

we na podstawie ich morfologicznych cech (ryc. 1a). Inne struktury o wymiarach ca 40 nm (ryc. 1b), będące przypuszczalnie podjednostkami koronawirusów, nie podlegają hemadsorpcji. Ich identyfikacja (6) wymaga zastosowania techniki znakowanych przeciwciał.

### Wnioski

1. Technika HE-HA może być stosowana do oczyszczania i zagęszczania koronawirusów namnożonych w hodowli komórek.

2. Dobre wysycenie erytrocytowych receptorów i wydajną elucję koronawirusa można uzyskać przez kilkakrotnie powtarzaną adsorpcję ze świeżymi porcjami wirusa w temperaturze 4°C i następnie kilkakrotną elucję w temperaturze 37°C.

3. Obecność koronawirusa w supernatancie po przeprowadzonej jedno- lub kilkakrotnej adsorpcji do erytrocytów można uważać za przejaw pełnego wysycenia erytrocytowych receptorów.

### Piśmiennictwo

1. Van Balken J. A. M., De Leeuw R. W., Ellens D. J., Straver P. J.: Vet. Microbiol. 3, 205, 1978/79.
2. Chengping L.: Isolierung, Charakterisierung und Epizootiologie Boviner Coronaviren. Praca dokt. Wydział Weterynaryjny Uniwersytetu w Monachium, 1985.
3. Grover Y. P., Srivastava R. N., Pandey Sharma V. K.: Vet. Rec. 106, 467, 1980.
4. Haralambiev H. E., Popov G. V., Mitov B. K., Ignatov G. T.: Dokl. Bolg. Akad. Nauk 31, 257, 1978.
5. Larski Z.: Diagnostyka wirusologiczna chorób zwierząt. PWRiL, Warszawa 1977, s. 174.
6. Malicki K., Malicka E., Ładyńska A., Bańbura M. W.: Medycyna Wet. (w druku).
7. Sato K., Inaba Y., Kurogi H., Takahashi E., Satoda K., Omori T., Matumoto M.: Vet. Microbiol. 2, 83, 1977.
8. Sharpee R., Mebus C. A., Bass E. P.: Am. J. Rec. 37, 1031, 1976.
9. Štěpánek J., Menšík P., Menšík J., Franz J., Smid B., Valíček L.: Vet. Med. 27, 1, 1982.
10. Toth T. E.: Am. J. Vet. Res. 43, 967, 1982.
11. Wellemans G., Oyaert W., Muylle E., Thoonen H. van Opdenboch E.: Vlaams Diergeneesk. Tijdschr. 46, 249, 1977.

Adres autora: prof. dr hab. Konrad Malicki, ul. J. Bruna 14 m. 20, 02-594 Warszawa

ZBIGNIEW SZYMKIEWICZ, MARIAN BINEK, DANUTA ROMANOWSKA \*\*, FADEUSZ JAKUBOWSKI \*, KRYSZYNA SAWICKA-WRZOSEK \*\*

## Odczyn mikroaglutynacji płytowej w rozpoznaniu dyzenterii świń w stadzie. I. Optymalizacja metodyki wykonania mikroaglutynacji płytowej (MAP)\*

Katedra Mikrobiologii oraz Katedra Epizootiologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

\*\* Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Lechicka 21, 02-156 Warszawa

### Summary

**Microagglutination test in the diagnosis of swine dysentery. I. Optimization of microagglutination test for the detection of *Treponema hyodysenteriae* antibody in pig sera**

The microagglutination test (MAT) for the detection of *Treponema hyodysenteriae* antibody in pig sera has been described. From the faeces and colon contents of pigs there have been isolated 115 *T. hyodysenteriae* and 38 *T. innocens* strains. The isolates represented mostly serotype 2 biotype I. A suspension of *Treponema* spp inactivated with formalin (0.1%) proved to be most useful. No decrease of antibodies against *T. hyodysenteriae* in sera with positive titres against *Leptospira* was found following absorption with antigens against *Leptospira* spp.

