

TERESA MACIAK

Wyniki laboratoryjnych badań przypadków gruźlicy bydła rozpoznawanych metodami alergicznymi, klinicznymi i anatomo-patologicznymi

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Warszawie

Kierownik: dr habil. S. SAMÓL

Podstawą do rozpoznawania gruźlicy i eliminacji bydła gruźliczego jest zbadanie go metodą alergiczną łącznie z badaniem klinicznym (2). Próba tuberkulinowa jest bardzo czułym testem rozpoznawczym, ale ocena wyników tuberkulinizacji nie zawsze jest łatwa. Wiąże się to z możliwością wystąpienia odczynów hipoaergicznym względnie nieswoistych.

Odczyn tuberkulinowy nie jest odczynem ściśle swoistym dla typu ani też gatunku prątka. Jest on odczynem grupowym, więc na wprowadzenie tuberkuliny ssaków reaguje zarówno bydło zakażone prątkami typu bydłowego jak i ludzkiego i to w sposób podobny. Ponadto zakażenie prątkami typu ptasiego, prątkami Johnego, mało chorobotwórczymi względnie saprofitycznymi prątkami kwasoopornymi wywołuje również uczulenie zwierząt na tuberkulinę ssaków. Jedną z częstszych przyczyn odczynów nieswoistych jest zakażenie bydła prątkami gruźlicy typu ptasiego, a źródłem tego zakażenia są kury dotknięte procesem gruźliczym.

Rzadszą przyczyną reakcji nieswoistych mają też być pewne schorzenia takie jak promienica, rozległe grzybice skóry oraz pewne stany fizjologiczne np. ciąża powyżej 3 miesięcy i inne.

Dodatnia próba tuberkulinowa i stwierdzone objawy kliniczne są podstawą do uznania bydła za zakażone gruźlicą i do likwidowania go. Szczegółowe badanie anatomo-patologiczne w akcjach masowych jest badaniem uzupełniającym, które przeprowadza się doraźnie w celu sprawdzenia wyników tuberkulinizacji oraz swoistości odczynów. Nierzadko lekarze weterynaryjni przy dodatnim wyniku odczynu tuberkulinowego notują ujemny wynik badania poubojowego. Ten brak potwierdzenia odczynu alergicznego przez badanie poubojowe wynikać może z szeregu przyczyn (odczyny nieswoiste, przeoczenie zmian w czasie badania kontrolnego, brak zmian makroskopowych widocznych gołym okiem w przypadkach świeżych zakażeń). Według Nassala (3) odsetek dodatnich wyników badania poubojowego mógłby być znacznie wyższy, gdyby można było zbadać wszystkie węzły chłonne układu oddechowego i pokarmowego.

Podobnie uzupełniającymi badaniami są badania laboratoryjne (bakteriologiczne, histologiczne).

Celem niniejszej pracy było określenie drogą badań laboratoryjnych stopnia potwierdzalności

przypadków gruźlicy bydła rozpoznanych metodami alergicznymi, klinicznymi względnie również i anatomo-patologicznymi.

Materiał i metody

Próby nadsyłane do ZHW pochodziły od bydła z obór państwowych, uspołecznionych, gospodarstw przyzakładowych oraz indywidualnych właścicieli. W dużej mierze pobierane one były w związku z powszechną kontrolną tuberkulinizacją całego pogłowia bydła na terenie województwa warszawskiego (1970 r.) oraz w związku z przeprowadzanymi systematycznie dwa razy w roku badaniami kontrolnymi w gospodarstwach państwowych i uspołecznionych.

Materiał do laboratoryjnych badań w kierunku gruźlicy stanowiły zgodnie z załącznikiem do Instrukcji Tymczasowej Nr 19 Ministerstwa Rolnictwa — Departamentu Weterynarii z dnia 22.IV.1968 r. (1) węzły chłonne lub inne tkanki wykazujące na sekcji zmiany nasuwające podejrzenie, zmian gruźliczych względnie w przypadku, gdy zwierzę reagowało dodatkowo na tuberkulinę, a badaniem poubojowym nie stwierdzano makroskopowych zmian gruźliczych — węzły chłonne, a w szczególności węzły chłonne okołogardzielowe, okołoskrzelowe, śródpiersiowe, nadwymieniowe oraz krezkowe.

