

Roselchoizdat Moskwa, s. 80, 1986.

9. Straub O. C.: Ann. Rech. Vet. 9, 899, 1978.
10. Wiesner E.: Białaczka bydła, PWRiL, Warszawa, 1985.
11. Wilesmith J. W., Straub O. C., Lorenz R. J.: Res. vet. Sci. 28, 10, 1980.

Adres autora: dr Kazimierz Łosieczka, ul. Spadochroniarzy 6 m 3, 53-320 Wrocław

Лосенка К., Климентовский С. — Контактные инфекции BLV (Bovine Leukemia Virus) взрослого скота

Исследования имели целью определение динамики контактной инфекции коров вирусом ЕВВ, в зависимости от величины коровника, числа животных, серологических положительных относительно ЕВВ, а также их размещения в объекте. Контроль состояния инфекции коров BLV провели тестом AGID с применением антигена гр фирмы „Hoechst”.

Весь объем исследований осуществлено этапами. На первом этапе в коровники инфицированные BLV, поставили 25 стельных телок, свободных от ЕВВ. Серологические исследования тестом AGID выполняли в 4-месячных интервалах. Через 12 мес. экспозиции положительные серологические результаты получили у 72% нововведенных телок.

На втором этапе исследований в коровниках свободный от ЕВВ, насчитывающий 40 коров, ввели 7 коров, серологически положительных относительно ЕВВ. Через 12 мес. экспозиции отметили только у 3 коров (7%) из основного стада положительные серологические результаты.

Большую чувствительность к инфекции вирусом ЕВВ показали у стельных телок и коров-первотелок чем у многорождающих коров.

Третий этап исследований составляли наблюдения в 10 крестьянских дворах, в которые поставили по 1 корове из хозяйств, инфицированных

BLV. В течение 2—6 лет экспозиции положительные результаты в тесте AGID показывали все введенные из закупок коровы, тогда как лишь в 3 дворах у 2 местных коров и 1 телки появились положительные серологические реакции.

Из этих исследований вытекает, что ЕВВ распространяется значительно медленнее в малых крестьянских коровниках.

Łosieczka K., Klimentowski S. — Bovine leukaemia virus infections in adult cattle

The examinations were to determine the dynamics of contact infections in cows with enzootic bovine leukosis (EBL) depending upon the size of a cowshed, the number of positive reacting cows against EBLV and their location. The AGID test and antigen produced by Hoechst were used. The examinations were performed in three stages. In the first stage 25 healthy pregnant heifers were introduced into infected cowsheds. Serologic examinations were done at intervals of 4 months. After 12 months positive serologic results were obtained in 72 per cent of the heifers. In the second stage of examinations seven cows with positive serological results were introduced into a cowshed containing 40 healthy cows. After 12 months only in 3 cows (7 per cent) of the basic herd positive serological results were found. A higher sensitivity to EBLV infection were noted in pregnant heifers and primagravidas than in multiparas. In the third stage of studies there were performed observations on cows housed in ten small cowsheds, to which one infected cow with EBLV was introduced. Within 2—6 years positive results using the AGID test were noted only in 3 cowsheds — two cows and one heifer — apart from the introduced infected cows. One may conclude that EBL spreads slowly in small farms.

JERZY MOLENDĄ

Actinobacillus pleuropneumoniae przyczyną zapaleń płuc u świń*)

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

Actinobacillus pleuropneumoniae (*Haemophilus pleuropneumoniae*) jest czynnikiem etiologicznym zapalenia płuc i opłucnej świń, powodującym poważne straty ekonomiczne w hodowli tych zwierząt w wielu krajach świata (2, 7, 15, 17, 19, 22, 23). W stadach po raz pierwszy zakażonych choroba może przebiegać wśród gwałtownych objawów klinicznych ze strony układu oddechowego ze znaczną śmiertelnością. Dominują jednak zachorowania chroniczne lub o charakterze podklinicznym, powodujące głównie wydatny spadek przyrostów masy ciała (2, 15, 23). Zarazek został po raz pierwszy wyisobniony przez Olandera (17) w r. 1963 w Kalifornii od prosiąt chorujących z objawami posocznicy i zapalenia stawów. Wymagał on do wzrostu obecności w podłożu dwunukleotydu nikotynowo-adenilowego (NAD, czynnik wzrostowy V) i przeciwnie niż *Haemophilus suis* i *H. parasuis* wyrastał w jego obecności na podłożach bez dodatku krwi. Ponieważ niezmiennie po-

