

JERZY FIEDORUK, MICHAŁ HOLUB

Odczyny tuberkulinowe u młodego bydła sztucznie zakażonego saprofitycznymi prątkami kwasoopornymi

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Białymstoku

Drobnoustrojami, którym ostatnio poświęca się wiele uwagi są tzw. prątki atypowe. Rola tych drobnoustrojów w wywoływaniu chorób u człowieka i zwierząt nie jest dostatecznie poznana. Liczne publikacje (1, 5, 6, 10, 13, 14, 15, 17, 19) wskazują, że prątki atypowe mogą występować u chorych ludzi i zwierząt, u których stwierdza się zmiany charakterystyczne dla gruźlicy, jak i u osobników klinicznie zdrowych (4, 16, 25).

Timpe i Runyon (22) sklasyfikowali prątki atypowe na podstawie morfologii kolonii i szybkości wzrostu w 4 grupy. Pierwszą z nich stanowią prątki skotochromogenne, które rosnąc bez dostępu światła przypominają hodowle *Myc. tuberculosis*, a pod wpływem światła wytwarzają cytrynowo-żółty barwnik. Do grupy II autorzy ci zaliczyli prątki skotochromogenne, których hodowle nawet bez dostępu światła przybierają pomarańczowe zabarwienie. Trzecią grupę stanowią prątki niechromogenne, których hodowle na podłożach sztucznych przypominają hodowle *Myc. avium*. Do IV grupy zaliczono tzw. prątki szybko rosnące, dające obfity wzrost na podłożach sztucznych już po 2—4 dniach.

Doniesienia wielu autorów (2, 3, 21, 25, 27, 29) wskazują, że zakażenia ludzi i zwierząt prątkami atypowymi stanowią ważne zagadnienie epidemiologiczne, gospodarcze i epizootologiczne.

Prątki atypowe są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, czego następstwem jest możliwość zakażenia ludzi i zwierząt. Liczni autorzy (7, 8, 12, 18, 24) donoszą, że infekcje tymi prątkami powodują bardzo często występowanie tuberkulinowych odczynów nieswoistych. Pod pojęciem nieswoistych odczynów tuberkulinowych rozumie się reakcje na tuberkulinę ssaków, powstałe w wyniku innych przyczyn niż zakażenie prątkami bydłocymi.

Bydło zakażone prątkami atypowymi może reagować dodatnio lub wątpliwie na tuberkulinę ptasią lub ssaków, lub też nie reagować w ogóle na te preparaty.

Celem podjętych badań było:

a) wyizolowanie i identyfikacja prątków kwasoopornych z cieku wodnego przedmieścia Białegostoku, zanieczyszczonego ściekami komunalnymi, okresowo zalewającego użytki zielone;

b) określenie, w warunkach laboratoryjnych, na świnkach morskich zdolności wywoływania alergii tuberkulinowej wybranych szczepów po podaniu doustnym;

c) przebadanie właściwości uczulających na tuberkulinę tych samych szczepów u bydła.

Materiał i metody

Wodę ze ścieku pobierano w okresie zimowym, wiosennym i letnim. Osad uzyskany po wirowaniu przez 15 minut przy 3 tys. obrotów na minutę poddawano działaniu 5% kwasu szczawowego. Materiał posiewa no na podłoża Löwensteina-Jensena i Stonebrinka.

Do identyfikacji wyizolowanych szczepów zastosowano następujące próby hodowlane: wzrost w temperaturze 25° i 45°, zdolność wytwarzania barwnika, fotosyntezę oraz wzrost na podłożu McConkey'a. Spośród prób biochemicznych przeprowadzono próby: niacynową, aktywności katalazy wg Kubicy, hydrolizy Tween 80, zdolności redukcji azotanów, aktywności arylsulfatazy oraz na zdolność redukcji tellurynu potasu. Badano także aktywność amidazową wyizolowanych szczepów wg metody Bönicke, wykorzystując cztery substraty z szeregu amidowego a mianowicie benzamid, mocznik, nikotynamid i pyrazynamid.

