

23. *Sebunya T. N. K., Saunders J. R., Osborne A. D.*: Can. vet. J. 23, 324, 1982.
 24. *Sebunya T. N. K., Saunders J. R.*: J. Am. vet. med. Assoc. 182, 1331, 1983.
 25. *Sebunya T. N. K., Saunders J. R., Osborne A. D.*: Can. J. comp. Med. 47, 54, 1983.

26. *Shope R. E.*: J. Exp. Med. 119, 357, 1964.

Adres autora: dr Kazimierz Tarasiuk, ul. Kościuszki 12 m. 17, 24-100 Puławy

ZBIGNIEW SZYNKIEWICZ, DANUTA ROMANOWSKA**, MARIAN BINEK,
 TADEUSZ JAKUBOWSKI*, KRYSZYNA SAWICKA-WRZOSEK**

Odczyn mikroaglutynacji płytowej jako metoda diagnostyczna dyzenterii świń w stadzie. II. Określenie poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach świń*)

Zakład Bakteriologii Katedry Mikrobiologii oraz
 * Katedra Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
 ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa,
 ** Zakład Higieny Weterynaryjnej ul. Lechicka 4, 02-156 Warszawa

Summary

Microagglutination test in the diagnostics of swine dysentery. II. Antibody titer against *T. hyodysenteriae* in pig sera

Microagglutination test (MA) for the detection of antibodies against *Treponema hyodysenteriae* was used to assess 783 sera collected from naturally infected pigs from different regions of Poland. It was found that sera from sows displayed high levels of antibodies (titers 128 or more). Similar titers were found in young pigs and less often in piglets. In addition, higher titers of the antibodies were observed in sera derived from pigs which had also antibodies against *Leptospira* sp. suggesting simultaneous infection of the animals with those two microorganisms. This conclusion was supported by the fact that there was not stated any cross reactivity between *T. hyodysenteriae* and *Leptospira* sp.

Jones i wsp. (6) sugerowali, że odczyn mikroaglutynacji (MA) z zastosowaniem zawiesiny krętków inaktywnych merthiolatem albo temperaturą, pozwala na wykrycie przeciwciał przeciwko chorobotwórczym szczepom *T. hyodysenteriae*. W naszych badaniach (10) stwierdzono, że lepsze wyniki określania poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicy świń uzyskuje się stosując zawiesinę krętków inaktywowanych 0,1% formaliną.

Egan i wsp. (5) wykazali wyższą czułość odczynu ELISA, jednakże w 3 z 11 stad wolnych od dyzenterii stwierdzono tym odczynem pozytywne miana przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae*. Testem mikroaglutynacji (MA) wykryto mniejszą liczbę pozytywnych surowic ze stad zakażonych *T. hyodysenteriae*, lecz wszystkie badane surowice pochodzące ze stad wolnych od DS dały negatywne wyniki przy zastosowaniu tej metody. Baum i Jones (1, 2) określili 4 najczęściej występujące w USA serotypy *T. hyodysenteriae*. Lemcke i Bew (7) sugerowali występowanie w Anglii dodatkowych serotypów.

Badania własne (9) wykazały w kraju dominację serotypu 2 oraz 1 i 2 *T. hyodysenteriae*. W związku z tym do badań na obecność przeciwciał w surowicach świń należało użyć szczepów serotypu 2 albo 1, 2 do przygotowania antygenu do odczynu MA.

Celem pracy było:

— określenie poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* serotyp 2 lub 1, 2 w leptospiro-dodatnich

i leptospiro-ujemnych surowicach krwi świń pochodzących z różnych rejonów kraju,

— określenie poziomu przeciwciał anty *Leptospira* sp. w badanych surowicach,

— zbadanie dynamiki zmian poziomu przeciwciał anty *Treponema* sp. u macior, warchlaków i prosiąt w fermie, w której występuje zakażenie *T. hyodysenteriae*, oraz prosiąt z miotów wolnych od tej choroby,

— określenie przydatności tego odczynu do diagnostyki stada w kierunku DS.

