

JÓZEF PILASZEK, MARIAN TRUSZCZYŃSKI

## Metody laboratoryjne w przyżyciowej diagnostyce mykoplazmozy u cieląt

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach

Choroby układu oddechowego u cieląt, a szczególnie enzootyczne zapalenie płuc, są jedną z głównych przyczyn strat w odchowcie tych zwierząt. Za czynnik etiologiczny tych schorzeń uważa się między innymi drobnoustroje należące do rządu *Mycoplasmatales* (mykoplazmy) (7, 13, 17). Ze względu na to, że schorzenia płuc, wywołane przez mykoplazmy pod względem klinicznym i anatomopatologicznym mało różnią się od schorzeń tego narządu wywołanych przez inne drobnoustroje, duże znaczenie w identyfikacji czynnika etiologicznego posiadają badania laboratoryjne a szczególnie metody hodowlane i serologiczne. Pierwsze z nich zmierzają do wyosobnienia szczepów mykoplazm od zwierząt podejrzanych o zakażenie (9, 15, 18, 19). Badania te są trudne w wykonywaniu, zwłaszcza w warunkach terenowych, wymagają dość skomplikowanych podłoży i trwają stosunkowo długo. Dlatego też większe znaczenie w badaniach diagnostycznych mogą mieć metody serologiczne, polegające na wykazaniu przeciwciał anti-*Mycoplasma* w surowicach zwierząt badanych oraz dynamiki ich narastania (2, 15, 19).

W dostępnej literaturze brak jest wyczerpujących danych na temat wartości diagnostycznej poszczególnych prób serologicznych. Dlatego też podjęto badania mające na celu określenie przydatności w diagnostyce laboratoryjnej schorzeń układu oddechowego cieląt wywołanych przez mykoplazmy, trzech stosunkowo prostych w wykonywaniu prób serologicznych — aglutynacji probówkowej i płytowej oraz odczynu wiązania dopełniacza. Wyniki otrzymane przy użyciu tych metod porównano z wynikami izolacji szczepów oraz z badaniami klinicznymi.

### Materiał i metody

**Szczepy bakteryjne.** Do badań użyto szczepów wzorcowych następujących gatunków: *M. bovirhinis*, *M. arginini*, *M. dispar*, *M. agalactiae* var. *bovis* i *M. bovirhinis*. Pierwsze trzy otrzymano z Instytutu Mikrobiologii Uniwersytetu w Arthus — Dania, a pozostałe dwa z Instytutu Chorób Bakteryjnych Zwierząt w Jenie — NRD. Przechowywano je do chwili doświadczeń w stanie zliofilizowanym.

**Podłoża.** Do izolacji i namnażania mykoplazm użyto trzy rodzaje pożywek — VF, opisaną przez Barbera i Fabricanta (1), E wg Roberta i Pijoana (4) oraz HP wg Whittlestonea (20).

**Materiał do izolacji szczepów.** Materiał pobierano wacikiem z błony śluzowej jamy nosowej cieląt.

**Zwierzęta doświadczalne.** Do badań użyto 51 cieląt rasy n.c.b., o ciężarze ciała około 100 kg.

Pochodziły one z gospodarstw indywidualnych a następnie wstawione były do obory, w której od kilku lat występowały zachorowania cieląt, charakteryzujące się zaburzeniami ze strony układu oddechowego. Badania przeprowadzono w miesiącach zimowych. Wszystkie cielęta były badane w pierwszym miesiącu od chwili wstawienia ich do obory.

**Surowice odpornościowe.** Otrzymano je wg metody opisanej w pracy poprzedniej (18) uodparniając 5 królików o ciężarze ciała około 2 kg. Pochodziły one z hodowli własnej Instytutu Weterynarii w Puławach.

**Antygeny.** Do aglutynacji płytowej i probówkowej stosowano barwne zawiesiny aglutynacyjne. Sposób ich przygotowania został podany przez Pilaszka (12). W celu otrzymania antygeny do odczynu wiązania dopełniacza uzyskano osad bakteryjny, po odwirowaniu 500 ml hodowli płynnej na podłożu VF każdego użytego szczepu. Osad przemyto trzykrotnie i zawieszono w 20 ml płynu fizjologicznego. Zawieszoną tę rozlewano do probówek po 2 ml i przechowywano w temperaturze suchego lodu. Proces zamrażania i rozmrażania wykonywano zawsze jednorazowo. Przed każdym badaniem rozmrożona zawiesina była miareczkowana według ogólnie przyjętych zasad.

