16. *Nazerian K., Solomon J. J., Witter R. L., Burmester B. R.:* Proc. Soc. exp. Biol. Med. 127, 177, 1968.
17. *Okada K., Fujimoto Y.:* Jap. J. Vet. Res. 18, 21, 1970.
18. *Payne L. N., Biggs P. M.:* J. nat. Cancer Inst. 39, 281, 1967.
19. *Sevoian M., Chamberlain D. M., Counter F. T.:* Vet. Med. 57, 500, 1962.
20. *Ubertini T., Calnek B. W.:* J. nat. Cancer Inst. 45, 507, 1970.
21. *Wight P. A. L.:* J. Comp. Path. 72, 40, 1962.
22. *Wight P. A. L.:* J. Comp. Path. 72, 348, 1962.
23. *Witer R. L., Burmaster B. R.:* Proc. Soc. exp. Biol. Med. 124, 59, 1967.
24. *Witter R. L., Purchase H. G., Burgoyne G. H.:* J. nat. Cancer Inst. 45, 567, 1970.
25. *Witter R. L., Solomon J. J., Burgoyne G. H.:* Avian Dis. 13, 101, 1969.

Adres autora: dr Witold Golnik, 03-849 Warszawa, ul. Grochowska 272

Гольник В., Малицка Э. — **Болезнь Марэка у цыплят-бройлеров. Вирусологические и гистопатологические исследования.**

Цыплята-бройлеры обескровленные на 9 недели жизни, обнаруживающие опухолевые изменения внутренних органов, подвергли вирусологическим и гистопатологическим исследованиям. В примарных однослойных культурах клеток почек исследованных цыплят наблюдали цитопатический эффект характеристический для цитопатогенного вируса болезни Марэка. Гистоцитопатологическим исследованием нервной ткани и внутренных органов установили присутствие инфильтратов лимфоидальных клеток.

Golnik W., Malicka E. — **Marek's disease in broiler chickens. Virological i histopathological studies.**

Broiler chickens exanguinated at the age of 9 weeks, revealing neoplastic lesions in internal organs were examined virologically and histopathologically against Marek's disease. In the monolayer culture of chick embryo kidney cells, a cytopathic effect characteristic of Marek's disease virus was obtained. Microscopic examination of tissues showed infiltrations of lymphoid cells in the nervous tissue and internal organs.

STANISŁAW GOŁĘBIOWSKI, JERZY ORŁOWSKI

# Próba oceny odczynu immunofluorescencji w rozpoznawaniu klasycznego pomoru świń

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Łodzi

Instrukcja nr 24 Departamentu Weterynarii z dnia 29.V.1972 r. opracowana przez Samóla i Wijaszkę umożliwiła zastosowanie metody immunofluorescencji (IF) w rutynowej diagnostyce klasycznego pomoru świń, co ułatwiło służbie weterynaryjnej w znacznym stopniu zwalczanie tej choroby. Zasada odczynu IF polega na wykrywaniu w badanym materiale antygenu wirusa pomoru świń przy pomocy specyficznych immunoglobulin (tzw. konjugaty) znakowanych barwnikiem świecącym pod wpływem promieni ultrafioletowych. Badanie metodą bezpośrednią może być zakończone w ciągu 1—2 godzin, co szczególnie podkreśla wartość tej metody. Wynik badania zależy jednak w dużym stopniu od jakości i rodzaju nadesłanego materiału oraz od zastosowanej w badaniach konjugaty. W niektórych wypadkach lekarze wet. podważali specyficzność odczynu IF.

Celem naszych badań była próba oceny specyficzności bezpośredniego odczynu IF w diagnostyce klasycznego pomoru świń, wykonanego przy pomocy konjugaty produkcji Instytutu Weterynarii w Puławach. Ze względu na trudności techniczne ograniczono się jedynie do sprawdzenia, czy w odczynie IF występują wyniki fałszywie dodatnie. W badaniach tych jednocześnie uwzględniono przyżyciowe zakażenie świń florą bakteryjną i jej ewentualny wpływ na wyniki odczynu IF.

