

lated. The disease was diagnosed on the basis of its clinical course and bacteriological examinations as so called „ovine interdigitalis” due to *Sph. necrophorus* and *Corynebacterium* sp. The isolated strains of *Sph. necrophorus* were biochemically identified. The lack of indole production was one of the very important

feature differing the isolated strains from the typical ones of *Sph. necrophorus* sp. In experimentally infected sheep *Sph. necrophorus* caused hyperkeratosis and necrosis of the plantar part of hoofs without the symptoms of ulcerations and suppurative dermatitis in the hoof cracks.

MARIAN KROLAK, CZESŁAW KUREK

Yersinioza u zwierząt i ludzi II. Nieswoiste odczyny serologiczne w brucelozie na tle zakażeń *Yersinia enterocolitica*

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku

W I części przeglądu piśmiennictwa na temat yersiniozy u zwierząt i ludzi omówiono występowanie, patogenezę i diagnostykę bakteriologiczną tego schorzenia. W tej części artykułu uwagę poświęcono serodiagnostyce zakażeń *Yersinia enterocolitica* (Y.e), ze szczególnym uwzględnieniem krzyżowych reakcji serologicznych występujących pomiędzy yersiniami i brucelami.

Jak wspomniano w I części artykułu, w obrębie gatunku Y.e. występują znaczne różnice w biochemizmie i w budowie antygenowej, które stały się podstawą wyodrębnienia licznych biotypów i serotypów (12, 31, 39, 40, 42). Pierwszy diagnostyczny schemat serotypów Y.e. zróżnicowanych na podstawie 8 antygenów O zaproponował w 1967 r. Winblad (42). W następnych latach schemat ten został rozszerzony przez Wautersa i wsp. (39, 40), którzy zróżnicowali w sumie 34 antygeny O i 19 antygenów H. W serotypie 010 może także występować antygen K (39). Ostatnio Knapp i Thal (19) uwzględniając właściwości biochemiczne i budowę antygenową zaproponowali uproszczony podział gatunku Y.e. na 6 serotypów w oparciu o antygeny somatyczne.

Na uwagę zasługuje fakt, że u ludzi patogenne okazały się głównie serotypy 03 i 09 określone według rozszerzonego schematu Winblada (5, 33, 34, 37, 44). U zwierząt stwierdzano różne serotypy, chociaż ostatnio wśród szczepów Y.e. izolowanych od świń dominowały także szczepy należące do serotypu 03 i 09 (cyt. za 18). Za rozprzestrzenieniem Y.e.03 i 09 wśród ludzi przemawiają mogą wyniki badań serologicznych. Dodatnie reakcje w odczynie aglutynacji (OA) z antygenem Y.e.03 i Y.e.09 stwierdzono nie tylko u osób podejrzanych o zakażenie yersiniami, ale także w kontrolnej grupie osób zdrowych (5, 37).

Z piśmiennictwa wynika, że Y.e.09 reaguje krzyżowo z antygenem *Salmonella* 047 (39) o raz 030 (18), może także wzbudzać produkcję przeciwciał anty-*Vibrio cholerae* (7). Karlsson

i wsp. (cyt. za 18) wykazali ponadto, że Y.e.09 reaguje krzyżowo z *Francisella tularensis*. W powyższych pokrewieństwach antygenowych miana homologiczne są zwykle wyższe od mian heterologicznych, stąd krzyżowa absorbcja badanych surowic umożliwia postawienie właściwego rozpoznania (cyt. za 18).

W ostatnich latach ukazały się prace na temat istnienia silnego pokrewieństwa antygenowego pomiędzy klasycznymi gatunkami rodzaju *Brucella* i Y.e.09 (2, 8, 14—18, 33, 39). Pokrewieństwo to manifestuje się niemal identycznym poziomem przeciwciał homologicznych i heterologicznych w zakażonym ustroju, a co za tym idzie prawie całkowitą krzyżową reakcją wymienionych antygenów w podstawowych odczynach serologicznych. Opisane zjawisko może więc być przyczyną poważnych trudności w serodiagnostyce zarówno brucelozy jak i yersiniozy w medycynie ludzkiej i weterynaryjnej.