**Izolacja szczepów.** Izolację mykoplazm z błony śluzowej jamy nosowej cieląt wykonywano wg metody opisanej przez Truszczyńskiego i Pilaszka (17).

**Agglutynacja płytowa i probówkowa.** Odczyn te wykonywano jak w badaniach poprzednich (18).

**Odczyn wiązania dopełniacza.** W pracy stosowano zimny odczyn wiązania dopełniacza, wykonywany wg metody podanej przez Meyera i Ediego (11).

**Badania kliniczne.** Każde cielę było obserwowane przez dwa tygodnie od chwili pobrania krwi. W tym czasie co trzy dni wykonywano badania osłuchowe płuc, obserwowano występowanie wycieków z jamy nosowej oraz kaszlu. Określano również wewnętrzną ciepłotę ciała oraz liczbę tętna i oddechów.

### Wyniki

W pracy poprzedniej (19) wykazano, że zarówno odczynem aglutynacji płytowej jak też aglutynacji probówkowej można w surowicach królików immunizowanych mykoplazmami wykrywać przeciwciała skierowane przeciw tym drobnoustrojom. W obecnych badaniach postanowiono wypróbować do tego celu przydatność odczynu wiązania dopełniacza, używając jak poprzednio surowic królików uodpornionych różnymi gatunkami *Mycoplasma* oraz antygenów sporządzonych ze szczepów tych gatunków. Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 1.

Podobnie jak metodą aglutynacji probówkowej (17) odczynem wiązania dopełniacza udawało się wyraźnie różnicować gatunki *Mycoplasma*. Wyjątek stanowiła *M. agalactiae* var. *bovis* i *M. bovirhinis*, które wykazywały odczyn krzyżowy przy mianie tylko nieznacz-

nie niższym w układzie heterologicznym. Odczynów krzyżowych nie obserwowano wykonując z tymi dwoma drobnoustrojami odczyn zahamowania wzrostu (19). Wykazano więc, że jedynie ten ostatni dobrze różnicuje wymienione gatunki *Mycoplasma*. Reakcje krzyżowe pomiędzy *M. agalactiae* i *M. bovirhinis* w odczynie wiązania dopełniacza obserwowali również Kehoe i wsp. (10) oraz Branny i Zgórniak-Nowosielska (3), a w aglutynacji płytowej i próbówkowej Truszczyński i Pilaszek (19).

Jak wynika z tab. 2 na 24 surowice badane — w 19 przypadkach metodą aglutynacji płytowej wykazano obecność przeciwciał anti-*M. bovirhinis*. Wszystkie surowice, które reagowały dodatnio w próbie aglutynacji płytowej wykazywały również dodatnią reakcję w próbie aglutynacji próbówkowej. Miano ich wahało się w granicach od 16 do 256. Miano 16 stwierdzono w 6 surowicach, 32 — 4 surowicach, 64 — 5 surowicach, 128 — 3 surowicach oraz 256 — 1 surowicy. Jedna z pięciu surowic, które w

Tab. 1. Odczyn wiązania dopełniacza surowic królików uodpornionych różnymi gatunkami *Mycoplasma* z antygenami sporządzonymi przy użyciu szczepów tych gatunków

Antygen	Surowica				
	<i>M. bovirhinis</i>	<i>M. arginini</i>	<i>M. dispar</i>	<i>M. agalactiae var. bovis</i>	<i>M. bovirhinis</i>
<i>M. bovirhinis</i>	512*	—	—	—	—
<i>M. arginini</i>	—	512	32	—	—
<i>M. dispar</i>	—	—	512	—	—
<i>M. agalactiae var. bovis</i>	—	—	—	256	128
<i>M. bovirhinis</i>	—	—	—	128	512

Objaśnienie: \* = miano uzyskane w OWD.

