

farms. The greatest losses were in the eastern region of the province. The reason for the outbreak was considered to be mistakes in the feeding of piglets in the weaning stage. The occurrence was seasonal:

the greatest number of diseased animals were found in the summer heat waves. It is assumed that there is a correlation between the air-temperature and the number of diseased pigs.

EUGENIUSZ GAJOS

Zagadnienia klasyfikacji serologicznej pałeczek *Brucella*

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynarii WSR we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr L. OGIELSKI

Według stosowanej obecnie klasyfikacji bakteriologicznej na podstawie własności biochemicznych wyróżnia się istnienie trzech typów pałeczek *Brucella* tzn.: *Br. abortus*, *Br. suis*, *Br. melitensis*. Z uwagi na dużą ilość typowych i atypowych szczepów tych bakterii, różniących się pomiędzy sobą biochemizmem, stopniem chorobotwórczości, predyspozycją do określonego gatunku zwierząt, własnościami immunogennymi i serologicznymi, ustalono standardy międzynarodowe dla każdego typu tych drobnoustrojów. Stanowią one: dla *Br. abortus* — szczep 544, dla *Br. suis* — szczep 1330, dla *Br. melitensis* — szczep 16. Szczepy wzorcowe są przechowywane i udostępniane przez Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Surrey, England.

Problemy serologii pałeczek *Brucella* były i są nadal przedmiotem badań prowadzonych zarówno w celach diagnostycznych jak też i rozważań teoretycznych mających na celu i zmierzających do wykazania swoistości serologicznej poszczególnych typów *Brucella*.

Wiadomo od dawna, że uodparnianie zwierząt antygenami pałeczek *Brucella* jednego typu, powoduje z reguły wytwarzanie przeciwciał aglutynujących i precypitujących substancje antygenowe wszystkich trzech typów pałeczek *Brucella*. Wysokość miana tych przeciwciał w nieabsorbowanych surowicach odpornościowych może nie wykazywać żadnych lub tylko niewielkie różnice dla homologicznych i heterologicznych typów *Brucella*.

Jednym z powszechnie stosowanych sposobów eliminowania współmian z surowic odpornościowych jest metoda absorpcji, polegająca na wysycaniu surowic odpornościowych odpowiednimi dawkami odnośnych antygenów. W powyższy sposób obniżając wprawdzie ogólny poziom przeciwciał homologicznych można nawet całkowicie wyabsorbować przeciwciała nieswoiste. Postępowanie takie o ile dało dobre wyniki w serologii innych drobnoustrojów o tyle w przypadku pałeczek *Brucella* wielu badaczy uzyskiwało wyniki ujemne, nie wykazując różnic serologicznych pomiędzy różnymi typami pałeczek *Brucella*.

Jedne z pierwszych badań w tym względzie wykonane zostały przez *Feusier* i *Meyer* (1920), którzy opisali 4 typy serologiczne pałeczek *Brucella*. *Zdrodowski* (1930) stwierdził istnienie licznych wariantów serologicznych pałeczek *Brucella* wykazywanych drogą absorpcji aglutynin. Wg tego autora, serologiczne różnicowanie pałeczek *Brucella* jest rzeczą względną i nie może być ono podstawą do podziału klasyfikacyjnego bakterii tej grupy. *Kristensen* (1931) wykonując badania metodą absorpcji przeciwciał oraz aglutynacji także nie uzyskał wyników pozwalających na serologiczne różnicowanie pałeczek *Brucella*. *Weigmann* (1931) wysycił surowice odpornościowe anty-*Br. abortus* i anty-*Br. melitensis* dawkami różnych szczepów *Brucella*. Autor ten podaje, iż nie stwierdza się żadnych różnic serologicznych pomiędzy homologicznymi i heterologicznymi szczepami *Brucella*. Według *Weigmann*a jednak, niektóre stare hodowle *Br. melitensis* (Hamburg) częściowo tylko wysyciły przeciwciała w surowicach anty-*Br. abortus* podczas,

gdy szczep ten absorbował zupełnie przeciwciała w surowicach anty-*Br. melitensis*.

