

Журавски Ц., Карпински Т., Скварэк П. — Исследования по присутствию микобактерий птичьего типа и атипичных у свиней.

Из лимфатических узлов убойных свиней и положительно реагирующих на туберкулин племенных свиней выделили 119 штаммов микобактерии принадлежащих (на основании культурных, биохимических и серологических свойств) к следующим видам: *M. avium* I — 6 штаммов, *M. avium* II — 98, *M. avium* III — 2, *M. scrofulaceum* — 3, *M. intracellulare* — 1, *M. terrae* — 3, *M. fortuitum* — 1, *M. pseudofortuitum* A — 3 (*M. vaccae*), *M. tuberculosis* — 1, *M. bovis* — 1, смесь *M. avium* и *M. atypic* — 1; видовой принадлежности одного штамма не установили.

Zórawski C., Karpiński T., Skwarek P. — Studies on the occurrence of avian and atypical mycobacteria in pigs.

One hundred ninteen strains of acid fast bacilli were isolated from pathologically changed lymph nodes of pigs slaughtered in abattoirs and tuberculin positive pigs from breeding farms. On the basis of the cultural, biochemical, serological and biological tests the isolated strains were classified as *M. bovis*-1 strain; *M. tuberculosis*-1; *M. avium*; serotype I (Schaefer) — 6; serotype II (Schaefer) — 98; serotype III (Marks, Jenkins) — 2; *M. pseudofortuitum* A (*M. vaccae*) — 3; *M. terrae* — 3; *M. scrofulaceum* — 1; *M. fortuitum* — 1; *M. intracellulare* — 1. One strain remained unclassified and one culture proved to be a mixture of avian and unclassified bacilli.

MIKOŁAJ WILCZYŃSKI, MIECZYSLAW JANOWIEC, MICHAŁ HOLUB

## Badania nad występowaniem prątków kwasoopornych w węzłach chłonnych świń rzeźnych

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Białymstoku

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy w Warszawie

Województwo białostockie od szeregu lat jest uwolnione od gruźlicy bydłowej. Niektórzy badacze (5, 10, 18) podają, że w miarę likwidacji gruźlicy bydła zmniejsza się odsetek stwierdzanej gruźlicy u świń. Prawdopodobnie ta nie występuje jednak na obszarze województwa. U trzody chlewnej, poddawanej ubojowi w Zakładach mięsnych, nadal stwierdza się stosunkowo często zmiany gruźlicze w węzłach chłonnych krezkowych i okołogardzielowych a szczególnie podszczękowych. Analiza wyników urzędowego badania mięsa 45.287 szt. trzody chlewnej w 1973 r. wykazała, że u 3,7% sztuk występują w węzłach chłonnych krezkowych i podszczękowych zmiany gruźlicze lub gruźliczopodobne.

Liczni badacze (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 24) zajmowali się występowaniem prątków kwasoopornych u zwierząt w ogóle, a u świń w szczególności. Stwierdzano u świń różne typy prątków gruźlicy, jak również prątki atypowe ze wszystkich grup Runyona. Częstość występowania poszczególnych typów prątków waha się znacznie w różnych krajach a nawet w poszczególnych rejonach danego kraju. Ustalenie więc typów prątków występujących u trzody chlewnej na terenie woj. białostockiego wydaje się być ważne z punktu widzenia epidemiologicznego, epizootologicznego i gospodarczego.

### Materiał i metody

Do badań mikrobiologicznych w kierunku prątków kwasoopornych pobierano możliwie jałowo, bezpośrednio po uboju, zmienione węzły chłonne podszczękowe i krezkowe. Brano pod uwagę zmiany w postaci drob-

nych żółtawo-białych, serowatych lub zwapniałych gruzełków, albo większych ognisk ze śmietanowatą ropą. Badaniami objęto 300 sztuk trzody chlewnej. Pobrane materiały homogenizowano metodą ługową, posiewając osad na podłoże Loewenstein-Jensena (L-J), wykonując równoległe bakterioskopie preparatów barwionych metodą Ziehl-Neelsena (Z-N) i metodą fluorescencji (Fl).