Materiał i metody

Ogółem przebadano 246 surowic leptospiro-ujemnych pochodzących z centralnych województw, w tym 46 surowic ze stada pod naszą kontrolą oraz 210 surowic leptospiro-dodatnich pochodzących z centralnych województw i 38 surowic z fermy, w której występuje dyzenteria świń. Łącznie wykonano badania 783 surowic. Surowice kontrolne sporządzono wg metody opisanej przez Szynkiewicza i wsp. (10) używając szczepów standardowych *T. hyodysenteriae* B78 biotyp I serotyp 1, B204 biotyp I serotyp 2, 256 *Treponema innocens*. Wymienione szczepy otrzymano od dr Amtsberga z Instytutu Mikrobiologii Wyższej Szkoły Weterynaryjnej w Hannoverze. Surowice służyły do sprawdzenia przydatności antygenów. W przypadku uzyskania mian poniżej 128 — partia takiego antygenu była odrzucana.

Antygeny przygotowano zgodnie z sugestią Szynkiewicza i wsp. (10), inaktywując zawiesziny szczepów *T. hyodysenteriae* 0,1% formaliną. Do przygotowania antygenu używano następujących szczepów:

- B78 — *Treponema hyodysenteriae* biotyp I serotyp 1
- 28B — *Treponema hyodysenteriae* biotyp I serotyp 2
- 7 — *T. hyodysenteriae* biotyp I serotyp 2
- 29 — *T. hyodysenteriae* biotyp I serotyp 1 i 2
- T — *T. hyodysenteriae* biotyp II reagujący z surowicą przeciwko serotypowi 1 i 2
- B204 — *T. hyodysenteriae* biotyp I serotyp 2
- B256 — *T. innocens*
- 23 — *T. innocens*

Do oznaczania przeciwciał przeciwko *Leptospira* użyto hodowli serotypów: *L. icterohaemorrhagiae* (RGA), *L. pomona* (Pomona), *L. grippityphosae* (Moskwa V), *L. sejroe* (M-84), *L. tarassovi* (Parepelicin), *L. canicola* (Hond Utrecht). Szczepki pochodziły z Pracowni Badania Brucelozy Instytutu Weterynarii w Gdańsku. Surowice testowe do okresowego sprawdzania przynależności szczepu do serotypu pochodziły również z wym. Pracowni.

Poziom przeciwciał przeciwko *Treponema* sp. określano testem mikroaglutynacji płytowej, techniką Takatsy, stosując płytki do aglutynacji z basenami w kształcie litery U. Przed badaniami surowice inaktywowano w łaźni wodnej w temp. 56°C przez 30 min. Surowice rozcieńczano w 0,01 M PRS o pH 7,2. Antygeny stanowiące zawiesziny krętków w PBS były inaktywowane 0,1% formaliną. Gęstość antygenu mierzono spektrofotometrem przy długości fali 600 nm. Rozcieńczenie robocze antygenu wynosiło 0,2 j

*) Praca wykonana w ramach problemu CPBR 10.4.

absorpcji. Wynik mikroaglutynacji odczytywano mikroskopowo po 18–20 h inkubacji w temp. 33°C.

Poziom przeciwciał anty *Leptospira* określano testem aglutynacji mikroskopowej zgodnie z obowiązującą w kraju instrukcją (11). Istotność różnicy badano testem χ^2 .

Wyniki i omówienie

W tab. 1 przedstawiono wyniki określania miana przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* i *T. innocens* w leptospiro-ujemnych surowicach pochodzących od świń, macior i warchlaków ze stada doświadczalnego. Z tych danych wynika, że w stadzie zakażonym najniższe miana stwierdzono u prosiąt, najwyższe u macior. Najniższe miana obserwowano u prosiąt pochodzących z miotów wolnych od DS. Wykazano więc, że na skutek styczności z krętkami wzrasta wraz z wiekiem u świń poziom przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae*.

W tab. 2 przedstawiono wyniki określania poziomu przeciwciał anty *Leptospira* sp. w surowicach świń. Z przedstawionych danych wynika, że najwięcej surowic reagowało z *Leptospira tarassovi*, *Leptospira icterohaemorrhagiae* oraz *Leptospira pomona*.

W tab. 3 przedstawiono wyniki oznaczania poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* i *T. innocens* w surowicach świń leptospiro-dodatnich pobranych w 1987 r. Z danych tych wynika, że duży procent (55%) surowic wykazywało wysoki poziom przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae*.

W tab. 4 przedstawiono wyniki określania poziomu przeciwciał przeciwko *Treponema* sp. w surowicach leptospiro-dodatnich badanych w 1988 r. Z przedstawionych danych wynika, że w surowicach pobranych od świń w 1988 r. stwierdzono jeszcze wyższy odsetek wysokich i bardzo wysokich mian (76%), a niższy przeciwnie szczerp *T. innocens*. Mimo dość wysokiego poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* nie stwierdzono ani razu wyższych mian przeciwciał przeciwko *T. innocens* w surowicy badanych świń.

