

the animals under study. The properties of aerobic bacteria (growth enhanced by the addition of haemin and serum, storch and haemolysis =+, indole and catalase =—; diameter of the colonies below 1 mm) were like *C. pyogenes* S (small colony). In contrast anaerobic bacteria had the characteristics of *P. acnes*

(propionic acid as a basic metabolite, glucose, sorbitol, gelatine, indole =+; maltose, sucrose, esculine =—). The strains of *C. pyogenes* differed antigenically possessed strong proteolytic activity for elastin, fibrinogen and casein. The role of the bacteria in the diseases of sheep hooves were discussed.

MARIAN KRÓLAK, GRACJAN CHYLIŃSKI, ANDRZEJ STRYSZAK,
TADEUSZ NOWOSIELSKI, WOJCIECH MARCINIECKI

Badania nad występowaniem nieswoistych dla brucelozy aglutynin u bydła, świń i owiec. Model postępowania w badaniach rozpoznawczych

Z Pracowni Badania Brucelozy Instytutu Weterynarii w Gdańsku
Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku
Z Wojewódzkich Zakładów Weterynarii w Gdańsku i Elblągu

Na terenach urzędowo uznanych za wolne od brucelozy, po kilku latach od zaprzestania szczepień ochronnych bydła szczepionką S-19, powstał problem niskich, nieswoistych mian w odczynie aglutynacji. Miana te spotyka się u pojedynczych zwierząt w stadach bydła w badaniach okresowych na brucelozę (12). Zagadnienie to dotyczy także pojedynczych zwierząt w stadach świń i owiec.

W pracy przedstawiono wyniki badań laboratoryjnych i obserwacji epizootycznych, których celem było:

1. określenie zakresu występowania nieswoistych reakcji aglutynacji w stadach bydła, świń i owiec,

2. opracowanie modelu postępowania w badaniach rozpoznawczych, który pozwoliłby zmniejszyć:

- a) straty ekonomiczne, wynikające z likwidacji zwierząt podejrzanych o brucelozę na podstawie wyników aglutynacji oraz z zastosowanych rygorów w zakresie obrotu zwierzętami,

- b) ryzyko wybuchu nowych ognisk brucelozy na terenach wolnych od tej zoonozy, poprzez pewniejsze wykrywanie zwierząt zakażonych brucelami.

Materiał i metody

Zwierzęta. Badaniami objęto stada bydła, świń i owiec w gospodarstwach uspołecznionych, położonych na terenie woj. gdańskiego i elbląskiego. Teren obu województw został urzędowo uznany za wolny od brucelozy w 1975 r. Wcześniej, w latach 1970—1971, odstąpiono na tym terenie od stosowania u bydła szczepionki S-19. Do badań wybierano zwierzęta, które w badaniach okresowych a brucelozę, a następnie w badaniach kontrolnych po upływie 21 dni, wykazywały wątpliwe lub dodatnie wyniki w OA oraz ujemne wyniki w OWD. Od tych zwierząt pobierano próbki krwi po raz trzeci, po 21 dniach od badania kontrolnego. W latach 1977—1979 zbadano łącznie 994 krowy, 134 świny i 176 owiec, 180 krów i 19 świń, u których stwierdzono dodatnie reakcje w OA i OME, skierowano do uboju jako podejrzane o brucelozę i wykonano badania bakteriologiczne.

Metody laboratoryjne. Badania serologiczne w kierunku brucelozy wykonano w odczynie aglutynacji (OA) według instrukcji nr 15 (8), w odczynie wiąża-

nia dopełniacza (OWD) według własnego projektu instrukcji nr 52 (10) oraz w odczynie z 2-merkaptopetanolom (OME) według techniki standardowej (20). Surowice bydła i świń zbadano także w odczynie antyglobulinowym (OAG), stosując standardową technikę opracowaną dla bydła (19). Owiec w OAG nie badano. Badania serologiczne w kierunku salmonelozy wykonano w odczynie aglutynacji próbówkowej, stosując antygen *S. typhimurium* i *S. enteritidis*, wytwarzany w Instytucie Weterynarii w Puławach. Badania bakteriologiczne i biologiczne na świnkach morskich wykonano według instrukcji nr 16 (8). Materiał do tych badań pobierano z narządów wewnętrznych, węzłów chłonnych (biodrowe, okołogardzielowe, nadwymieniowe), narządów rodnych oraz ze szpiku kości długich.