Wilson i *Miles* (1932) badając różnice serologiczne trzech biochemicznych typów pałeczek *Brucella* wysunęli hipotezę, iż w bakteriach tych znajdują się dwa antygeny (aglutynogeny) nazwane: A i M. Antygeny te są obecne u wszystkich trzech typów *Brucella*, z tym jednak, że są one rozmieszczone w niejednakowych proporcjach ilościowych. Wykonując badania metodą absorpcji surowic odpornościowych odpowiednimi bakteriami autorzy ci podali, że *Br. melitensis* posiada ilościowo więcej antygeny M niż antygeny A. Przeciwnie natomiast, *Br. abortus* i *Br. suis* posiadają proporcjonalnie więcej antygeny A niż antygeny M. Opierając się na powyższym stwierdzeniu *Wilson* i *Miles* stosowali optymalne dawki bakterii absorbujących i zachowywali w surowicach odpornościowych jedynie tę część przeciwciał, która odpowiadała głównemu antygenowi dla typu *Brucella* użytego do uodparniania zwierząt. Antygen drugorzędny obecny w mniejszej ilości powoduje powstawanie mniejszych ilości przeciwciał, możliwych nawet do zupełnego wyeliminowania drogą odpowiednio wykonanej absorpcji. Wymienieni autorzy jako pierwsi wyprodukowali surowice aglutynujące, które pozwoliły różnicować serologicznie pałeczki *Br. melitensis* od *Br. abortus* i *Br. suis*. Dwa ostatnie typy *Brucella* jakkolwiek różne pod względem biochemizmu, serologicznie nie wykazywały różnic antygenowych i dlatego też *Wilson* i *Miles* zaliczyli je do jednej grupy. W cytowanej publikacji przedstawiono graficzny model ilościowego rozmieszczenia antygenów A i M u każdego typu pałeczek *Brucella*, w postaci dwóch prostokątów niejednakowej wysokości.

Olitzki i *Gurevitch* (1933) potwierdzili badania *Wilsona* i *Milesa*, opisali oni obecność w pałeczkach *Brucella* antygenów A i M oraz jako trzeci, nieswoisty antygen G wspólny dla wszystkich trzech typów *Brucella*. *Wolff* i *Dinger* (1951) opisali istnienie w pałeczkach *Brucella* antygenów A i M oraz ponadto antygeny L opłaszczającego bakterie. Antygen L może być zbliżony swymi własnościami do obecnego u pałeczek *Salmonella* antygeny Vi. *Renoux* i *Mahaffey* (1955) badając szczepy *Br. ovis* podali schemat graficzny struktury antygenowej pałeczek *Brucella*, w postaci prostokątów. Obok antygenów A i M wymieniono także antygeny Z oraz r. Kontynuując badania *Wilsona* i *Milesa* w celu autorów, jak np. *Renoux* (1958), *Jones* (1958) opisali metodykę produkowania surowic monospecyficznych (jednoswoistych). Wg badań wymienionych autorów stosując odpowiednie sposoby uodparniania zwierząt oraz absorpcji przeciwciał możliwym jest produkowanie na szerszą skalę surowic diagnostycznych, które w metodzie aglutynacji różnicują pałeczki *Brucella* na dwie grupy serologiczne.

Postępem w zakresie poznania serologii pałeczek *Brucella* oraz składu antygenowego tych bakterii było zastosowanie w pracach doświadczalnych nowoczesnych metod, jak np. precypitacji dyfuzyjnej w agarze, immunoelektroforezy, elektroforezy pasmowej. Metody powyższe umożliwiły badania antygenowych fragmentów komórek bakteryjnych

z uwidocznieniem poszczególnych frakcji (najczęściej białkowych) odmiennych pod względem sposobu dyfuzji lub precypitacji, szybkości i kierunku migracji elektroforetycznej.

W celu uzyskania wyciągów, masę bakteryjną poddaje się działaniu: ultradźwięków, miążdżeniu mechanicznemu, ekstrakcji acetonem, formolem lub kwasem trójchlorooctowym. Po oddzieleniu nierozpuszczalnych części komórkowych, klarowny przesącz zawierający rozpuszczalne substancje antygenowe poddaje się liofilizacji bądź też w stanie roztworu wyjściowego używa do badań.

