

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

JERZY WIŚNIEWSKI, POLA GRAJEWSKA, MARIA DROŻDŻYŃSKA

Przydatność uzupełniających odczynów zlepných w rozpoznawaniu brucelozy bydła

Zakład Higieny Zwierząt Instytutu Weterynarii w Bydgoszczy
Kierownik: prof. dr J. WIŚNIEWSKI

Z piśmiennictwa wiadomo, że stosowanie uzupełniających odczynów zlepných ułatwia rozpoznanie brucelozy bydła (7, 9, 11). Za odczyny uzupełniające uznano tzw. aglutynację gorącą (AGL 56) i odczyn antyglobulinowy (OAG). Ocenę własną (13) posiadamy tylko odnośnie do OAG, brak natomiast w Polsce danych o wartości AGL 56. Zdaniem niektórych autorów AGL 56 umożliwia wykrycie reakcji fałszywie pozytywnych występujących niekiedy w powolnym, próbówkowym odczynie zlepnym (AGL 37), natomiast OAG przyczynia się do wykrycia przeciwnych niekompletnych a więc ujawnia wyniki fałszywie ujemne w AGL 37 (wg 15, 16). Wydawało się przeto celowe, wykonać badania porównawcze przy zastosowaniu do badania surowicy krów pochodzących ze specjalnie wybranych obór — czterech odczynów, aby uzyskać własną opinię o celowości kompleksowego badania serologicznego.

Materiał i metody

Badania wykonano w czterech oborach wielkostadnych, w których terenowi lekarze wet. i regionalny ZHW natrafiali na trudności interpretacji wyników badania serologicznego. Było objęte badaniami (264 krów i jałówek szczepionych za młodu p-w brucelozie) było rasy ncb, kondycji przeciętnej. Niektóre sztuki reagowały na tuberkulinę. Przeciętna mleczność przewyższała średnią krajową. Warunki środowiskowe i pielęgnacyjne nie odbiegały od warunków panujących w tego typu gospodarstwach. Wyniki badania serologicznego na brucelozę uzyskane poprzednio przez ZHW wskazywały na to, że u poszczególnych zwierząt reakcje były raz dodatnie, raz ujemne, a wśród sztuk reagujących dodatnio miano ulegało znacznym waha-

niom. W badanych oborach poronienia występowały sporadycznie, brak było jednak miarodajnej dokumentacji na jakim tle.

Surowice (uzyskane przy jednorazowym pobraniu krwi) badano czterema odczynami serologicznymi:

a) AGL 37 wg zaleceń Kom. Eksp. FAO/WHO d/s brucelozy (1, 19),

b) AGL 56 wg Kuntera (10),

c) OAG wg metody stosowanej w Zakładzie (13, 18),

d) OWD wg metody stosowanej w Zakładzie (17).

W OAG zbadano o 30 zwierząt mniej, tj. 234 sztuki.

W odczynach zlepných (a, b, c) stosowano antygen wyprodukowany przez Instytut Weterynarii, a sprawdzony przez nas wobec surowicy standardowej z Instytutu w Weybridge (ISAbS), przy czym posługiwano się techniką opisaną przez Altona i Jonesa (1). Gęstość zawiesiny bakteryjnej antygeny ustalono zgodnie z wymogami (19). W OWD stosowano antygen uprzednio opisany (17). Surowicę antyglobulinową stosowaną w OAG sporządzono i miareczkowano w Zakładzie (18).

Wyniki i omówienie

Z porównania wyników uzyskanych w AGL 37 i AGL 56 (tab. 1) widać, że w większości przypadków tj. w 70,1%, surowice zawierały aglutyniny kompletne w ilości określonej jako wynik dodatni (50 miedzynar. jednostek aglut. — mj agl — lub więcej). Zastosowanie w takich przypadkach AGL 56 miało na celu — zgodnie z danymi wynikającymi z piśmiennictwa (15, 16) — określić czy wykazane aglutyniny są odporne na ogrzewanie tj. czy można je zaliczać do aglutynin anty — *Brucella*. Wyniki świadczą, że w 92% przypadków wynik w AGL 56 nie uległ zmianie, czyli brak było podstaw aby miana uzyskane w AGL 37

Tab. 1. Porównanie wyników uzyskanych w AGL 37 oraz AGL 56 *)
Table 1. Comparison of results obtained in AGL 37 and in AGL 56 *)