wodował hemolizę krwinek na agarze z krwią zaliczono go pierwotnie do opisanego przez Pittmana w r. 1953 gatunku *Haemophilus parahemolyticus*. W następnych latach podobny drobnoustrój wyisobniono w Argentynie (22), Szwecji (12), Danii (15), Anglii (7), Kanadzie (21) i Australii (11). Szczepy wyisobnione w Kanadzie jedynie brakiem zdolności hemolitycznych różniły się od pałeczek opisanych przez Olandera i z tego powodu określono je jako pałeczki podobne do *H. parainfluenzae* (*H. parainfluenzae* like organism). Nazwę *Haemophilus pleuropneumoniae* zaproponował Shope (22) dla szczepów wyisobnionych w Argentynie, jako odpowiadającą procesowi chorobowemu powodowanemu przez nie i została ona w następstwie badań klasyfikacyjnych Kiliana i wsp. (6) przyjęta jako obowiązująca dla tego gatunku. Wykonane w następnych latach badania fenotypowe i hybrydyzacja DNA wykazały znacznie większe podobieństwo tych bakterii do pałeczek z rodzaju *Actinobacillus*, co zdecydowało o przyjęciu nazwy *Actinobacillus pleuropne-*

*) Praca wykonana w ramach programu RR-II-24.

umoniae dla tej grupy drobnoustrojów (14, 19, 20). Wyodrębniono w tym gatunku dwa biotypy różniące się wymaganiami wzrostowymi, dotyczącymi czynnika V. Jednakże O'Reiley i wsp. (18) na podstawie swych badań z zastosowaniem metod numerycznych wysuwają zastrzeżenia do pozycji taksonomicznej tego drobnoustroju.

Zapalenia płuc świń powodowane przez *A. pleuropneumoniae* wykazują tendencję wzrostową w wielu krajach świata. W polskim piśmiennictwie nie ma doniesień o izolacji tego drobnoustroju, a tym samym udokumentowanych danych o jego roli w zachorowaniach świń. Założeniem obecnych badań były próby wyosobnienia tych bakterii z materiału patologicznego, dostarczonego do pracowni bakteriologicznej ZHW Wrocław, w drugim półroczu 1987 r.

Materiał i metody

Badaniom poddano płuca 164 świń, głównie prosiąt i warchlaków, które chorowały z objawami ze strony układu oddechowego. Wycinki płuc wysiewano na podłoże agarowe z 5% dodatkiem krwi owczej w opozycji do szczepu *Staphylococcus aureus* CCM 6018 jako źródła czynnika wzrostowego. Podłoża inkubowano przez 48 godzin w temp. 37°C w atmosferze mikroaerofilnej (10% CO₂, Inkubator CO₂, LP 141, Labor Instrument Esztergom).

Właściwości biochemiczne i fizjologiczne wyosobnionych szczepów określano posługując się zestawem mikrotestów API 20E (Francja). *Inoculum* bakterii do badań biochemicznych przygotowywano w sposób następujący: bakterie wyrosłe na gęsto posianym agarze czekoladowym zawieszano w 3 ml bulionu brucellozowego (*Brucella* Broth, Difco) wzbogaconego dodatkiem 4% surowicy konia i 0,5% ekstraktu drożdżowego (Difco), przygotowując zawiesinę o gęstości 10⁸ bakterii w 1 ml.