Wyniki i omówienie

Spośród 994 krów (tab. 1), które w badaniach kontrolnych wykazywały wątpliwy lub dodatni wynik w OA, tylko u 5,6% krów stwierdzono spadek miana do 12,5, co świadczy o dużej stabilności tych mian u badanego bydła. Wszystkie badane krowy były ujemne w OWD i nie posiadały w zasadzie aglutynin niekompletnych; tylko u 0,1% krów stwierdzono w OAG miano wyższe o 3^o rozcieńczenia od miana OA, zaś u 1,2% przewyższenie to wynosiło 2^o. Powyższe wyniki OAG oceniono odpowiednio jako dodatnie i wątpliwe (19). Nieliczne surowice bydlęce o mianie >25 zawierały aglutyniny kompletne częściowo w IgG, gdyż w OME nie uzyskano całkowitego zaniku aglutynacji; u 1,1% krów miano OME było równe mianu OA, zaś u 4,0% wystąpił częściowy zanik aglutynacji. Wyniki te uznano odpowiednio za dodatnie i wątpliwe (20).

Spośród 134 badanych świń (tab. 2), dodatnich lub wątpliwych w OA w badaniu kontrolnym, większość zwierząt utrzymywała ten wynik w badaniu wykonanym po 21 dniach. Tylko u 8,2% świń stwierdzono spadek miana OA do 12,5. Dodać jednak należy, że w przeciwieństwie do bydła, niskie miana OA u świń są mniej stabilne. U wielu świń z dodatnim wynikiem OA w badaniu pierwszym, brak było dodatnich reakcji w badaniu drugim, po upływie 21 dni. Zwie-

Tab. 1. Rozkład mian i wyników badań serologicznych 994 krów

Liczba badanych zwierząt	Bruceloza							Salmoneloza, miana OA z antygenami					
	Miano OA	Wyniki OME *)			Wyniki OAG *)			<i>S. typhimurium</i>			<i>S. enteritidis</i>		
		—	±	+	—	±	+	≤ 25	50	100	≤ 25	50	100
56	12,5	56	—	—	54	1	1	40	13	3	15	25	16
651	25	640	4	7	642	9	—	387	206	58	140	278	233
271	50	238	29	4	269	2	—	136	111	24	44	109	118
16	100	9	7	—	16	—	—	8	5	3	6	5	5
994		943	40	11	981	12	1	571	335	88	205	417	372
%		94,9	4,0	1,1	98,7	1,2	0,1	57,4	33,7	8,9	20,6	42,0	37,4

Objaśnienia: *) — kryteria rozpoznawcze według obowiązujących instrukcji (19, 20).

Tab. 2. Rozkład mian i wyników badań serologicznych 134 świń

Liczba badanych zwierząt	Bruceloza						Salmoneloza, miana OA z antygenami						
	Miano OA	Wyniki OME *)			Wyniki OAG *)			<i>S. typhimurium</i>			<i>S. enteritidis</i>		
		—	±	+	—	±	+	≤ 25	50	100	≤ 25	50	100
11	12,5	11	—	—	10	1	—	5	3	3	5	3	3
54	25	54	—	—	53	1	—	19	22	13	15	20	19
42	50	41	1	—	42	—	—	23	16	3	16	13	13
27	100	25	2	—	27	—	—	20	6	1	19	5	3
134		131	3	—	132	2	—	67	47	20	55	41	38
%%		97,8	2,2	0,0	98,5	1,5	0,0	50,0	35,0	14,9	41,0	30,6	28,4

Objaśnienia: *) — jak w tab. 1.