Ogółem poddano badaniom i analizie 173 próby. W 121 przypadkach informacje lekarzy wet. nadsyłających próby dotyczyły zarówno wyniku odczynu alergicznego jak i wyniku badania poubojowego, przeprowadzanego z reguły w rzeźniach pod ścisłym nadzorem organu badania zwierząt rzeźnych i mięsa, przy czym w 49 przypadkach dodatni wynik sekcji odpowiadał dodatniemu wynikowi tuberkulinizacji, w 71 zaś przypadkach badanie sekcyjne nie potwierdziło wyniku odczynu alergicznego. W pozostałych przypadkach informacja była niepełna tzn. dotyczyła jedynie wyniku odczynu alergicznego (43 sztuki) względnie wyniku badania anatomo-patologicznego (10 sztuk).

Badanie laboratoryjne przeprowadzano w oparciu o w/w instrukcje, według obowiązującej metodyki. Obejmowało ono badanie bakterioskopowe, histologiczne*), hodowlane oraz w części materiału również biologiczne. W 191 przypadkach wykonano badanie pełne, w 54 — niepełne. Przez badanie niepełne należy rozumieć przede wszystkim brak badania histologicznego, bowiem w próbach makroskopowo i bakterioskopowo dodatnich od badania tego z reguły odstępowano.

Poza tym zbadano 32 wykrztusiny z płuc bydła tuberkulino-dodatniego, u którego podejrzewano gruźlicę płuc.

Wyniki

Uzyskane wyniki obrazuje tab. 1. Wynika z niej, że na 49 prób zaopatrzonych przez wysyłających je lekarzy wet. w pełną dokumentację (badanie alergiczne i anatomo-patologiczne) badanie laboratoryjne w 26

*) Badanie histologiczne wykonane zostało w Pracowni Histopatologicznej ZHW — lek. wet. J. Piotrowski.

przypadkach dało wynik dodatni, w 23 natomiast nie potwierdziło rozpoznania alergicznego i anatomo-patologicznego.

Tab. 1. Laboratoryjna potwierdzalność przypadków gruźlicy bydła rozpoznanych badaniami alergicznymi i anatomo-patologicznymi

Ilość nadesłanych prób	Rozpoznanie		Wynik badania laboratoryjnego	
	alergiczne	anat.-pat.	dodatni	ujemny
49	+	+	26	23
71	+	-	3	68
43	+	-	22	21
10	-	+	6	4

Na 71 prób (również z pełną dokumentacją) pochodzących od zwierząt z dodatnim odczynem tuberkulinowym, który nie znalazł jednak potwierdzenia w badaniu anatomo-patologicznym, badanie laboratoryjne tylko w 3 przypadkach dało wynik dodatni, a w 68 ujemny.

Badanie laboratoryjne materiału pochodzącego od 43 tuberkulino-dodatnich krów, lecz bez danych sekcyjnych (niepełna dokumentacja) w 22 przypadkach dało wynik dodatni, w 21 — ujemny.

Spośród 10 prób pochodzących od krów z dodatnim wynikiem badania anatomo-patologicznego (brak danych o wynikach próby tuberkulinowej) tylko 6 zostało potwierdzonych badaniem laboratoryjnym.

Badanie laboratoryjne wykrztusiny płuc jedynie w 6 przypadkach (na 32 badane) potwierdziło dodatni wynik próby alergicznej i badania klinicznego.

Omówienie wyników

W większości przypadków dodatni wynik badania bakterioskopowego względnie również i histologicznego odpowiadał dodatniemu wynikowi w badaniu hodowlanym. W kilku jednak przypadkach badanie hodowlane dało wynik ujemny. Przyczyną mógł być nieświeży materiał badawczy, a co za tym idzie nadmierny rozwój mikroflory saprofitycznej (bakterie beztlenowe) osłabiającej czynności życiowe prątków gruźlicy. Inne warunki bowiem jak zastosowanie odpowiednich podłoży, należyte przygotowanie materiału diagnostycznego do posiewów, wykonywanie posiewów we właściwy sposób, zachowanie właściwych warunków inkubowania hodowli mające wpływ na uzyskanie prawidłowego wyniku, były zachowane.

W nielicznych wypadkach przy dodatnim wyniku badania hodowlanego nie stwierdzano prątków gruźlicy w preparatach bakterioskopowych, co świadczy o mniejszej czułości tej metody.

Znakomita większość nadesłanych do badań laboratoryjnych prób pochodziła od krów tuberkulino-dodatnich, w nielicznych zaś przypadkach od tuberkulino-wątpliwych.

Laboratoryjna potwierdzalność dodatniego wyniku próby alergicznej i badania poubojowego była stosunkowo niska (53%). Może to przemawiać z jednej strony za możliwością wystąpienia nieswoistych odczynów tuberkulinowych, z drugiej zaś strony za mylnym interpretowaniem przez lekarzy weterynarii widocznych

przy badaniu poubojowym zmian. Zmiany w węzłach chłonnych określane jako gruźlicze, względnie gruźliczo-podobne, często okazywały się przy bliższym badaniu laboratoryjnym zmianami zapalnymi, zwyrodnieniowymi lub martwicowymi, nierzadko na tle pasożytniczym.