## Materiał i metody

Do badań pobrano próby z 50 klinicznie zdrowych świń poddanych normalnemu ubojowi w rzeźni w Łodzi. Próby pobierano bezpośrednio po uboju zwierzęcia i przeznaczone do badania metodą IF natychmiast zamrażano w temperaturze około —20°. Preparaty wykonywano w ciągu 3—4 godzin, a odczyt najpóźniej do 12 godzin. Badano migdałki podniebienne, węzły chłonne podszczękowe i śledziony wg techniki opisanej w instrukcji nr 24 Departamentu Weterynarii (4). Skrawki o grubości 10—15 μ wykonywano na mikrotomie mrożeniowym i oceniano w mikroskopie fluorescencyjnym produkcji C. Zeiss, typ NU z palnikiem HBO 50 przy filtrach wzbudzających UG 1/1,5 i BG 12/2 oraz filtrach ochronnnych GG9. Stosowano konjugat produkcji Instytutu Weterynarii. Do preparatów kontrolnych używano surowicę przeciw pomorową produkcji Biowet. Ostateczny wynik określano jako dodatni, wątpliwy lub ujemny. Badania bakteriologiczne migdałków, węzłów chłonnych poszczękowych i śledzion przeprowadzano natychmiast po pobraniu

prób stosując technikę przewidzianą w normach PN-66/A-82054, PN-64/A-04023 i PN-65/A-04024. Wykonywano posiewy bezpośrednie i namnażające. Rozcierem migdałków każdorazowo zakażano podskórnie białe myszki.

Tab. 1. Wyniki odczynu immunofluorescencji

| Wynik | Migdałek | Węzeł chłonny | Śledziona |
|---|---|---|---|
| Dodatni | 1 | — | — |
| Wątpliwy | — | 1 | — |
| Ujemny | 49 | 49 | 50 |

## Wyniki i omówienie

Tab. 1 przedstawia wyniki odczynu IF. Wszystkie próby z 49 świń wypadły ujemnie w odczynie IF. Dodatni odczyn IF stwierdzono w preparacie z migdałka, a wątpliwy z węzła chłonnego pochodzących od jednej świni, natomiast wynik badania śledziony tej sztuki był ujemny. W tab. 2 zebrano wyniki badań bakteriologicznych prób, z których wykonywano skrawki do odczynu IF. Z migdałka, który zareagował dodatnio, wyizolowano pałeczki okrężnicy niehemolityczne i ziarniaki niehemolityczne, a posiewy z węzła chłonnego były ja-

Tab. 2. Wyniki badań bakteriologicznych

| Drobnoustroje wyizolowane | Migdałek | Węzeł chłonny | Śledziona |
|---|---|---|---|
| Erysipelothrix insidiosa | 11 | 1 | 1 |
| Pasteurella multocida | 20 | 3 | — |
| E. coli beta-hemolitica | 18 | 6 | — |
| Streptococcus beta-hem. | 27 | 12 | 2 |
| Staphylococcus beta-hem. | 6 | 9 | — |
| Corynebacterium pyogenes | — | 2 | — |
| Pseudomonas aeruginosa | 5 | — | — |
| Posiewy jałowe | — | 15 | 18 |

łowe. Jak wynika z badań stwierdzone drobnoustroje, wykazane w tab. 2, nie wywoływały dodatnich odczynów. Należy sądzić, że dodatni odczyn IF zaobserwowany u jednej świni był wynikiem zakażenia wirusem pomoru świń. Brak jakichkolwiek objawów klinicznych i zmian sekcyjnych u tej świni wskazuje na okres inkubacji. Wykrycie zaś wirusa jedynie w migdałkach uwypukla znaczenie tego narządu w tych badaniach, co podkreślają między innymi Samól (6) oraz Witte i Liess (9). W migdałkach wirus pomoru pojawia się najwcześniej po zakażeniu i najdłużej utrzymuje. Wirus pomoru świń może być wykryty od pierwszych dni po zakażeniu, chociaż najlepsze wyniki uzyskuje się między 5—10 dniem choroby (3).