Tab. 3. Rozkład mian i wyników badań serologicznych 176 owiec

Liczba badanych zwierząt	Bruceloza				Salmoneloza, miana OA z antygenami					
	Miano OA	Wyniki OME *)			<i>S. typhimurium</i>			<i>S. enteritidis</i>		
		—	±	+	≤ 25	50	100	≤ 25	50	100
85	6,25	25	—	—	63	14	8	42	29	14
77	12,5	77	—	—	52	20	5	38	27	12
14	25	14	—	—	6	2	6	4	6	4
176		176	—	—	121	36	19	84	62	30
%%		100,0	0,0	0,0	68,8	20,5	10,8	47,7	35,2	17,0

Objaśnienia: *) — jak w tab. 1.

rzęta tego rodzaju nie zostały uwzględnione w tab. 2. Wszystkie badane świny były ujemne w OWD i prawie wszystkie reagowały ujemnie w odczynach dodatkowych; tylko 1,5% świń wykazywało wątpliwy wynik w OAG oraz 2,2% wątpliwy wynik w OME.

Z kolei, spośród 176 badanych owiec (tab. 3) wszystkie zwierzęta reagowały ujemnie w OWD i OME. Z powodu braku surowicy anty-globuliny owcze, badań w OAG nie wykonano. Poziom anty-*Brucella* był dla owiec, podobnie jak u bydła, dość stabilny. Wszystkie badane owce zachowały w drugim lub trzecim badaniu niezmiennione miano OA w granicach 6,25—25 (tab. 3).

Z tab. 1—3 wynika, że u wszystkich badanych krów, świń i owiec występowały aglutyniny reagujące z antygenem *S. typhimurium* oraz *S. enteritidis* w niskich mianach od 12,5 do 100.

W badaniach bakteriologicznych i biologicznych na świnkach morskich, wykonanych na

materiale pobranym od 180 krów i 19 świń (tab. 4), nie wykazano obecności bruceli. Natomiast u bydła w 62% przypadków stwierdzono drobnoustroje z rodziny *Enterobacteriaceae*, w 20% przypadków ziarniaki, a w 15,5% przypadków wynik był ujemny. U świń w 70% przypadków uzyskano wynik ujemny (tab. 4).

Jeśli przyjąć za Fenske (4), że swoistość odczynu serologicznego jest tym większa, im mniej jest wyników fałszywie dodatnich przy badaniu populacji zwierząt wolnych od brucelozy, to w świetle wyników badań własnych należy aglutynację z antygenem *Br. abortus* uznać za odczyn mało swoisty. Zakres występowania nieswoistych wyników OA, obliczony w stosunku do całkowitej liczby zbadanych zwierząt na terenie obu województw w latach 1977—1979, przedstawia się następująco: bydło — wyniki dodatnie 0,21%, wątpliwe 1,97%, świny — wyniki dodatnie 0,19%, wątpliwe 0,82% owce — wyniki dodatnie 0,05%, wątpliwe 2,4%. Podobny zakres występowania nieswoistych wyników

w OA stwierdziła w stadach świń wolnych od brucelozy Lewkowiczowa (14), zaś u bydła w NRD Fenske (4) i w RFN Scheibner (18).

Wyniki uzyskane w OA z antygenami *Salmonella* (tab. 1—3) mogą wskazywać na znaczne rozprzestrzenienie tych drobnoustrojów w popularyzacji zwierząt badanych. Przeczy temu niewielka liczba przypadków izolowania z badanego materiału pał. rodzaju *Salmonella* (tab. 4). Z piśmiennictwa wiadomo, że brak jest korelacji między wynikami badań serologicznych na salmonelozę (7, 21, 22). Ponieważ rozkład mian OA z antygenami *Salmonella* był niezależny od rozkładu mian uzyskanych z antygenem *Br. abortus* (tab. 1—3), trudno doszukiwać się korelacji między tymi wynikami. Na podstawie przedstawionych wyników badań uznano za niecelowe stosowanie w OA antygenów *Salmonella* do różnicowania swoistych i nieswoistych dla brucelozy aglutynin u bydła, świń i owiec.

zrzął wczesne stadium brucelozy, kiedy to przeciwciała anty-*Brucella* występują głównie w klasie IgM i kiedy dodatnie reakcje w OA mogą być pierwszym sygnałem zakażenia brucelami. Jak bowiem zaznaczono, materiał do badań pobierano po upływie co najmniej 3 tygodni od stwierdzenia dodatnich reakcji w OA, a więc w okresie, gdy w patogenie brucelozy dominują zwykle przeciwciała IgG. Uzyskane wyniki badań stanowią potwierdzenie tezy, że obserwowane w okresowych badaniach na brucelozę aglutyniny heteroswoiste należą głównie do klasy IgM, bardzo aktywnej w OA (1, 3, 5, 6).