Największą ilość prób nadesłanych do ZHW w celu laboratoryjnego ich badania stanowiły węzły chłonne krów tuberkulino-dodatnich, u których badanie anatomo-patologiczne nie potwierdziło jednak wyniku w/w próby alergicznej. W tym wypadku laboratoryjna ocena wypadła dodatnio tylko w znikomym procencie (3 krowy). Należy więc przypuszczać, że przy uboju kontrolowanym zmian makroskopowych u tych krów, mimo wyraźnego uczulenia na tuberkulinę, nie stwierdzono a to prawdopodobnie z uwagi na stosunkowo świeże zakażenie, bądź też zmiany te zostały przez lekarzy przeoczone.

W pozostałych dwóch grupach materiału diagnostycznego laboratoryjna potwierdzalność dodatniego wyniku próby alergicznej względnie dodatniego wyniku badania anatomo-patologicznego była kształtowała się na zbliżonym poziomie do uzyskanego dla materiału pochodzącego od krów, u których dodatni odczyn tuberkulinowy potwierdzony został badaniem poubojowym.

Ogólnie biorąc uzyskano więc stosunkowo niski stopień potwierdzalności laboratoryjnej przypadków gruźlicy bydła rozpoznanych szczególnie metodą alergiczną. O wartości próby tuberkulinowej w dużej mierze stanowi umiejętna interpretacja odczynów powstałych po wstrzyknięciu tuberkuliny. Przy ocenie wyników tej próby u bydła duże znaczenie oprócz pomiarów fałdu skóry ma, jak wiadomo prawidłowe określenie charakteru odczynu. Odczynowość organizmu zależy od stadium i stopnia rozwoju procesu gruźliczego oraz od różnych nieswoistych stanów patologicznych, a nawet fizjologicznych organizmu. Stosowanie porównawczego testu tuberkulinowego w dużej mierze ułatwia trafne rozpoznanie gruźlicy.

Być może, że w tych licznych przypadkach, w których badanie anatomo-patologiczne bądź również i badanie laboratoryjne nie potwierdziło dodatniego wyniku próby alergicznej, było uczulone było nieswoiście.

Badanie laboratoryjne jest badaniem pomocniczym, ale jak wynika z niniejszego doniesienia odgrywa ono ważną rolę w rozpoznawaniu gruźlicy. Wynik jego zależy między innymi od przestrzegania przez lekarzy weterynarii zasad zawartych w cytowanej wyżej Instrukcji Min. Rol. — Departamentu Weterynarii z dnia 25.IV. 1969 r. a dotyczących pobierania prób do badania bakteriologicznego (p. 103). Szczególnie ważnym jest pobieranie próbek w sposób wykluczający zakażenie materiału przede wszystkim przez szeroko rozpowszechnione drobnoustroje kwasooporne i dostarczenie ich do laboratorium

w stanie świeżym. Ponadto próby nadsyłane do ZHW powinny być zaopatrzone w pełną informację odnośnie wyniku badania alergicznego, klinicznego, anatomo-patologicznego, pochodzenia materiału, wieku zwierzęcia. Tak dostarczony materiał ułatwia diagnozę laboratoryjną, gwarantuje osiągnięcie właściwych wyników jak również wykorzystanie materiału dla celów naukowo-statystycznych.

Piśmiennictwo

1. Instrukcja Tymczasowa Nr 19 Min. Roln. — Dep. Wet. z dn. 22.IV.68 r. w sprawie przeprowadzania mikrobiologicznych badań na gruźlicę zwierząt.
2. Instrukcja Min. Roln. — Dep. Wet. z dn. 25.IV.1969 r. WET gb-641-1/69 w sprawie rozpoznawania gruźlicy zwierząt i postępowania służby weterynaryjnej w zakresie zwalczania gruźlicy bydła.
3. Nassal J.: Mh. Tierhik., Sonderteil die Rindertuberkulose, 1956.

Adres autora: dr Teresa Maciak, Warszawa, ul. Lechicka 21.