Liczba surowic Number of sera	Wyniki pozytywne w AGL 37 **) Positive results in AGL 37 **)		Wyniki w AGL 56 Results in AGL 56					
			stosunek miana w AGL 56 do miana w AGL 37 relation of the titer in AGL 56 to the titer in AGL 37					
	liczba surowic number of sera	%	niższe — lower		równe — equal		wyższe — higher ***)	
			liczba surowic number of sera	%	liczba surowic number of sera	%	liczba surowic number of sera	%
Ogółem Total								
264	185	70,1	15	5,7	243	92,0	6	2,3

Objaśnienia — Legend

*) AGL 37 = powolna aglut. próbówkowa — slow tube agglut. test perfor. in 37°C

AGL 56 = tak samo przeprow. agl. z surowicą ogrzaną — aggl. perform. with heated sera.

**) gdy co najmniej 50 mj agl — when in serum 50 intern. aggl. units or more.

***) wyższe o 1—2 rozcieńczenia — higher against 1—2 dilutions (in an geometric row of dilut.).

można było uznać za fałszywie dodatnie. Ta sama interpretacja może być zastosowana do 2,3% prób, w których uzyskano w AGL 56 miana nieco wyższe. Najbardziej interesujące — z punktu widzenia diagnostyki praktycznej — są surowice (5,7%), w których uzyskano w AGL 56 miana niższe niż w AGL 37, przy czym wynik w OAG w tych próbach był diagnostycznie nieistotnie (13) podwyższony, a w OWD nie wykryto ciał wiążących dopełniacz. Na podstawie opinii innych autorów, surowice te możnaby zaliczyć do grupy dającej w AGL 37 wyniki fałszywie dodatnie. Anderson (2) uważa, że wyniki fałszywie dodatnie w AGL 37 występują wówczas gdy równocześnie przy badaniu takich surowic OAG nie podwyższa miana, w AGL 56 miano jest niższe, a w OWD ujemne. Wyniki fałszywie dodatnie w AGL 37 stwierdzali także i inni autorzy (3, 5, 6, 9), przy czym odsetki takich prób w zbadanym materiale były bardzo rozbieżne od 0,9% (9) do 37,6% (3). Uzyskiwane odsetki są naturalnie zależne od badanego pogłowia i panujących warunków epizootycznych. Kötsche (9) badał bydło w 10 powiatach NRD, a Beinhauer (3) w afrykańskiej republice Mali. Podobnie różne były odsetki notowane przez autorów dla grupy surowic wykazujących wyższe miano w AGL 56 niż w AGL 37. Beinhauer — we wspomnianym materiale — surowic takich zarejestrował 30,6%, podczas gdy myśmy otrzymali tylko 2,3%. Wydaje się, że w pracach Kuntera (10) oraz Hellmana i Heine (5) znajduje się wytłumaczenie tak dużych różnic. Wspomniani autorzy uważają, że surowice o opisanej charakterystyce zdarzają się częściej u bydła nie szczepionego p-w brucelozie, a właściwie takie bydło w Afryce badał Beinhauer — w przeciwieństwie do naszego materiału.

Z punktu widzenia diagnostyki praktycznie wykorzystywanej dla uwalniania stada od sztuk zakażonych, ważne jest nie tyle ujawnianie w AGL 37 wyników fałszywie dodatnich ile wyników fałszywie ujemnych.

Tego typu badania ilustruje tab. 2. Wyniki komentowaliśmy opierając się na obszernym piśmiennictwie, z którego wynika, że OAG można uznać za odczyn swoisty. Tym samym miana w nim uzyskane można przyjąć za diagnostycznie miarodajne. Ponadto w komentarzu danych tab. 2 posłużyły nam badania poprzednie (13). Uznaliśmy wówczas, że tylko wtedy OAG może być testem wspomagającym rozpoznanie brucelozy o ile przy ujemnym wyniku AGL 37 wykazuje się w nim co najmniej 200 mj agl. Zbliżony pogląd wyraża Körner (8). W tym świetle dane tab. 2 informują, że wyniki fałszywie ujemne w AGL 37 wystąpiły w 46% (35 zwierząt). Spośród tych surowic tylko cztery zawierały p-ciała wiążące dopełniacz. Ponieważ w badaniu rutynowym stosuje się tylko AGL 37 i OWD nie zarejestrowano (w jednokrotnym badaniu) 31 sztuk bydła z dużym prawdopodobieństwem zakażonego brucelozą.