Jones i wsp. (6) sugerowali, że odczyn mikroaglutynacji (MA) z zastosowaniem zawiesiny krętków uzyskiwanych przez splukanie bakterii z podłoża stałego i inaktywowanie ich mertiolatem albo temperaturą, pozwalała na wykrycie przeciwciał przeciwko chorobotwórczym szczepom *Treponema hyodysenteriae*. Stwierdzili, że odczyn ten jest swoisty i daje powtarzalne wyniki. Egan i wsp. (5) porównali przydatność odczynu mikroaglutynacji (MAP) z odczynem ELISA do wykrywania poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae*. Wykazali wyższą czułość odczynu ELISA, jednakże z 11 stad wolnych od dyzenterii w 3 z nich stwierdzono tym odczynem pozytywne miana przeciwciał przeciwko *Treponema hyodysenteriae*. Testem mikroaglutynacji (MA) ogólnie wykryto mniejszą liczbę pozytywnych surowic w stadach zakażonych, lecz wszystkie

badane surowice pochodzące ze stad wolnych dały negatywne wyniki. Może to sugerować, że odczyn ELISA jest bardzo czuły, lecz mniej swoisty, natomiast MA jest mniej czuła, ale bardziej swoista. Baum i Jones (1) określili 4 najczęściej występujące w Ameryce serotypy *Treponema hyodysenteriae*, natomiast Lemcke i Bew (7) sugerowali występowanie dodatkowych serotypów w Anglii.

W kraju nie prowadzono dotychczas tego typu badań. Wstępne badania przeprowadzone przez Szymkiewicza i wsp. (9) na małej liczbie szczepów *T. hyodysenteriae* wskazywały na dominację serotypu 2 tego zarazka w kraju oraz istnienie w obrębie tego serotypu szczepów epidemicznych. Konieczne było zbadanie większej liczby szczepów *Treponema hyodysenteriae* izolowanych w kraju w celu wytypowania odpowiedniego szczepu do przygotowania antygeny diagnostycznego.

Celem pracy było:

- a) oznaczenie serotypów *Treponema hyodysenteriae* występujących w kraju,
- b) określenie przydatności różnych metod inaktywacji krętków w celu przygotowania antygeny do odczynu MAP,
- c) sprawdzenie trwałości antygenów w czasie ich przechowywania,
- d) wstępne określenie poziomu przeciwciał przeciwko *Treponema hyodysenteriae* oraz *Treponema innocens* w leptospiro-ujemnych surowicach świń,
- e) sprawdzenie wpływu adsorpcji przeciwciał przeciwko *Leptospira* sp. surowic świń leptospiro-dodatnich na wynik odczynu MAP z antygenami *Treponema hyodysenteriae*.

\* Praca wykonana w ramach CPBR 10.4 finansowanego przez Instytut Weterynarii w Puławach.

## Materiał i metody

Ogółem przebadano 148 szczepów krętków *Treponema sp.* izolowanych z jelit i kału świń z objawami dyzenterii i asymptomatycznych nosicieli z chlewni woj. gorzowskiego, warszawskiego, białostockiego, radomskiego, częstochowskiego, śląskiego, konińskiego, wrocławskiego, toruńskiego i poznańskiego. Bardziej szczegółowym badaniom fizjologicznym i biochemicznym poddano 115 szczepów.

Standardowe szczepy użyte do przygotowania antygeny do MAP otrzymane od dr Amsberga z Uniwersytetu w Hanowerze:

B 204 *T. hyodysenteriae* biotyp I serotyp 2

B 78 *T. hyodysenteriae* biotyp I serotyp 1

B 256 *T. innocens*

Najczęściej stosowane w doświadczeniu szczepy *T. hyodysenteriae* izolowane w naszym laboratorium:

Sz2 — *T. hyodysenteriae* biotyp I serotyp 2

7 — *T. hyodysenteriae* biotyp I serotyp 2

29 — *T. hyodysenteriae* biotyp I reagujący z surowicą przeciwno serotypowi 1 i 2

T — *T. hyodysenteriae* biotyp II

23 — *T. innocens*

9 — *T. innocens*

Serotypy *Leptospira sp.* użyte do oznaczania przeciwciał przeciwko *Leptospira*: *L. icterohaemorrhagiae* (RGA), *L. pomona* (Pomona), *L. grippityphosae* (Moskwa), *L. sejroe* (M-84), *L. tarassovi* (Parepelicin), *L. canicola* (Hond Utrecht). Szczepy pochodziły z Pracowni Badania Bruce-ly Instytutu Weterynarii w Gdańsku. Surowice testowe do okresowego sprawdzania przynależności szczepu do serotypu pochodziły również z wymienionej Pracowni.