Do sprawdzenia zdolności uczulających na świnkach morskich wybrano szczep *Myc. fortuitum* oraz szczep prątków skotochromogennych (II grupa Runyona). Każdym szczepem zakażono po 10 kg siana (uprzednio wyjałowionego w temperaturze 90°C przez 30 minut) w dawce 200 mg wilgotnej masy prątków w zawieszynie wodnej na 1 kg. Częścią zakażonego siana karmiono przez 8 dni dwie grupy świnek morskich, a część przechowywano w wyjałowionych workach papierowych w sianie zmagazynowanym na strychu budynku gospodarczego. Po 30 dniach od podania ostatniej dawki siana świnki poddano tuberkulinizacji z użyciem rozcieńzonej 1:10 tuberkuliny ssaków i ptasiej. Grupę kontrolną stanowiło 5 świnek.

Badanie właściwości uczulających tych samych szczepów dla bydła przeprowadzono w stadzie tuberkulinoujemnych bukatów rasy ncb i charolaise w wieku 6—8 miesięcy, które podzielono na 4 grupy doświadczalne i jedną grupę kontrolną po 7 sztuk w każdej. Każdym ze szczepów zakażono po dwie grupy bukatów: jedną grupę doustnie dawką 500 mg/sztukę prątków w zawieszynie wodnej, drugą grupę podskórnie dawką 20 mg/szt prątków zawieszonych w płynie fizjologicznym. Po 6 i 12 tygodniach od daty zakażenia u bukatów wykonano testy alergiczne przy użyciu tuberkuliny PPD ssaków i ptasiej według obowiązujących zasad. Z powodu przerzutów bydła do innych obiektów przeprowadzenie dalszych badań było niemożliwe.

Z zakażonego siana przechowywanego w workach, co 7 dni na przemian z zewnętrznych i wewnętrznych partii, pobierano po kilkanaście żdźbeł, które cięto na sieczkę a następnie rozdrabniano w homogenizatorze (14 tys. obrotów/1 min.) na mączkę. Z mączki, podanej działaniu 5% kwasu szczawowego wg obowiązujących zasad, wykonywano posiewy na podłożu Löwensteina-Jensena i Stonebrinka. Okres inkubacji każdej partii trwał 8 tygodni.

Wyniki i omówienie

W posiewach wykonanych z materiału pobranego w różnych porach roku uzyskiwano wzrost szczepów o bardzo podobnych właściwościach hodowlanych i biochemicznych. Wy-

Tab. 1. Wyniki prób hodowlanych i biochemicznych prątków kwasoopornych wyizolowanych ze ścieków (w %)

Rodzaj szczepu	Liczba szczepów	Wzrost w temp.		Pigment	Fotosynteza	Niacyna	Katalaza	Wg Kubicy	Hydroliza Tween 80	Redukcja azotanów	Aktywność amidaz				Redukcja telluryny potasu	Wzrost na agarze Mc Conkey'a
		25°C	45°C								benzami- daza	mocznik	nikoty- namiada	pyrazan- amiada		
<i>Myc. fortuitum</i>	35	100	11	0	0	0	80	77	66	0	94	83	83	94	86	100
II grupa Runyona	3	100	0	100	X	0	100	0	0	100	100	100	100	0	0	0
IV grupa Runyona	2	100	50	0	0	0	50	0	50	50	100	100	50	100	0	0

niki prób hodowlanych i biochemicznych zestawiono w tab. 1.

Określenia szczepów dokonano w oparciu o kod do identyfikacji mykobakterii opracowany przez Janowca (9) i uzupełniające próby na zdolność redukcji tellurynu potasu i wzrostu na agarze Mc Conkey'a wg Kubicy (11).

Z ogólnej liczby 40 badanych szczepów 35 (88%) określono jako *Myc. fortuitum*, 3 (7%) zaliczono do II grupy, a 2 (5%) do IV grupy Runyona.

Część szczepów określonych jako *Myc. fortuitum* posiadała cechy hodowlane i biochemiczne typowe dla tego gatunku, podane w kodzie Janowca, a część zaliczono do tego gatunku na podstawie większości cech wspólnych zgodnie z sugestiami Tsukamury (23) oraz uzyskanych wyników wspomnianych prób uzupełniających.

Pozostałe szczepy wykazywały właściwości biochemiczne nie pozwalające na określenie ich przynależności gatunkowej. Na podstawie cech hodowlanych (szybkość wzrostu i morfologia kolonii) zaliczono je do II lub IV grupy wg klasyfikacji Runyona.

Właściwości uczulające dla świnek morskich *Myc. fortuitum* i szczepu skotochromogenego przedstawiono w tab. 2.