W dalszej części pracy, mającej na celu ustalenie ewentualnego związku między występowaniem przeciwciał anti-*Mycoplasma* a objawami klinicznymi u cieląt, zbadano metodą aglutynacji płytowej i próbówkowej oraz odczynem wiązania dopełniacza surowice 51 zwierząt, określając również ich stan kliniczny. Równocześnie pobierano wymazy z błony śluzowej jamy nosowej cieląt w celu izolacji szczepów *Mycoplasma*.

Tab. 2 zawiera wyniki badań surowic cieląt, u których stwierdzono objawy kliniczne ze strony układu oddechowego oraz zwiększenie liczby tętna i oddechów, a u niektórych cieląt również podwyższenie wewnętrznej ciepłoty ciała.

Tab. 2. Wyniki badań serologicznych z antygenem *M. bovirhinis* surowic cieląt, u których stwierdzono objawy kliniczne ze strony układu oddechowego

Nr cielęcica	Rodzaj badania serologicznego*			Objawy kliniczne**			Wynik izolacji
	1	2	3	4	5	6	
2	+++	32	32	s-r	+	+	+
4	++	32	32	r	+	+	+
6	+++	64	256	s-r	+	+	+
13	+++	64	32	s-r	+	+	+
25	++	16	64	r	+	+	+
27	+++	64	128	r	+	+	+
28	++	16	64	s	+	+	+
30	+++	128	256	r	+	+	+
34	+++	256	256	r	+	+	+
37	+++	64	128	s	+	+	+
43	+++	128	128	s	+	+	+
35	++	16	16	s-r	+	+	+
41	++	16	32	s	+	+	+
42	+++	64	256	s	+	+	+
44	+++	128	256	s	+	+	+
19	+++	32	64	s	+	+	+
18	++	32	64	s	+	+	+
38	—	—	16	s	+	+	+
45	—	8	32	s	+	+	+
1	—	—	—	s	+	+	+
10	—	—	—	s	+	+	+
40	—	—	16	s-r	+	+	—
46	+++	16	128	s	+	+	—
48	+++	16	64	s	+	+	—

Objaśnienia: \* 1 = aglutynacja płytowa; \* 2 = aglutynacja próbówkowa; \* 3 = OWD; \*\* 4 = rodzaj wycieku z jamy nosowej; s = śluzowy; s-r = śluzowo-ropny; r = ropny; \*\* 5 = patologiczne zmiany wysłuchowe w płucach; \*\* 6 = kaszel.

aglutynacji płytowej reagowały ujemnie, posiadała miano 8 w aglutynacji próbówkowej. Z powyższego wynika, iż odczynem aglutynacji płytowej wykrywa się osobniki, których miano w aglutynacji próbówkowej wynosi 16 lub więcej. Badania podobne wykonali Shimizu i wsp. (15). Badając 14 surowic cieląt, u których stwierdzili zmiany ze strony układu oddechowego, we wszystkich przypadkach wykazali obecność przeciwciał anti-*M. bovirhinis*. Miano aglutynacji tych surowic wahało się w granicach od 8 do 128. Najwięcej surowic posiadało miano 16 (5 surowic) a najmniej miano 128 (1 surowica).

Przy zastosowaniu odczynu wiązania dopełniacza wykazano obecność przeciwciał anti-*M. bovirhinis* w 22 surowicach. Miano ich wynosiło również od 16 do 256 z tym, że więcej surowic niż w badaniu próbą aglutynacji próbówkowej posiadało miano wyższe. Miano 16 stwierdzono w 3 surowicach, 32 — 5 surowicach, 64 — 5 surowicach, 128 — 4 surowicach i 256 — 5 surowicach. Przy pomocy tego odczynu wykryto przeciwciała anti-*M. bovirhinis* w dwóch surowicach, które reagowały ujemnie w aglutynacji płytowej i próbówkowej oraz w surowicy o mianie aglutynacyjnym 8, która reagowała ujemnie w aglutynacji płytowej. Odczyn wiązania dopełniacza okazał się zatem próbą czulszą niż odczyn aglutynacji.

Wspomniani wyżej Shimizu i wsp. (15) wyniki otrzymane w aglutynacji próbówkowej porównali z wynikami otrzymanymi przy pomocy odczynu zahamowania metabolizmu. W każdym przypadku otrzymali miano wyższe w odczynie zahamowania metabolizmu, które wahało się od 10 do 320.