Zjawisko krzyżowej reakcji w OA pomiędzy Y.e.09 i *Br. abortus* opisali po raz pierwszy w 1969 r. Ahvonen i wsp. (2). Autorzy zbadali 24 surowice ludzkie wybrane z dużej ilości surowic badanych rutynowo, które zawierały aglutyniny anty-*Brucella* w ilości 100—1600 j.m. Ponieważ w Finlandii brucelozą bydła została zwalczona w 1963 r., autorzy podejrzewali, że stwierdzone aglutyniny anty-*Brucella* mogą być nieswoiste. Badania wykonane w wielu kierunkach wykazały, że wszystkie wymienione surowice reagowały z antygenem Y.e.09 wykazując miana takie same lub nieco wyższe niż z antygenem *Br. abortus*. Absorbcja tych surowic zawiesiną pał. Y.e.09 usuwała całkowicie zdolność zlepienia zawiesiny *Br. abortus*, zaś odwrotnie, po absorbcji pał. *Br. abortus* pozostawał w surowicach niski poziom aglutynin anty-Y.e.09. Podobne wyniki autorzy uzyskali z surowicami królików doświadczalnie uodpornionych wymienionymi antygenami.

Zjawisko krzyżowej reakcji w OA pomiędzy Y.e.09 i *Br. abortus* potwierdzili następnie inni

autorzy (4, 5, 8, 33, 37). Szita i wsp. (37) wykazali, że surowice pacjentów i królików doświadczalnych zawierające aglutyniny anti-Y.e.09 traciły w dużym stopniu zdolność zlepiania Y.e.09 po wysyceniu ich zawiesiną *Br. abortus*. Corbel i Cullen (8) stwierdzili, że 151 surowic bydłych, wybranych z badań rutynowych, reagowało w OA z antygenem *Br. abortus* i Y.e.09 wykazując zbliżone miano z obu antygenami lub miano nieco wyższe z antygenem Y.e.09. Takie same wyniki autorzy uzyskali z surowicami cieląt i królików doświadczalnie odpornionych szczepem S-19 *Br. abortus* i Y.e.09. Surowice anti-Y.e.09 aglutynowały w równym stopniu zawiesinę wzorcowych szczepów *Br. abortus* 99, *Br. melitensis* 16M, *Br. suis* 1330 i *Br. neotome* 5K33. Zawiesina pał. Y.e.09 aglutynowana była tylko przez monowalentną surowicę anti-*Br. abortus*, nie aglutynowana natomiast przez monowalentną surowicę anti-*Br. melitensis*.

