

18. Dennis R. A., O'Hara P. J., Young M. F., Dorris K. D.: J. Am. vet. Med. Ass. 156, 1961, 1970.
19. Dick H. M., Dawson C. O., Campbell J. D.: Clin. Allergy 3, 29, 1973.
20. Dixon F. J., Feldman J. D., Vazquez J. J.: J. exp. Med. 113, 899, 1961.
21. Doman I.: Magy. Allator Lap. 28, 687, 1973.
22. Dorchies P.: Revue Med. vet. 126, 599, 1975.
23. Doyle J. J.: Int. Archs Allergy 45, 744, 1973.
24. Eyal J., Mayer E.: Refuah vet. 28, 62, 1971.
25. Ficarelli R., Vezzani E., Ballarini G.: Clinica vet., Milano 94, 173, 1971.
26. Frens A. M., Van Den Griff J., Dammers J.: Tijdschr. Diergeneesk. 86, 255, 1961.
27. George M., Vaughan J. H.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 111, 514, 1962.
28. Greenway J. A., McCraw B. M.: Can. J. comp. Med. 34, 227, 1970.
29. Hudson J. R.: Vet. Rec. 63, 701, 1951.
30. Junge U., Hoekstra J., Wolfe L., Deinhardt F.: Clin. exp. Immun. 7, 431, 1970.
31. Jarrett E. E.: Vet. Rec. 93, 480, 1973.
32. Jarrett W. F., McIntyre W. L., Jennings F. W., Mulligan W.: Vet. Rec. 69, 1329, 1957.
33. Jenkins P. A., Pepys J.: Vet. Rec. 77, 464, 1965.
34. Kaaden O. R., Mussgay M., Bauer K.: Z. Immun Forsch. 141, 441, 1971.
35. Kast A.: Jap. J. vet. Sci. 34, 283, 1972.
36. Klesius P. H., Kristensen F., Elston A. L., Williamson O. C.: Exp. Parasit. 41, 480, 1977.
37. Koprowski H., Fernandes M. V.: J. exp. Med. 116, 467, 1962.
38. Lacey J.: J. gen. Microbiol. 51, 173, 1968.
39. Lapage G.: Veterinary parasitology. Oliver and Boyd, Edinburgh — London 606, 1968.
40. Leeman W., De Weck A. L., Schneider C. H.: Nature, Lond. 223, 621, 1959.
41. Maini R. N., Beck A., Roffe L.: Tubercle 55, 269, 1974.
42. Marthaler A.: Schweizer. Arch. Tierheilk. 112, 125, 1970.
43. Merrett T. G., Merrett J., Cookson J. B.: Clin. Allergy 6, 131, 1976.
44. Mayr A.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 81, 349, 1968.
45. Mayr A., Ringseisen J., Baljer G., Bibrack B., Wallner J., Zimmer H.: Zentbl. VetMed. 16B, 487, 1969.
46. Michel J. F., Coates G. H.: Vet. Rec. 70, 554, 1958.
47. Mirri A.: Clinica vet., Milano 73, 167, 1950.
48. Moller E.: Science 47, 873, 1965.
49. Morein B., Moreno-Lopez J.: Zentbl. VetMed. 20B, 540, 1973.
50. Mucha M.: Medycyna Wet., 28, 690, 1972.
51. Nicolet J., Haller R., Herzog J.: Infect. Immun. 6, 38, 1972.
52. Ono M., Watanabe S.: Jap. J. vet. Sci. 18, 141, 1956.
53. Pasternak N. I., Brysin V. G.: Veterinarija, Moskwa 7, 68, 1965.
54. Pepys J.: Clin. Allergy 3, 491, 1973.
55. Pirie H. M., Dawson C. O., Breeze R. G., Selman I. E., Wiseman A.: Clin. Allergy 2, 181, 1972.
56. Pratoran F.: Veterinaria, Milano 13, 117, 1964.
57. Ramsey E. W., Brandes L. J., Jacobs K. H., Goldenberg G. J.: Cell. Immun. 23, 334, 1976.
58. Renes I.: Magy. allatory. Lap. 31, 115, 1976.
59. Roder K. H.: Tierärztl. Umsch. 18, 343, 1963.
60. Kosenan W., Moon H. D.: J. Immun. 96, 80, 1966.
61. Rucido L.: Immunologia Gruzlicy i szczepień ochronnych. PZWL, 1974.
62. Selman I. E., Wiseman A., Breeze R. G., Pirie H. M.: Vet. Rec. 99, 181, 1976.
63. Sharbaugh R. J., Majeski J. A., Garlick N. L.: Am. J. vet. 33, 1067, 1972.
64. Soothill J. F., Stewart M. W.: Clin. exp. Immun. 9, 193, 1971.
65. Szafarski J.: Medycyna Wet. 6, 585, 1950.
66. Walford R. L., Gallagher R., Sjaarda J. R.: Science 144, 868, 1964.
67. Wells P. W., Eyre P.: Vet. Rec. 87, 173, 1970.
68. Wilkie B. N.: Can. J. comp. Med. 40, 221, 1976.
69. Wray C., Tomlinson J. R.: J. path. Bact. 98, 61, 1969.
70. Wray C., Tomlinson J. R.: Res. vet. Sci. 13, 563, 1972.
71. Zórawski C.: Medycyna Wet. 33, 332, 1977.