Z przytoczonych wyżej danych wynika, iż do wykrywania przeciwciał anti-*M. bovirhinis* nadają się wszystkie ze stosowanych prób se-

rologicznych z tym, że w aglutynacji uzyskuje się stosunkowo niższe miana aniżeli w odczynie wiązania dopełniacza.

Z błony śluzowej jamy nosowej 21 cieląt, spośród 24 użytych w doświadczeniu, izolowano mykoplazmy. Szczepy te wyosobniono w 17 przypadkach na 19 cieląt, których surowice reagowały dodatnio w próbie aglutynacji płytowej, w 18 przypadkach na 20 cieląt posiadających przeciwciała anty-*Mycoplasma* wykazane metodą aglutynacji probówkowej oraz w 19 przypadkach na 22 cielętach, u których wykazano przeciwciała odczynem wiązania dopełniacza. Jak z tego wynika wykazano dużego stopnia korelację między występowaniem objawów klinicznych u cieląt, a obecnością przeciwciał anty-*M. bovirhinis* w surowicach zwierząt chorych oraz mykoplazm w wypływie z jamy nosowej. Z jamy nosowej 117 cieląt z objawami zapalenia płuc Shimizu i wsp. (15) izolowali w 63 przypadkach mykoplazmy, z czego 55 szczepów zaliczyli do gatunku *M. bovirhinis*, 4 szczepy do rodzaju *Acholeplasma* a następne 4 szczepy nie udało się im określić. Jurmanova i Krajci (9) na 200 badanych cieląt w 80 przypadkach izolowali *M. bovirhinis* a 53 szczepy określili jako *M. arginini*.

Poza wykazaniem w badanych surowicach przeciwciał anty-*M. bovirhinis* stwierdzono również metodą aglutynacji płytowej i probówkowej w surowicy nr 35 i 46 przeciwciała anty-*M. dispar* o mianie 64 a w surowicach nr nr 28, 35, 45 i 46 przeciwciała anty-*M. arginini*. Miano ich wynosiło od 32 do 128. Badając wyżej wymienione surowice odczynem wiązania dopełniacza przeciwciała anty-*M. dispar* lub anty-*M. arginini* wykazano w niskich mianach (4 lub 8) lub nie stwierdzono ich, uzyskując jednocześnie wynik pozytywny z surowicami dodatnimi użytymi w doświadczeniu jako surowice kontrolne. Wskazuje to na wynik negatywny oraz stawia w wątpliwość swoistość wyników uzyskanych przy pomocy prób aglutynacji. W piśmiennictwie znane są doniesienia (6, 8), w których autorzy krytycznie oceniają ten odczyn ze względu na małą jego czułość oraz fałszywie negatywne lub fałszywie pozytywne wyniki otrzymane przy jego pomocy. Możliwe, że odczyn ten jest mniej przydatny do wykrywania przeciwciał skierowanych tylko przeciwko niektórym gatunkom *Mycoplasma* a między innymi przeciw *M. arginini* i *M. dispar*, gdyż z badań własnych i badań Shimizu i wsp. (15) wynika, iż jest on wystarczająco czuły w wykrywaniu przeciwciał anty-*M. bovirhinis*.

Stosowanymi próbami serologicznymi nie wykazano w badanych surowicach przeciwciał anty-*M. agalactiae* var. *bovis* i anty-*M. bovirhinis*. Należy więc sądzić, iż wyniki dodatnie w odniesieniu do *M. bovirhinis* można uważać za swoisty wskaźnik udziału tego gatunku w wywoływaniu objawów chorob-

wych u cieląt. Wskazują na to również badania uprzednio cytowane (15).

W tab. 3 przedstawiono wyniki badań 12 cieląt, u których nie stwierdzono zmian wysłuchowych w płucach, lecz u niektórych stwierdzono przyspieszenie tętna i oddechów oraz podwyższoną ciepłotę ciała. U wszystkich badanych cieląt obserwowano wyciek z jamy nosowej oraz kaszel.