Uzyskane szczepy poddano klasyfikacji opierając się na morfologii, czasie wzrostu, temperaturze inkubacji na podłożu L-J, wzroście na podłożu L-J z dodatkiem 0,5 mg/ml salicylanu sodu, teście niacynowym, teście na fotosyntezę, teście Bogen, wrażliwości na tuberkulostatyki, wzroście i morfologii na pożywce L-J z dodatkiem 0,2% PASu, 2% cytrynianu żelazowego i 5 µg/ml hydroksylaminy, charakterze wzrostu na pożywce Lebeke, Beeuwkesa i Wagener-Mitscherlicha, czynności arylosulfatazowej wg Kubicy, czynności amidazowej (ureaza, nikotynoamidaza, pyrazynoamidaza, formamidaza), hydrolizie Tweenu-80, teście redukcji azotanów wg Tsukamury, wrażliwości na TbI (tiosemikarbazon), 10 µg/ml, EMB (etambutol), 3 µg/ml, THC (tiokarbamid) 10 µg/ml (4, 6, 8).

Identyfikację gatunków izolowanych szczepów przeprowadzono przy użyciu tego rozszerzonego wachlarza testów, umożliwiającego określenie badanego szczepu, posługując się kodem identyfikacji mykobakterii (6, 8). Część uzyskanych szczepów w liczbie 44 poddano badaniom na zjadliwość w próbie biologicznej na świnkach morskich. Zawieszinę świeżej hodowli w roztworze fizjologicznym wprowadzano podskórnie w okolice węzłów pachwinowych tuberkulinoujemnym świnkom morskim o ciężarze ciała ca 300—400 g.

Tab. 1. Wyniki badań mikrobiologicznych

Liczba badań	Metoda	Wyniki dodatnie	
		Liczba	
300	Bk wg Z—N	98	(32,7%)
	Bk wg Fl	133	(44,4%)
	Posiewy	178	(59,3%)

## Wyniki i omówienie

Bakterioskopia preparatów barwionych klasyczną metodą Z-N pozwoliła wykryć obecność prątków kwasoopornych w 32,7% badanych rozmazów. Lepsze wyniki, bo 44,4%, uzyskano metodą Fl. Utrwalone preparaty barwiono auraminą i rodaminą.

Tab. 2. Wyniki klasyfikacji szczepów

Poddano klasyfikacji szczepów	Wyniki oznaczenia w %		
	<i>Myc. bovis</i>	<i>Myc. tbc</i>	Prątki atyp.
129 (w tym 97 kultur jednorodn. i 32 miesz.)	41,8	2,3	55,9

Wyniki naszych badań, jak również badania innych autorów (20, 23) zachęcają do rutynowego stosowania tej metody. Wyższość metody Fl polega też na skróconym czasie mikroskopowania i łatwiejszej obserwacji świeżących na ciemnym tle prątków. Niektórzy badacze oceniają wykrywalność prątków metodą Fl na równi z hodowlą (cyt. za 4). Z naszych badań wynika, że przy mikroskopowaniu materiału zawierającego dużą ilość prątków obie metody mają wartość równorzędną, jednak metodą Fl wykrywa się większą liczbę prątków (tab. 3) z tego samego materiału. Pokrywa się to ze spostrzeżeniami innych badaczy (20). W badaniach własnych nie uzyskano wyników dodatnich wg Z-N a ujemnych Fl.

Tab. 3. Wyniki próby biologicznej na świnkach morskich

Gatunki użytych prątków	Liczba szczepów	Padło świnek morskich	Uspiono po 8 tyg.	Zmiany sekcyjne	Bakterio =	
					Z-N	Fl
<i>Myc. bovis</i>	6	1*)	5**)	*) uogólniona gruźlica **) ropnie w miejscu zastrzyku	+	##
<i>Myc. tuberculosis</i>	1		1	ropień w miejscu zastrzyku	+	##
<i>Myc. gastris</i>	1		1	" " "	+	+
<i>Myc. flavescens</i>	1		1	brak	-	-
<i>Myc. pseudofortuitum B</i>	35		35	ropnie w miejscu zastrzyku	+	+
					+	##