Olitzki i Sulitzeanu (1957) badali strukturę antygenową pałeczek *Br. suis* 39, odczynem precypitacji dyfuzyjnej w agarze. Jako antygeny w badaniach służyły bakterie traktowane acetonem oraz wyciągi uzyskane przez działanie ultradźwięków na zawieszoną pałeczek *Brucella*. Autorzy stwierdzili występowanie 5 łuków precypitacyjnych w układzie: wyciąg bakteryjny uzyskany przez działanie ultradźwięków — surowica precypitująca anty-*Br. suis* oraz 6 łuków precypitacyjnych w reakcji tych samych antygenów z surowicą precypitującą anty-*Br. melitensis*. Olitzki i Sulitzeanu postulują iż w poszczególnych frakcjach antygenowych *Brucella* istnieje pewna ilość odrębnych substancji antygenowych, które połączone są z drobinami różnej wielkości i szybkości dyfuzji, niektóre z nich znajdują się na powierzchni inne natomiast wewnątrz komórek bakteryjnych.

Sulitzeanu (1958) stwierdził brak współzależności pomiędzy występowaniem przeciwciał aglutynujących i precypitujących w tej samej surowicy odpornościowej. Wysycanie bowiem takiej surowicy masą bakteryjną eliminuje wyłącznie przeciwciała aglutynujące natomiast pozostawia przeciwciała precypitujące. Działanie wyciągów bakteryjnych uzyskanych przez poddanie masy bakteryjnej wpływowi ultradźwięków absorbuje (nawet całkowicie) przeciwciała precypitujące oraz częściowo także przeciwciała aglutynujące. Sulitzeanu stwierdza występowanie do 7 łuków precypitacyjnych w agarze niezależnie od obecności lub braku przeciwciał aglutynujących w stosowanej surowicy odpornościowej.

Olitzki i Sulitzeanu (1958) badając rozpuszczalne antygeny pałeczek *Br. suis* 39 stwierdzili, iż są one odporne na działanie temperatur $+60^{\circ}$ i 0,05 N roztwór wodorotlenku sodu. Pod wpływem temperatury $+100^{\circ}$ działającej w przeciągu 150 minut oraz enzymów trypsyny i papainy inaktywacji ulega tylko część antygenów. Natomiast wszystkie zostały unieczynnione przez działanie N kwasu solnego, N wodorotlenku sodu, enzymu pepsyny.

Carrere, Roux, Serre (1958) badając różne preparowane antygeny wyosobnione ze szczepów *Br. abortus*, *suis* i *melitensis* stwierdzili występowanie jednego tylko łuku precypitacji w agarze, co wg autorów wskazywałoby na obecność jednego tylko precypitogenu w badanych wyciągach, przy czym antygeny cytoplazmatyczne *Brucella* są identyczne i wspólnie dla wszystkich trzech typów. Carrere i in. podkreślają, że w odczynie precypitacji dyfuzyjnej w agarze antygeny gliko-lipido-peptydowe wyosobnione ze szczepów *Br. melitensis* i *Br. abortus* zachowują się identycznie, natomiast antygen (GLP) *Br. suis* tworzy precypitat nieco innego typu. W zjawisku tym cytowani autorzy widzą możliwość serologicznego różnicowania antygenów *Br. suis* od *Br. abortus*.

Phillips, Braun, Plescia (1959) ekstrahowali pałeczki *Br. suis* roztworem fenolu w celu uzyskania preparatów kwasu dezoksyrybonukleinowego. Preparaty te używano następnie jako antygen do uodparniania zwierząt i wykonania odczynu precypitacji. W precypitacji agarowej stwierdzono występowanie 5 łuków precypitacyjnych, przy czym nie dostrzegano różnic w reakcji preparatów kwasu dezoksyrybonukleinowego wyosobnionego z formy

gładkiej lub szorstkiej bakterii. Enzym dezoksyrybonukleaza działający na preparaty kwasu DRN zmniejsza ilość łuków precypitacyjnych.