Tab. 3. Wyniki badań serologicznych surowic cieląt, u których nie stwierdzono patologicznych zmian wysłuchowych w płucach z zawiesinami *M. bovirhinis*

Nr cielęcica	Rodzaj badania serologicznego *			Objawy kliniczne **			Wynik izolacji
	1	2	3	4	5	6	
22	+++	16	32	ś	-	+	-
24	+++	16	64	ś	-	+	-
36	+++	32	32	ś	-	+	-
16	-	-	4	ś	-	+	-
23	-	-	8	ś	-	+	-
47	-	-	16	ś	-	+	-
17	-	-	8	-	-	+	+
21	-	-	16	-	-	+	+
26	+++	16	32	ś	-	+	+
11	+++	64	-	ś	-	+	+
49	+++	16	-	ś	-	+	+
50	+++	16	-	ś	-	+	+

Objaśnienia jak w tab. 2.

Z tab. 3 wynika, iż na 12 badanych surowic cieląt użytych w doświadczeniu w 7 przypadkach metodą aglutynacji płytowej i probówkowej wykazano obecność przeciwciał anty-*M. bovirhinis*. Miana aglutynacyjne tych surowic były niższe niż u zwierząt, u których wykazano zmiany wysłuchowe w płucach (tab. 2). Wahały się one od 16 do 64. 4 surowice posiadały miano 16, 1 surowica miano 32 oraz 1 surowica miano 64. Odczynem wiązania dopełniacza przeciwciała wykazano w 9 przypadkach a miana wynosiły od 4 do 64. Miano 4 posiadała 1 surowica, miano 8 — 2 surowice, 16 — 2 surowice, 32 — 3 surowice oraz 64 — 1 surowica. Na uwagę zasługuje fakt, iż w 5 przypadkach odczynem wiązania dopełniacza wykazano przeciwciała w surowicach, które w metodzie aglutynacji płytowej i probówkowej reagowały ujemnie. W innych trzech surowicach, w których odczynem wiązania dopełniacza nie wykazano przeciwciał anty-*M. bovirhinis*, wykazano je metodą aglutynacji płytowej i probówkowej w surowicy cielęcica oznaczonego nr 36 wykazano przeciwciała anty-*M. arginini* o mianie 128.

Z błony śluzowej jamy nosowej 5 cieląt izolowano mykoplazmy. Na 7 cieląt, których surowice w aglutynacji płytowej i probówkowej reagowały dodatnio z zawiesinami *M. bovirhinis* w 4 przypadkach izolowano mykoplazmy. Natomiast drobnoustroje te izolowano w 3 przypadkach na 9 cieląt, u których stwierdzono te przeciwciała odczynem wiązania dopełniacza. Uzyskany wynik potwierdza znane zjawisko, iż infekcja powodowana przez mykoplazmy może

mieć przebieg bezobjawowy (4, 5, 16). Okazało się też ponownie, że odczyn wiązania dopełniacza wydaje się być nieco czulszym odczynem niż odczyn aglutynacji.

Dla rozszerzenia badań, których wyniki podano w tab. 2 i 3, w dalszej części pracy użyto do doświadczeń 15 cieląt, u których nie stwierdzono objawów klinicznych ze strony układu oddechowego. Wyniki tych badań przedstawia tab. 4.

Tab. 4. Wyniki badań serologicznych surowic cieląt u których nie stwierdzono objawów klinicznych ze strony układu oddechowego

Nr cielecia	Rodzaj badania serologicznego*			Objawy kliniczne**			Wynik izolacji
	1	2	3	4	5	6	
7	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	8	-	-	-	-
32	-	-	8	-	-	-	-
33	-	8	16	-	-	-	-
12	-	-	16	-	-	-	-
3	-	-	8	-	-	-	+
14	-	-	32	-	-	-	+
20	-	8	16	-	-	-	+

Objaśnienia jak w tab. 2.

