

JERZY MOLENDĄ, ELŻBIETA SOBIECH, EWA WIERNICKA-CZOPEK, STANISŁAWA STROJNA

Wpływ badań serologicznych na zwiększenie wykrywania bakteryjnych przyczyn ronienia bydła

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Rodakowskiego 6, 50-966 Wrocław

Ronienia bydła stanowią istotny problem epizootyczny i ekonomiczny, stąd zasadnicze znaczenie ma właściwe rozpoznanie i ewidencjonowanie ich przyczyn. Analiza wyników badań materiału patologicznego (płody, próby łożyska) wykonanych w pracowni bakteriologicznej ZHW w ostatnim pięcioleciu wskazują, że 20 — 25% przypadków ronień powodowanych jest przez bakterie, najczęściej przez *Corynebacterium pyogenes*, a w dalszej kolejności *Campylobacter fetus* i *Listeria monocytogenes*. Z około połowy badanych prób natomiast nie udaje się wyosobnić w ogóle bakterii lub jedynie pojedyncze kolonie drobnoustrojów saprofitycznych. W rzeczywistości odsetek przypadków ronień powodowanych przez bakterie był prawdopodobnie wyższy, ponieważ nie można wykluczyć wśród przyczyn ronień udziału wymagających specjalnych metod wyosabniania chlamydii oraz pałeczek *Haemophilus somnus*, których izolacja ze względu na krótki okres przeżywania w materiałach patologicznych napotyka w badaniach rutynowych na duże trudności.

Dla przekonania się jaki jest udział chlamydii, pałeczek *H. somnus*, a także niebakteryjnych czynników, takich jak toksoplazmy wśród ewentualnych przyczyn ronień bydła, badano zawartość swoistych przeciwciał w surowicy krów roniących, zakładając zgodnie z danymi piśmiennictwa (1, 2, 4, 5, 9, 10, 12, 13) — że są one świadectwem ingerencji zarazków w fizjologiczny rozwój płodu. W tym celu w krwi pobranej od krów w 14—20 dni po poronieniu określano miano przeciwciał wiążących dopełniacz anty-*Chlamydia psittaci* i anty-*Toxoplasma gondi*, a także mian aglutynin anty-*Listeria monocytogenes* i anty-*Haemophilus somnus*. Uzyskane dane porównano następnie z wynikami takich samych badań surowic krów, które odbyły fizjologiczne porody.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na surowicach 508 krów po poronieniu (469 pochodziło z gospodarstw państwowych, 39 z prywatnych), u których nie stwierdzono bakteryjnych przyczyn ronienia (ujemne wyniki badań bakteriologicznych płodu lub łożyska). Krew pobierano w 14—20 dni po poronieniu, które u większości krów (90%) wystąpiło między 5 a 8 miesiącem ciąży. Grupę kontrolną stanowiły 44 surowice krów z gospodarstw państwowych, które urodziły zdrowe cielęta. Krew do badań pobrano w 2 tygodnie po porodzie. W surowicach określano wysokość mian przeciw: *Brucella abortus*, *Listeria monocytogenes*, *Haemophilus somnus*, *Chlamydia psittaci* i *Toxoplasma*

gondi, a następnie porównano otrzymane wyniki w obu grupach badanych zwierząt.

Badanie serologiczne. Zawartość przeciwciał anty-*B. abortus* określano odczynami: aglutynacji próbówkowej (OA) i wiązania dopełniacza (OWD) wykonanymi wg instrukcji obowiązującej w badaniach ZHW.

Miana przeciwciał anty-*L. monocytogenes* oznaczano odczynem aglutynacji próbówkowej wykonanym z antygenami somatycznymi OI/II i OV produkcji Bioveta (CSRS). Przeciwciała anty-*H. somnus* określano posługując się odczynem mikroaglutynacji na płytach metapleksowych, wykonanym wg metody zastosowanej we wcześniejszych badaniach (2). Obecność anty-*C. psittaci* wykrywano przy pomocy odczynu wiązania dopełniacza wykonanym z każdą surowicą dwiema metodami:

— modyfikacją metody OWD stosowanej w badaniach w kierunku brucelozy, stosując antygen firmy Dessau (NRD). Modyfikacja polegała na użyciu dopełniacza o większej aktywności hemolitycznej (5 jednostek) i inkubacji pierwszego etapu odczynu w temperaturze 4°C przez 18 godzin;

— mikrometodą na płytach metapleksowych, przy użyciu antygeny firmy Diagnostics Pasteur (Francja), wykonując odczyn wg instrukcji podanej przez producenta.