Olitzki (1959, 1960) podaje, że pałeczki *Br. abortus*, *suis* i *melitensis* zawierają co najmniej po 6 antygenów rozpuszczalnych, wykrywanych metodą precypitacji w agarze. Antygeny te posiadają rozmaite zdolności bodźczą do wytwarzania przeciwciał przez uodparniane zwierzęta. Spośród badanych precypitogenu nie wykazano jednak żadnego, który byłby swoisty dla określonego typu tych drobnoustrojów. Szczepy pałeczek *Brucella* różnego typu i pochodzenia posiadają niejednakowe rozmieszczenie wymienionych antygenów.

Parnas (1961) potwierdzając wyniki Olitzkiego i Sulitzeanu wykazał, że metodą precypitacji w żelu otrzymuje się po 6 łuków precypitacyjnych dla antygenów pochodzących ze szczepów wzorcowych w reakcji, zarówno z homologicznymi, jak też i heterologicznymi surowicami odpornościowymi anty-*Brucella*. Zaobserwowano, że w homologicznych układach antygen — przeciwciała łuki precypitacyjne są bardziej wyraźne niż w układach heterologicznych. Mogło by to wg Parnasa wskazywać na możliwość diagnozowania poszczególnych typów *Brucella*. Badając atypowe szczepy *Brucella* stwierdzono występowanie 3—4 łuków precypitacyjnych.

Barber i in. (1961, 1962) badali antygeny trzech typów pałeczek *Brucella*, na które działano homologicznymi i heterologicznymi surowicami odpornościowymi. Autorzy uzyskiwali jednakową ilość linii precypitacyjnych, tj. 2—7 zależnie od stężenia antygenów używanych w reakcjach.

Gargani i Guerra (1962) badając precypitacyjnie antygeny *Br. abortus*, *suis* i *melitensis* stwierdzili obecność trzech substancji antygenowych o niejednakowej szybkości dyfuzji w agarze. Autorzy wykazują obecność jednego antygeny swoistego dla atypowych szczepów *Brucella*, którego brak jest w szczepach standardowych.

Fuks i Serpa (1962) działaniem formamidu wyosobnili frakcję wielocukrową z pałeczek *Br. abortus*. Frakcja ta nie zawierała białka ani lipidów, przy czym okazała się ona jednorodna w badaniu ultrawirówaniem, w elektroforezie bibulowej oraz w immunoelektroforezie.

Renoux, Serre (1963) badali antygeny cytoplazmatyczne oraz antygeny otoczkowe pałeczek *Br. abortus* B55, *suis* S7, *melitensis* 15. Obydwa rodzaje antygenów okazały się identyczne dla wszystkich typów *Brucella* i w precypitacji agarowej brak jest możliwości wykazania antygeny specyficznego dla jednego tylko typu. W polu elektrycznym antygeny plazmatyczne migrują w kierunku bieguna dodatniego, antygeny otoczkowe natomiast w kierunku bieguna ujemnego.

Bogomołowa (1963) badała wyciągi antygenowe uzyskane z pałeczek *Br. bovis*, *suis* oraz *melitensis*. Stosując metodę chromatografii autorka wykazała obecność 14 aminokwasów w badanym materiale. W badaniu wykonanym metodą elektroforezy bibulowej stwierdzono obecność 2—3 frakcji, stosownie do czasu działania i siły prądu, niezależnie od typu *Brucella*.

W zakończeniu niniejszego przeglądu głównych pozycji piśmiennictwa z zakresu serologii pałeczek *Brucella* należy podkreślić, iż stosowane obecnie podziały tych drobnoustrojów niezupełnie się pokrywają. Tak więc na przykład wg cech biochemicznych (Huddleson) ustalono istnienie trzech typów pałeczek *Brucella*: *abortus*, *suis* i *melitensis*.

Według klasyfikacji podanej przez Wilsona i Milesa istnieją natomiast tylko dwie grupy serologiczne tych bakterii. Obecność oraz ilościowy rozdział antygenów A i M pozwala bowiem na wyróżnienie metodą aglutynacji typu *Brucella melitensis* mającego przewagę antygeny M oraz dotychczas niemożliwych do zróżnicowania serologicznego, pa-

leczek *Brucella abortus* i *suis* mających przewagę antygeny A.