Z tab. 4 wynika, że na 15 surowic cieląt użytych w doświadczeniu metodą aglutynacji płytowej nie wykazano przeciwciał anty-*M. bovirhinis*, a tylko w 2 przypadkach przeciwciała te o mianie 8 stwierdzono metodą aglutynacji probówkowej. Odczynem wiązania dopełniacza przeciwciała anty-*M. bovirhinis* wykazano w 7 przypadkach lecz ich miana były stosunkowo niskie. 3 surowice posiadały miano 8, 3 następne miano 16 a 1 surowica miano 32. Niskie miana przeciwciał anty-*M. bovirhinis* otrzymane metodą aglutynacji probówkowej w surowicach cieląt, u których nie stwierdzono zmian klinicznych ze strony układu oddechowego wykazali również Shimizu i wsp. (15). Badając surowice 46 cieląt, miano 2 lub niższe wykazali w 37 przypadkach. Miano 4 posiadały trzy surowice a miano 8 — cztery surowice. Tylko dwie surowice posiadały miano 16.

Z tab. 4 wynika również, iż na 15 badanych cieląt zdrowych tylko w 3 przypadkach wyosobniono mykoplazmy. Cytowani uprzednio Shimizu i wsp. (15) izolowali mykoplazmy również w 3 przypadkach, lecz do badań użyli aż 68 cieląt klinicznie zdrowych. Wyraźną różnicę pomiędzy ilością dodatnich izolacji mykoplazm od cieląt zdrowych i chorych obserwowali również Corstvet i wsp. (4). Autorzy ci w 59,1% izolowali mykoplazmy od cieląt z objawami klinicznymi ze strony układu oddechowego, natomiast w 27,6% od zwierząt bez tych objawów.

Uzyskane wyniki wskazują na znaczenie odczynów serologicznych w rozpoznawaniu infekcji wywołanej u cieląt przez *M. bovirhinis*. Zdają się one też wskazywać, iż miano wyższe niż 16 lub 32 w odczynie wiązania dopełniacza należałoby uznać za wskaźnik infekcji, podczas gdy dla aglutynacji probówkowej winno ono wynosić 16. Wtedy uzyskuje się też z reguły odczyn dodatni w aglutynacji płytowej. Ta ostatnia próba nadaje się zatem, jak zdaje się to wynikać z badań własnych, do orientacyjnej diagnozy infekcji wywołanej u cieląt przez *M. bovirhinis*. Jako test technicznie prosty może być stosowany na szeroką skalę w warunkach terenowych.

W surowicy cielęcia oznaczonego nr 31 metodą aglutynacji płytowej i probówkowej wykazano przeciwciała anty-*M. arginini* i anty-*M. dispar* o mianie 16. Podobnie jak w surowicach poprzednich dwóch grup cieląt, użytych w pracy, nie stwierdzono stosowanymi metodami serologicznymi przeciwciał anty-*M. agalactiae var. bovis* i anty-*M. bovirgenitalium*.

#### Wnioski

1. Metodą aglutynacji płytowej i probówkowej oraz odczynem wiązania dopełniacza wykazano w surowicach cieląt obecność przeciwciał anty-*M. bovirhinis*. W większości przypadków przeciwciała te stwierdzono równocześnie trzema stosowanymi metodami.

2. Najbardziej czułą metodą, służącą do wykrywania przeciwciał anty-*M. bovirhinis*, wydaje się być odczyn wiązania dopełniacza a najmniej czułą aglutynacja płytowa. Jednak w badaniach tego typu powinno się stosować przynajmniej dwie spośród użytych w pracy metod.

3. Wykazano korelację pomiędzy występowaniem przeciwciał anty-*M. bovirhinis* a objawami klinicznymi ze strony układu oddechowego cieląt badanych.

4. Zarówno metodą aglutynacji probówkowej jak i odczynem wiązania dopełniacza stwierdzono, że u cieląt miana przeciwciał anty-*M. bovirhinis* wahały się w granicach od 8 do 256. Jako miano wskazujące na infekcję w przypadku odczynu wiązania dopełniacza należałoby uznać wyższe niż 16 lub 32 a w przypadku aglutynacji probówkowej 16. Odczyn o takim natężeniu wykrywany jest przy pomocy aglutynacji płytowej.

5. Próba aglutynacji płytowej nadaje się do orientacyjnej diagnozy stadnej w kierunku infekcji wywołanej u cieląt przez *M. bovirhinis*.

6. W badanych surowicach cieląt nie wykazano stosowanymi metodami przeciwciał anty-*M. agalactiae var. bovis* i anty-*M. bovirgenitalium*.