Na podstawie porównania wyników odczynów zlepnych (tabela 1 i 2) dochodzi się do wniosku, że mniejsze znaczenie praktyczne miałoby poszerzenie diagnostyki o AGL 56, gdyż po pierwsze wyników fałszywie dodatnich było niewiele (2,3%), po wtóre przy radykalnej metodzie zwalczania brucelozy (likwidacja) bardziej istotne są przeoczenia diagnostyczne, do czego może prowadzić badanie rutynowe. Wobec tego, że wyniki fałszywie ujemne w AGL 37 są w niektórych populacjach dość częste (46% w stosunku do liczby prób ujemnych, 15% w stosunku do ogółu zbadanych)

Tab. 2. Porównanie wyników uzyskanych w AGL 37 oraz w OAG *)
Table 2. Comparison of results obtained in AGL 37 and in OAG *)

AGL 37		OAG					
Wyniki Results	liczba surowic number of sera	stosunek miana w OAG do miana w AGL 37 relation of titer in OAG to titer in AGL 37					
		równe — equal		wyższe — higher			
				o 1—2 rozc. against 1—2 dilution		o 3—4 rozc. against 3—4 dilution	
		liczba surowic number of sera	%	liczba surowic number of sera	%	liczba surowic number of sera	%
Ujemne negative	76	6	7,9	35	46,0	35	46,0
Dodatnie positive	158	14	8,9	109	69,0	35	22,1
Ogółem Total	234	20	8,5	144	61,5	70	30,0

Objaśnienia — Legend

*) OAG = odczyn antyglobulinowy — antiglobulin test (in diagnosis of special importance when the titer in OAG is higher against 3—4 dilutions than the negative AGL 37).

wprowadzenie dodatkowego odczynu zlepnego w postaci OAG wydaje się bardzo celowe.

Prócz odczynów zlepnych surowice badano także za pomocą OWD i spostrzeżono odmienny niż to ustalono poprzednio (12) wzajemny stosunek tych odczynów. Wyniki zestawiono w tab. 3. Wyniki te nie są potwierdzeniem naszych poprzednich obserwacji (12). Wówczas badaliśmy bydło zakażone i nie szczepione, a zgodność wyników sięgała 76%. Obecnie — gdy badaliśmy bydło uprzednio szczepione, które niejednokrotnie pomimo tego ulegało zakażeniu, oraz bydło szczepione w okresie wybuchu brucelozy w oborze — zgodność wyników AGL 37 i OWD sięga zaledwie 42%.

Tab. 3. Porównanie wyników uzyskanych w AGL 37 oraz w OWD *)

Table 3. Comparison of results obtained in AGL 37 and in OWD *)

Odczyn Test	Wyniki Results	AGL 37		Ogółem Total
		ujemne negative	dodatnie positive	
OWD	ujemne negative	75 (28,4%)	149 (56,4%)	224 (84,8%)
	dodatnie positive	4 (1,5%)	36 (13,6%)	40 (15,5%)
Ogółem surowic Total number of sera		79 (29,9%)	185 (70,1%)	264 (100%)

Objaśnienia — Legend

*) OWD = odczyn wiązania dopełniacza — complement fixation test.

Powyższe obserwacje skłaniają nas do rewizji schematu interpretacyjnego, jaki w swoim czasie opublikowaliśmy, gdyż okazuje się, że nie we wszystkich oborach wystarczające jest badanie surowicy krwi tylko dwoma rutynowymi odczynami. Z badań tu przedstawionych wynika, że w oborach, w których zwalczanie brucelozy odbywa się w sposób bardzo powolny (kilka lat) — coraz częściej natrafia się na trudności rozpoznawania serologicznego. W takich oborach celowe jest wzbogacenie rozpoznania o wyniki uzyskiwane w OAG z surowicami dającymi wyniki ujemne w odczynach rutynowych.

Piśmiennictwo

1. Alton G. G., Jones L. M.: Laboratory Technique in Brucellosis, Animal Health Branch Monograph No. 7, FAO, Rome 1963.
2. Anderson M.: Nord. Vet.-med. 13, 289, 1961.
3. Beinhauer W.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 72, 369, 1965.
4. Bürki F.: Zbl. Vet. Med. 4, 833, 1957.
5. Hellmann E., Hein W.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 67, 459, 1960.
6. Hajdu S.: Arch. exper. Med. Vet. 11, 976, 1957.
7. Hill W. K. W.: Zbl. Vet. Med. 10, 125, 1963.
8. Körner D.: Rozpr. dokt., Hannover 1961.
9. Kötsche W.: Arch. exper. Med. Vet. 17, 859, 1963.
10. Kunter E.: Mh. Vet. med. 19, 895, 1964.
11. Lambert G., Amerault T. E.: Amer. J. Vet. Res. 23, 529, 1962.
12. Wiśniowski J.: Medycyna Wet. 13, 6, 1957.
13. Wiśniowski J., Romaniukowa K., Drożdżyńska M.: Medycyna Wet. 20, 327, 1965.
14. Wiśniowski J., Królak M.: Medycyna Wet. 21, 641, 1965.