Wymagania wzrostowe szczepów badano przy pomocy krążków bibułowych, nasyconych heminą lub dwunukleotydem nikotynowo-adenilowym (NAD) z dodatkiem bacytracyny (BV, BX, BVX, Difco). Zależność od czynników wzrostowych określano w stosunku do drobnoustrojów wysiewanych na agar PPLO (Difco) i to podłoże z dodatkiem 0,5% wyciągu drożdżowego i 5% surowicy konia.

Przynależność serotypową wyosobnionych szczepów określano posługując się odczynami mikroaglutynacji (plytów), immunoelektroforezy i immunodyfuzji wykonanymi wg metod zastosowanych we wcześniejszych badaniach (10).

Antygeny do badań aglutynacyjnych oraz monospecyficzne surowice przeciw poszczególnym serotypom *A. pleuropneumoniae* wykonano posługując się referencyjnymi szczepami otrzymanymi z Czechosłowacji Collection of Microorganisms w Brnie, zgodnie z zaleceniami Mittala i wsp. (8).

Ekstrakty antygenowe używane w badaniach immunoelektroforetycznych i immunodyfuzyjnych przygotowywano w sposób następujący: z wyrosłych na agarze czekoladowym bakterii sporządzano zawiesinę w buforze weronalowym o pH 8,2 (10¹¹ komórek w 1 ml) i ogrzewano ją w temp. 60°C przez 30 minut przy równoczesnym wstrząsaniu (80 obr. min). Następnie usuwano bakterie przez wirowanie (3000×g przez 20 min.), a supernatant zagęszczano do zawartości białka 3–4 mg/ml przy zastosowaniu ultrafiltracji (Sartorius filtr SM 11533).

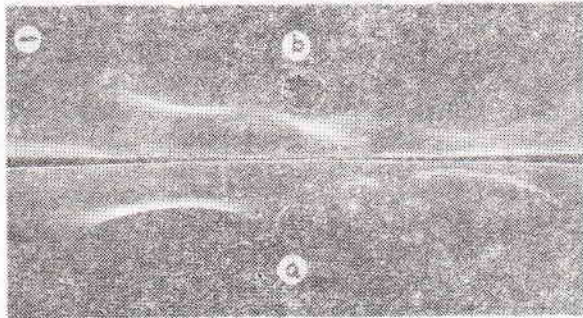
Wyniki i omówienie

W okresie 7 miesięcy zbadano 164 świnię (niemal wyłącznie prosięta i warchlaki), chorujące z objawami ze strony układu oddechowego, u których na sekcji stwierdzono zmiany zapalne, niekiedy ropne w płucach i oplucnej. W 7 przypadkach z płuc wyosobniono pałeczki gramujemne, rosnące satelitarnie wokół kolonii referencyjnego szczepu gronkowca złocistego (CCM 6018), dostarczającego czynnika wzrostowego V, niezbędnego metabolitu *A. pleuropneumoniae*. Wzrost tych bakterii był lepszy w atmosferze zwiększonej zawartości CO₂, lecz warunki mikroaerofilne nie były niezbędne dla ich wyrastania. Właściwości biochemiczne i wymagania wzrostowe wyosobnionych szczepów porównano z tymi cechami szczepów referencyjnych CCM 4047 i CCM 5869. Wyniki tych badań przedstawiono w tab. 1. Wszystkie szczepy hemolizowały eryocyty owcy w strefie wzrostu kolonii gronkowca (CAMP), wytwarzały betagalaktozydazę, ureazę, oksydazę cytochromową, zakwaszały glukozę i sacharozę, wymagały do wzrostu na agarze PPLO dodatku czynnika wzrostowego V. Wszystkie wykazywały charakterystyczny dla *A. pleuropneumoniae* obfity („śluzowy”) wzrost wokół krążka BV (8), w przeciwieństwie do pozbawionego tej cechy, wzrostu wokół krążka BVX. Dodanie surowicy i ekstraktu drożdżowego do podłoża nie eliminowało niezbędności czynnika V dla uzyskania wzrostu tych drobnoustrojów. Wszystkie wymienione właściwości posiadały zarówno szczepy referencyjne, jak i wyosobnione z materiałów patologicznych. Cechy te są również przez innych badaczy uznawane za wyróżniające *A. pleuropneumoniae* (1, 6, 18, 20). Szczep 191, jako jedyny nie fermentował mannitolu, którego rozkład wg Kiliana (5), Nicoleta (13) i Nielsena (15) jest podstawową cechą tego gatunku. Jednak brak tej właściwości stwierdzili u badanych przez siebie szczepów także Biberstein i wsp. (1) i O'Reiley (18). Szczepy wytwarzające ureazę, lecz nie fermentujące mannitolu zostały zakwalifikowane przez Kiliana i wsp. (5, 6) do rzadko wyosobnianych pałeczek *A. pleuropneumoniae* tzw. „minor group”. Szczep z tej grupy charakteryzuje ponadto zdolność fermentowania melibiozy, której to cechy nie stwierdzono u wyosobnionego w badaniach własnych szczepu 191. Posiadał ją natomiast jeden z dwu szczepów nie wytwarzających katalazy, której produkcja jest wg O'Reiley'a i wsp. (18) kryterium różnicującym uprzednio oddzielnie istniejące gatunki *H. pleuropneumoniae* i *A. pleuropneumoniae*.