Posiewy dodatnie uzyskano w 59,3% badanych prób. Czas wystąpienia widocznego wzrostu wahał się w granicach od 10 do 64 dni. Już wygląd kolonii wskazywał na wzrost mieszany różnych gatunków prątków kwasoopornych. Potwierdzone to zostało dalszymi badaniami przy klasyfikacji tych szczepów. Z 97 dodatnich hodowli otrzymano tym sposobem 129 szczepów. Mieszana populacja prątków wystąpiła w 32 posiewach, co stanowi 24,8%. Stwierdzono współwystępowanie *Myc. bovis* z prątkami atypowymi (23,2%), *Myc. bovis* z *Myc. tuberculosis* (0,8%), *Myc. tbc* z prątkami atypowymi (0,8%), 75,2% uzyskanych szczepów było jednorodnych.

Klasyfikacja 129 szczepów prątków kwasoopornych wykazała, że 41,8% należy do *Myc. bovis*, 2,3% do *Myc. tuberculosis*, 55,9% do prątków atypowych.

Lesslie (12) oraz O'Reilly (15) wykryli u świń w Anglii 81% *Myc. avium*. Prost i Bojarski (13) na 70 izolowanych ze zmian gruźliczopodobnych u świń szczepów określili 42 jako należące do *Myc. avium* a 28 jako atypowe. Prost (14) w wyniku typowania 121 szczepów wyosobnionych z węzłów chłonnych świń ca 82,6% zaliczył do *Myc. avium* a ca 24% do atypowych.

Kostrzeński i Poklerska-Pobratyn, różnicując 149 nieokreślonych szczepów, wyizolowanych ze zmienionych węzłów chłonnych u świń określili 71 szczepów typu ptasięgo, 3 szczepy jako *Myc. tuberculosis*, 1 jako szybko rosnący saprofityczny a 56 szczepów, wyróżniających się spośród znanych prątków, są skłonni uznać za odrębny gatunek *Myc. suis* (11). Niektórzy autorzy jednak zaliczają względnie wysoki procent wyizolowanych szczepów od 14,8% do 34% jako *Myc. bovis* (cyt. za 14).

Autorzy radzieccy (5, 9, 19) podają, że w niektórych rejonach kraju gruźlica u świń występuje od 1,38% do 10,58%. Stwierdza się tam u świń *Myc. bovis*, *Myc. tuberculosis*, *Myc. avium* i prątki atypowe ptasiępodobne. Juskowiec (10) podaje, że na Białorusi u świń rzeźnych stwierdza się zmiany gruźlicze u 2,8% sztuk. Jest on zdania, że na terenach uwolnionych od gruźlicy bydłowej prątki *Myc. bovis* izoluje się rzadko z materiałów pochodzących od świń i w takich przypadkach zachodzi konieczność kontrolnej tuberkulinizacji pogłowa bydła.

Stwierdzenie znacznego odsetka szczepów, należących do *Myc. bovis* u świń rzeźnych woj. białostockiego, świadczy o występowaniu w środowisku zwierząt gospodarskich prątków typu bydłowego, mimo uznania terenu za uwolniony od gruźlicy bydłowej. Ma to duże znaczenie epidemiologiczne, epizootologiczne i gospodarcze. Wymaga to dalszych badań dla wyjaśnienia tego zjawiska.

Identyfikacja 72 szczepów atypowych wykazała, że 93% należy do *Myc. pseudofortuitum B* (syn. *Myc. abscessus*). Pozostałe szczepy atypowe sklasyfikowano: jeden jako *Myc. aquae*, je-

den jako *Myc. gastris*, dwa jako *Myc. flavescens* i jeden *Myc. pseudofortuitum A* (syn. *Myc. vaccae*).