15. Wiśniowski J.: Medycyna Wet. 22, 472, 1966.
16. Wiśniowski J.: Życie Wet. 41, 293, 1966.
17. Wiśniowski J., Królak M.: Pol. Arch. Wet. 9, 637, 1966.
18. Wiśniowski J., Drożdżyńska M., Królak M.: Pol. Arch. Wet. 11, 35, 1967.
19. Four Rapport Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis, 1964.

Adres autorów: Bydgoszcz, ul. Świerczewskiego 35, Instytut Weterynarii.

Виснёвски Е., Граевска П., Дрожджыньска М. — Эффективность дополнительных агглютинационных реакций в диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота.

В 4 хозяйствах, в которых вет. врачи практики столкнулись с трудностями в серодиагностике бруцеллеза исследовали однократно сыворотки крови 264 коров и телок. Применили 3 агглютинационные тесты: медленную проточную агглютинацию с неинактивированной (AGL 37) и инактивированной сывороткой крови (AGL 56) и антиглобулиновую реакцию (OAG). Кроме того поставили реакцию связывания комплемента (OWD). Установили, что титр AGL 56 был ниже чем AGL 37 в 5,7% сывороток. По методу OAG неполные агглютинины обнаружили в 91,5% сывороток. Отрицательные результаты по AGL 37 в 46% оказались ложными. По мнению авторов в Польше кроме применяемых актуально тестов AGL 37 и OWD надо ввести тест OAG.

Wiśniowski J., Grajewska P., Drożdżyńska M. — The usefulness of the additional agglutination reactions in the diagnosis of brucellosis in cattle.

The sera of 264 cows and heifers from four cattle sheds, in which the veterinary surgeons had some difficulties connected with serodiagnostics, were investigated. Three sorts of agglutination tests were used, e.g. the delayed tube agglutination test with nonheated sera (AGL-37), with heated sera (AGL-56) and the antiglobulin test (OAG). In addition, the complement fixation test (CFT) was applied. It was found that the titres in AGL-56 test were in 5.7 per cent lower than in AGL-37 test. By means of OAG test the incomplete agglutinins were observed in 91.5 per cent of the investigated sera. In 46 per cent of the sera negatively reacting in AGL-37 the false negative results were noticed. The authors believe that the introduction of OAG apart from AGL-37 and CFT, commonly used in Poland in the eradication of brucellosis, could be very useful in this action.

THIENPONT D., VANPARIJS O., SPRYT J., MARSBOOM R.: Działanie przeciwczerwca Tetramisole u psów. (The anthelmintic activity of Tetramisole in the dog). Vet. Rec., 83, 369—372, 1968 (15).

Tetramisole działał bardzo skutecznie in vivo na *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina* i *Uncinaria stenocephala*. *Trichuris vulpis* był zupełnie niewrażliwy na działanie tego leku. Większość pasożytów zostaje wydalona z kałem w ciągu 24 godz. po zastosowaniu leku całkowicie sparaliżowana lub częściowo nadtrawiona. Tetramisole w dawce doustnej 10 mg/kg wagi ciała, dwukrotnie w odstępach jednej doby likwidował w 95% przypadków zarażenia wywołane przez te pasożyty. Dawka optymalna leku dla psów rasowych wynosiła przy stosowaniu doustnym 20 mg/kg wagi ciała, a przy stosowaniu pod postacią iniekcji podskórnych 10 mg/kg wagi ciała. Działanie uboczne manifestowało się wymiotami, nadmiernym ślinieniem, częstymi wypróżnieniami, nieznacznego stopnia podnieceniem i drżeniem mięśni. Przy stosowaniu podskórnym Tetramisole objawy uboczne występowały rzadziej. Odrobaczanie ciężarnych samic na 2 tygodnie przed porodem nie wpływało ujemnie na akcję porodową oraz na stan zdrowia nowonarodzonych szceniąt.

Z. G.