Podział klasyfikacyjny pałeczek *Brucella* jest jednak bardziej jeszcze skomplikowany, bowiem znane są szczepy pod względem biochemizmu określone jako *Brucella abortus*, które w odczynie aglutynacji reagują jak *Brucella melitensis*. Istnieją też niektóre szczepy pod względem metabolizmu zakwalifikowane do typu *Brucella melitensis*, które w aglutynacji z surowicami monospecyficznymi reagują jak *Brucella abortus*.

Piśmiennictwo

1. Feusier, Mayer: J. Inf. Dis. 1929, 2, 7.
2. Zdrodowski P.: Ann. Inst. Post. 1930, 45, 768.
3. Kristensen M.: Zbl. Bkt. I Orig. 1931, 120, 179.
4. Weigmann E.: Zbl. Bkt. I Orig. 1931, 121, 378.
5. Wilson G., Miles A.: Brit. J. Exp. Path. 1932, 13, 1.
6. Wolff H., Dinger J.: J. Path. Bact. 1951, 63, 163.
7. Olitzki L., Gurevitch J.: Zbl. Bkt. I Orig. 1933, 128, 112.
8. Renoux G.: Ann. Inst. Past. 1955, 88, 528.
9. Renoux G.: Ann. Inst. Past. de Tunisie 1958, 35, 87.
10. Jones L.: Bull. World Hlth Org. 1958, 19, 177.
11. Olitzki A., Sulitzeanu D.: Bull. Res. Council of Israel, 1957, 6E, 112.
12. Sulitzeanu D.: Brit. J. Exp. Path. 1958, 39, 367.
13. Olitzki T., Sulitzeanu D.: Brit. J. Exp. Path. 1953, 39, 2217.
14. Carrere L., Roux J., Serre A.: Ann. Inst. Past. 1958, 95, 588.
15. Phillips J., Braun W., Plescia O.: Nature 1958, 181, 573.
16. Olitzki A.: Brit. J. Exp. Path. 1959, 40, 432.
17. Olitzki A.: Brit. J. Exp. Path. 1960, 41, 623.
18. Olitzki A.: Bol. Ixst. sieroterap. Milano 1960, 39, 94.
19. Parnas J., Burdzy K., Cegiłka M.: Bull. Acad. Sc. polon. 1961, 9, 289.
20. Barber C., Dimitriu D.: Arch. Roum. Path. Exp. 1961, 20, 201.
21. Barber C., Dimitriu D.: Arch. Roum. Path. Exp. 1962, 21, 753.
22. Glenchur H., Briand J., Renoux G.: Ann. Inst. Past. 1962, 102, 450.
23. Gargani G., Guerra M.: Bol. Ist. sieroterap. Milano 1962, 41, 227.
24. Fuks M., Serpa C.: Anais Microbiol. 1962, 10, 79.
25. Renoux G.: Ann. Inst. Past. 1963, 104, 238.
26. Bogomotowa T.: Ukr. Biochim. Z. 1963, 35, 333.

Adres autora: dr Eugeniusz Gajos, Wrocław, ul. Kolląta-ja 34/5.

LESZEK GRZYWIŃSKI

Próby odrobaczania świń preparatem Neguvon

Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Weterynarii WSR we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr Z. KOZAR

W ostatnich latach do arsenału środków przeciwpasożytniczych weszło szereg nowych związków — między innymi związki fosforoorganiczne. Do nich należy „Neguvon” preparat f-my Bayer stosowany od lat, przede wszystkim przy zwalczaniu hypodermatozy bydła, z bardzo dobrym zresztą rezultatem.

Czynione były również próby stosowania Neguvonu przy robaczycach żołądkowo-jelitowych u różnych zwierząt domowych. Między innymi Riek i Keith (1958) cvt. wg Dreżanić użyli Neguvonu w dawce 44 mg/kg ż.w. do odrobaczania cieląt zarażonych *Haemonchus contortus* i *Oesophagostomum radiatum*, uzyskując 100% wyleczenia. Autorzy ci podają również, że preparat w dawce 110 mg/kg ż.w. jest także wysoce skuteczny przeciw *Bunostomum phlebotomum*, *Cooperia* sp. i *Trichostrongylus axei*. U owiec Gordon (1958) stwierdził dużą skuteczność Neguvonu przeciw *H. contortus*, małą natomiast przeciw *Trichostrongylus* spp. i *Oe. columbianum*.