Corbel i Cullen (8) wykazali ponadto, że surowice zwierząt doświadczalnych zawierające przeciwciała anti-*Br. abortus* i anti-Y.e.09 reagowały krzyżowo w równym stopniu z obu antygenami w odczynie antyglobulinowym (OAG) i w odczynie immunofluorescencji pośredniej (IF). Nieznaczne różnice autorzy stwierdzili w odczynie wiązania dopełniacza (OWD), bowiem surowice zwierząt doświadczalnych wykazywały w tym odczynie wyższy poziom przeciwciała anti-*Br. abortus* niż anti-Y.e.09. Zdaniem autorów OWD nie może jednakże służyć do serologicznego odróżniania tych dwóch schorzeń. Ilościowe różnice w krzyżowej reakcji autorzy stwierdzili w Rose Bengat Test (RBT). Warto nadmienić, że technikę RBT w zastosowaniu do rozpoznawania brucelozy byłą opisał Morgan i wsp. (28) wykazując dużą wartość rozpoznawczą tego odczynu, zaś szczegółowe badania nad mechanizmem RBT przeprowadził Corbel (9). Surowice bydłce i królicze wykazywały zdecydowanie wyższe miano w RBT z antygenem Y.e.09 niż z antygenem *Br. abortus*. Surowice anti-Y.e.09 wysyczone brucelami reagowały w RBT ujemnie z antygenem *Br. abortus* i dodatnio z antygenem Y.e.09, zaś wysyczone yersiniami ujemnie w obu kierunkach. Aglutyniny anti-Y.e.09, pozostałe po wysyceniu surowic brucelami, były swoiste dla antygeny rzęskowego Y.e. W odczynie immunodiffuzji obok linii swoistych wystąpiły linie wspólne dla Y.e.09 i 4 wymienionych wyżej gatunków *Brucella*. Na podstawie wyników badań własnych Corbel i Cullen (8) wykluczają możliwość odróżnienia zakażeń brucelami od zakażeń Y.e.09 u ludzi i zwierząt przy pomocy powszechnie stosowanych odczynów serologicznych (OA, OWD, OAG). Zdaniem autorów możnaby do tego celu stosować w uzasadnionych przypadkach ilościowy RBT oraz surowice wysyczone brucelami w OA z antygenem H yersinii.

Pop i wsp. (33) wykazali, że 3 klasyczne gatunki rodzaju *Brucella*, a mianowicie *Br. abortus*, *Br. melitensis* i *Br. suis* oraz Y.e.09 posiadają analogiczne aglutynogeny i antygeny wiążące dopełniacz, które krzyżowo reagują w identycznym stosunku zarówno z pełnymi antysurowicami jak i wyodrębnionymi z nich immunoglobulinami klasy IgM i IgG. Autorzy potwierdzili także wyniki Corbela i Cullena (8), że pośredni odczyn IF nie pozwala odróżnić 3 wymienionych gatunków *Brucella* od Y.e.09. W przeciwieństwie do wspomnianych autorów

angielskich (8) Pop i wsp. (33) stwierdzili, że nie tylko monowalentna surowica anti-*Br. melitensis*, ale także monowalentna surowica anti-*Br. abortus* nie posiada zdolności aglutynowania pał. Y.e.09 i wnioskowali, że antygenowe pokrewieństwo Y.e.09 z brucelami wynika z obecności obu (A i M) aglutynogenów bruceli. Pop i wsp. (33) wykazali ponadto, że zakażenie brucelami i pał. Y.e.09 wyzwała homologiczne i heterologiczne uczulenie organizmu zwierzęcia oraz, że Y.e.09 nie jest wrażliwa na fag Tbilisi (Tb).

Istnienie silnej krzyżowej reakcji w OA i OWD pomiędzy *Br. abortus*, *Br. melitensis* i *Br. suis* a Y.e.09, wykazali także Hurvell i wsp. (14). Autorzy stwierdzili brak jakościowych różnic w krzyżowej reakcji między Y.e.09 a wymienionymi gatunkami *Brucella*. Przy użyciu monowalentnych surowic anti-*Brucella* autorzy wykazali ilościowo większą reakcję między Y.e.09 i *Br. abortus* niż między Y.e.09 i *Br. melitensis*. Wyniki powyższe potwierdzają więc raczej dane opublikowane przez Corbela i Cullena (8) niż przez Popa i wsp. (33). Stosując technikę absorpcji autorzy wykazali także, że antygeny krzyżowo reagujące w OA i OWD stanowią mniejszą część antygenowego spektrum u Y.e.09, większą zaś u 3 wymienionych gatunków *Brucella* (14).