Do izolacji krętków zastosowano podłoża wg Szykiewicza i wsp. (8) oraz metody hodowli podane w pracy Binek i wsp. (3). Różnicowanie krętków jelitowych oparto o metody opisane w pracy Binka i Szykiewicza (4). Do wykonania tych badań konieczne było przygotowanie surowic odpornościowych.

Surowice przeciwko standardowym szczepom *Treponema hyodysenteriae* B78 — serotyp 1, B204 — serotyp 2, *Treponema innocens* B 256, PWS5, uzyskiwano poprzez uodpornienie królików wg metody Baun i Jones (2). Surowicę przefiltrowano przez celulozowe filtry o porach 0,22 µm i przechowywano w stanie zamrożenia w temp. -30°C.

W celu uzyskania surowic diagnostycznych, surowice odpornościowe absorbowano nieswoistymi antygenami:

1 — B78 (serotyp 1) absorbowano szczepami B256, B204

2 — B204 (serotyp 2) absorbowano szczepami B256, B78

3 — B256 (*Treponema innocens*) absorbowano szczepami B204, B78

4 — PWS5 nieenteropatogeny szczep *Treponema sp.* absorbowano szczepami B256, B78, B204.

Każdy szczep posiewano na 15 płytek podłoża TSA + YE + RF. Po 72 h inkubacji w warunkach beztlenowych krętki splukiwano roztworem PBS, wirowano 15 000 obrotów na min. przez 15 min. Osad zawieszano w 1,0 ml PBS.

Surowice odpornościowe anty *Treponema hyodysenteriae* absorbowano równą objętością krętków *Treponema innocens* i innych nie należących do tego gatunku. Surowice anty *Treponema innocens* absorbowano szczepami *Treponema hyodysenteriae* i szczepami innymi niż *Treponema innocens*. Z kolei surowice skierowane przeciwko *Treponema sp.* izolowane od świń (szczep PWS5) absorbowano szczepami *T. hyodysenteriae* i *T. innocens*.

Supernatant surowic odpornościowych skierowanych przeciwko serotypowi 1, absorbowano zawieszoną szczepu serotypu 2 miareczkując zawieszoną krętków tego serotypu do momentu utraty w aglutynacji szkiełkowej przeciwciał anty serotypowi 2, ale zachowaniu wyraźnej reakcji z homologicznym serotypem. W przypadku serotypu 2 postępowano podobnie z tym, że surowice anty serotypowi 2 absorbowano krętkami serotypu 1. Absorpcję przeprowadzano w temp. 37°C przez 4 h, a następnie przez 18 h w temp. 4°C, uzyskując ostateczne rozcieńczenie surowic 1:4 lub 1:5. Po absorpcji surowice odwirowywano przez 15 000 obrotów na minutę przez 15 min., sączono przez filtry celulozowe o porach 0,22 µm i przechowywano w temp. -30°C. Frakcję gamma globulinową uzyskano po przepuszczeniu surowicy przez sefadex 200 G, fine i zagęszczeniu w roztworze glikolu. Surowicę konserwowano azydkiem sodu.

W celu wykonania testu aglutynacji szkiełkowej do oznaczania serotypu na szkiełko podstawowe nakraplano 3 krople surowicy. Pobierano eż 72 h hodowlę krętków z podłoża stałego i zawieszano w każdej kropli. Natychmiastowe pojawienie się aglutynacji odczytywano jako reakcję swoistą. W próbie kontrolnej stosowano fizjologiczny roztwór soli oraz normalną surowicę królika.

Poziom przeciwciał anty *Leptospira* określano testem aglutynacji mikroskopowej zgodnie z obowiązującą w kraju instrukcją. Absorpcję surowic z antygenem *Leptospira* wykonano wg techniki stosowanej do przygotowania surowic diagnostycznych.

Poziom przeciwciał przeciwko *Treponema sp.* określano testem mikroaglutynacji płytkowej (MAP) według Takatsy, stosując płytki do aglutynacji z basenami w kształcie litery U oraz aglutynację próbkową.