Przeciwciała anty-*T. gondi* wykrywano przy pomocy odczynu zimnego wiązania dopełniacza, wykonywanego z antygenem wyprodukowanym w Katedrze Parazytologii AR Wrocław (3).

Wyniki i omówienie

W żadnej z badanych surowic nie stwierdzono ani odczynem aglutynacji próbówkowej, ani odczynem wiązania dopełniacza przeciwciał anty *B. abortus* w stężeniach świadczących o aktualnej infekcji lub uznanych za wątpliwe. Podobnie wysokość mian anty-*L. monocytogenes* wyklucza udział tych pałeczek jako przyczyny poronień. Najwyższe miana dla każdego z antygenów (OI, II OV) nie przewyższały rozcieńczenia 1:160 i stwierdzono je tylko u nielicznych krów (1,8%). Ivanov i Massalsky (5) stwierdzili u owiec ozdrowieńców utrzymywanie się co najmniej przez kilka tygodni znacznie podwyższonych (1:400) mian aglutynin. Podobnie Kullman-Berger i Potel (6) uważają, że najniższe miano reakcji, które można uznać za wskaźnik aktualnej infekcji wynosi 1:100. Z kolei Moraes i Costa (9), wykonując badania podobne do obecnych stwierdzili, że surowice krów roniących w następstwie zakażenia pałeczkami *L. monocytogenes* (1,7%) reagowały w odczynie aglutynacji w rozcieńczeniach $\leq 1:320$.

Negatywne wyniki uzyskano także w badaniach w kierunku toksoplazmy. Tylko u nielicznych krów (3% roniących i 2,3% kontrolnych) stwierdzono przeciwciała wiążące dopełniacz i

Tab. 1. Wyniki badań serologicznych krów roniących i kontrolnych z antygenami *Chlamydia psittaci* i *Haemophilus somnus*

Krowy	Liczba krów reagujących anty:									
	<i>Chlamydia psittaci</i> *					<i>Haemophilus somnus</i>				
	8**	16	32	64	128	8	16	32	64	128
Poporonienu	76	36	21	10	—	67	126	183	70	14
Kontrolne	2	1	1	—	1	4	16	15	7	—

Objaśnienia: * — antygen Diagnostics Pasteur, ** — odwrotność rozcieńczenia.

Tab. 2. Porównanie odczynów dodatnich OWD z antygenami: *Chlamydia psittaci* Diagnostics Pasteur oraz *Chlamydia Dessau*

Antygen	Krowy poporonienu					Krowy kontrolne				
	8*	16	32	64	128	8	16	32	64	128
Diagnostics Pasteur	76**	36	21	10	—	2	1	1	—	1
Dessau	40	24	7	—	—	2	1	1	—	—

Objaśnienia: * — odwrotność rozcieńczenia, ** — liczba krów.

Tab. 3. Liczba krów z dodatnimi mianami anty-*Chlamydia psittaci* ($\leq 1:16$) i anty-*Haemophilus somnus* ($\leq 1:128$)

Krowy	Liczba krów z dodatnimi mianami anty:		
	<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Haemophilus somnus</i>	<i>C. psittaci</i> + <i>H. somnus</i>
Po poronieniu	64 (12,6%)	14 (2,7%)	3 (0,6%)
Kontrolne	3 (6,8%)	0	0

tylko w najniższym (1:5) rozcieńczeniu surowicy. Wyniki te w żadnym wypadku nie mogą być uznane za wskaźnik klinicznej toksoplazmozy.

