

CEZARIUSZ ŻÓRAWSKI, PELAGIA SKWAREK

Mycobacterium terrae przyczyną nieswoistego reagowania jałówki na tuberkulinę ssaków

Z Pracowni Immunologii Grażyley Instytutu Weterynarii w Paławach

Prątki atypowe są w ostatnich latach przedmiotem wszechstronnych badań. Liczni autorzy wykazali bowiem, że te szeroko rozprzestrzenione w przyrodzie drobnoustroje, uważane w większości za saprofity, mogą niekiedy wywoływać zakażenie i proces chorobowy u ludzi i zwierząt (2, 3, 8, 9, 12). Co się tyczy patologii weterynaryjnej, to prątki atypowe najczęściej występują u świń, wywołując u nich zmiany gruźliczo-podobne, zlokalizowane zwykle w węzłach chłonnych podszczękowych, okolicy gardłowych lub krezkowych.

Bydło jest mniej wrażliwe niż trzoda chlewna na infekcję prątkami atypowymi, tym niemniej jednak, w sprzyjających warunkach, mogą one wywoływać zakażenie tych zwierząt i być przyczyną występowania nieswoistych odczynów tuberkulinowych, które z kolei utrudniają alergiczne rozpoznawanie gruźlicy.

W piśmiennictwie opisane są przypadki izolowania z węzłów chłonnych lub innych narządów bydła szczepów *Myc. kansasii* (7, 14), *Myc. intracellulare* (1, 5, 18), *Myc. fortuitum* (10, 14), *Myc. vaccae* (15), *Myc. aquae* (14), *Myc. xenopi* (18), *Myc. phlei* (14) oraz prątków niezidentyfikowanych (13, 18).

W pracy niniejszej opisano przypadek izolowania z węzłów chłonnych tuberkulino-dodatniej jałówki szczepu *M. terrae*. Zbadano też jego właściwości alergenne.

Materiał i metody

Materiał stanowiły niezmiennione chorobowo węzły chłonne śródpiersiowe i krezkowe jałówki reagującej w dwu kolejnych badaniach różnicą zgrubienia łańdzu skóry, na tuberkulinę ssaków: 5,4 i 3,8 mm, a na tuberkulinę ptasią 1,6 i 1,7 mm. Jałówka została skierowana na ubój z podejrzeniem gruźlicy.

Pobrane do badań laboratoryjnych materiały opracowano według obowiązujących zasad, po czym posiano nim po 3 podłoża Lowensteina-Jensena, Petragnaniego z pyrogrońianem sodu oraz Stonebrinka. Wykonano też próbę biologiczną na 2 świnkach morskich.

Wyizolowany drogą posiewów bezpośrednich szczep prątków kwasoopornych zbadano w następujących próbach biochemicznych: na aktywność katalazy, atrylsulfatazy, na redukcję azotanów, na obecność benzamidazy, ureazy, nikotynamidazy i pyrazynamidazy, hydrolizę Tween 80 oraz redukcję tellurynu potasu. Próby biochemiczne wykonywano według metod podanych uprzednio (16). Ponadto wydzielonemu szczepem zakażono 2 świnki morskie (0,1 mg półsuchej masy prątków domięśniowo), 2 króliki (0,01 mg prątków dożylnie) i 2 kurczęta (0,1 i 1,0 mg prątków dożylnie).

Właściwości uczulające wyizolowanych prątków oraz dla porównania *Myc. avium* D₄ zbadano w następujący