W tab. 5 przedstawiono wyniki określania poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach leptospiro-dodatnich, i leptospiro-ujemnych oraz pobranych z fermy D, gdzie DS występuje stacjonarnie. Z danych tych wynika, że statystycznie istotnie więcej surowic świń leptospiro-dodatnich wykazywało bardzo wysokie miana przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* niż w leptospiro-ujemnych surowicach. Statystycznie wysoce istotnie więcej surowic pochodzących od świń z fermy, w której DS występowała stacjonarnie, wykazywało bardzo wysokie miana przeciw *T. hyodysenteriae* niż w surowicach leptospiro-ujemnych. Logicznym jest, że statystycznie istotnie więcej surowic leptospiro-ujemnych wykazywało niskie miana przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* niż w surowicach leptospiro-dodatnich i pochodzących z fermy, gdzie DS występowała stacjonarnie.

Prace Egon i wsp. (5), Jones i wsp. (6) sugerowały, że odczyn mikroaglutynacji jest swoistym testem do diagnostyki dyzenterii świń w stadzie. Znalazło to potwierdzenie w badaniach Szynkiewicza i wsp. (8, 9, 10). W pracy tej sugerowano brak krzyżowej reakcji w teście MA pomiędzy *Leptospira* sp. i *Treponema hyodysenteriae*. Koniecznym jednak było sprawdzenie tej sugestii w badaniach surowic pochodzących od świń w terenie. Obserwowano wysokie miana przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach u macior, mniejsze u warchlaków i jeszcze mniejsze u prosiąt, zwłaszcza w miotach wolnych od DS wskazują na to, że naj-

Tab. 1. Określenie poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* i *T. innocens* w surowicach leptospiro-ujemnych pochodzących od świń ze stada doświadczalnego

Grupa zwierząt Antygen	Miano surowic					Razem
	do 16	32–64	128–256	512 i >		
Maciory antygen T (ser. 2) sur. kontr. 256	1	1	4	4		10
Prosięta j.w.	1	5	2	2		10
Warchlaki j.w.	3	9	7	1		20
Prosięta zdrowe antygen B78 (ser. 1) sur. kontr. 256	0	6	0	0		6
Prosięta zdrowe antygen B256 (T. innocens) sur. kontr. 256	1	5	0	0		6

Objaśnienie: 0 — żadna surowica nie reaguje.

Tab. 2. Określenie poziomu przeciwciał przeciwko *Leptospira* sp. w badanych surowicach świń

Nazwa serotypu <i>Leptospira</i>	Miano surowic					Razem surowic reagujących
	100	200	400	800	1600	
	liczba surowic reagujących					
<i>L. tarassovi</i>	31	13	12	4	1	61
<i>L. pomona</i>	8	7	4	2	3	24
<i>L. icterohaem.</i>	25	10	4	0	0	39
<i>L. canicola</i>	2	1	0	0	0	3
<i>L. sejroe</i>	0	0	0	0	0	0
<i>L. grippotyphosa</i>	0	0	0	0	0	0

Tab. 3. Określenie poziomu przeciwciał przeciwko *Treponema hyodysenteriae* biotyp I serotyp 1, biotyp II serotyp 1 i 2 oraz *Treponema innocens* surowic leptospiro-dodatnich badanych w 1987 r.

Szczep	Miano surowic				Razem
	do 16	32–64	128–256	512 i >	
<i>T. hyodysenteriae</i> B78 biotyp I serotyp 1	4 (8,3)	17 (35,4)	22 (45,8)	5 (10,4)	
<i>T. hyodysenteriae</i> biotyp II serotyp 1 i 2	14 (29,0)	17 (35,4)	17 (35,4)	0 (0)	48
<i>T. innocens</i> B256	10 (20,8)	19 (39,5)	16 (33,3)	3 (6,25)	
<i>T. hyodysenteriae</i> biotyp I serotyp 1 i 2	17 (28,3)	14 (23,3)	25 (41,6)	4 (6,6)	60 *

Objaśnienie: * — inna partia surowic, inna seria antygeny; liczba w nawiasach oznacza odsetek.