Z niektórymi szczepami wyosobnionych prątków wykonano biologiczną próbę na świnkach morskich. Do tego celu użyto 44 szczepy (6 *Myc. bovis*, 1 *Myc. tuberculosis*, 1 *Myc. gastris*, 1 *Myc. flavescens* i 35 *Myc. pseudofortuitum B*). Zawieszinę prątków świeżej hodowli wstrzykiwano podskórnie świnkom morskim tuberkulinoujemnym. Tylko jedna świnka, zakażona szczepem Nr 187 *Myc. bovis*, padła po siedmiu tygodniach. Sekcyjnie stwierdzono uogólniony proces gruźliczy z rozległymi zmianami w płucach, śledzionie i wątrobie. U pozostałych świń, za wyjątkiem jednej, rozwinęły się po 4-6 tygodniach różnej wielkości ropnie ze śmietanową ropą, zawierającą duże ilości prątków kwasoopornych. Preparaty barwiono Z-N i Fl. Jako dodatni wynik uznawano stwierdzenie w preparacie co najmniej trzech prątków kwasoopornych niezależnie od metody barwienia. Intensywność oceniano w obu metodach wg stosowanej w kraju trzystopniowej skali: +, ++, +++<sub>1</sub>. Świnka, nie wykazująca żadnych makroskopowo uchwytanych zmian po uspieniu, była szczepiona zawiesziną *Myc. flavescens*.

Próba biologiczna, przeprowadzona z częścią uzyskanych szczepów i tylko na świnkach

morskich, nie upoważnia do daleko idących wniosków, upoważnia jednak do stwierdzenia, że szczepy *Myc. bovis* i *Myc. tuberculosis* wykazywały w naszych badaniach słabą zjadliwość, nie różniącą się zbyt od zjadliwości dla świnek morskich szczepów atypowych wy osobnionych od świń rzeźnych.

Ogólną cechą atypowych mykobakterii jest to, że są one odporne na tuberkulostatyki szczególnie PAS i INH i brak im zjadliwości dla zwierząt laboratoryjnych. W naszych badaniach okazały się one jednak w pewnym stopniu zjadliwe dla świnek morskich. Fakt ten przemawiał za sugestią różnych autorów co do możliwości transformacji prątka w organizmie świni, tłumacząc jednocześnie różnorodność wyników uzyskiwanych przez poszczególnych badaczy, jeśli chodzi o gatunki izolowanych od świń prątków i ich patogenność.

### Wnioski

1. Stwierdzono zjawisko utrzymywania się prątków bydłych w biocenozie, mimo uznania terenu za uwolniony od gruźlicy bydła.

2. Badania nad występowaniem u świń rzeźnych prątków kwasoopornych, przeprowadzane na terenach uwolnionych od gruźlicy bydłej i połączone z jednolitą dla całego kraju identyfikacją wy osobnionych szczepów w laboratoriach specjalistycznych, mogą mieć duże znaczenie epidemiologiczne i epizootologiczne.

### Piśmiennictwo

1. Buraczewska M., Kuryłowicz W.: Gruźlica 37, 399, 1962.
2. Buraczewska M., Kuryłowicz W.: Gruźlica 37, 467, 1962.
3. Buraczewska M., Kwiatkowska B., Manowska W., Rdułtowska H.: Symp. Atypowe Mykobakterie. Wrocław 1972.
4. Buraczewska M.: Postępy Mikrobiologii 1, 55, 1973.
5. Gizatulín, Mazur, Safin, Gaikina: Vietierinaria 9, 52, 1972.
6. Janowiec M., Pichala K., Pelczarska B.: Gruźlica 40, 121, 1972.
7. Janowiec M.: Medycyna Wet. 28, 513, 1972.
8. Janowiec M.: Gruźlica 41 912, 1231, 1973.
9. Judin G. A.: Vietierinaria 9, 95, 1972.
10. Juszkiewicz T.: Gruźlica zwierząt gospodarskich i jej zwalczanie PWRiL, Warszawa 1951.
11. Kostrzeński W., Paklerska-Pobratyn H.: Gruźlica 42/1, 21, 1974.
12. Leslie J. W., Birn K. J.: Tubercle 51, 68, 1970.
13. Prost E., Bojarski J.: Medycyna Wet. 22, 129, 1966.