sposób: zawiesiny prątków zebranych z 10-dniowej hodowli na podłożu Petragnaniego zabijano w parze bieżącej, filtrowano przez bibułę i przemywano wodą o temp. 80–90°C, a następnie suszono w próżni. 100 mg suchej masy prątków każdego szczepu ucierano w moździerzu z dodatkiem niewielkiej ilości pumeksu i kilkoma kroplami płynu fizjologicznego, a następnie dodawano 25 ml płynnej parafiny. Dawki po 0,5 ml otrzymanych zawiesin (2 mg prątków w dawce) wstrzykiwano jednorazowo w mięśnie uda świnkom morskim -albinosom. Każdym szczepem uczulono po 8 zwierząt. Po upływie 28 dni zbadano stan uczulenia zwierząt na tuberkulinę ssaków i ptasią. W tym celu wstrzykiwano świnkom morskim w wygoloną skórę na jednej stronie ciała tuberkulinę PPD ssaków w dawkach 2, 5, 10, 20, 50 i 100 jednostek, a na drugiej stronie analogicznie dawki tuberkuliny ptasiej. Wyniki odczytywano po 24 godzinach, mierząc linijką wielkość reakcji i określając dla każdej świnki liczbę jednostek tuberkulinowych, która wywołała tzw. reakcję wskaźnikową tj. odczyn o średnicy 7 mm. Średnia tych dawek dla całej grupy wyrażała stopień uczulenia zwierząt przez dany szczep na stosowane tuberkuliny.

Wyniki i omówienie

Wyizolowany szczep prątków kwasoopornych rósł w primokulturze w postaci pojedynczych wypukłych kolonii, o zabarwieniu jasno kremowym. Czas wzrostu wynosił 3 tygodnie. W próbach biochemicznych wykazywał aktywność katalazy, atrylsulfatazy, hydrolizował Tween 80, redukował azotany, a dawał ujemny wynik w próbach na obecność amidazy i redukcję tellurynu potasu. Był niejadliwy dla świnki morskiej, królika i kurczęcia. Cechy te były więc typowe dla *Myc. terrae*.

Właściwości alergenne wyizolowanych prątków oraz *Myc. avium* D₄ ilustruje tab. 1. Doświadczenie przeprowadzone na świnkach morskich — albinosach wykazało, że *Myc. terrae* uczulał te zwierzęta zarówno na tuberkulinę ptasią, jak i ssaków. Dla wywołania reakcji

Tab. 1. Właściwości uczulające *Myc. terrae* i *Myc. avium* D₄ w próbie na świnkach morskich

Szczep użyty do uczulenia	Liczba zwierząt	Średnia liczba jedn. tuberk. wywołująca reakcję wskaźnikową		Stosunek dawki tuberkuliny ptasiej do ssaków
		PPD ptasia	PPD ssaków	
<i>Myc. terrae</i>	8	19	26	1:1,4
<i>Myc. avium</i> D ₄	8	3,8	40	1:10,5

wskaźnikowej trzeba było wstrzyknąć świnkom morskim średnio 19 jednostek tuberkuliny ptasiej lub 26 jednostek tuberkuliny ssaków. U świń kontrolnych, uczulonych *Myc. avium* D₄, reakcja wskaźnikowa powstawała po wstrzyknięciu 3,8 jednostek tuberkuliny ptasiej i 40 jednostek tuberkuliny ssaków. Stosunek dawki tuberkuliny ptasiej do ssaków w przypadku uczulenia świń morskich *Myc. terrae* wynosił jak 1:1,4, a w przypadku *Myc. avium* D₄ jak 1:10,5. Wyniki te świadczą, że badane prątki uczulały świnki morskie na tuberkulinę ptasią słabiej, a na tuberkulinę ssaków silniej, niż *Myc. avium* D₄. Różnica w odczynowości zwierząt uczulonych *Myc. terrae* na obie stosowane tuberkuliny była słabo zaznaczona. Stosowanie w rutynowym teście porównawczym 4-krotnie większej dawki tuberkuliny ssaków (10 tys. j.t.) niż ptasiej (2,5 tys. j.t.) mogło więc wywołać u jałówki uczulonej *Myc. terrae* silniejsze odczyny na tuberkulinę ssaków, niż na ptasią.