Tab. 4. Określenie poziomu przeciwciał przeciwko *Treponema* sp. w surowicach leptospiro-dodatnich badanych w 1988 r.

Antygen	Miano				Razem
	do 16	32–64	128–256	512 i >	
<i>T. hyodysenteriae</i> 28B	1 (1,3)	5 (6,7)	12 (16,2)	56 (75,7)	74
<i>T. innocens</i>	2 (3,3)	16 (27,1)	24 (40,6)	17 (28,8)	59

prawdopodobniej w czasie wzrostu świnię stykają się wielokrotnie z *T. hyodysenteriae* które stymulują wzrost miana przeciwciał w surowicach świń starszych — macior. Bardzo wysoki procent wysokich pozytywnych mian surowic przeciwko *T. hyodysen-*

Tab. 5. Określenie poziomu przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach leptospiro-dodatnich i leptospiro-ujemnych oraz surowicach pobranych z fermy D

Surowice	Miana				Razem
	do 16	32—64	128—256	512 i >	
Leptospiro-ujemne	8 (10,1)	25 * (31,6)	21 (26,5)	25 * (31,6)	79
Leptospiro-dodatnie	4 (3,9)	15 * (14,7)	25 (24,5)	58 * (56,8)	102
Tuczarnia D	2 (5,2)	1 * (2,6)	10 (26,3)	25 * (65,7)	38

Objaśnienie: * — istotność różnic przy $p \leq 0,05$.

teriae w kraju, sugeruje powszechne rozsianie krętków w fermach. Dane te potwierdzają obserwacje kliniczne, wskazujące na występowanie dyzenterii świń w większych fermach w kraju. W przedstawionej pracy wykazano statystycznie istotnie większy procent wysokich mian przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach leptospiro-dodatnich świń, w porównaniu do leptospiro-ujemnych surowic badanych odczynem mikroaglutynacji. Porównanie wyników badań poszczególnych surowic nie wykazało korelacji pomiędzy mianem przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* i mianem przeciwciał przeciwko *Leptospira* sp.

Biorąc pod uwagę brak przeciwciał przeciwko *Leptospira* sp. w surowicach królików uodpornionych *T. hyodysenteriae* oraz brak zmian miana przeciwciał przeciwko *Treponema* sp. po absorpcji surowic antygenem *Leptospira* sp. i stwierdzony w tej pracy brak korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* i *Leptospira* sp. w surowicach świń pobranych w terenie, można stwierdzić, że w odczynie MA nie obserwuje się reakcji krzyżowych pomiędzy *Leptospira* sp. a *T. hyodysenteriae*. Brak reakcji krzyżowej obserwowano mimo znanego w piśmiennictwie faktu obecności wspólnych antygenów *Leptospira* sp. i *Treponema* sp. Statystycznie istotnie większy procent wysokich mian przeciwko *T. hyodysenteriae* w leptospiro-dodatnich surowicach świń może być spowodowany złymi warunkami zoohigienicznymi (np. w zaszczerzonych fermach), gdzie obserwuje się leptospirozę, które prowadzą często do podwójnego zakażenia tymi zarazkami. Biorąc pod uwagę obserwowaną przez nas subkliniczną postać dyzenterii można stwierdzić z dużym prawdopodobieństwem jeszcze częstsze występowanie DS niż wynikałoby to z klinicznych obserwacji.

Bardzo wysoki poziom przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach świń, gdzie DS występuje stacjonarnie, potwierdza przydatność tego odczynu do diagnostyki stada w kierunku DS.

Stwierdzone przez Szykiewicza i wsp. (8) występowanie szczepów epidemicznych w fermach wykazuje na mechanizm, jaki prawdopodobnie prowadzi do pojawienia się w surowicach krwi świń w dużym procencie wysokich mian. Słabą stroną tego odczynu są problemy z produkcją i przechowywaniem antygeny *T. hyodysenteriae* w postaci zawiesiny. Byłoby celowe przy wprowadzeniu odczynu MA badanie możliwości zmiany czynnika inaktywującego, jakim w tym przypadku jest formalina, która obniża miano przeciwciał przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicy.