Przed badaniem surowice inaktywowano w łaźni wodnej o temp. 56°C przez 30 min. Surowice rozcieńczano w PBS 0,01 M o pH 7,2. Antygeny stanowiące zawiesziny krętków w PBS były inaktywowane 0,1% formaliną, temp. 70°C przez 10 min. oraz mertiolatem (0,01%). Gęstość antygeny mierzono spektrofotometrem przy długości fali 600 nm. Rozcieńczenie robocze antygeny wynosiło 0,2 j absorbancji. Wynik MAP odczytywano makroskopowo po 18–20 h inkubacji w temp. 38°C.

Wyniki badań nad doбором metody wykazały, że próba aglutynacji próbkowej dała wyraźnie rozbieżne wyniki oraz była mało czytelna i trudna do interpretacji. W związku z tym nie stosowano tej metody w dalszych badaniach.

Analizę statystyczną przeprowadzono testem t-Studenta.

## Wyniki i omówienie

W wyniku skróconego różnicowania biochemicznego i fizjologicznego ze 148 szczepów *Treponema sp.* 113 okazało się *Treponema hyodysenteriae*, 35 *Treponema innocens*. Na podstawie rozszerzonych badań właściwości biochemicznych i fizjologicznych, którym poddano losowo wybranych 115 szczepów ustalono, że 65 to *T. hyodysenteriae* biotyp I, 32 *T. hyodysenteriae* biotyp II, (4) 18 szczepów to *Treponema innocens*. Dane te wskazują, że wśród izolowanych w kraju szczepów *T. hyodysenteriae* dominuje biotyp I. Wymienionych 143 szczepów użyto do określania serotypu szczepów *Treponema sp.*

Tab. 1. Serotypy krętków *Treponema sp.* izolowanych od świń w latach 1982–1987 badane metodą aglutynacji szkiełkowej

Szczepy	Liczba badanych szczepów	Liczba (%) szczepów reagujących ze swoistymi surowicami przeciw <i>T. hyodysenteriae</i>				Liczba (%) szczepów, które nie reagowały z żadną surowicą
		serotyp 1	serotyp 2	1+2	<i>T. innocens</i> B 256	
<i>Treponema hyodysenteriae</i> biotyp I, II	113	13 (11,5)	64 (56,6)	17 (15)	0	19 (16)
<i>Treponema innocens</i>	35	0	0	0	25 (71,5)	10 (28,5)

W tab. 1 przedstawiono serotypy krętków *Treponema* sp. izolowane od świń pochodzących z różnych rejonów kraju w latach 1982—1987, badane metodą aglutynacji szkiełkowej. Z przedstawionych danych wynika, że około 57% *Treponema hyodysenteriae* reagowało z surowicą *T. hyodysenteriae* serotypu 2, 15% z surowicą *T. hyodysenteriae* serotypu 1 i 2 i jedynie 11,5% z serotypem 1. Jednakże 16% nie reagowało z żadną z użytych surowic. Powyżej 70% szczepów *Treponema innocens* reagowało z surowicą przygotowaną przeciwko standardowemu szczepowi B256.

W związku z tym dominującym serotypem *T. hyodysenteriae* w badanym okresie był serotyp 2, a zatem do badania poziomu przeciwciał powinno się przede wszystkim zastosować *T. hyodysenteriae* serotypu 2, a w mniejszym stopniu serotypu 1. Należy jednakże pamiętać, że surowice nieadsorbowane, przygotowane z jednego serotypu, aglutynują również ze szczepami innych serotypów i w mniejszym stopniu z antygenem *Treponema innocens*. Z przedstawionych w tabeli danych wynika również, że w kraju występują szczepy innych serotypów niż serotyp 1 i 2 oraz, że istnieje różnicowanie serologiczne *Treponema innocens*. Po określeniu dominującego serotypu należało sprawdzić przydatność różnych metod inaktywacji antygeny używanego do MAP.

