnętrznych, szczególnie wątroby, wybroczyny nasierdziowe typu *eschymoses*, zwyrodnienie mięśnia sercowego, wątroby i nerek. Błona śluzowa jelit zapalnie zmieniona. Powiatowy lekarz weterynarii stwierdził ponadto sekcyjnie krwotoczny stan zapalny błony śluzowej trawieńca w okolicy przyodźwiernikowej, złoży włókna na sieci i ostry nieżył jelit.

Dla wykluczenia ewentualnego zatrucia, zawartość przewodu pokarmowego i narządy mięszone z kilku padłych owiec, zostały wysłane przez pow. lek. wet. do Zakładu Toksykologii IW w Puławach.

Z nadesłanych do WZHW wycinków narządów mięszone sporządzono preparaty odciskowe zbarwione metodą Grama i Ellnera, oraz wysiano badany materiał na podłożu agarowe z 10% dodatkiem krwi baraniej i podłożu Gassnera. Posiewy inkubowano w warunkach tlenowych przy 37°C. Równocześnie wykonano posiewy na podłożu Wrzosek-Tarozzi

i Zeisslera, stosując na podłożu Zeisslera pyrogalloową metodę hodowli (9, 15).

Właściwości biochemiczne wyizolowanych szczepów określano w stosunku do laktozy, glikozy, sacharozy, maltozy, mannitolu, salicyny i eskuliny. Badano zdolności rozrzedzania żelatyny, ścinania mleka i czernienia podłoża Hiblera, oraz określano charakter zmian wytwarzanych w podłożu Wilson-Blaire'a. Podłoża użyte do badań biochemicznych przygotowywano wg metody podanej przez *Meisla* (10).

Próby biologiczne przeprowadzono na świnkach morskich szczepiąc je domięśniowo rozcierem nadesłanych narządów, oraz 24-godziną, czystą hodowlą z podłoża Wrzosek-Tarozzi.

Z powierzchni wątroby padłych świnek morskich sporządzono preparaty mikroskopowe, barwione metodą Grama. Dla określenia ciepłoporności zarodników wyizolowanego szczepu, ogrzewano w zatopionych ampułkach na łaźni wodnej (temp. 100°) siedmiodniowe hodowle z podłoża Wrzosek-Tarozzi. Czas przeżywalności zarodników kontrolowano drogą posiewów tych hodowli (w 2-minutowych odstępach przez pół godziny) na podłoża Wrzosek-Tarozzi i następnego inkubowania przez 2 tygodnie w temp. 37°C. Z odwirowanej 24-godzinnej hodowli na pożywcę Wrzosek-Tarozzi wykonano próbę Neglera (12) i odczyn lecytawitelinowy wg *van Heinyngena* (6).

### Wyniki i omówienie

Hodowle w warunkach tlenowych nie wykazały wzrostu dronoustrójów chorobotwórczych. Przeprowadzone badania na obecność drobnoustrójów beztlenowych pozwoliły wyisobnić szczep oznaczony Nr 7033, określony w toku dalszych badań, jako *Clostridium septicum*. Drobnoustrój ten, w preparatach odciskowych, sporządzonych z narządów wewnętrznych padłych owiec, przedstawiał się w postaci gramodatniej zarodnikującej laseczki, o zarodnikach owalnych, umieszczonych podbiegunowo. W podłożu Wrzosek-Tarozzi dawał silne zmetnienie, z wytwarzaniem dużych ilości gazu. Po 24-godzinnej inkubacji na podłożu Zeisslera, tworzył rozgałęzione kolonie, złożone z licznych wypustek, otoczone strefą zupełnej hemolizy. Podłoża Hiblera i Wilson-Blaire'a nie czerniał. W badaniach biochemicznych rozkładał z wytworzeniem gazu laktozę, glikozę, maltozę, salicynę i eskulinę, nie zmieniał sacharozy i mannitolu; żelatynę upłynniał, mleko ścinał w postaci drobnych strzępów, lecytawiny nie wytwarzał.

Świnki morskie zaszczipione rozcierem narządów wewn. owiec, oraz uzyskaną hodowlą na podłożu Wrzosek-Tarozzi padły po 24 godzinach, z objawami obrzęku gazowego. Zmiany anatomopatologiczne przedstawiały się w postaci rozległego obrzęku tkanki mięśniowej i podskórnej z zawartością dużej ilości gazu. Mięśnie żywoczerwone konsystencji nie zmienionej. W tkance mięśniowej nieznaczna ilość krwiatego wysięku. Narządy wewnętrzne, szczególnie wątroba i nerki zwyrodniały mięszone. W preparatach odciskowych z powierzchni wątroby drobnoustrój ten układał się w długie nitki, często nie mieszczące się w polu widzenia. Temperatura 100°C zabijała zarodniki badanego szczepu po 30 minutach. Badania toksykologiczne nie wykazały obecności trujących związków chemicznych.