Adres autora: prof. dr Cezariusz Zórawski, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

STANISŁAWA LEWANDOWSKA, JERZY NOWACKI,
ZDZISŁAW STARONIEWICZ, ZENON WACHNIK

Wartość odczynów serologicznych w przebiegu doświadczalnej listeriozy królików

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Dotychczas stosowane w rozpoznawaniu listeriozy odczyny serologiczne nie są zbyt swoiste, gdyż listerie mogą posiadać wspólne antygeny z innymi drobnoustrojami (3, 9, 13, 14), lub zawierać antygen powierzchniowy L hamujący reakcje serologiczne (5, 10). Listerie są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, co powodować może u ludzi i zwierząt bezobjawowe zakażenia i pojawienie się przeciwciał listeryjnych. Biorąc to pod uwagę postanowiono wykonać badania, mające na celu ustalenie takich metod, które będą najbardziej swoiste w wykrywaniu zakażeń bezobjawowych, jak również prześledzić wpływ środków bodźcowych powszechnie stosowanych w leczeniu zwierząt na dynamikę i swoistość odczynów.

Materiał i metody

Do badań użyto 21 królików rasy belgijskiej, w wieku około 1 roku klinicznie zdrowych, ujemnie reagujących w odczynach serologicznych w kierunku listeriozy i nie wykazujących zmian w obrazie białokrwinkowym. Dziesięć królików zakażono pałeczkami *L. monocytogenes* — serotyp 1 i 4b. Listerie podawano doustnie trzykrotnie w odstępach 3-dniowych w dawkach wzrastających od 1,5 do 2 ml/kg o gęstości 10^9 w 1 ml.

Krew do badania serologicznego i hematologicznego pobrano przed zakażeniem 2-krotnie w odstępie tygodnia przez okres 12 miesięcy.

Królikom tym oraz 11 królikom zdrowym nie zakażonym podano po 14 miesiącach od zakażenia cerymanganu, jednorazowo w ilości 0,5 ml domięśniowo. Po 2 miesięcznej obserwacji, w czasie której krew pobierano w odstępach tygodniowych, wstrzyknięto ponownie podskórnie jednorazowo biotropinę w dawce 2 ml na królika. Po dalszych 3 miesiącach biotropinę podawano 3-krotnie w odstępach 3-dniowych.

Po ukończeniu obserwacji króliki zgładzono i wykonano badanie sekcyjne i bakteriologiczne.

Badania serologiczne w kierunku listeriozy przeprowadzono za pomocą odczynów: aglutynacji (OA) i immunofluorescencji (OIF). Odczyny te wykonano z antygenami O i H uzyskanymi z tych samych szczepów, którymi zakażono zwierzęta. Antygen O (bez środka konserwującego) przygotowano z zabitych w autoklawie pałeczek *L. monocytogenes* o gęstości 10^9 w 1 ml. Antygen H sporządzono wg metody podanej przez Seligera (12). OA wykonywano rozcieńczając płynem fizjologicznym surowicę badaną od 1:10, dodawano po kropli antygen i przetrzymywano w temp. 37°C w ciągu 18—20 godzin, po czym odczytywano w aglutynoskopie. OIF pośredniej wykonano wg ogólnie przyjętych metod (7). Preparaty z antygenem O suszono w cieplarni w temp. 37°C , a następnie utrwalano termicznie. Natomiast preparaty z antygenem H suszono tylko w cieplarni w temperaturze 41°C w przeciągu 30 minut. Używano znakowanych surowic antyglobulinowych produkcji Difco, które wysuscono proszkiem wątrobowym celem usunięcia nieswoistego świeceni.

Badanie hematologiczne obejmowało: ilość czerwonych i białych ciałek krwi oraz obraz białokrwinkowy.