Tab. 2. Wyniki testu alergicznego, przy użyciu tuberkulin, u świnek morskich zakażonych doustnie *Myc. fortuitum* i szczepem prątków skotochromogenych podanych z sianem (średnica odczynów mierzona w mm)

Rodzaj szczepu	Jasność świnek				Średnia wielkość odczynu w mm na tuberkulinę	
	zakażonych	reagujących na tuberkulinę		ssaków		
		ssaków	ptasią		ssaków	ptasią
<i>Myc. fortuitum</i>	8	7	7	5,4	7,6	
Prątki skotochromogenne	8	5	3	6,5	8,0	

Jak wynika z tabeli obydwa badane szczepy posiadały zdolność uczulania świnek morskich na stosowane tuberkuliny. Zarówno *Myc. fortuitum* jak i prątki z II grupy uczulały większość świnek silniej na tuberkulinę ptasią. Dwie spośród 8 świnek zakażonych *Myc. fortuitum* i jedna ze świnek zakażonych prątkami z II grupy reagowały silniej na tuberkulinę ssaków. Jedna ze świnek zakażonych *Myc. fortuitum* nie reagowała na żadną ze stosowanych tuber-

kulin. W grupie kontrolnej nie stwierdzono dodatnich odczynów tuberkulinowych.

Właściwości uczulające tych samych szczepów dla młodego bydła zestawiono w tab. 3.

Tab. 3. Wyniki badania tuberkulinowego bukatów zakażonych *Myc. fortuitum* i prątkami skotochromogenymi (%)

Reakcja na tuberkulinę	Reakcja	<i>Myc. fortuitum</i> zakażenie						Prątki skotochromogenne zakażenie					
		podskórne			doustne			podskórne			doustne		
		-	±	+	-	±	+	-	±	+	-	±	+
Ptasią	6 tyg.	100	0	0	100	0	0	86	0	14	86	14	0
	12 tyg.	72	14	14	86	0	14	85	14	0	86	14	0
Ssaków	6 tyg.	86	0	14	100	0	0	100	0	0	72	0	28
	12 tyg.	85	14	0	72	14	14	100	0	0	72	0	28

Spośród 7 bukatów zakażonych podskórnie *Myc. fortuitum* stwierdzono dodatni odczyn u 2, w tym u jednego bukata (po 6 tyg. od dnia zakażenia) na tuberkulinę ptasią i u jednego (po 12 tyg.) na tuberkulinę ssaków. Spośród bukatów zakażonych doustnie tym samym szczepem dodatnio reagowało na obydwie tuberkuliny tylko jedno zwierzę.

W grupie bukatów zakażonych podskórnie prątkami z II grupy dodatni odczyn na tuberkulinę ssaków stwierdzono u jednego zwierzęcia w pierwszym badaniu, natomiast spośród bukatów zakażonych *per os* tym samym szczepem dodatni wynik na tuberkulinę ptasią stwierdzono u trzech, a u jednego z nich również wynik wątpliwy na tuberkulinę ssaków. Pozostałe bukаты w grupach doświadczalnych jak i w grupie kontrolnej nie reagowały na stosowane tuberkuliny.

Badane prątki w sianie składowym w warunkach zbliżonych do naturalnych zachowywały żywotność, w różnych warstwach, przez okres 6—10 tygodni.

W przeprowadzonych badaniach cieku wodnego stwierdzono występowanie prątków kwasoopornych, głównie *Myc. fortuitum*, innych prątków atypowych z grupy IV oraz prątków skotochromogenych. O obecności prątków atypowych, w tym również *Myc. fortuitum* w naturalnych zbiornikach wodnych donosili Beerwerth (2), Stoll i wsp. (20), Viallier i wsp. (25), Wachnik (26) i inni autorzy.

Stwierdzony dość długi okres przeżywalności badanych prątków w sianie może wskazy-

wać na możliwość zakażeń tymi drobnoustrojami bydła lub innych zwierząt trawożernych. Doświadczenie przeprowadzone na świnkach morskich karmionych sianem zakażonym wybranymi szczepami prątków wykazało, że u większości badanych zwierząt wywołały one uczulenie na obie tuberkuliny, z przewagą odczynów na tuberkulinę ptasią. Uzyskane w doświadczeniu z *Myc. fortuitum* wyniki zgodne są z rezultatami badań Żórawskiego i wsp. (28), którzy również stwierdzili silniejsze odczyny alergiczne na tuberkulinę ptasią u świнок morskich sztucznie uczulonych *Myc. fortuitum*. Cytowani autorzy wykazali natomiast, że prątki skotochromogenne uczulały świnki morskie w równym stopniu na oba stosowane preparaty alergiczne.