7. W surowicach badanych cieląt tylko w niewielkich przypadkach wykazano przeciwciała anty-*M. arginini* i anty-*M. dispar*.

8. Stosowanie metod serologicznych można przyjąć za przydatne w badaniach, mających na celu wykrywanie zakażeń mykoplazmami u cieląt.

9. Wykazano, iż *M. bovirhinis* ma znaczenie w etiologii enzoptycznej bronchopneumonii cieląt, podczas gdy inne brane pod uwagę gatunki mykoplazm bydłych w danym układzie doświadczalnym nie powodowały zachorowania.

#### Piśmiennictwo

1. Barber T., Fabricant J.: J. Bact. 82, 1269, 1962.
2. Bokori J., Horvath Z., Stipkovits L., Molnar L.: Acta vet. hung. 21, 61, 1971.
3. Branny J., Zgórnjak-Nowosielska I.: Medycyna Wet. 27, 113, 1971.
4. Corstvet R. E., Panciera R. J., Rinker M. B., Starks B. L., Howard H.: J. Am. vet. med. Ass. 163, 905, 1973.
5. Davies G.: J. comp. Path. 77, 353, 1967.
6. Gourlay R. N.: J. comp. Path. 75, 97, 1965.
7. Gourlay R. N.: J. Am. vet. med. Ass. 163, 905, 1973.
8. Griffin R. M.: J. comp. Path. and Therap. 75, 223, 1965.
9. Jurmanova K., Krajei J.: Vet. Rec. 89, 585, 1971.
10. Kehoe J. M., Norcross N. L., Carmichael L. E.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 143, 337, 1967.
11. Meyer K. F., Eddie E.: Diagnostic procedures for virus and vickettsial diseases, Office Am. Publ. Hlth. Ass., New York, 1965.
12. Piłaszek J.: Praca doktorska. Instytut Weterynarii Puławy, 1972.
13. Piłaszek J.: Post. Mikrobiol. 3—4, 119, 1974.
14. Roberts D. H., Pijoan C.: Br. vet. J. 127, 582, 1971.
15. Shimizu T., Nosaka D., Nakamura N.: Jap. J. vet. Sci. 35, 6, 1973.
16. Thomas L. H., Smith G. S.: J. comp. Path. 82, 1, 1972.
17. Trusczyński M.: Medycyna Wet. w druku.
18. Trusczyński M., Piłaszek J.: Medycyna Wet. 9, 521, 1974.
19. Trusczyński M., Piłaszek J.: Medycyna Wet. w druku.
20. Whittlestone P.: Isolation methods for microbiologists. Edited by D.A. Shapton and G.W. Gauld 1969.

Adres autora: dr Józef Piłaszek, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

Пиляшек Ю., Трущинский М. — Лабораторные методы прижизненной диагностики микоплазмоза у телят.

Провели оценку пригодности трех серологических реакций для диагностики микоплазмозы телят.

**WARNER J. F., FALES W. H., SUTHERLAND R. C., TERESA G. W.:** Endotoksyna z *Fusobacterium necrophorum* izolowanego z przypadku ropnia wątroby u krowy. (Endotoxin from *Fusobacterium necrophorum* of bovine hepatic abscess origin). Am. J. vet. Res., 36, 1015—1019, 1975 (7).

W związku z faktem, że właściwości toksynogenne i biologiczne endotoksyny *Fusobacterium necrophorum* nie są dokładnie przebadane określono właściwości endotoksyny szczepu *Fusobacterium necrophorum*, który wyizolowano z ropnia wątroby od krowy. Szczep namnożono na podłożu M1 w temp. 37°C przez 48 godz. w warunkach beztlennych. Supernatant oraz dezyntegraty ściany komórkowej uzyskane na drodze różnicowego wirowania wywierały działanie letalne u myszek. Toksyczne właściwości supernatantu nie były inaktywowane przez dodatek formaliny i 15-minutowe ogrzewanie w temperaturze 80, 100 i 121°C. Inaktywującą działała zasadowa hydroliza w 0,25 N NaOH. DL<sub>50</sub> dla myszek endotoksyny oczyszczonej wynosiło 16,8 mg/kg wagi ciała. Endotoksyna była oporna na działanie rybonukleazy, dezoksyrybonukleazy i pronazy. Toksyczne właściwości wykazywały 2 frakcje endotoksyny uzyskane na drodze rozdzielania chromatograficznego na DEAE celulozie.