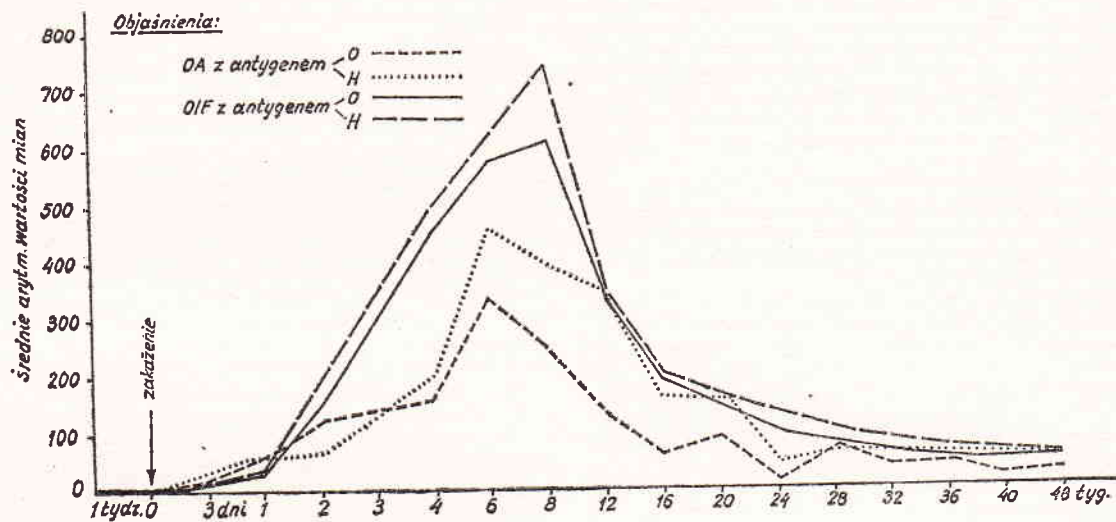
Badania bakteriologiczne bezpośrednie i pośrednie przeprowadzono na podłożach tryptozowych stałych i płynnych z kwasem nalidyksynowym i telurynem sodu. Materiał do okresowych przesiewów przetrzymywano w 4°C w bulionie z kwasem nalidyksynowym.

Wyniki badań i omówienie

Wszystkie króliki w ciągu całego okresu obserwacji nie wykazywały klinicznie objawów chorobowych.

przeciwciał anty H w mianie 1:160 i wyżej. Od 24 tygodnia do końca obserwacji następuje również obniżenie poziomu przeciwciał H, przy czym ich poziom jest wyższy niż przeciwciał O.

W OIF wykrywano przeciwciała po 7 dniach od zakażenia. Najwyższy poziom przeciwciał (1:640 do 1:1280) obserwowano, podobnie jak w OA, między 4 a 12 tygodniem po zakażeniu. W ciągu całego okresu obserwacji nie zauważono



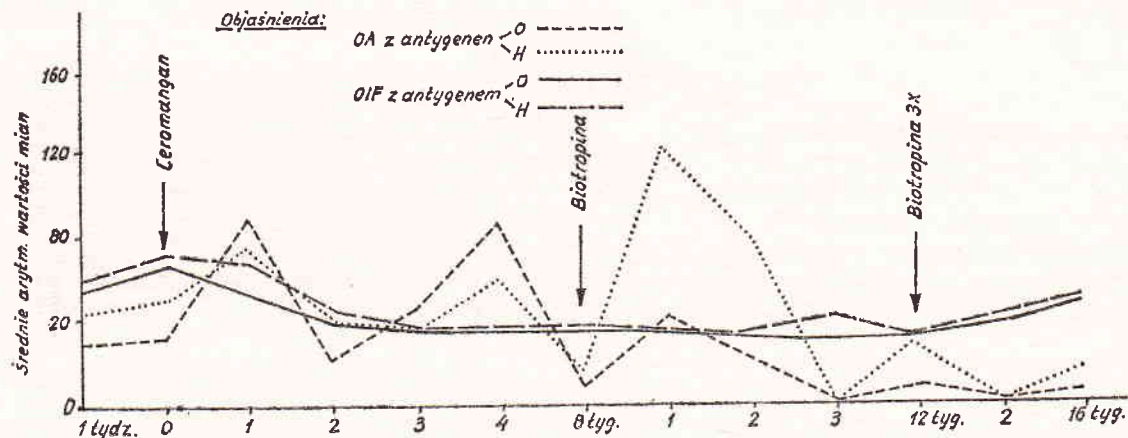
Ryc. 1. Zachowanie się przeciwciał w odczynie aglutynacji i immunofluorescencji u królików zakażonych *L. monocytogenes*

Badaniem hematologicznym stwierdzono jedynie nieznaczny wzrost ilości monocytów (4—9%) do 3 miesięcy po zakażeniu.