Znaczne trudności interpretacyjne występują natomiast przy ocenie mian aglutynin anty-*H. somnus*, ponieważ niewiele jest danych na ten temat: jedynie Humphrey i wsp. (4) próbowali określić miano dodatnie. Stwierdzili oni miana $\leq 1:32$ w surowicach krów roniących lub chorujących na zapalenia dróg rodnych spowodowane przez *H. somnus* i uznali to rozcieńczenie za wskaźnik czynnej infekcji. W obecnych badaniach zbliżony odsetek krów w obu bada-

nych grupach reagował w rozcieńczeniach surowicy 1:32 i 1:64 (tab. 1). Miana 1:128 natomiast występowały jedynie u krów po poronieniu. Na tej podstawie postanowiono uznać reakcje dodatnie w rozcieńczeniach 1:28 za wskaźnik etiologicznej roli *H. somnus* w występujących roniach.

Badania w kierunku chlamydiozy przeprowadzono dwiema metodami z dwoma różnymi antygenami. OWD wykonany mikrometodą przy użyciu antygeny firmy Diagnostics Pasteur okazał się zdecydowanie bardziej czuły. Przemawia za tym ujawnienie niemal dwukrotnie wyższej liczby seroreagentów wśród krów ro-

niących niż w odczynie wykonanym z antygenem firmy Dessau. W grupie krów kontrolnych ilość reagentów wykrytych każdym z antygenów była podobna. Ponadto odczyn z antygenem francuskim wykryto znacznie więcej seroreagentów z mianami 1:32 i 1:64, a krowy reagujące w tym ostatnim rozcieńczeniu stwierdzono jedynie przy użyciu tego antygeny i tylko w grupie krów roniących (tab. 2).

Jak wynika z danych piśmiennictwa istnieją rozbieżne opinie co do wysokości mian OWD uznawanych za dowód etiologicznej roli *Chlamydia* w roniach bydła. Martinov (8) oraz Albigasonov (1) i Kurbanov i wsp. (7) uznali za dodatnie reakcje $\leq 1:8$. Natomiast polscy autorzy (12) uważają za dodatnie miano $\leq 1:16$. Z kolei Mortel i wsp. (10), po doświadczalnych poronieniach u krów spowodowanych zakażeniem *C. psittaci* obserwowali utrzymywanie się mian OWD $\leq 1:40$ przez ponad 2 miesiące. Także Sharma i Baxi (13) twierdzą, że wskaźnikiem etiologicznej roli chlamydii w roniach bydła są miana $\leq 1:128$. Tak więc interpretacja wyników badań serologicznych dla określenia odpowiedzialności poszczególnych drobnoustrojów za ronięcia może być dokonana tylko w kategoriach prawdopodobieństwa. Na podstawie przeprowadzonych badań jedynie *H. somnus* i *C. psittaci* mogą być uwzględniane jako prawdopodobne przyczyny poronień u części badanych krów. W odniesieniu do *H. somnus* przemawiają za taką interpretacją miana aglutynin 1:128 stwierdzone jedynie u krów po poronieniu. Natomiast na udział *C. psittaci* wskazuje dwukrotnie większy wśród krów roniących odsetek seroreagentów z mianami $\leq 1:16$ niż u krów kontrolnych (tab. 3). Miana takie wg Sadowskiego i Truszczyńskiego (12) są dowodem etiologicznej roli tych drobnoustrojów w przypadkach poronień. Jak wykazano w przedstawionych badaniach na uzyskane wyniki wywierał istotny wpływ rodzaj zastosowanego antygeny. Stosując powyższe kryterium (miano 1:60) odczynem z antygenem Diagnostics Pasteur wykryto ponad dwukrotnie więcej reakcji dodatnich wśród krów roniących niż przy użyciu antygeny firmy Dessau. Natomiast gdyby podwyższyć wysokość miana dodatniego, jak to sugerują niektórzy badacze (10, 13), proporcja wykrytych seroreagentów na korzyść antygeny francuskiego wzrosłaby jeszcze bardziej.

Reasumując należy stwierdzić, że badania serologiczne pozwoliły na określenie prawdopodobnego czynnika etiologicznego u ponad 14% badanych krów. Umożliwiły więc one diagnozowanie bakteryjnych przyczyn ronięcia, nie wykrytych w badaniach bakteriologicznych materiału patologicznego, zwiększając tym samym możliwości diagnostyczne. Nadal jednak, podobnie jak to wynika z badań opublikowanych w Austrii (14), tylko w części przypadków (25—30%), ronięcia powodowane są przez bakterie patogenne. Należy zatem sądzić, że

przyczyną przeważającej ich liczby są czynniki niezakaźne, najprawdopodobniej wynikające z niewłaściwych warunków zoohigienicznych, a także czynniki genetyczne i ewentualnie wirusy.