Przynależność serotypową wyosobnionych szczepów określono za pomocą surowic diagnostycznych, wyprodukowanych przy użyciu referencyjnych szczepów *A. pleuropneumoniae*, otrzymanych z CCM Erno. Cztery z tych szczepów były aglutynowane przez surowicę prze-

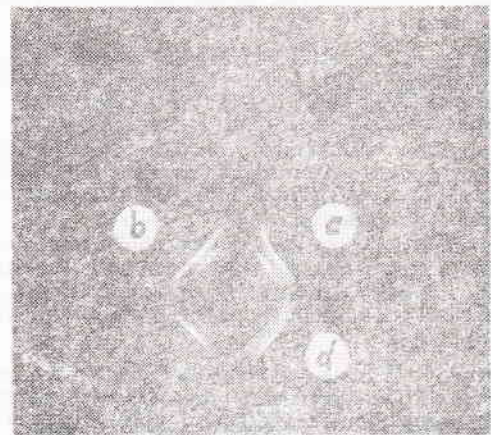
Tab. 1. Właściwości fizjologiczne, biochemiczne oraz wymagania wzrostowe i przynależność serotypowa referencyjnych szczepów *A. pleuropneumoniae* i szczepów wyosobnionych w badaniach własnych

TEST	Szczepy referencyjne: CMM		Szczepy wyosobnione w badaniach własnych:						
	4047	5869	992	160	182	191	213	235	520
ONPG	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Utylizacja:									
argininy	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lizyny	-	-	+	-	-	-	-	-	-
ornityny	-	-	-	-	-	-	-	-	-
cytrynianów	-	-	-	-	-	-	-	-	-
żelatyny	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mocznika	+	+	+	+	+	+	+	+	+
tryptofanu	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wytwarzanie:									
siarkowodoru	-	-	-	-	-	-	-	-	-
indolu	-	-	-	-	-	-	-	-	-
acetoiny	-	-	-	-	-	-	-	-	-
katalazy	+	+	-	+	+	+	+	-	+
oksydazy cyt.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Zakwaszanie:									
glukozy	+	+	+	+	+	+	+	+	+
mannitolu	+	+	+	+	+	-	+	+	+
inozytolu	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sorbitolu	-	-	-	-	-	-	-	-	-
rafinozy	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sacharozy	+	+	+	+	+	+	+	+	+
melibiozy	-	-	-	-	-	-	-	+	-
amygdaliny	-	-	-	-	-	-	-	-	-
arabinozy	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Redukcja azot.	+	-	-	-	+	+	+	-	+
Wymagania wzrostowe:									
NAD	+	+	+	+	+	+	+	+	+
hemina	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serotyp	2	1	1	2	1	1	5	1	2

Ryc. 1. Rozdział immunoelektroforetyczny ekstraktów referencyjnego szczepu *A. pleuropneumoniae* CCM 5869 (a) i wyosobnionego w badaniach własnych szczepu 191 (b) wobec surowicy anty-serotyp 1 *A. pleuropneumoniae* CCM 5869

ciw serotypowi 1, w rozcieńczeniach równych z jej mianem. Z pozostałych szczepów dwa rozpoznano jako serotyp 2, a jeden jako serotyp 5.