Właściwości wyizolowanego szczepu w porównaniu z danymi wg *Bergeya* (1) oraz *Topleya* i *Wilsona* (19) przedstawia poniższa tabela.

nr. wstępu	morfolożia zarodków	wzrost i wykształcenie		właściwości biochemiczne		właściwości fizyczne		właściwości patologiczne		Przebieg choroby
		Wzrost	Wykształcenie	Wzrost	Wykształcenie	Wzrost	Wykształcenie	Wzrost	Wykształcenie	
49	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
50	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
51	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
52	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
53	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
54	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
55	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
56	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
57	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
58	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
59	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
60	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
61	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
62	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
63	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
64	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
65	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
66	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
67	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
68	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
69	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
70	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
71	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
72	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
73	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
74	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
75	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
76	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
77	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
78	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
79	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych
80	owalno-kuliste, z granicami nierównymi	1-2	1-2	+	+	+	+	+	+	Brak danych

Wnioski

1. W oparciu o dane kliniczne, anatomopatologiczne oraz całokształt badań laboratoryjnych rozpoznano w PGR Ż. bradsot owiec, wywołany przez *Cl. septicum*.
2. Stwierdzenie po raz drugi w Polsce *Cl. septicum* jako czynnika etiologicznego bradsotu jest dowodem niesłuszności dawnej hipotezy Schoopa o niewystępowaniu omawianego schorzenia na tym tle w Europie środkowej i północno-wschodniej.
3. Czynnikiem predisponującym do wybuchu bradsotu było podanie owcom zmarzniętej karmy.
4. W przypadkach nagłych zejść śmiertelnych owiec

diagnostyka laboratoryjna winna uwzględniać każdorazowo możliwość zakażeń wywołanych przez beztle nowce.

Piśmiennictwo

1. Bergey's manual of determinative bacteriology, London, 1957 — str. 650.
2. Dumaresq J. A.: Austral vet. J. 15, 252, 1939.
3. Dungal N.: Ann. Inst. Pasteur 48, 604, 1932.
4. Ghinelli I.: Nuova Vet. 14, 299, 1936.
5. Gótaszewski H.: Med. Wet. 4, 163, 1952.
6. Heinyngen van W. E.: Bioch. Journ. 35, 1257, 1941.
7. Hutyrka F., Marek J., Manning J., Mocsy J.: 1, 45, 1962.
8. Jamieson S.: Journ. Path. Bact. 61, 389, 1949.
9. Koch F. E.: Zbl. Bakt. Abt. I, Orig. 132, 358, 1934.
10. Meisel H.: Mikrobiologia lekarska zeszyt VII, 1951.
11. Messner H., Schoop G.: Acta path. et microbiol. scand. Suppl. 18, 165, 1934.
12. Nagler F. P.: Brit. Journ. Exp. Path. 20, 473, 1939.
13. Osirski J.: Med. Wet. 1, 17, 1946.
14. Paricer W. H.: Vet. Rec. 60, 417, 1948.
15. Pesti L.: Mag. allator Lapja 18, 314, 1963.
16. Quander J.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 10, 118, 1947.
17. Schoop G.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 7, 109, 1941.
18. Stepkowski S., Wotoszyn S.: Med. Wet. 3, 142, 1956.
19. Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. London, 1955.
20. Turner A. W.: Austral. Vet. J. V, 11, 1929.

Adres autora: Zygmunt Cygan, Lublin, Droga Męczenników Majdanka 42.

ROMAN BOCHDALEK

## Uwagi na temat występowania wyników fałszywie dodatnich i ujemnych w odczynie hemaglutynacyjnym (OHA) i odczynie hemolitycznym (OHL) przy gruźlicy

Katedra Epizootologii Wydziału Wet. WSR we Wrocławiu  
Kierownik: prof. dr TADEUSZ SOBIECH