Część krów wykazujących stabilne, dodatnie reakcje w OA z antygenem *Br. abortus*, a jednocześnie ujemne wyniki w OWD, OAG i OME, pozostawiono w stadach macierzystych. Obserwacje epizootyczne tych stad pozwoliły wykluczyć brucelozę. Dodać należy, że w okresie ostatnich 4 lat, po uznaniu terenu obu województw za wolny od brucelozy, nie notowano u bydła

Tab. 4. Zestawienie wyników badań bakteriologicznych zwierząt podejrzanych o brucelozę na podstawie dodatnich reakcji w OA i OME

Stwierdzone drobnoustroje	Wyniki badań bakteriologicznych	Liczba krów				Wyniki badań bakteriologicznych	Liczba świń			
		Wyniki serologiczne *)					Wyniki serologiczne *)			
		OA		OME			OA		OME	
		±	+	±	+		±	+	±	+
<i>E. coli</i>	99	70	29	12	3	2	1	1	—	—
<i>S. dublin</i>	4	2	2	1	1	1	—	1	—	—
<i>S. typhimurium</i>	5	1	4	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. enteritidis</i>	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. choleraesuis</i>	2	2	—	—	—	2	2	—	—	—
gronkowce	28	21	7	3	1	1	1	—	—	—
paciorkowce	7	6	1	—	1	—	—	—	—	—
dwoinki	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—
pał. odmienca	3	2	1	—	—	—	—	—	—	—
wynik ujemny	28	20	8	3	1	13	4	9	—	—
Razem	180	128	52	19	7	19	8	11	—	—

Objaśnienia: *) — jak w tab. 1.

Jak zaznaczono, w badanym materiale nie stwierdzono bruceli. W wynikach badań bakteriologicznych zwraca uwagę częste występowanie *E. coli* (tab. 4). Drobnoustrój ten może być przyczyną aglutynin krzyżowo reagujących w OA z antygenem *Br. abortus*, za czym przemawiają wyniki badań Lamb i wsp. (13). Na uwagę zasługuje także duża liczba przypadków, w których izolowano gronkowce (tab. 4). Może to mieć związek z zakażeniami gronkowcowymi gruczołu mlekowego u bydła oraz dróg rodnych w okresie poporodowym u świń. W piśmiennictwie brak jest danych o wzbudzaniu przez gronkowce nieswoistych dla brucelozy aglutynin.

W wynikach badań serologicznych (tab. 1—3) na uwagę zasługuje duża zgodność ujemnych wyników OWD i OAG (średnio 98,6%) oraz OWD i OME (średnio 97,6%). Świadczy to o braku przeciwciał anty-*Brucella* klasy IgG, a tym samym o braku czynnej postaci brucelozy u badanych zwierząt (2, 5). Z dużym prawdopodobieństwem wykluczyć można u badanych zwie-

ronień na tle brucelozy. Również w stadach świń i owiec nie zaobserwowano na tym terenie objawów nasuwających podejrzenie brucelozy.

W oparciu o przedstawione wyżej wyniki badań oraz dane piśmiennictwa (2, 5, 15) opracowano model postępowania w badaniach serologicznych bydła, świń i owiec na terenach wolnych od brucelozy, który w podstawowym zakresie obowiązuje od dnia 4.10.1979 r. (16). W modelu tym przyjęto jako zasadę śledzenie dynamiki przeciwciał anty-*Brucella*. Tak więc, zwierzęta wykazujące w badaniu okresowym dodatnie lub wątpliwe wyniki w OA, przy ujemnych wynikach w OWD, należy badać w badaniu kontrolnym, po upływie 21 dni, w dwóch dodatkowych odczynach aglutynacyjnych, tzn. w OAG (19) i OME (20). Jeśli sytuacja epizootyczna nie budzi zastrzeżeń, ujemne wyniki w tych odczynach upoważniają do pozostawienia badanych zwierząt w stadach macierzystych i do zwolnienia tych stad z nałożonych rygorów sanitarno-weterynaryjnych (9, 17, 23).