Badania przeprowadzone na bukatkach wskazują, że użyte w doświadczeniu szczepy, przy jednorazowym podaniu posiadały słabe właściwości uczulające. Akułow i wsp. (1) stwierdzili także słabo wyrażone reakcje tuberkulinowe u cieląt zakażonych prątkami skotochromogennymi. Sudačenkov (21) podaje, że niektóre szczepy saprofityczne prątków kwasoopornych przy wprowadzeniu doustnym mogą wywoływać krótkotrwałe uczulenie bydła na tuberkulinę ssaków i ptasią. Freerksen i Lanterbach (cyt. 26) doszli do wniosku, że przy zakażeniu doustnym prątkami skotochromogennymi mogą wystąpić uczulenia na obie tuberkuliny. Wachnik (26) nie stwierdził u bydła odczynów tuberkulinowych dodatnich lub wątpliwych wywołanych przez prątki atypowe występujące w ściekach, którymi deszczowano pastwiska. Stąd autor wyciąga wniosek, że należy wykluczyć możliwość uczulenia zwierząt na tuberkuliny poprzez prątki atypowe, które dostają się na pastwisko ze ściekami w znacznych ilościach.

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń na świnkach morskich i bydle mogą wskazywać, że zdolności alergizujące prątków atypowych są w mniejszym stopniu zależne od wielkości dawki przy jednorazowym zakażeniu, a w większym stopniu od długości okresu, w którym następuje zakażenie (nadkażenie).

Wnioski

1. Występujące w badanych ściekach znaczne ilości prątków atypowych, przy stosunkowo długotrwałej przeżywalności mogą być przyczyną infekcji i nieswoistego uczulenia bydła na tuberkulinę.

2. U badanych zwierząt nie stwierdzono wyraźnej zależności pomiędzy użytymi do zakażenia prątkami a stopniem uczulenia bydła na stosowane tuberkuliny.

3. Odsetek dodatnich odczynów tuberkulinowych u bukatów i świнок morskich wydaje się wskazywać na występowanie większej odczynowości u zwierząt przy dłuższej trwającej infekcji małymi dawkami, niż przy jednorazowym zakażeniu dużą dawką prątków.

Piśmiennictwo

1. Akułow A. V., Tyrina V. S.: Veterinarija, Moskwa 10, 43, 1969.
2. Beerwerth W.: Dt. tierärztl. Wschr. 80, 393, 1973.
3. Buraczewska M.: Post. Mikrobiol. 12, 55, 1973.
4. Buraczewska M., Kuryłowicz W.: Gruźlica 30, 390, 1962.
5. Davis S. B., Kirby W. M., Scherris J.: Am. Rev. resp. Dis. 93, 269, 1966.
6. Ellis E. M., Wayne D. Y.: Am. Rev. resp. Dis. 90, 294, 1964.
7. Feldmann W. H.: Am. Rev. resp. Dis. 81, 666, 1960.
8. Gizatulin Ch. H.: Veterinarija, Moskwa 9, 52, 1972.
9. Janowiec M., Meczko H., Wierzejewska H.: Pneum pol. 45, 337, 1977.
10. Kostrzeński W., Pekłarska-Pobratyn H.: Gruźlica 42, 21, 1974.
11. Kubica G. P.: Am. Rev. resp. Dis. 107, 9, 1973.
12. Martma O. W.: Veterinarija, Moskwa 6, 35, 1967.
13. Nassal J.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 78, 273, 1965.
14. Prost E.: Medycyna Wet. 24, 658, 1968.
15. Prost E.: Medycyna Wet. 24, 738, 1968.
16. Schaefer W. B.: Am. Rev. resp. Dis. 96, 115, 1967.
17. Schiesser Th.: Annis Soc. belges Med. trop. Parasit. Mycol. 42, 441, 1962.
18. Schiesser Th.: Schweizer Arch. Tierheilk. 111, 328, 1969.
19. Seeger J., Schack-Steffenhagen G.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 80, 226, 1967.
20. Stoll L., Siam M. A.: Dt. tierärztl. Wschr. 75, 393, 1968.
21. Sudačenkov W. W.: Veterinarija, Moskwa 9, 29, 1969.
22. Timpe A., Runyon E.: J. Lab. clin. Med. 44, 202, 1954.
23. Tsukamura M.: Tubercle Lond. 48, 311, 1967.
24. Tuboly S., Szabo T.: Acta vet. hung. 17, 149, 1967.
25. Viallier J., Viallier G.: Annis Soc. belges Med. trop. Parasit. Mycol. 53, 361, 1975.
26. Wachnik Z.: Weterynaria, Wrocław 26, 7, 1963.
27. Wachnik Z.: Zycie wet. 54, 42, 1979.
28. Żórawski C., Karpinski T., Sapeta A.: Medycyna Wet. 29, 641, 1973.
29. Żórawski C., Skwarek P.: Medycyna Wet. 32, 661, 1976.