Podobieństwo antygenów szczepów referencyjnych i szczepów wyosobnionych z materiału patologicznego potwierdziły również wyniki badań immunoelektroforetycznych i immunodyfuzyjnych (ryc. 1, 2). Rezultaty tych badań będą przedmiotem oddzielnego opracowa-

Ryc. 2. Badanie immunodyfuzyjne ekstraktów szczepu *A. pleuropneumoniae* CCM 5869 (a) oraz wyosobnionych z płuc świń szczepów 191 (b), 192 (c) i 920 (d) wobec surowicy anty-serotyp *A. pleuropneumoniae*

nia. Na ryc. 1 przedstawiono podobne zachowanie się w polu elektrycznym ekstraktów przygotowanych ze szczepu 191 i szczepu referencyjnego, wyosobnionego przez Nicoleta (CCM 5869).

Przedstawione właściwości fizjologiczne i biochemiczne oraz wymagania wzrostowe ba-

danych szczepów, a także ich identyczność serologiczna ze szczepami referencyjnymi dowodzą, że wyosobnione z płuc padłych świń drobnoustroje są pałeczkami *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Zarazek stwierdzono u 4,2% świń padłych z objawami zapalenia płuc, co stanowi 1,8% wszystkich zbadanych w tym okresie. Drobnoustrój wyosobniono od prosiąt (w jednym przypadku czterodniowego) i warchlaków pochodzących z ferm przemysłowych i tradycyjnych. W 5 przypadkach był on jedynym czynnikiem bakteryjnym wyosobnionym z materiału patologicznego, dwukrotnie zaś wyosobniono go łącznie z pałeczkami *P. haemolytica* z płuc i z betahemolitycznymi *E. coli* z jelit cienkich.

W opisywanych przypadkach chorowały zwierzęta młodsze, nieraz znacznie młodsze od tych, które wg danych piśmiennictwa głównie zapadają na to schorzenie. Jest oczywiste, że obecne badania są zaledwie próbą określenia w jakim stopniu ten drobnoustrój, a być może także pozostałe z tej grupy: *H. suis* i *H. parasuis*, są przyczyną strat w hodowli świń w Polsce. Niemniej jednak badania te wykazały jego obecność i aktywność patogenną u tych zwierząt. Dla oceny rzeczywistej wielkości problemu konieczne są dalsze badania. Z tych względów szczególnie istotne znaczenie ma doskonalenie metod diagnostycznych, a zwłaszcza metod izolacji zarazka. Trudności izolacyjne wynikające ze szczególnych wymagań hodowlanych oraz znacznej wrażliwości na zmiany warunków środowiskowych, powodowanych zmianami gnilnymi lub konkurencyjnym wzrostem innych bakterii powodują, że nie wszystkie przypadki zachorowań są wykrywane. Zatem wydaje się godnym polecenia praktyczne zastosowanie wyników badań Gilbride'a i Rosendala (3), którzy ocenili efektywność różnych podłoży selektywnych i transportowych w wyosabnianiu pałeczek *A. pleuropneumoniae* z tkanek doświadczalnie zakażonych świń.