Należy dodać, że w trakcie wykonywania opisanych badań i obserwacji stwierdzono dodatnie reakcje w OWD (10—160 mj/ml) u 2 świń i 12 sztuk bydła, pochodzących z różnych gospodarstw. Część z tych zwierząt reagowała dodatkowo także w OAG i OME. Badanie bakteriologiczne po autopsji tych zwierząt nie wykazało bruceli. Przyczyną tych reakcji mogło być zakażenie *Yersinia enterocolitica*, serotyp 09, silnie spokrewniony antygenowo z rodzajem *Brucella*. Przegląd piśmiennictwa na ten temat opublikowano wcześniej (11).

Wnioski

1. Niskie, stabilne miana OA z antygenem *B. abortus*, występujące u pojedynczych zwierząt w stadach bydła, świń i owiec, posiadają z reguły nieswoisty dla brucelozy charakter.
2. Na terenach wolnych od brucelozy, wątpliwe lub dodatnie wyniki w OA, przy ujemnych wynikach w OWD, należy weryfikować przy pomocy dodatkowych odczynów aglutynacyjnych (OME i OAG).
3. Ujemne wyniki OAG i OME upoważniają do pozostawienia w stadach macierzystych zwierząt wykazujących dodatnie reakcje w OA, pod warunkiem, że sytuacja epizootyczna w danym stadzie nie budzi zastrzeżeń.

Piśmiennictwo

1. Allan G. S., Chappel R. J., Williamson P., McNaught D. J.: J. Hyg., Camb. 76, 287, 1976.
2. Alton G. G., Jones L. M., Pletz D. E.: Laboratory techniques in brucellosis. Wild Hlth Org. Monogr. Ser. No. 55, WHO, Geneva, 1975.
3. Beh K. J.: Aust. vet. J. 51, 481, 1975.
4. Fenske G.: Mh. Vet. Med. 32, 18, 1977.
5. Fifth report FAO/WHO Exp. Comm. Bruc. Rome, 1971.
6. Hajdu S., Beseda T., Polak B.: Vet. Med., Praha, 19, 141, 1974.
7. Hall G. A., Jones P. W., Aitken M. M., Persons K. R.: J. Hyg., Camb. 81, 31, 1978.
8. Instrukcja Min. Rol. Dep. Wet. nr 16 i nr 15. Przepisy o zwalczaniu brucelozy zwierząt. PWRIL, 1968.
9. Instrukcja Min. Rol. Dep. Wet. z dnia 5.11.1976 w sprawie rozpoznawania brucelozy zwierząt. WETz-gb-4414-1/76.
10. Instrukcja Min. Rol. Dep. Wet. nr 52 z dnia 31.05.1980. WETsp-II. 4414-6/80.
11. Królak M., Kurek Cz.: Medycyna Wet. 30, 395, 1974.
12. Królak M., Stryszak A.: Medycyna Wet. 34, 669, 1978.
13. Lamb V. L., Jones L. M., Schuring G. G., Berman D. T.: Infect. Immun. 26, 240, 1979.
14. Lewkowicz H.: Biul. VI Zjazdu PTNW, Wrocław, 1978, t. II, s. 571.
15. Morgan W. J. B., MacKinnon D. J., Gill K. P. W., Gower S. G. M., Norris P. I. W.: Brucellosis diagnosis standard laboratory techniques. Central Veterinary Laboratory, Weybridge, 1978.
16. Pismo Min. Rol. Dep. Wet. z dnia 4.10.1979. WETz-II-4414-21/79.
17. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa z dnia 16.04.1975 w sprawie obowiązku zgłaszania oraz zwalczania brucelozy zwierząt. Dz. U. PRL, nr 13, poz. 77 i 78 z dnia 29.04.1975.
18. Scheibner E.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 89, 300, 1976.
19. Standardowa technika odczynu antyglobulinowego (OAG) w rozpoznawaniu brucelozy bydła. Instytut Weterynarii, Puławy, 1978.
20. Standardowa technika odczynu z 2-merkaptotanołem (OME) w rozpoznawaniu brucelozy zwierząt. Instytut Weterynarii, Puławy, 1979.
21. Weinstein A. J., Forkas S.: Med. Clin. North Am. 62, 1099, 1978.
22. Wray C., Sojka W. J.: Res. vet. Sci. 25, 139, 1978.
23. Zarządzenie nr 69 Ministra Rolnictwa z dnia 8.06.1977. Dz. Urz. Min. Rol. nr 7, poz. 25, 1977.