Publikacje na temat klasycznego odczynu Middlebrook i Dubos i jego modyfikacji są bardzo liczne. Wartość diagnostyczna bywa jednak różnie oceniana przez poszczególnych autorów. Powodem braku jednomyślności oceny tych odczynów są nie tylko różnice w metodyce badań, różnorodność dobieranych do oceny przypadków, ale również ustalenie rozcieńczenia surowicy, przy którym reakcję uznaje się za dodatnią. Wg *Scotta i Smitha* (54) niższe miana nadają odczynowi mniej swoisty charakter. *Birn* (4) podaje, że między wysokością miana, a stężeniem krwinek użytych do odczynu istnieje związek w tym sensie, że obniżenie koncentracji krwinek powoduje wzrost miana. Wg *Sobiecha i wsp.* (70) wysokość miana OHA zależy od rodzaju tuberkuliny, różnych adsorbentów, krwinek różnych gatunków zwierząt, oraz innych często subtelnym różnic natury techniczno-laboratoryjnej. Odgrywają też rolę różnice serologiczne między prątkiem zakażającym, a prątkiem z którego sporządzono antygen. Poziom przeciwciał może być związany z aktywnością procesu chorobowego.

*Wiśniowski* (83), *Wiśniowski i wsp.* (85) stwierdzają, że wysokie miana w OHL wskazują z dużym prawdopodobieństwem na czynny proces gruźliczy — wysokość miana zależy od postaci schorzenia i stopnia zaawansowania zmian. Pogląd ten w swych pracach potwierdzają liczni autorzy (6, 8, 13, 19, 28—30, 52, 58, 59, 70, 72, 79). *D'Ascanti i wsp.* (11) posługując się OHA w badaniu bydła donoszą o występowaniu różnic w wysokości miana u krów tuberkulino-dodatnich i tuberkulinoujemnych. *Grys* (24, 25) obserwując zachowanie się OHL u krów od 3 do 12 miesięcy po zakażeniu prątkiem gruźlicy typu mysiego stwierdza, że miano podlega pewnym wahaniom, a nawet niekiedy zanika całkowicie. *Lipanicz i wsp.* (45) badając przez 1,5 roku poziom hemaglutynin i hemolizyn u krów doszli do wniosku, że u większości krów miana nie ulegały zmianie, lub

wzrosły w granicach 1—2 rozcieńczeń. U 10 krów zaobserwowali wyraźną zwyżkę miana w okresie wiosny. W OHL stwierdzano zwykle wyższe miana i większe wahania niż w OHA. *Stryszak i Dziąbka* (74) obserwując zachowanie się OHL u bydła w przebiegu zakażenia gruźlicą w ciągu 15 miesięcy doszli do wniosku, że odczyn ten również wykazuje wahania. Wg *Romaniukowej* (52) miana w OHA i OHL mogą ulegać znacznym wahaniom (nawet do wyniku ujemnego). Okresowo poziom przeciwciał jest różny, a czasem zbyt niski, by go ustalić serologicznie. Zdaniem autorki niewątpliwie dużą rolę odgrywać może obecność różnej ilości antygeny. Przy postaci przewlekłej gruźlicy w przebiegu zaostrzeń możliwe jest dostawanie się do krwiobiegu różnych ilości antygeny, a w związku z tym nierównomierny poziom przeciwciał w krwi. Wydaje się zatem celowe kilkakrotne przeprowadzenie badania bydła ze względu na możliwość występowania zbyt niskiego poziomu przeciwciał. Liczni badacze przyjmowali za wynik dodatni zarówno w OHA, jak i OHL reakcje pozytywne w różnych rozcieńczeniach surowicy. *Scott i Smith* przyjęli za wynik dodatni już miano 1:2. *Dyner i Okólska* (15) 1:4.

Jedni autorzy uznali za dodatnie miano 1:8 (16, 20, 23, 26, 37, 38, 49, 50, 56), a 1:10 (*Romaniukowa*). Wielu autorów uznaje za dodatnie miano 1:16 (2, 8—11, 19, 22, 31, 32, 34—36, 42, 60, 61, 64, 71, 78, 81, 87); inni 1:20 (6, 7); 1:32 (8, 14, 19, 27, 28, 30, 72, 79, 80); 1:40 (5, 17, 23, 58, 59); 1:64 (5, 51, 55, 62, 67, 68); a *Schmid* (57) 1:80. *Kühn* (39) w badaniu mleka za wynik dodatni uznaje miano 1:20, a *Schmid* 1:40. *Jositikas i wsp.* (35) odróżniają obok wyników ujemnych (miano poniżej 1:4) i dodatnich (miano powyżej 1:8) odczynu nieokreślone (1:4 i 1:8), podkreślając przez to brak wyraźnego poziomu przeciwciał w przebiegu jawnego i utajonego zakażenia. *Takahashi* (76) uważa miano 1:8 i 1:16 za pośrednie, a 1:32 i wyższe jako dodatnie. *Spryszak i Żórawski* (73) po-