W doświadczeniach na królikach Hurvell (13) potwierdził wyniki Popa i wsp. (33) o występowaniu krzyżowo reagujących aglutynin zarówno w obrębie IgM jak i IgG. Przy pomocy krzyżowej absorpcji autor wykazał ponadto, że przeciwciała klasy IgM w surowicach anti-*Br. abortus* i anti-Y.e.09 posiadały większą zdolność absorbowania się przez antygenowe determinanty niż przeciwciała klasy IgG. Poziom aglutynin klasy IgM i IgG wyodrębnionych z surowic anti-*Br. abortus* ulegał większemu obniżeniu po krzyżowym wysyceniu yersiniami niż w przypadku analogicznych klas immunoglobulin uzyskanych z surowic anti-Y.e.09 i wysyczonych krzyżowo brucelami.

Istnienie krzyżowej reakcji serologicznej pomiędzy gładkimi formami *Br. abortus*, *Br. melitensis*, *Br. suis* i *Br. neotome* a Y.e.09 potwierdził Hurvell (15) przy pomocy immunodiffuzji i immunoelektroforezy. Wymienione 4 gatunki *Brucella* nie różniły się między sobą w zdolności do krzyżowej reakcji z Y.e.09, tworząc podobne linie precypitacyjne. Surowice odpornościowe anti-*Brucella* tworzyły w immunodiffuzji z homologicznymi antygenami 4 gatunków *Brucella* 5—9 linii, zaś z antygenem heterologicznym Y.e.09 po jednej linii precypitacyjnej. Linie precypitacyjne pomiędzy surowicą anti-Y.e.09 i antygenami *Brucella* były znacznie słabiej wyrażone niż pomiędzy surowicami anti-*Brucella* i antygenem Y.e.09. Zdaniem autorów technika immunodiffuzji jest zbyt mało czuła i powyższe spostrzeżenia nie mogą być w praktyce wykorzystane do odróżnienia zakażeń tymi drobnoustrojami (15). W immunoelektroforezie antygen Y.e.09 tworzył z surowicą homologiczną 15 linii, a z surowicami anti-*Brucella* 4 wymienionych gatunków po 1 linii precypitacyjnej. W układzie odwrotnym antygeny *Brucella* tworzyły z surowicami homologicznymi 9—19 linii, a z surowicą anti-Y.e.09 po 1 linii precypitacyjnej. Znamienne, że *Br. canis* i *Br. ovis* o szorstkiej morfologii kolonii nie reagowały krzyżowo z Y.e.09 w immunodiffuzji i immunoelektroforezie, a także w OA, co ma być związane z brakiem u tych gatunków *Brucella* kompleksów lipopolisacharydowych (LPS) w zewnętrznej warstwie ko-

mórki. Przy pomocy krzyżowej absorpcji i jakościowego barwienia uzyskanych linii precypitacyjnych Hurvell (15) uzyskał dane, które przemawiają za występowaniem antygenowych determinantów wspólnych dla rodzaju *Brucella* i Y.e.09 w LPS zewnętrznej warstwy komórek.

Z dalszych badań Hurvella w tym kierunku (16), wykonanych przy pomocy wodno-fenolowej ekstrakcji metodą Westphala wynika, że LPS występują zarówno we frakcji wodnej (F3) jak i fenolowej (F5) uzyskanej z *Br. abortus* i z Y.e.09. Jednakże wzajemny stosunek ilościowy tych dwóch frakcji w suchej masie bakterii był wyraźnie odmienny: w *Br. abortus* LPS występowały głównie we frakcji fenolowej (F5 : F3 = 3 : 1), w Y.e.09 we frakcji wodnej (F5 : F3 = 1 : 14). Znamienne, że frakcja fenolowa LPS tak z *Br. abortus* jak i z Y.e.09 posiadała właściwości endotoksyczne i aglutynogenne; podana królikom wzbudzała w ich organizmie powstawanie aglutynin, które reagowały z całymi komórkami *Br. abortus* i Y.e.09. Przeciwnie frakcja wodna LPS uzyskana z *Br. abortus* i z Y.e.09 nie posiadała wymienionych właściwości.