W dostępnym piśmiennictwie nie napotkano doniesienia w którym opisanoby *Myc. terrae* jako czynnik wywołujący alergię tuberkulinową u bydła. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że te niejadliwe dla zwierząt laboratoryjnych prątki mogą wywołać infekcję u bydła i być przyczyną uzyskania fałszywie dodatniego wyniku porównawczego testu tuberkulinowego.

Rola prątków atypowych w wywoływaniu alergii tuberkulinowej u bydła nie jest dostatecznie poznana. W środowisku zwierząt gospodarskich występują liczne gatunki tych drobnoustrojów, o różnych właściwościach antygenowych i alergennych. Przyjmuje się, że w warunkach naturalnych prątki atypowe dopiero wtedy wnikają do organizmu i wywołują stan uczulenia, gdy działa jakiś czynnik usposabiający zakażenie, jak drobne uszkodzenia przewodu pokarmowego wywołane przez pasożyty, ostrą karmę, lub też gdy następuje obniżenie odporności naturalnej zwierzęcia. Większość prątków atypowych uczula zwierzęta silniej na tuberkulinę ptasią, niż na ssaków (6, 11). Jednakże niektóre z nich mogą uczulać w równym stopniu na obie tuberkuliny lub nawet silniej na tuberkulinę ssaków niż ptasią (15, 17). W takich przypadkach test porównawczy może nie dać prawidłowego rozpoznania. Miało to miejsce w opisanym przypadku zakażenia jałówki *Myc. terrae*. Z wcześniejszych badań własnych (17) wynika, że prątki atypowe wywołują u zwierząt stosunkowo słaby i krótkotrwały stan alergii tuberkulinowej. Obniżenie lub zanik odczynowości zwierząt w kolejnych badaniach świadczy zwykle o nieswoistym uczuleniu. Niekiedy jednak ubój kontrolowany oraz badania sekcyjne i laboratoryjne są konieczne dla wykluczenia zakażenia swoistego i dla ewentualnego ustalenia przyczyny reagowania zwierząt na tuberkulinę ssaków. W omawianym przypadku udało się wyizolować czynnik wywołują-

cy uczulenie jałówki. Często jednak w podobnych przypadkach wynik badań laboratoryjnych jest ujemny. Prątki atypowe stosunkowo rzadko izoluje się z materiałów pochodzących od bydła, gdyż zwykle nie wywołują one widocznych gołym okiem zmian chorobowych i trudno pobrać do badań laboratoryjnych próbki zawierające te drobnoustroje. Ponadto z badań Kostrzeńskiego (4) wynika, że prątki atypowe są bardziej wrażliwe niż prątki gruźlicy na środki chemiczne, używane do homogenizacji materiału i znaczna ich część ginie w czasie przygotowywania próbek do posiewu. Tak więc ujemny wynik badania bakteriologicznego nie może wykluczać podejrzenia o wywołanie nieswoistego uczulenia bydła na tuberkulinę ssaków przez prątki atypowe. Z punktu widzenia epizootologicznego najważniejsze jest jednak stwierdzenie, że w badanym materiale nie występują prątki gruźlicy.

Wnioski

1. *Myc. terrae* może wywołać zakażenie bydła w warunkach naturalnych i być przyczyną nieswoistego reagowania tych zwierząt na tuberkulinę ssaków.

2. Badany szczep *Myc. terrae* wywołuje u świń morskich — albinosów taki stan alergii tuberkulinowej, w którym różnica w odczynowości zwierząt na tuberkulinę ptasią i ssaków jest znacznie słabiej wyrażona, niż w przypadku uczulenia *Myc. avium* D₄.