Adres autora: dr Jerzy Fiedoruk, ul. Ogrodowa 10 a m. 7, 15-027 Białystok.

Федорук Е., Голуб М. — Туберкулиновые реакции молодняка крупного рогатого скота, искусственно инфицированного сапрофитическими кислотоустойчивыми палочками.

Цель работы состояла в изолировании и идентификации кислотоустойчивых палочек из водотока, определения способности изолированного штамма *Myc. fortuitum* и штамма скотохромогенных палочек и вызыванию туберкулиновой аллергии у морских свинок и крупного рогатого скота.

В исследуемых водотоках обнаружили наличие кислотоустойчивых палочек, главным образом *Myc. fortuitum* (88%), других антипических палочек из IV группы Рунтона (5%) и скотохромогенных палочек (7%).

Большинство исследуемых свинок, кормленных 8 дней сеном, инфицированным избранными штаммами, показывало чувствительность к туберкулину птиц и млекопитающих, с преобладанием реакций на птичий туберкулин.

Исследования, проведенные на крупном рогатом скоту, показывают, что штаммы, примененные в опыте, при однократном пероральном и подкожном введении показывали слабые алергизирующие свойства. Не обнаружили отчетливой зависимости между примененными для инфекции штаммами палочек и степенью чувствительности.

Отмечаемые в исследуемых водотоках значительные количества атипических палочек при сравнительно продолжительной выживаемости могут являться причиной инфекции и неспецифической чувствительности крупного рогатого скота к туберкулину.

Fiedoruk J., Holub M. — Tuberculin reactions in young cattle infected artificially with saprophyte acid-fast bacilli.

The purpose of the work was to identify acid-fast bacilli isolated from water manure, and determine their capacities in the induction of tuberculous allergy in guinea pigs and cattle. There were found acid-fast bacilli, mainly *Mycobacterium fortuitum* (88 per cent) scotochromogenic bacilli (7 per cent) and atypical acid-

-fast bacilli of the IV group according to Runyon (5 per cent). The majority of the guinea pigs fed for 8 days with hay contaminated with the strains under study showed allergy to mammalian and avian tuberculin, especially to avian tuberculin. Cattle given the same strains once per os or subcutaneously responded weak-

ly to tuberculin. No essential correlations were found between the strains used and the degree of sensitization. The presence of great number of atypical acid-fast bacilli in water manure and their long survival may enable infection and nonspecific tuberculin sensitization of cattle.

BOŻENA STRAŚ
Poznań

Fagotypia szczepów gronkowców koagulazo-dodatnich wyizolowanych z mleka krów dotkniętych zapaleniem gruczołu mlekowego

Zagadnieniem fagotypii szczepów gronkowców izolowanych od zwierząt zajmowało się wielu autorów (3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17). Wyniki badań niektórych (4, 7, 8, 9, 11, 14, 16) wykazały, że duży odsetek gronkowców bydłych jest wrażliwych na faga 42D z IV grupy Międzynarodowego Podstawowego Zestawu. Marandon i Oeding (9) sugerują ponadto, że faga 42D może stanowić podstawę do podziału gronkowców zwierzęcych na podgrupy. Uważają także, że wszystkie szczepy wrażliwe na faga 42D oraz wytwarzające beta-hemolizynę przy nie wytwarzaniu fibrynolizyny, można ocenić jako szczepy gronkowców bydłych. Natomiast badania Sete i Wilsona (13) wykazały, że prawie połowa szczepów gronkowców wyosobnionych od bydła ulegała lizie fagiem 44A, natomiast fagiem 42D znacznie mniej.