G.

**TRUSCOTT R. B., FERGUSON A. E.:** Badania nad kontrolą *Mycoplasma gallisepticum* w jajach wylęgowych. (Studies on the control of *Mycoplasma gallisepticum* in hatching eggs). Can. J. comp. Med., 39, 235—239, 1975 (3).

W pierwszej serii doświadczeń określono możliwość eliminacji zakażeń mikoplazmowych z jaja za pomo-

Przemieniali płytoczną i probirotoczną reakcję aglutynacji i reakcję związywania komplementu. Połączone rezultaty sprawdzali z rezultatami izolacji mikoplazm z błonki nosowej jamy tелят, a także klinicznego badania dýchательnych organów.

Ustanowili, że w większości przypadków każdym z używanych serologicznych metod w sыворотке телят с клиническими признаками со стороны дýchательных органов можно обнаружить присутствие анти-*M. bovirhinis*. В большинстве случаев из этих телят изолировали также микоплазмы. В сыворотке крови телят, у которых не наблюдали клинических симптомов со стороны дýchательных путей, антитела анти-*Mycoplasma* обнаружили только в немногих случаях, а редко — также изолировали штаммы микоплазм. Авторы на основании проведенных исследований считают, что реакция связывания комплемента является более чувствительной чем другие.

**Pilaszek J., Trusczyński M. — Laboratory methods for the diagnosis of mycoplasmosis in calves.**

The purpose of the work was to evaluate the usefulness of plate and tube agglutination tests, and complement fixation test for the diagnosis of mycoplasma infection in calves. The findings were compared with the results of the isolation of *Mycoplasma* organisms from the mucosa of the nasal cavity of calves and with clinical symptoms manifested by the animals under study. Each of the serological methods applied allowed to demonstrate *M. bovirhinis* antibodies in most sera from calves showing clinical symptoms from the respiratory tract. In most cases *Mycoplasma* organisms were isolated from these calves as well. Sera from calves without clinical signs were positive for *Mycoplasma* antibodies only in few cases and the organisms were rarely recovered from these animals. It seems that complement fixation test is more sensitive assay than the other serological tests examined.

cą antybiotyków. W drugiej serii badań przebadano wpływ gentamycyny, gentamycyny łącznie z aureomycyną, tych dwóch antybiotyków i tylozyny oraz linkomycyny i spektomycyny na zdolność wylęgową jaj zakażonych *Mycoplasma gallisepticum* na drodze naturalnej. Linkomycyna łącznie ze spektomycyną w dawce po 500 mcg/jajo eliminowały całkowicie *M. gallisepticum* z jaj wylęgowych po podaniu do woreczka żółtkowego zmniejszając jednakże w sposób istotny odsetek wylęgów. Po stosowaniu tych antybiotyków przez komorę powietrzną uzyskiwano eliminację mikoplazm przy zadowalającym odsetku wylęgów.

G.

**SLOCOMBE J. O. D., MC CRAW B. M.:** Usuwanie przez tiabendazol efektów działania patogennego larw *Strongylus edentatus*. (Suppression of the pathogenic effects of *Strongylus edentatus* larvae with Thiabendazole). Can. J. comp. Med., 39, 256—260, 175 (3).

Cztery koniki zakażono larwami zakaźnymi *Strongylus edentatus* za pomocą sondy żołądkowej w ilości 15 000 ± 6% zwierzę. Trzeciego i czwartego dnia po zakażeniu zastosowano tiabendazol w dawce 440 mg/kg wagi ciała. U sztuk nieleczonych po 2 tygodniach od chwili zakażenia liczba eozynofiliów przekraczała 1700/mm<sup>3</sup>, natomiast u sztuk leczonych i koników z grupy kontrolnej liczba eozynofiliów nie przekraczała 100 komórek/mm<sup>3</sup>. U leczonych sztuk poddanych sekcji 35 dnia po zakażeniu jelito ślepe i okrężnica oraz sieć nie wykazywały żadnych odchyłań od normy. Jedynie na powierzchni wątroby występowały nieliczne drobne białe ogniska.

G.