Piśmiennictwo

1. Dubina J., Sula L., Kubin M., Varekova J.: J. Hyg. Epidem. Mikrobiol. Imun. 18, 15, 1974.
2. Fischer D. A., Lester W., Schaefer W. B.: Am. Rev. resp. Dis. 98, 29, 1968.
3. Janowiec M.: Medycyna Wet. 9, 513, 1972.
4. Kostrzeński W., Peklarska-Pobratyn H.: Gruźlica 42, 11, 1974.
5. Kubin M.: Gruźlica 42, 35, 1974.
6. Martina O. W.: Veterinaria 6, 35, 1967.
7. Oudar J., Joubert, Viallier J., Caillere F., Goret P.: Revue Path. comp. Méd. exp. 60, 477, 1966.
8. Paryski E.: Gruźlica 12, 1355, 1965.
9. Peterson K. J.: J. Am. vet. med. Ass. 147, 1600, 1965.
10. Reuss V., Vick K. P.: Berl. Munch. tierarztl. Wschr. 81, 400, 1968.
11. Schaaf A., Meurs G. K., Goudswaard J.: XIX Congr. Med. vet. Mexico, 1, 236, 1971.
12. Schaefer W. B.: Am. Rev. resp. Dis. 97, 18, 1967.
13. Schlösser T.: Schweizer. Arch. Tierheilk. 111, 328, 1969.
14. Siam M. A.: Vet. med. J. Giza 12, 245, 1966.
15. Tuboly S., Szabo J.: Acta vet. hung. 17, 149, 1967.
16. Zórawski C., Karpiński T., Skwarek P.: Medycyna Wet. 30, 111, 1974.
17. Zórawski C., Karpiński T., Sapeta: Medycyna Wet. 29, 641, 1973.
18. Zórawski S., Skwarek P.: Medycyna Wet. 32, 661, 1976.

Adres autora: doc. dr habil. Cezariusz Zórawski, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

Журавский Ц., Скварек П. — Заражение *Myc. terrae* причиной неспецифических реакций телки на туберкулин млекопитающих.

Из лимфатических узлов (без патологических изменений) телки, положительно реагирующей на введение туберкулина млекопитающих, изолировали штамм кислотоустойчивых палочек, классифицированных при помощи биологических и биохимических проб как *Myc. terrae*.

Изолированные палочки показывали у морских свинок туберкулиновую аллергию. Она отличалась

меньшими разницей между реакцией при однократном введении туберкулина млекопитающих и птичьего туберкулина чем в случае сенситизации животных *Myc. avium* D₄.

Zórawski C., Skwarek P. — *Mycobacterium terrae* as a cause of non-specific tuberculin reaction in a heifer.

From lymph-nodes (without lesions) of a tuberculin-positive heifer a strain of acid fast bacilli was isolated. On the basis of biological and biochemical tests the strain was identified as *Myc. terrae*. Bacilli of the strain induced in guinea-pigs such a state of allergy in which differences in reactions to avian and mammalian tuberculin were much less marked than in case of sensitization with *M. avium* D₄.

JERZY RZEDZICKI, WIESŁAW DEPTUŁA

Charakterystyka immunoglobulin u przeżuwaczy

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Białka immunologicznie swoiste, głównie o charakterze przeciwciał, określono w 1964 r. mianem immunoglobulin. U zwierząt wyróżniono początkowo trzy klasy immunoglobulin IgG, IgM oraz IgA. Nieco później Hammer i wsp. (26) wykazali możliwość rozdziału immunoglobulin klasy IgG u bydła na dwie podklasy IgG1 oraz IgG2. Cechą wspólną wszystkich klas immunoglobulin jest obecność w ich cząsteczce dwóch łańcuchów polipeptydowych lekkich, dwóch łańcuchów polipeptydowych ciężkich. powiązanych ze sobą wiązaniami dwusiarczkowymi. Główne różnice między poszczególnymi klasami immunoglobulin dotyczą ich właściwości biologicznych, fizyko-chemicznych a także cech morfologicznych (1).

Immunoglobuliny są produkowane przez limfocyty B, których najwięcej występuje w śledzionie (40%), krwi obwodowej (30%) i węzłach chłonnych (20%). Limfocyty B występują w mniejszych ilościach w błonie właściwej (*lamina propria*) układu oddechowego, przewodu pokarmowego i innych narządów oraz w niektórych gruczołach wydzielniczych (2, 15, 21, 33, 37, 38, 39, 44, 75).