ZDZISŁAW ŚWIĄTEK

Wykrywanie patogennych pałeczek *Escherichia coli* u świń za pomocą odczynu immunofluorescencji

Pracownia Badania Chorób Młodych Zwierząt Instytutu Weterynarii w Puławach

Kierownik: sam. prac. nauk. dr W. RADOMIŃSKI

Zaburzenia jelitowe i choroba obrzękowa u prosiąt, wywołane przez warunkowo chorobotwórcze pałeczki okrężnicy, powodują duże straty w hodowli trzody chlewnej. W Polsce nie jest znana dokładna wysokość strat spowodowanych kolibakteriozą, ponieważ nie wszystkie padłe zwierzęta są badane bakteriologicznie. Na podstawie wyników badań bakteriologicznych Zakładów Higieny Weterynaryjnej, rozpoznania epizootologicznego lekarzy weterynaryjnych w terenie oraz analizy materiałów statystycznych dotyczących upadków prosiąt, przyjmuje się, że stanowią one średnio 20% strat, których powodem są choroby zakaźne pochodzenia bakteryjnego.

Wielu autorów w kraju (10, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 35, 41, 42, 43, 44) zajmowało się identyfikacją serologiczną oraz budową antygenową pałeczek okrężnicy wyosobnionych od świń chorych i padłych na kolibakteriozę. W badaniach tych stwierdzono, że najczęściej występującym w Polsce czynnikiem etiologicznym choroby są następujące serotypy pałeczek *E. coli*: O8:K87, K88; O138:K81; O139:K82; O141:K85, K88; O147:K89, K88; O149:K91.

W poszukiwaniu szybkiej metody rozpoznawania i określania serotypów pałeczek okrężnicy, wielu autorów (1, 4, 14, 32, 36, 37, 38, 39, 40) zwróciło uwagę na opracowaną przez Coonsa (5) technikę fluoryzujących przeciwciał. Zastosowali oni tę metodę do bezpośredniego wykrywania i identyfikowania serotypów pałeczek *E. coli* w kale dzieci chorych na zaburzenia jelitowe. Liczne prace o zastosowaniu fluoryzujących przeciwciał do wykrywania patogennych serotypów pałeczek okrężnicy u dzieci i nieliczne doniesienia (23, 31) dotyczące zastosowania tej metody do wykrywania i określania serotypów *E. coli* u świń, skłoniły autora do wykonania pracy doświadczal-

nej na ten temat. Praca jest próbą przedstawienia oceny wartości diagnostycznej odczynu immunofluorescencji, zastosowanego w badaniu laboratoryjnym do identyfikacji serotypów pałeczek okrężnicy.

Materiał i metody

Do badań użyto następujących serotypów *E. coli*: O8:K87, K88; O138:K81; O139:K82; O141:K85, K88; O147:K89, K88; O149:K91, K88. Szczepy te otrzymano z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach.

Do wyprodukowania surowic odpornościowych anty-*E. coli* dla antygenów OK i O wymienionych serotypów, użyto królików wagi około 3 kg, zdrowych i w dobrej kondycji. Króliki szczepiono dożylnie, w sposób podany przez Sojkę (33). Wyprodukowano surowice poliwalentne i typowo swoiste. Z surowic tych sporządzono koniugaty fluorescencyjne wg metody Coonsa i Kapłana w modyfikacji Riggsa i Marshalla (20, 30). Koniugaty zakonserwowano mertioletem oraz sprawdzono ich aktywność i swoistość.

Doświadczenia przeprowadzono na trzech grupach zwierząt.

Pierwszą grupę zwierząt doświadczalnych w liczbie 63 szt. stanowiły białe myszy. 21 myszek podzielono na 7 grup, zakażono 6 grup zwierząt, 7 grupa myszek niezakażonych stanowiła kontrolę doświadczenia. Myszy zakażano dootrzewnowo 18 godz. hodowlą bulionową *E. coli* w objętości 0,2 ml. Każda grupa otrzymała inny serotyp. Doświadczenie to powtórzono trzykrotnie.

Drugą grupę zwierząt w liczbie 33 szt. stanowiły świnię, klinicznie zdrowe, w wieku około 3 miesięcy, z tuczarni w W., od których zbadano próbki kału.

Trzecią grupę zwierząt w liczbie 13 szt. w wieku 5 tygodni stanowiły prosięta przy maciorach, będące własnością Zakładu Badania Chorób Świń Instytutu Weterynarii w Puławach. Od wszystkich prosiąt pobrano wymazy kałowe, po wystąpieniu u niektórych biegunki.

Z Zakładu Badania Chorób Świń Instytutu Weterynarii otrzymano do badania cztery nieokreślone szczepy *E. coli* wyizolowane od prosiąt w gospodarstwie prywatnym.

Materiał zakaźny (narządy wewnętrzne) padłych myszek oraz kał pobrany od świń i wymazy kałowe od prosiąt były badane za pomocą odczynu immu-