Z doświadczeń 1972 r. wynika, że odczyt preparatów nie przedstawia trudności, jeśli próby do badań zostały w sposób prawidłowy pobrane i opakowane oraz w odpowiednim czasie zbadane. Najbardziej czytelne preparaty otrzymywano, gdy próby były pobierane bezpośrednio po uboju zwierzęcia lub w ciągu kilku godzin po śmierci, natychmiast zamrożone i szybko zbadane. Specyficzne świecenie było koloru młodej trawy, tj. barwy intensywnie jasno zielonej i dotyczyło najczęściej całego skrawka lub większej jego części. Dodatni odczyn IF wykazano jeszcze w próbach po 48 godzinach od upadku świni. Należy jednak podkreślić, że próby przechowywano w stanie zamrożenia, a świecenie w preparatach wykonanych bezpośrednio po pobraniu prób miało charakter intensywny. Wg Sirbu i wsp. (8) dodatni odczyn IF występuje po zamrożeniu prób jeszcze w ciągu 48—96 godzin. W miarę postępującego rozkładu gnilnego obserwowano świecenie różnorakie, od słabego do bardzo intensywnego niespecyficznego, koloru szarożółtego, czerwonawego lub brązowego, względnie świecenie zanikało. Wiąże się to z dużą wrażliwością wirusa pomoru świń na procesy gnicia. Materiał, w którym takie procesy wystąpiły, do badania nie nadawał się.

W Polsce badania nad wartością odczynu IF w diagnostyce pomoru świń przeprowadzili Samól (6, 7) oraz Janowski i Wijaszka (5). Samól (6) stosował konjugaty produkcji Central Veterinary Laboratory (Weybridge) i Tierärztliche Hochschule (Hannover). W próbach pobranych z 8 świń sztucznie zakażonych szczepem W wirusa pomoru świń autor stwierdził dodatni odczyn IF w migdałkach w 8 przypadkach, w trzustce w 7, w śledzionie w 6 i w węzłach chłonnych w 6. Próby zaś pochodzące od 6 klinicznie zdrowych świń dały wynik ujemny. Janowski i Wijaszka (5) używali konjugat własnej produkcji. Od 120 świń zakażonych laboratoryjnie zjadliwym wirusem pomoru pobrano śledziony i węzły chłonne. We wszystkich preparatach odciskowych ze śledzion i w 118 z węzłów chłonnych podszczękowych wykazano obecność wirusa pomoru świń. Stwierdzono całkowitą zgodność metody IF i próby biologicznej w rozpoznawaniu pomoru świń. Nie obserwowano typowego dla wirusa pomoru świń świecenia w preparatach ze śledziony i węzłów chłonnych pobranych od 50 świń klinicznie zdrowych. Wysoka specyficzność odczynu IF w diagnostyce klasycznego pomoru świń uznawana jest przez wielu badaczy (1, 2, 3, 9). Dotychczas wykazano pokrewieństwo antygenowe między wirusem pomoru świń a jedynie wirusami biegunki i choroby błon śluzowych (VDMD) bydła oraz *arteritis* koni. Nie zawsze

jednak otrzymuje się wynik dodatni przy pomocy odczynu IF w preparatach pochodzących z tkanek zakażonych uprzednio wirusem pomoru świń. Istnieją dość znaczne różnice w odsetku wykrywalności zakażenia. Oprócz wymienionych już przyczyn wpływających na ostateczny wynik badania, ważną rolę odgrywa także stopień zjadliwości i koncentracji wirusa. Wirus atenuowany zawarty w produkowanej obecnie szczepionce Lapest może być wykazany w narządach świń szczepionych w bezpośrednim odczynie IF między 5 a 7 dniem po szczepieniu, a wirus inaktywowany zawarty w szczepionce CV nie jest w zasadzie wykrywany tą metodą (4). Wg Cottereau (3) metoda immunofluorescencji pozwala wykryć w 85—95% przypadków pomór świń wywołany zjadliwym wirusem. Cirstet i wsp. (2) po sztucznym zakażeniu 50 świń zjadliwym szczepem otrzymali wyniki dodatnie w 98% preparatów ze śledziony i 86% preparatów z węzłów chłonnych. W wypadku wystąpienia pomoru atypowego odsetek wykrywalności przy pomocy bezpośredniego odczynu IF spada do 40—56% (9, 10).

## Wnioski

1. Preparaty wykonane wg techniki podanej w instrukcji nr 24 Departamentu Weterynarii i przy zastosowaniu konjugaty produkcji Instytutu Weterynarii są łatwo czytelne.