Zachowanie się przeciwciał w OA i OIF u królików zakażonych pałeczkami *L. monocytogenes* przedstawia ryc. 1. Z wykresu tego wynika, że w OA przy użyciu antygeny O i H przeciwciała pojawiły się już po 3 dniach. Najwyższe miana (1:320—1:640) stwierdzono między 4 a 12 tygodniem po zakażeniu. Od 12 tygodnia następuje spadek przeciwciał anty O do mian 1:40 i 1:80, przy równoczesnym utrzymaniu się

istotnych różnic w poziomie przeciwciał anty O i H.

Najwyższy poziom przeciwciał wykazano w tym samym czasie zarówno w OA jak i OIF, chociaż dynamika ich narastania i opadania przedstawia się nieco odmiennie. W zależności od stadium zakażenia obserwuje się w OA różnice w poziomach przeciwciał O i H. W późniejszych stadiach zakażenia poziom przeciwciał O jest niższy niż H, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez Rootsa i Straucha (11) oraz Seeliger (12). Natomiast w OIF nie ma zasadniczej różnicy w poziomie przeciwciał O i H w przebiegu całego doświadczenia. Podkreślić należy, że poziom przeciwciał H w OA od 12 tygodnia po zakażeniu



Ryc. 2. Wpływ środków bódźcowych na poziom przeciwciał antylisteriowych u królików zakażonych

kształtuje się podobnie jak przeciwciała fluoryzujące O i H. W serodiagnostyce listeriozy najczęściej stosowany jest OA i OWD. Brak natomiast oceny OIF, który uważany jest za bardziej swoisty w rozpoznawaniu innych chorób zakaźnych i inwazyjnych (2, 6, 7). Wyniki uzyskane w badaniach własnych pozwalają przypuszczać, że w rozpoznawaniu listeriozy zarówno OA jak OIF wykazują podobny stopień swoistości.

Wpływ środków bodźcowych na poziom przeciwciał antylisteriowych u królików zakażonych przedstawia ryc. 2.

W surowicach królików zakażonych obserwuje się w OA z antygenem O i H po 1 i 4 tyg. od momentu podania ceromanganu pojawienie się albo podwyższenie miana od 1 do 2 rozcieńczeń. U królików zakażonych po 1 tyg. od jednorazowego podania biotropiny w OA stwierdzono przede wszystkim wzrost poziomu przeciwciał anty H utrzymujący się przez 2 tygodnie. Natomiast po dalszym 3-krotnym podaniu biotropiny w odstępach 3 dniowych nie zaobserwowano wzrostu poziomu przeciwciał w ciągu całego okresu obserwacji.

W grupie królików nie zakażonych po podaniu ceromanganu i biotropiny w OA wykazano przeciwciała.

W OIF nie stwierdzono wpływu ceromanganu i biotropiny na poziom przeciwciał w grupie królików zakażonych jak i nie zakażonych.

Z poczynionych obserwacji wynika, że ceromangan i biotropina mogą wpływać na wzrost poziomu aglutynin w przewlekłej listeriozie. Natomiast nie zauważono wpływu tych środków na poziom przeciwciał fluoryzujących. Pewną zbieżność wyników daje się zauważyć w badaniach przeprowadzonych u kobiet z przewlekłą listeriozą, którym podawano jednorazowo neoflaminę (8).

Po zakończeniu obserwacji króliki uśpiono i wykonano badania sekcyjne i bakteriologiczne. Sekcyjnie nie stwierdzono u żadnego z królików zmian chorobowych. Od jednego wyizolowano z wątroby i nerek pałeczki *L. monocytogenes* serotyp 1, które prawdopodobnie uległy zmianom zatracając pewne cechy charakteryzujące wyjściowe szczepy zjadliwe. Nie były one zjadliwe dla myszy białych. Z literatury (1, 4) wiadomo, że szczepy niezjadliwe listerii dla myszy białych w odróżnieniu od zjadliwych są katalazoujemne, niehemolizujące i nieruchome.