Badania immunochemiczne wykonane przez Hurvella i Lindberga (17) wykazały, że zarówno wodna jak i fenolowa frakcja LPS z *Br. abortus* i z Y.e.09 tworzyły identyczne linie precypitacyjne z surowicami homologicznymi i heterologicznymi. Niewielkie różnice polegały na wystąpieniu dodatkowych słabych linii pomiędzy frakcją fenolową LPS z *Br. abortus* oraz frakcją wodną LPS z Y.e.09 a surowicami homologicznymi. Autorzy wykazali także, że zdolność do krzyżowej reakcji w immunodiffuzji nie ulegała zmianie pod wpływem grzania wymienionych frakcji oraz pod wpływem traktowania ich enzymami lipo- i proteolitycznymi, zanikała natomiast pod wpływem utleniającego działania nadjodanu, co świadczy o cukrowcowej naturze krzyżowo czynnych determinantów antygenowych bruceli i yersinii. Stosując technikę chromatografii gazowej autorzy wykazali (17), że LPS uzyskane z *Br. abortus* i z Y.e.09 zawierają jako składniki cukrowcowe glikozę i galaktozę. Dodatkowo LPS z *Br. abortus* zawierały mannozę, a LPS z Y.e.09 heptozę. Z badań tych wynika, że wymienione monosacharydy wchodzące w skład otoczki komórek bakteryjnych są częściami antygenowych determinant odpowiedzialnych za krzyżowe reakcje serologiczne pomiędzy rodzajem *Brucella* i Y.e.09.

Z przedstawionego przeglądu piśmiennictwa wynika, że silna, krzyżowa reakcja serologiczna, istniejąca pomiędzy klasycznymi gatunkami rodzaju *Brucella* i Y.e.09 posiada głębokie podłoże chemiczne. Wspólne determinanty antygenowe występujące w rodzaju *Brucella* i w Y.e.09 praktycznie uniemożliwiają serologiczne różnicowanie schorzeń wywołanych przez te drobnoustroje.

W obecnej chwili zagadnienie powyższe wydaje się nabierać praktycznego znaczenia przede wszystkim w medycynie ludzkiej. W opisanych zakażeniach Y.e. u ludzi dominowały bowiem serotypy 03 i 09, co może być przyczyną trudności w ustaleniu rozpoznania u ludzi, szczególnie na terenach, gdzie bruceloza występuje u zwierząt domowych.

Odnosnie ewentualnej roli Y.e.09 w zakłóceniach serodiagnostyki brucelozy u zwierząt, w tej liczbie i u bydła, trudno jest obecnie powiedzieć coś wiążącego, brak bowiem danych o rozprzestrzenieniu Y.e.09 wśród pogłowia zwierząt domowych. Wyjaśnienie tego zagadnienia wymagałoby podjęcia bakteriologicznych badań inwentaryzacyjnych, z serotypowaniem izolowanych szczepów Y.e. włącznie.