Piśmiennictwo

1. Abilgasomov M. M.: Veterinarija, Moskwa 12, 57, 1982.
2. Balbierza H., Nowacki W., Molenda J., Nikolajczuk M.: Medycyna Wet. 41, 272, 1985.
3. Grzywiński L.: Wiad. Parazytol. 19, 177, 1973.
4. Humphrey J. D., Little P. B., Stephens L. R., Barnum D. A.: J. Am. vet. med. Ass. 43, 791, 1982.
5. Ivanov I., Massalsky N.: Acta microbiol. Acad. Sci. hung. 19, 433, 1973.
6. Kulmann-Berger S., Potel J.: Zentbl. Bakt. Hyg. A 259, 51, 1985.
7. Kurbanov J., Avzalov F., Labutina L.: Veterinarija, Moskwa 2, 36, 1983.
8. Martinov A.: Vet. I. Med. Nauki, Sof. 21, 81, 1984.
9. Moraes F. R., Costa E.: Arq. Vet., Gerais 31, 19, 1979.
10. Mortel J. L., Perrin M., Roddakis A., Russo P., Deschanel J., Garnier F.: Ann. Rech. Vet. 14, 117, 1983.
11. Ognjanov D., Panova H., Genčev G. A.: Vet. I. Med. Nauki, Sof. 15, 26, 1978.
12. Sadowski J. M., Truszczyński M.: Medycyna Wet. 28, 229, 1972.
13. Sharma D. R., Baxi K. K.: Ind. J. comp. Microbiol. Immunol. infect. Dis. 4, 107, 1983.
14. Schweighardt H., Pechum P., Lauer mann E.: Tierärztl. Umsch. 39, 581, 1984.

Adres autora: doc. dr hab. Jerzy Molenda, ul. Rodakowskiego 6, 50-966 Wrocław

Моленда Е., Собех Э., Верницкая-Чопек Э. Стройна С. — Влияние серологических исследований на повышение выявления бактерий причин абортов у коров

Изучалась пригодность серологических исследований для повышения выявления бактериальных причин абортов у скота. С этой целью определялись титры антигел, связывающих комплемент анти-*Chlamydia psittaci* и *Toxoplasma gondi*, а также агглютинин анти-*Haemophilus somnus* и *Listeria monocytogenes* в сыворотке 508 коров после аборта, из плодов и плацент которых не были извлечены бактерии. Эти исследования сравнивались с результатами исследований 44 коров, которые родили здоровых телят. Для серологических опытов коров брали 14—20 дней после родов или аборта.

Применение серологических исследований увеличило выявление бактерий, таких как: *C. psittaci* и *H. somnus*, изолирование которых из патологического материала, вызывало затруднения. Положительные титры анти-*C. psittaci* были обнаружены у рыв телят. Для серологических опытов кровя Положительные титры анти-*H. somnus* были отмечены только у коров после аборта (2,6%). Положительные титры анти-*L. monocytogenes* и *T. gondi* не были обнаружены.

Molenda J., Sobiech E., Wiernicka-Czopek E., Strojna S. — The effect of serological examinations on the increase of detection of bacterial agents of bovine abortion

The usefulness of serological examinations as the methods enabling to increase the level of detection of bacterial agents of bovine abortion had been studied. The level of complement fixating antibodies against *Chlamydia psittaci* and *Toxoplasma gondi* and agglutinin titres against *Haemophilus somnus* and *Listeria monocytogenes* was measured in sera of 508 aborting cows with negative results of bacteriological examination of their aborted fetuses or placenta. The results were compared with those obtained in 44 cows which calved healthy progeny. The samples of blood for serological examinations were taken 14—20 days after abortion or parturition.

Serological examinations increased the level of detection of *C. psittaci* and *H. somnus*, which are usually isolated from pathological material with difficulties. Positive titres anti *C. psittaci* have been found in 12.6% of the aborting and 6% of the control

cows, while the positive titres anti *H. somnus* have been detected only in aborting animals (2.6%). Positive titres against *L. monocytogenes* and *T. gondi* were not found neither aborting nor in control cows.