Wielu badaczy (2, 6, 10, 11, 12) dowodzi jednak, że Międzynarodowy Podstawowy Zestaw fagów, który był wybrany do typowania gronkowców pochodzenia ludzkiego jest niewystarczający do typowania gronkowców pochodzenia zwierzęcego, gdyż wzorce fagowe gronkowców ludzkich są często nieodpowiednie dla gronkowców zwierzęcych, przez co dają wyniki trudne do interpretacji. Ponieważ nie udało się w

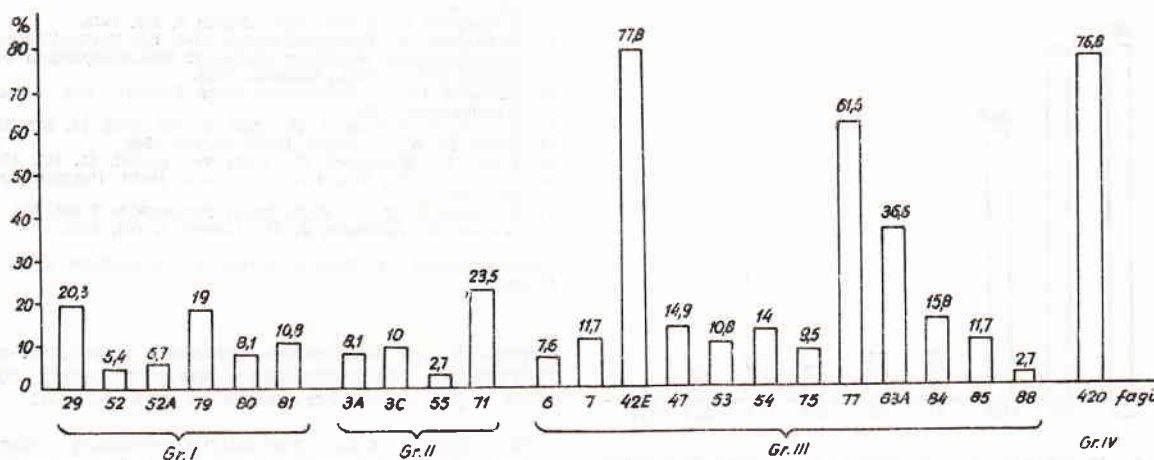
zadowalającej liczbie wytypować szczepów gronkowców bydłych fagami Międzynarodowego Podstawowego Zestawu, starano się wyniki te poprawiać przez wprowadzenie coraz to nowych fagów. Problem ten został częściowo rozwiązany w następstwie wyizolowania nowych fagów bydłych (3, 7).

W dotychczasowym krajowym piśmiennictwie weterynaryjnym, poza badaniami Podhajskiej (11), brak jest prac badawczych z zakresu fagotypii gronkowców bydłych, dlatego też uznano za celowe podjęcie badań w tym kierunku.

Materiał i metody

Materiał do badań własnych stanowiło 221 szczepów gronkowców koagulazo-dodatnich wyizolowanych z mleka krów dotkniętych zapaleniem gruczołu mlekowego. Fagotypię badanych szczepów gronkowców przeprowadzono w Zakładzie Mikrobiologii Akademii Medycznej w Gdańsku, w Pracowni Bakteriofagowej.

Wszystkie badane szczepy typowano w oparciu o metodę Blair i Wiliamsa (1). Do typowania użyto 23 bakteriofagi należące do Międzynarodowego Podstawowego Zestawu (MPZ) (29, 52, 52A, 79, 80, 81, 84, 85, 3A, 3C, 55, 71, 6, 7, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 88, 42D), 20 bakteriofagów zestawu dodatkowego (3B, 42B, 47C, 78, 86, 87, D, 31B, 44, 51, 76, 31, 42C, 52B, 69, 73, 82, 12100, 44A, 676) oraz 8 fagów zestawu zwierzęcego (102, 107, 1363, S₁, S₆, AC₁, 14, 883).



Ryc. 1. Fagotypia gronkowców koagulazo-dodatnich, wyizolowanych z mleka krów dotkniętych zapaleniem gruczołu mlekowego, fagami Międzynarodowego Podstawowego Zestawu