Tab. 2 przedstawia porównanie mian 17 losowo wybranych surowic leptospiro-dodatnich, badanych przy pomocy antygeny *Treponema hyodysenteriae* nr 7, serotyp 2, inaktywowanych formaliną i thiomersalem (merthiolatem). Z przedstawionych danych wynika, że wyższe miana uzyskiwano stosując inaktywację antygeny merthiolatem, w porównaniu do antygeny inaktywowanego formaliną, odczyt wyniku był jednak mało czytelny, co może być powodem pomyłek w subiektywnej ocenie. W związku z tym w dalszych badaniach zrezygnowano z inaktywacji antygeny przy użyciu merthiolatu.

W tab. 3 przedstawiono wyniki badania przydatności zawiesiny krętków szczepu *Treponema hyodysenteriae* 7, serotyp 2, inaktywowanej formaliną (0,1%) lub temperaturą (70°C przez 10 min.) stosując standardową surowicę skierowaną przeciwko serotypowi 2. Z przedstawionych danych wynika, że ogrzewanie uszkadza antygen w różnym stopniu. W przypadku MAP z ogrzewanym antygenem obserwowano, że osad układa się na dnie basenu smugami, co może powodować niemiernodajny odczyt reakcji. W związku z tym, że zarówno inaktywacja krętków merthiolatem, jak i działaniem temperatury 70°C przez 10 min., powodowały nieprawidłowe wyniki reakcji w próbie mikroaglutynacji, w dalszych badaniach stosowano wyłącznie antygen inaktywowany 0,1% formaliną.

W tab. 4 przedstawiono wyniki wstępnego badania antygenów przed ich użyciem do odczynu. Jako zasadnicze kryterium wysokości miana przyjęto miano MAP z surowicą standardową przygotowaną przeciwko określonym serotypowi równe lub powyżej 256, jak również wyraźny, czytelny odczyn i brak autoaglutynacji. Z przedstawionych w tabeli danych wynika, że niektóre szczepy utraciły pewne determinanty antygenowe (antygen B78), inne stały się szorstkie. Jedynie szczep *T. hyodysenteriae* 29 serotypu 1 i 2 okazał się przydatny do odczynu mikroaglutynacji, ponieważ jego miano z surowicą standardową wykazywało poziom pomiędzy 256 a 1024.

Analizując przyczyny nieprzydatności antygeny do omawianej próby stwierdzono, że w przypadku słabe-

Tab. 2. Porównawcze zestawienie mian 17 losowo wybranych surowic leptospiro-dodatnich badanych przy użyciu antygeny *Treponema hyodysenteriae* 7, serotyp 2

Antygen	Zakres mian			
	16—32	64—128	256	512
M	1	6	4	6
F	6	5	2	4

Objaśnienia: M — antygen inaktywowany 0,01% merthiolatem, F — antygen inaktywowany 0,1% formaliną.

Tab. 3. Zestawienie wyników mikroaglutynacji płytowej z zastosowaniem surowicy standardowej oraz antygeny *Treponema hyodysenteriae* 7, ogrzewanego (70°C/10 min.) względnie formalizowanego (0,1%)

Antygen	Miana surowicy w kolejnych powtórzeniach			
	1	2	3	4
Ogrzewany +70°C/10 min.	256	128	0	128
Formalizowany 0,1%	256	256	256	256

Objaśnienia: 0 — brak osadu aglutynacyjnego, + — antygen ogrzewany układa się na dnie basenu smugami, odczyn może być niemiernodajny.

Tab. 4. Wstępne badania antygeny *Treponema hyodysenteriae* przed jego użyciem w odczynie mikroaglutynacji

Antygen	Surowica	Miano surowicy
Th B78	B78 ser. 1	16
		16
		32
Th OK	OK ser. 2	szorstki
Th 29 ser. 1 ser. 2	29 ser. 1 i 2	1024
		256
		512

Tab. 5. Test mikroaglutynacji z surowicami leptospiro-ujemnymi przy zastosowaniu antygeny przechowywanego do 32 dni

Antygen i rodzaj inaktywacji	Miano surowic				Razem
	do 16	32—64	128—256	512 i >	
Antygen 7 (ser. 2) 0,1% formalina					
Powtórzenie:					
7 dni	0	4	10	2	16
14 dni	5	10	1	0	16
21 dni	2	3	2	0	7
32 dni	4	3	1	0	8
Antygen T (ser. 1 i 2) 0,1% formalina					
Powtórzenie:					
7 dni	2	8	6	0	16
14 dni	5	2	0	0	7
21 dni	3	4	0	0	7
32 dni	—	—	—	—	—