PROFILAKTYKA I HIGIENA PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ

ŚWIETŁANA GŁĄB, IRENA WRÓBLEWSKA, JACEK DUTKIEWICZ*,
ZENOBIA WYDMUCH, EWA MATUSZEWSKA **

Mikrobiologiczne zanieczyszczenia powietrza chlewni o różnych technologiach żywienia

Katedra i Zakład Mikrobiologii Wydziału Farmaceutycznego Śląskiej Akademii Medycznej
ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec

*Instytut Medycyny Wsi, ul. Szkolna 16, 20-124 Lublin

**Zakład Technologii Zwierzęcej Instytutu Zootechniki,
32-083 Bałice k. Krakowa

Mikroflora powietrza w chlewniach uważana jest za jeden z najbardziej szkodliwych czynników środowiska hodowlanego, stanowiący główną przyczynę przewlekłych chorób płuc u zwierząt i obsługujących je ludzi (2, 5, 7, 13). Choroby te, mające nie tylko podłoże zakaźne, ale również będące skutkiem działania alergizującego i toksycznego drobnoustrojów (4, 5, 13), stanowią bardzo poważny problem. Średnie straty wynikłe z chorób układu oddechowego wśród trzody szacuje się w USA na około dwa dolary w przeliczeniu na jedną sztukę (7). U zwierząt doświadczalnych umieszczonych w chlewniach stwierdzano wysoką śmiertelność, zmiany patologiczne w tchawicy oraz występowanie śródmiąższowego zapalenia płuc, przypominającego „*alveolitis allergica*” u ludzi (3). Donham i wsp. (5) stwierdzili wśród szwedzkich hodowców świń schorzenia układu oddechowego, przeciętnie dwukrotnie częstsze, niż u pozostałych farmerów w tym kraju.

Z danych przytoczonych w pracy przeglądowej Lehnigk i Thiele (13) wynika, że w 15 cytowanych przez te autorki badaniach dotyczących stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza w chlewniach uzyskano rezultaty zawierające się w bardzo szerokim zakresie od 8,0 do 11 400,0 tys/m³, a najczęściej od 102,6 do 769,0 tys/m³. W tym też węższym zakresie mieszczą się rezultaty uzyskane przez szereg autorów nowszych prac, badających mikroflorę powietrza w chlewniach (2, 4, 7, 14, 15). Jako „zadawalający” pod względem zoohigienicznym poziom drobnoustrojów niektórzy autorzy przyjmują wartość 250 tys/m³ (13).

Autorzy badający mikroflorę powietrza w chlewniach podkreślają przewagę bakterii Gram-dodatnich, wśród których dominują ziarenkowce (14, 19, 20, 21). Odsetek Gram-ujemnych pałeczek jelitowych w całości mikroflory wynosił w badaniach różnych autorów od 1,2 do 2,6% (2, 7, 15). Tym niemniej, Gram-ujemnej floryze występującej w powietrzu chlewni przypisuje się ważne znaczenie chorobotwórcze, do czego przyczynia się ich zdolność wytwarzania endotoksyn, które po inhalacji przez zwierzę lub człowieka mogą być przyczyną objawów patologicznych ze strony układu oddechowego (2, 4, 5, 6). Za pomocą czułego testu Limulus, wykrywano w powietrzu chlewni obecność endotoksyn w stężeniu 0,12—0,23 ug/m³ (2, 5).

Stężenie grzybów w powietrzu chlewni jest według wszystkich autorów znacznie niższe niż bakterii, a ich odsetek w całości mikroflory wynosił 0,1—0,4% (2, 4).

Celem badań było:

- ilościowe określenie stopnia mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza chlewni różnicowanych pod względem technologii żywienia,
- analiza mikroflory powietrza badanych chlewni.

Material i metody

Przeprowadzono badanie mikrobiologiczne powietrza w następujących pomieszczeniach dla tuczników, różniących się pod względem technologii podawania paszy:

- Kostkowice (A) — pasza granulowana zwilżana wodą
- Kostkowice (B) — pasza sypka zrzucana do koryta