Piśmiennictwo

- Ahlqvist J., Ahvonen P., Räsänen J. A., Wallgren G. R.: Acta path. microbiol. scand. Sect. A 79, 109, 1971.
- Ahvonen P., Jansson E., Aho K.: Acta path. microbiol. scand. 75, 291, 1965.
- Ahvonen P., Sievers K., Aho K.: Acta rheum. scand. 15, 232, 1969.
- Ahvonen P., Sievers K.: Acta med. scand. 185, 121, 1969.
- Ahvonen P.: Ann. Clin. Res. 4, 30, 1972.
- Ahvonen P.: Ann. Clin. Res. 4, 39, 1972.
- Barua D., Watanabe Y.: J. Hyg. Camb. 70, 161, 1972.
- Corbel M. J., Cullen G. A.: J. Hyg. Camb. 63, 519, 1970.
- Corbel M. J.: Br. vet. J. 129, 157, 1973.
- Daniels J. J., Goudzwaard C.: T. Diergeneesk. 83, 95, 1963.
- Dickinson A. M., Mocquet G.: J. appl. Bact. 24, 252, 1961.
- Fertig S.: Weterynaria. Wrocław. 95, 91, 1972.
- Hubbert W. T.: Am. J. trop. Med. Hyg. 21, 458, 1972.
- Hurvell B., Ahvonen P., Thal E.: Acta vet. scand. 12, 83, 1971.
- Hurvell B.: Acta vet. scand. 13, 472, 1972.
- Hurvell B.: Acta path. microbiol. scand. Sect. B. 81, 105, 1973.
- Hurvell B., Lindberg A. A.: Acta path. microbiol. scand. Sect. B. 81, 113, 1973.
- Hurvell B.: Serological cross-reactions between different *Brucella* species and *Yersinia enterocolitica*. Thesis. Boktryckeri, A. B. Thule, Stockholm, 1973.
- Knapp W., Thal E.: Zbl. Bakt. Hyg. I. Oryg. A. 223, 83, 1973.
- McClure M. H., Weaver R. E., Kaufman A. F.: Lab. Anim. Sci. 21, 376, 1971.
- Mollaret H. H., Chevalier A.: Anns Inst. Pasteur, Paryż. 108, 121, 1964.
- Mollaret H. H., Chevalier A., Deplanche M. C.: Anns Inst. Pasteur, Paryż. 107, 121, 1964.
- Mollaret H. H., Guillon J. C.: Anns Inst. Pasteur, Paryż. 109, 608, 1965.
- Mollaret H. H., Lucas A.: Anns Inst. Pasteur, Paryż. 108, 121, 1965.
- Mollaret H. H.: Path. Biol. 14, 931, 1966.
- Mollaret H. H.: Path. Biol. 19, 189, 1971.
- Mollaret H. H.: Ann. Biol. clin. 30, 1, 1972.
- Morgan W. J. B., MacKinnon D. J., Lawson J. R., Cullen G. A.: Vet. Rec. 85, 636, 1969.
- Nicoll P., Mollaret H. H., Hamon Y., Vieu J. F.: Anns Inst. Pasteur, Paryż. 112, 85, 1967.
- Niléhn B.: Acta path. microbiol. scand. 69, 83, 1967.
- Niléhn B.: Acta path. microbiol. scand. suppl. 203, 4, 1969.
- Niléhn B.: Acta path. microbiol. scand. 77, 685, 1969.
- Pop A., Ceburu A., Pop A., Draghici D.: Archs. roum. Path. exp. Microbiol. 31, 45, 1972.
- Rabson A. R., Koornhof H. J.: S. Afr. Med. J. 46, 798, 1972.
- Scavizzi M. R., Rykner G., Lecouturier J. P., Reboul M., Bouvier J. B.: Sem. Hop., Paryż. 48, 997, 1972.
- Smith J. E., Thal E.: Acta path. microbiol. scand. 64, 213, 1965.
- Szita J., Kali M., Rédeys B.: Acta microbiol. hung. 13, 113, 1971.
- Tsubokura M., Itagaki K., Kiyotani K.: Jap. J. vet. Sci. 35, 33, 1973.
- Wauters G., Le Minor L., Chalou A. M.: Anns Inst. Pasteur, Paryż. 120, 631, 1971.
- Wauters G., Le Minor L., Chalou A. M., Lassen J.: Anns Inst. Pasteur, Paryż. 122, 951, 1972.
- Winblad S., Niléhn B., Sternby N. H.: Brit. med. J. 2, 1363, 1966.
- Winblad S.: Acta path. microbiol. scand. suppl. 187, 116, 1967.
- Zen-Yoji H., Maruyama T.: Jap. J. Microbiol. 16, 493, 1972.
- Zen-Yoji H., Maruyama T., Sakai S., Kimura S., Mizuno T., Momose T.: Jap. J. Microbiol. 17, 220, 1973.

Adres autora: dr Marian Królak, 80-309 Gdańsk-Oliwa, ul. Grunwaldzka 476 m. 10.