Objaśnienia: 0 — żadna surowica nie reaguje, — nie badano.

go wzrostu często wielokrotnie pasażowanego szczepu otrzymuje się zawiesinę, która ulega autoaglutynacji, co określono umownie jako szczep szorstki. W niektórych przypadkach stałego wzrostu *T. hyodysenteriae* uzyskuje się niskie miano odczynu z surowicą testową. Do przygotowania zawiesiny wykazującej wysokie miano odczynu z surowicą testową służyły zwykle po-

Tab. 6. Oznaczanie miana leptospiro-ujemnych surowic przeciwko antygenom *T. hyodysenteriae* i *T. innocens*

Antygen	Miano surowic				Ogółem badano
	do 16	32— —64	128— —256	512 i >	
<i>T. hyodysenteriae</i> 7 (ser. 2) miano surowicy kontrolnej 256/512	8	27	80	37	152
<i>T. hyodysenteriae</i> T (ser. 1 i 2) miano surowicy kontrolnej 256	2	4	26	16	48
B 256 ( <i>T. innocens</i> ) miano surowicy kontrolnej 256	64	79	28	3	174

Tab. 7. Poziom przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* surowic leptospiro-dodatnich z antygenem Sz2 *T. hyodysenteriae* serotypu 2

Miana surowic p/ko <i>Leptospira</i>		Miana surowic p/ko <i>T. hyodysenteriae</i>	
surowice		surowice	
niewysyczone **	wysyczone **	nie-wysyczone *	wysyczone *
<i>tarassovi</i> 1:200	1:25	64	100
<i>pomona</i> 1:200	1:25	32	100
<i>pomona</i> 1:3200	1:320	128	200
<i>pomona</i> 1:200	1:25	16	100
<i>tarassovi</i> 1:100	1:25	128	100
<i>tarassovi</i> 1:100	1:25	64	100
<i>icterohaem.</i> 1:100	1:25	16	100
<i>icterohaem.</i> 1:100	1:25	128	200
<i>tarassovi</i> 1:100	1:25	32	200
<i>tarassovi</i> 1:200	1:25	1024	400
<i>tarassovi</i> 1:400	1:40	1024	400
<i>tarassovi</i> 1:100	1:25	16	100
<i>tarassovi</i> 1:100	1:25	256	100
<i>tarassovi</i> 1:400	1:400	256	100
<i>tarassovi</i> 1:800	1:100	256	100
<i>tarassovi</i> 1:1600	1:160	256	200

Objaśnienia: miano surowicy kontrolnej: R78 : 256, \* — brak istotnej różnicy pomiędzy średnimi mianami surowicy niewysyczonej i wysyczonej  $p > 0,05$ , \*\* — różnice średnich mian surowicy wysyczonej i niewysyczonej istotne  $p < 0,001$ .

płuczyny z dywanowo posianej 72 h lub młodszej dobrze wyrosniętej hodowli w postaci nalotu. Taka hodowla wykazywała cechy określone jako wzrost w fazie gładkiej.

W tab. 5 przedstawiono odczyn MAP z surowicami świń, przy użyciu antygeny przechowywanego w różnym czasie. Pierwszą serię aglutynacji wykonano z antygenami nie zamrożonymi, następnie antygen zamrażano, po 8 dniach odmrożono i do końca doświadczenia przechowywano w temp. 4°C. Uzyskane dane sugerują, że na ogół w trakcie przechowywania antygenów w okresie 32 dni spada miano aglutynacyjne. Ponadto obserwuje się wahania w poziomie tych mian.

W tab. 6 przedstawiono miana surowic leptospiro-ujemnych świń oznaczone przy zastosowaniu różnych antygenów *T. hyodysenteriae* i *T. innocens*. Z danych tych wynika, że wyższe miana uzyskiwano stosując w tym przypadku jako antygen szczep *T. hyodysenteriae* biotyp I, II serotyp 1, 2 oraz *T. hyodysenteriae* 7 biotyp I serotyp 2 w porównaniu z antygenem *T. innocens* z użyciem każdego miana okazały się niższe. W piśmiennictwie sugerowano istnienie wspólnych antygenów pomiędzy *Treponema sp.* i *Leptospira sp.* Celowe więc było badanie wpływu absorpcji przeciw-

ciał przeciwko *Leptospira* na poziom przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae*. Ze względu na wysycenie surowic, konieczne było użycie innej skali rozcieńczeń, jak podano w tabeli.