Wnioski

1. U królików zakażonych sztucznie listeriami przeciwciała OA wykrywa się wcześniej (3 dni) niż OIF (7 dni).

2. Najwyższy poziom przeciwciał występuje między 4 a 12 tygodniem po zakażeniu.

3. W OA stwierdza się od 6 tygodnia po zakażeniu wyższe miana z antygenem H niż O.

4. W OIF nie zauważa się istotnych różnic w poziomie przeciwciał wykrywanych za pomocą antygeny O i H.

5. U zwierząt zakażonych listeriami, a nie wykazujących objawów chorobowych podanie środków bodźcowych może powodować okresowy wzrost poziomu aglutynin.

6. Stosowanie środków bodźcowych (ceromangan, biotropina) nie wpływa na ocenę swoistości odczynów.

Piśmiennictwo

1. Forray A., Angyal T.: Acta microbiol. hung. 19, 353, 1972.
2. Gładysz A., Staroniewicz Z., Skurski A.: Materiały Naukowe XVIII Zjazdu PT Mikrobiol. Lublin 1975.
3. Gray M. L., Killinger A. H.: Bact. Rev. 30, 322, 1966.

4. Groves R. D., Welshimer H. J.: Abstr. of th Annual Meeting of the Am. Society for Microbiology 76, 27, 52, 1976.
5. Jaeger R. T., Myers D. M.: Can J. Microbiol. 1, 12, 1954.
6. Karmańska K.: Wiad. parazyt. 9, 433, 1965.
7. Kubica J. F.: Immunofluorescencja. PZWL 1937.
8. Lewandowska S., Staroniewicz Z., Wachnik S.: Zeszyty Dolnośląskiego Zespołu do Spraw Zoonoz 2, 49, 1979.
9. Neter E., Anzai H., Gorzyński E. A.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 105, 131, 1960.
10. Osebold J. W., Aalund A., Chrisp C. E.: J. Bact. 89, 84, 1965.
11. Roots E., Strauch D.: Listeriosen. Beihelft I Zentr. Veterinaermed. Paul Parey Verlag 1953.
12. Seeliger H. P. R.: Listeriosis. Krager-Basel-New York 1961.
13. Welshimer H. J.: J. Bact. 79, 456, 1960.
14. Welshimer H. J.: Second Symp. on Listeria Infection. Edited by M.L. Gray Montana State College 1963.

Adres autora: doc. dr habil. Stanisława Lewandowska, ul. Piastowska 47/8, 50-361 Wrocław.

Левандовская С., Новацкий Е., Староневич З., Вахник З. — Ценность серологических реакций в течении экспериментального листериоза кроликов.

Целью исследований было введение в диагноз листериоза возможно простых и специфических серологических методов. Следилось тоже влияние возбудительных препаратов на специфичность результатов серологических исследований.

Для исследований использовали 21 кролика. Десять кроликов заражено внутрь живыми палочками *L. monocytogenes*, серотип 1 и 4b. После нескольких месяцев наблюдения зараженным кроликам и 11 незараженным кроликам подавались церомарганец Польфа, а затем биотропин Польфа.

С сыворотками кроликов производились реакции: агглютинации (РА) и иммунофлуоресценции (ПИФ), применения антигена O и H.

Наиболее высший уровень антител обнаружен в обеих реакциях между 4 и 12 неделью после инфекции.

Антилистериозные антитела обнаруживались раньше в РА, чем в ПИФ. Спустя 6 недель от заражения обнаруживались в РА чаще более высокие титры с антигеном H, чем O, чего не наблюдали в ПИФ.

Подача кроликам церомарганца Польфа или биотропина Польфа спустя несколько месяцев от заражения и не проявляющим никаких болезненных симптомов, вызвала периодическое повышение уровня агглютининов. Зато замечено влияние этих средств на уровень флуоризирующих антител.

Lewandowska S., Nowacki J., Staroniewicz Z., Wachnik Z. — The value of serological reactions in experimental listeriosis in rabbits.

The purpose of the experiment was to introduce simple and specific serological methods for diagnostic purpose in listeriosis. It was also studied the effect of stimulators on the specificity of the results of serological reactions.

Ten out of 21 rabbits were orally infected with live strains of *L. monocytogenes* serotype 1 and 4b. After above 10 months of the observation the infected and control (non infected) animals were administered ceromangan and biotropin. The rabbit sera were subjected to agglutination (OA) and immunofluorescence (OIF) tests using O and H antigens. The highest antibody levels were noted in both the tests at 4—12 weeks since the infection. Anti-listeria antibodies were discovered earlier by OA as compared with OIF. After 6 weeks of the infection higher titres in OA were noted more frequently with antigen H, which was not in the case of OIF.

Ceromangan and biotropin administration for above 10 months into rabbits showing no pathological symptoms resulted in a transitory increase of agglutinin levels. However, it did not influence the level of fluorescent antibodies.