Wnioski

Wyniki przeprowadzonych badań pozwalają stwierdzić, że:

1. Odczyn mikroaglutynacji jest swoistym odczynem przydatnym do diagnostyki DS w stadzie.
2. Odczyn mikroaglutynacji pozwala na stwierdzenie dużego lub bardzo dużego odsetka pozytywnych mian przeciwko *T. hyodysenteriae* świń w kraju, co wskazuje na powszechne rozsianie tego zarazka.
3. Wyższy odsetek dodatnich mian przeciwko *T. hyodysenteriae* w surowicach świń pochodzących z ferm, gdzie występuje leptospiroza jest prawdopodobnie spowodowany zakażeniami zwierząt obydwoma zarazkami w złych warunkach zoohigienicznych.

Piśmiennictwo

1. Baum G. H., Jones L. A.: Infect. Immun. 23, 792, 1979.
2. Baum G. H., Jones L. A.: Infect. Immun. 26, 1211, 1979.
3. Binek M., Szykiewicz Z., Rumińska A.: Medycyna Wet. 36, 336, 1980.
4. Binek M., Szykiewicz Z.: Comp. Immun. Microbiol. 7, 141, 1984.
5. Egon I. T., Harris G. L., Jones L. A.: Am. J. Vet. Res. 44, 1323, 1983.
6. Jones L. A., Harris D. L., Kinyon J. M., Kaebler H. L.: J. Clin. Microbiol. 8, 292, 1987.
7. Lemcke R. M., Bew J.: Proc. 3-th Int. Pig. Vet. Soc. Congress, Ghent, 1984, s. 183.
8. Szykiewicz Z., Binek M.: Comp. Immun. Microbiol. 9, 71, 1985.
9. Szykiewicz Z., Binek M., Jakubowski T., Dziąba K.: Proc. 9-th Int. Pig. Vet. Soc. Congress, Barcelona 1983, s. 183.
10. Szykiewicz Z., Binek M., Romanowska D., Jakubowski T., Sawicka-Wrzošek K.: Medycyna Wet. (w druku).
11. Zwierzchowski J.: Instrukcja nr 35 Min. Roln. Dep. Wet. z 25.07.74 (Wet.-1-640/10/74).

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

MORRELL J. M., NOAKES D. E., ZINTZARAS E., DRESER D. W.: Wyraźne obniżenie płodności jałówek po kolejnych synchronizacjach rui przy użyciu cloprostenole. (Apparent decline in fertility in heifers after repeated oestrus synchronisation with cloprostenol). Vet. Rec. 128, 404—407, 1991 (17)

W okresie od 1980—1988 śledzono płodność u krów, u których stosowano synchronizację rui przy użyciu analogu prostaglandyny F2 alfa-cloprostenole. Przy zoptymalizowanej inseminacji stwierdzono obniżenie odsetka zwierząt zachodzących w ciążę wraz z kolejnymi synchronizacjami rui. Przyczyna tego zjawiska może być wieloraka. Na pewno jakieś znaczenie posiada zmniejszenie wrażliwości receptorów prostaglandynowych, neutralizacja prostaglandyny na drodze immunologicznej, zaburzenia hormonalne wpływające na transport gamet i endometritis. Nie można też wykluczyć bezpośredniego wpływu prostaglandyny F2 alfa na ruch gamet poprzez jej wpływ na kurczliwość mięśniówki gładkiej układu rozrodczego.

G.

GRIFFITHS J. B., DONE S. H., HUNT B. W.: Zapalenie płuc u maciory wywołane przez *Streptococcus suis* typ II i *Bordetella bronchiseptica*. (Pneumonia in a sow due to *Streptococcus suis* type II and *Bordetella bronchiseptica*). Vet. Rec. 128, 354—355, 1991 (15)

Zarówno *Streptococcus suis* typ II, jak i *Bordetella bronchiseptica* wywołują zakażenia u prosiąt. U maciory rozwinęło się zmartwiające zapalenie płuc w następstwie zakażenia tymi dwoma zarazkami. U chorego zwierzęcia stwierdzano obniżenie masy ciała, duże ilości wydzieliny w tchawicy i w oskrzelach, powiększenie śródpiersiowych i oskrzelowych węzłów chłonnych, obrzęki epikardialne zwłaszcza wokół tętnic wieńcowych, konsolidację dogłową, doogrodową i dodatkowego płata płuc i 65% płata doogrodowego i powiększenie śledziony. Wyłącznie z płuc wyosobniono *S. suis* typ II i *B. bronchiseptica*. Ponadto ze śledziony wyizolowano pojedyncze kolonie *Escherichia coli*. Zmiany histologiczne były charakterystyczne dla zmartwiającego zapalenia płuc.

G.