W tab. 7 przedstawiono wyniki określania miana przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach leptospiro-dodatnich, nieabsorbowanych i absorbowanych. Ogólnie jednak należy stwierdzić, że nie ma statystycznie istotnej różnicy pomiędzy poziomem przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach wysyczonych antygenem *Leptospira sp.* w porównaniu z surowicami niewysyczonymi.

Reasumując stwierdzono:

- w latach 1982—1987 dominowały w kraju szczepy *T. hyodysenteriae* biotyp I serotyp 2, występowały również szczepy *T. hyodysenteriae* serotypu 1 biotyp II oraz innych serotypów,
- przydatną metodą określania poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicy świń jest MAP z zastosowaniem jako antygeny zawiesiny krętków inaktywowanych 0,1% formalina,
- w leptospiro-ujemnych surowicach świń występują wyraźnie wyższe miana przeciwciał *T. hyodysenteriae* serotyp 2 i serotyp 1, 2 aniżeli poziom przeciwciał przeciwko standardowemu szczepowi *T. innocens* B256,
- brak jest spadku miana przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach świń, po wysyceniu tych surowic antygenami.

Otrzymane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że odczyn aglutynacji płytowej z zawiesiną krętków inaktywowanych formalina może być przydatny w diagnostyce dyzenterii świń w stadzie.

#### Piśmiennictwo

- Baum G. H., Jones L. A.: Infect. Immun. 26, 792, 1979.
- Baum G. H., Jones L. A.: Infect. Immun. 26, 1211, 1979.
- Binek M., Szynkiewicz Z., Rumińska A.: Medycyna Wet. 36, 336, 1980.
- Binek M., Szynkiewicz Z.: Comp. Immun. Microbiol. 7, 141, 1984.
- Egon I. T., Harris D. L., Jones L. A.: Am. J. Vet. Res. 44, 1323, 1983.
- Jones L. A., Harris D. L., Kinyon J. M., Kaererle H. L.: J. Clin. Microbiol. 8, 292, 1987.
- Lemcke R. M., Bew J.: Proc. 8-th Int. Pig. Vet. Soc. Congress, Ghent, 1984, s. 183.
- Szynkiewicz Z., Binek M.: Comp. Immun. Microbiol. 9, 71, 1986.
- Szynkiewicz Z., Binek M., Jakubowski T., Dziąba K.: Proc. 9-th Int. Pig. Vet. Soc. Congress, Barcelona, 1986, s. 183.
- Zwierzechowski J.: Instrukcja nr 35 Min. Roln. Dep. Wet. z 25. 07.74 (Wet.-1-640/10/74).

Adres autora: prof. dr hab. Zbigniew Szynkiewicz, ul. Hibnera 9 m. 37, 00-018 Warszawa

**JORM L. R.: Żoły w stadach koni: występowanie, czynniki ryzyka, rezultaty szczepienia. (Strangles in horse studs: Incidence, risk factors and effect of vaccination).** Aust. vet. J. 67, 436—439, 1990 (12)

Przeanalizowano występowanie żoły, czynniki usposabiające do ich występowania oraz efekty szczepień w 171 stadach koni w okresie 1985—1988 w Nowej Południowej Walii. W 49 (27,4%) stadninach żoły wystąpiły masowo co najmniej raz, zaś w 62 (34,6%) przynajmniej jeden koń chorował na żoły. Średnie nasilenie zachorowań na 100 koni w okresie roku wynosiło 2,1. Najważniejszym czynnikiem ryzyka było zwiększenie liczebności zwierząt w stadzie. Również niektóre metody żywienia i źródła wody pitnej sprzyjały wystąpieniu żoły. Szczepienia przeprowadzone w 35,6% badanych stadnin nie wykazały istotnego wpływu na występowanie żoły.