Dreżanić (1964) przeprowadził próby odrobaczania 25 świń zarażonych *Ascaris suum*, *Strongyloides ransomi*, *Oesophagostomum dentatum* i *Trichocephalus trichiurus*. Wiek świń wahał się od 2 do 5 miesięcy, a waga około 10 kg. Lek w ilości 50 mg/kg ż.w. podawano w kapsułkach żelatynowych bez uprzedniego głodzenia zwierząt. W 21 przypadkach askarydozy uzyskano 100% wyleczeń, w 4 pozostałych od 97 do 99%; również 100% wyleczeń zanotowano przy inwazji *T. trichiurus*. Natomiast przy zarażeniu *Oe. dentatum* i *S. ransomi* wyniki były zmienne. O dużej skuteczności Neguvonu przeciw glistnicy u warchlaków doniósł Flachmann (1958). Lek podawano wprost do karmy, dwukrotnie w przeciągu 24 godzin, w dawce 50 mg/kg ż.w. W identyczny sposób Enika i Fluck (1962) stosowali Neguvon u 8 świń z inwazją *S. ransomi* i u 1 z *A. suum*, uzyskując znacznie gorsze wyniki.

Neguvon okazał się natomiast wysoce skuteczny przy zwalczaniu ektopasożytów świń (Fleischer et al., 1957; Neubrand, 1964; Günter, 1964).

Materiał i metody

Doświadczenie przeprowadzono w Zakładzie Tu-czu Trzody Chlewnej we Wrocławiu na 155 świ-

niach, w wieku około 3—4 miesięcy, o początkowej wadze ciała od 28 do 45 kg. Doświadczenie trwało przez przeszło 4 miesiące, tj. do czasu, kiedy świnię uzyskały wagę od 100 do 125 kg i zostały skierowane na ubój.

Zwierzęta znajdowały się w jednym pomieszczeniu, w kojcach po około 10 sztuk i przez cały czas doświadczenia były jednakowo żywione. Świnie podzielono losowo na dwie grupy: pierwszą, liczącą 80 sztuk poddano leczeniu, natomiast drugą (75 zwierząt) pozostawiono celem kontroli.

Badania koproskopowe przeprowadzono na wstępie u wszystkich świń, następnie grupę leczoną badano każdorazowo po kuracji, tj. 5 razy, kontrolną zaś 2-krotnie. Kał pobierano indywidualnie z *rectum*. Stosowano metodę flotacyjną z nasyconym roztworem soli oraz metodę dekantacji, przy czym intensywność inwazji określano na podstawie liczby jaj stwierdzanych w pierwszej kropli pod mikroskopem.

Zwierzęta ważono co miesiąc przez cały okres tuczu.

Terapeutycznie stosowano Neguvon*) w ilości 50 mg/kg ż.w. Preparat rozpuszczano w wodzie i następnie po dokładnym wymieszaniu z karmą podawano na poszczególne kojce. Zwierzęta uprzednio głodzono od 12 do 18 godzin.

Wyniki i omówienie

Wstępne badania koproskopowe wszystkich świń wykazały u 125 zarażenie pasożytami jelitowymi o stosunkowo niskiej intensywności. Stwierdzono: *Oesophagostomum dentatum* (75 razy), *Strongyloides ransomi* (42), *Ascaris suum* (30) i *Trichocephalus trichiurus* (10). Ponadto u 10 świń wykryto oocysty różnych gatunków *Eimeria*. W 36 przypadkach inwazją była mieszana (jaja 2—3 gatunków pasożytów). Grupa leczona liczyła 80 świń, z czego 62 były zarażone. Po pierwszej kuracji wyleczono jedynie 15 świń, po drugiej, przeprowadzonej po

*) Dostarczony przez Farbenfabriken Bayer A.G., za co dziękujemy.