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

Круляк М., Хылиньский Г., Сtryшак А., Новосельский Т., Марцинецкий В. — Исследования по появлению неспецифических для бруцеллеза агглютининов у крупного рогатого скота, свиней и овец. Модель подхода в распознавательных исследованиях.

В 1977—1979 гг. исследовали 994 коровы, 134 свиньи и 176 овец, у которых обнаружили низкие, стабильные титры в реакции агглютинации (РА) с антигеном *B. abortus*. Животные происходили хозяйств, свободных от бруцеллеза. Все животные реагировали отрицательно в реакции связывания комплемента (РСК), и лишь небольшое их число реагировало положительно в антиглобулиновой реакции (АР) и в реакции с 2-меркаптоэтанолом (РМ). У всех животных констатировали положительные реакции в РА с антигеном *S. typhimurium* и *S. enteritidis* (таб. 1—3). 180 коров и 19 свиней, положительно реагирующих в РА и РМ, подвергли забою. В бактериологических и биологических исследованиях на морских свинках не показали у этих животных бруцелл, обнаружили зато другие микроорганизмы (таб. 4). Результаты лабораторных исследований и эпизоотических наблюдений позволили исключить бруцеллез у исследуемых животных и признать положительные реакции в РА с антигеном *B. abortus* гетероспецифическими. В принятой модели подхода в распознавательных исследованиях сочли целесообразным проверять неспецифических реакций в РА при помощи АР и РМ.

-аьиР.цштатмаС.-Р

Królak M., Chyliński G., Stryszak A., Nowosielski T., Marciniński W. — Examinations on the occurrence of bovine, pig and sheep nonspecific antibodies against *Brucella* spp. Procedure in diagnostic studies.

In 1977—1979 the authors examined 994 cows, 134 pigs and 176 sheeps with low but permanent levels of agglutinins against *B. abortus*. The animals originated from farms free from brucellosis. Sera of the animals did not react in complement fixation (CF) and only few sera did so in antiglobulin test (RAG), and in the test with 2-mercaptoethanol (RME). Agglutinins against *S. typhimurium* and *S. enteritidis* (tab. 1—3) were noticed in the sera of all the animals. One hundred and eighty cows and nineteen pigs with positive titers in agglutination test and with 2-mercaptoethanol were slaughtered. Bacteriological and biological examinations performed on guinea-pigs did not reveal presence of *Brucella* spp.; instead other bacterial cells were found (tab. 4). Laboratory tests and epizootiological observations allowed to exclude brucellosis in the animals under study and to treat the presence of agglutinins against *B. abortus* antigen as heterospecific. It was concluded that nonspecific reaction in agglutination test should be verified by RAG and RME.

CURTIS M. J., SCOTT B. W., BUTLER E. J.: Wpływ endotoksyny *Escherichia coli* 078 na lipidy plazmy kur. (Effect of *Escherichia coli* 078 endotoxin on plasma lipids in the domestic fowl). Res. Vet. Sci. 29, 133-134, 1980 (1).

Badania przeprowadzono na 9-10 tygodniowych kurczętach rasy rodajlendy. U kurcząt po dożylniej iniekcji endotoksyny *Escherichia coli* 078 w dawce 1 mg/kg wagi ciała obniżał się poziom trójglicerydów, cholesterolu i fosfolipidów w plazmie w okresie 2-5 godzin. Zastosowana endotoksyna zawierała 2,47% białka, 2,04% nieorganicznego fosforu oraz brak kwasów nukleinowych. Dawka endotoksyny podana dożylnie odpowiadała 0,02 LD dla kurcząt.

G.