Immunoglobuliny u bydła i owiec są przekazywane noworodkom jedynie drogą siary, u kóz częściowo także drogą łożyska (15, 46). Optymalny czas wchłaniania z przewodu pokarmowego wynosi dla białek klasy IgG 27 godz., IgA 22 godz. IgM 16 godzin (29). Zwierzęta nowo narodzone rozpoczynają produkcję własną immunoglobulin klasy IgG i IgM między 8—16 dniem życia natomiast klasy IgA około 64 dnia życia (29). U młodych zwierząt poziom charakterystyczny dla zwierząt dorosłych białka klasy IgA osiągają w 6 miesiącu życia, IgG i IgM po około 12 miesiącach. U bydła obserwuje się przy tym krótkotrwałe obniżenie poziomu immunoglobulin klas IgM i IgG między 2—3 miesiącem życia (50). W późniejszym okresie poziom immunoglobulin wzrasta wraz z wiekiem. Wzrost ten jest najprawdopodobniej proporcjonalny do wzrostu wagi ciała (62, 84).

Największy udział w potencjale immunoglobulinowym surowicy krwi u przeżuwaczy (nawet do 90%) stanowią immunoglobuliny klasy IgG (29). Immunoglobuliny klasy IgG wyka-

zują w reakcji immunodyszufji krzyżowej identyczny charakter u bydła, owiec i kóz (1). Ciężar cząsteczkowy oraz stała sedymentacji tych białek zależą od rodzaju podklasy oraz miejsca występowania (tab. 3). Immunoglobuliny klasy IgG u bydła, owiec i kóz wykazują różnice we fragmencie Fc, ponadto u bydła i owiec różnią się także szybkością wędrowki w polu elektrycznym. Frakcję szybko wędrującą określono jako IgG1, wolno wędrującą jako IgG2 (78). Stosunek ilościowy immunoglobulin IgG1 do IgG2 w surowicy bydła wynosi 3:2, owiec 4:1, natomiast u kóz jest niemal równoważnym (46, 63). Wyrażnie wyższy poziom frakcji IgG1 obserwuje się w sianie, analogiczny stosunek ilościowy tych frakcji wynosi u bydła 35:1, u owiec 5:1, u kóz 7—20:1 (42, 46, 53). Immunoglobuliny IgG występują ponadto w mleku, ślinie, łzach, żółci i limfie, wydzielinie przewodu pokarmowego i układu oddechowego, a także w wydzielinie pochwowej (11, 22, 63, 68).

Immunoglobuliny klasy IgG u przeżuwaczy mają charakter białek surowiczo-wydzielniczych. Ogólny ich poziom w organizmie jest utrzymywany głównie przez produkcję komórek immunokompetentnych układu limfoidalnego. Mniejsze znaczenie ilościowe odgrywa produkcja lokalna w innych narządach.

Wśród ośrodków lokalnej produkcji immunoglobulin klasy IgG największe znaczenie odgrywa najprawdopodobniej przewód pokarmowy oraz gruczoł mlekowy. Według Quina i wsp. (63) u owcy immunoglobuliny IgG produkowane w przewodzie pokarmowym stanowią 25% ogólnego potencjału immunoglobulinowego tej klasy. Obecność komórek produkujących immunoglobuliny IgG u cieląt w przewodzie pokarmowym wykazali Allen i wsp. (2, 3) oraz LeFor i Bauer (36). Komórki odpowiedzialne za produkcję podklasy IgG2 występują w jelitach cienkich oraz w jelicie ślepym. Komórki produkujące białka podklasy IgG1 stwierdza się sporadycznie na całej długości przewodu pokarmowego (21, 50). Curtain i wsp. (19) wykazali ponadto, że u owiec w przewodzie pokarmowym przy inwazjach pasożytniczych mogą powstawać immunoglobuliny, które określili jako IgG1A.