14. Prost E.: Medycyna Wet. 24, 658 i 738, 1968.
15. O'Reilly L. M.: Tubercle 52, 153, 1971.
16. Spryszak A., Zięba T.: Medycyna Wet. 24, 709, 1968.
17. Spryszak A., Zórawski C., Wiśniewski Z.: Medycyna Wet. 25, 481, 1969.
18. Sudaczenkow W. W.; Vietierinaria 9, 28, 1969.
19. Szczurewski, Szarow, Tyrina: Vietierinaria 7, 66, 1972.
20. Szulc-Stopyra, Stopyra J.: Gruźlica 42, 945, 1973.
21. Timple A., Runyon E.: J. Lab. Clin. Med.: 44, 202, 1954.
22. Wilczyński M., Gajewski St., Kamińska W., Sadownik J., Leowski J., Janowiec M., Osiński J.: Symp. Atypowe Mykobakterie Wrocław 1972.
23. Zórawski C.: Medycyna Wet. 23, 645, 1967.
24. Zórawski C., Karpiński T., Sapeta A.: Medycyna Wet. 29, 641, 1973.

Adres autora: doc. dr Mikołaj Wilczyński, ul. Akademicka 34 m 20, 15-267 Białystok.

Вильчиньски М., Яновец М., Голуб М. — Исследования по присутствию кислотоустойчивых палочек в лимфатических узлах убойных свиней.

Исследованиям подвергли подчелюстные и брыжеечные узлы 300 убойных свиней. Установили эффективность в рутинной бактериоскопии метода флюоресценции и превосходство его по сравнению с классическим методом Ziehl-Neelson. Положительные результаты по методу Ziehl-Neelson получили в 32,7% исследованных проб а по методу флуоресценции в 44,4%. В 178 пробах (59,3%) посевы на питательные среды оказались положительными. Смешанную популяцию микобактерий установили в 32 пробах т.е. в 24,8%, а однородную — в 75,2%. Из 129 штаммов подвергнутых идентификации 54 (41,8%) определили как *Myc. bovis*, 3 (2,3%) — *Myc. tuberculosis* и 72 как атипичные микобактерии.

Wilczyński M., Janowiec M., Hołub M. — Studies on the occurrence of acid-fast bacilli in lymph nodes of slaughtered pigs.

Studies were performed with pathologically changed submaxillary and mesenteric lymph nodes from 300 slaughtered pigs. There was found the usefulness and predominance the fluorescent antibody method in the routine bacterioscopy of mycobacteria over classical Ziehl-Neelsen's method. Positive results were obtained in 32.7% by the use of Ziehl-Neelsen's method and in 44.4% in the fluorescent antibody method. In 178 samples studied (59.3%) positive results, were obtained on Ziehl-Neelsen's medium. Mixed population of mycobacteria was obtained in 32 cases (24.8%). In 75.2% there were obtained pure cultures. Out of 129 strains there were classified as *M. bovis* 54 (41.8%) strains, *M. tuberculosis* — 3 (2.3%), atypical mycobacteria — 72.

**KENDRICK J. W., OSBURN B. J.: Odpowiedź immunologiczna płodów cielęcych na inaktywowany wirus zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy — krostkowego zapalenia pochwy i sromu bydła. (Immunologic response of the bovine fetus to inactivated infectious bovine rhinotracheitis — infections pustular vulvovaginitis virus).** Am. J. vet. Res. 34, 1567—1571, 1973 (12).

Siedem płodów w 3—8 miesiącu życia płodowego zakażono domięśniowo inaktywowaną handlową szczepionką przeciwko zapaleniu nosa i tchawicy bydła (IBR) i krostkowemu zapaleniu pochwy i sromu (IPV). Iniekcje szczepionki przeprowadzono w czasie laparotomii wykonanej w prawej słabiznie. W okresie 30—60 dni po podaniu szczepionki otrzymano płody na

drodze cesarskiego cięcia. W macicy, łożysku i płodach szczepionych nie stwierdzono żadnych odchyleń od normy, zaś ze śledziony płodów nie izolowano wirusa IBR IPV. Odczyn seroneutralizacji z surowicą płodów wypadał dodatnio w mianach 1:2,8—1:11, zaś odczyn SN z wyciągiem śledziony wypadał dodatnio w mianach 1:5,6—1:11. Steżenie immunoglobuliny typu IgG w surowicy płodów reagujących dodatnio w odczynie SN wahało się w granicach 0,3—0,9 mg/ml. Ten wzrost ilości globulin odpornościowych w surowicy przemawia za stymulacją układu siateczkowo-limfatycznego przez antygeny wirusowe zawarte w szczepionce.

A.