2. W odczynie immunofluorescencji nie otrzymano wyników fałszywie dodatnich.

3. Przyżyciowe zakażenia *Erysipelothrix insidiosa, Pasteurella multocida, E. coli* beta-hem., *Streptococcus* beta-hem., *Staphylococcus* beta-hem., *Corynebacterium pyogenes, Pseudomonas aeruginosa* nie powodują dodatnich wyników w odczynie immunofluorescencji.

## Piśmiennictwo


1. *Bellani L., Caporale G.:* Bull. Off. int. Epizoot. 75, 611, 1971.
2. *Cirstet I., Vior C., Popa M., Dumitrescu G.:* Lucr. Inst. Cerc. Vet. Bioprep. Pasteur 8, 59, 1970.
3. *Cottereau Ph.:* Bull. Off. int. Epizoot. 75, 573, 1971.
4. Instrukcja tymczasowa nr 24 Ministerstwa Rolnictwa — Departamentu Weterynarii z dnia 29 maja 1972 r. (WET. L-640/5/72) w sprawie zasad laboratoryjnego rozpoznawania klasycznego pomoru świń metodą immunofluorescencji.
5. *Janowski H., Wijaszka T.:* Medycyna Wet. 27, 225, 1971.
6. *Samól S.:* Medycyna Wet. 26, 69, 1970.
7. *Samól S.:* Medycyna Wet. 28, 712. 1972.
8. *Sirbu Z., Bran L., Michailov L.:* Archiva vet. 4(4), 19, 1968.
9. *Witte K., Liess B.:* Zentbl. VetMed. 17B. 178, 1970.
10. *Zimmermann T.:* Dt. tierärztl. Wschr. 74, 250, 1967.


Adres autora: dr habil. Stanisław Gołębiowski, ul. Proletariacka 2/6, 93-569 Łódź.

Autorzy dziękują kol. W. Hermanowi za pomoc przy pobieraniu prób.

---

DANUTA CIOSEK

# Identyfikacja antygenu O u szczepów *E. coli* wyizolowanych od świń przy użyciu pełnego zestawu surowic anty-O

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach

Klasyfikacja serologiczna *E. coli* ma podstawowe znaczenie epizootiologiczne i epidemiologiczne. Liczne badanie wykazały bowiem (2, 16, 19, 30, 31, 32, 33), że kolibakteriozy poszczególnych gatunków zwierząt w większości wypadków wywołane są przez grupy określonych serotypów pałeczki okrężnicy. Jak wynika z prac własnych (2, 3, 32, 33) oraz innych autorów (16, 19, 28) przy określaniu serologicznym szczepów za pomocą surowic anty-O *E. coli* związanych z chorobotwórczością dla bydła, świń, czy drobiu, znaczny odsetek szczepów nie daje się zaliczyć do tych właśnie grup antygenu O. Wynikła stąd konieczność używania pełnego zestawu surowic anty-O do serologicznej identyfikacji szczepów pałeczki okrężnicy. Badania tego typu były wykonywane przez wielu autorów w różnych państwach (14, 15, 17, 20, 22, 23, 25, 26, 30). W Polsce natomiast brak było pełnego zestawu surowic anty-O *E. coli*. Z tego względu serologiczne określanie szczepów pałeczki okrężnicy, wyizolowanych z przypadków chorobowych od świń na terenie kraju w latach 1963—1965 (3, 32, 33), opierało się wyłącznie na surowicach anty-O *E. coli*, szczepów uważanych za chorobotwórcze dla tego gatunku zwierząt, a mianowicie: O8, O45, O54, O138, O139, O141, O147, O149. W badaniach tych ok. 40% szczepów *E. coli* pozostało serologicznie nieokreślonych.

Obecnie, mając do dyspozycji zestaw surowic anty-O (O1—O149) podjęto badania, których celem było określenie antygenu O u szczepów *E. coli* wyizolowanych od świń, których w poprzednich badaniach (3, 32, 33) nie udało się serologicznie zidentyfikować.

## Materiał i metody

Szczepy bakteryjne. Do badań użyto 182 szczepy *E. coli*, wyosobnione z przypadków chorobowych od świń na terenie Polski (32, 33), których nie udało się określić serologicznie za pomocą następujących surowic anty-O: O8, O45, O54, O138, O139, O141, O147, O149. Standardowe szczep *E. coli*, należące do sero-