Wyosobnione w badaniach własnych szczepy reprezentowały w ponad połowie przypadków (4 szczepy) serotyp 1, następnie serotyp 2 (2 szczepy) i serotyp 5 (1 szczep). Trudno oczywiście na podstawie tak nielicznego materiału rozstrzygać, które serotypy odgrywają dominującą rolę w Polsce. Wg Mittala (9) w USA i w Kanadzie przeważają serotypy 1, 3, 4, 5, natomiast w Europie najczęściej występuje serotyp 2. Wydaje się jednak, że doniesienia o dominacji serotypu 2 w Europie opierają się na wynikach badań autorów skandynawskich z pierwszej połowy lat 70-tych i dotyczących szczepów wyosobnionych w tym regionie (cyt. za 4). Natomiast w RFN, jak to wynika z referatu K. Petzolda (VIII Kongres PTNW, Warszawa 1987) i w CSRS (M. Goisz, informacja ustna) wśród wyosabnianych w tych krajach szczepów *A. pleuropneumoniae* dominują serotypy 1 i 2, natomiast serotypy 3, 5 i 7 stwierdzone są tylko sporadycznie.

Piśmiennictwo

1. Biberstein E. L., Gunnarson A., Hunell B.: Am. J. vet. Res. 38, 7, 1977.
2. Davidson J. N., King J. M.: Cornell Vet. 70, 360, 1980.
3. Gilbride K. A., Rosendal S.: Can. J. comp. Med. 47, 445, 1983.
4. Greenway J. A.: Can. vet. J. 22, 20, 1981.
5. Kilian M.: J. gen. Microbiol. 93, 9, 1976.
6. Kilian M., Nicolet J., Biberstein E. L.: Int. J. syst. Bacteriol. 28, 20, 1978.
7. Little T. W. A.: Vet. Res. 87, 399, 1970.
8. Mittal K. R., Higgins R., Lariviere S.: J. clin. Microbiol. 15, 1019, 1982.
9. Mittal K. R., Higgins R., Lariviere S.: J. clin. Microbiol. 18, 1151, 1983.
10. Molenaar J.: Zesz. Nauk. AR Wrocław, Rozprawy nr 38, 1983.
11. Mylrea P. J., Fraser G., McQueen P., Lambourne D. A.: Aust. vet. J. 6, 255, 1974.
12. Nicolet J., König H.: Path. Microbiol. 29, 301, 1966.
13. Nicolet J.: Path. Microbiol. 31, 215, 1968.
14. Nicolet J.: Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congress, Mexico City 1982.
15. Nielsen R.: Nord. Vet. Med. 22, 246, 1970.
16. Nielsen R., Mandrup M.: Nord. Vet. Med. 29, 465, 1977.
17. Olander H. J.: Septicemic disease of swine and its causative agent *H. paraneumolyticus*, Thesis Ph. D., Univ. California, Davies Ca. 1963.
18. O'Reilly T., Rosendal S., Niven D. F.: Can. J. Microbiol. 30, 1229, 1984.
19. Pohl S.: DNA relatedness among members of *Haemophilus*, *Pasteurella* and *Actinobacillus*, Academic Press, London str. 245—250, 1981.
20. Pohl S., Bertschinger H. U., Fredericisen W., Mannheim W.: Int. J. syst. Bacteriol. 33, 510, 1983.
21. Schiefer B., Moffatt R. E., Greenfield J., Agar J. L., Majka J. A.: Can. J. comp. Med. 38, 99, 1974.
22. Shope R. E.: J. exp. Med. 119, 357, 1964.
23. Schultz R. A.: Agri Practice 6, 25, 1985.

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

Molenda E. — *Actinobacillus pleuropneumoniae* причиною воспалений лёгких у свиной

Бактериологическим исследованиям были подвергнуты внутренние органы 164 павших свиней с признаками воспаления лёгких. В 7 случаях из лёгких исследуемых животных были изолированы бациллы Грамм (—), растущие лучше в микроаэрофильной атмосфере (10% CO₂) и требующие для роста добавления фактора роста V (NAD) к питательной среде. Изолированные микробы характеризовались одинаковыми требованиями по отношению к росту, физиологическим и биохимическим свойствам, а также структурами антигенов с референционными штаммами *Actinobacillus pleuropneumoniae*, полученными из чешской коллекции микроорганизмов в г. Брно (ЧССР). Все штаммы были изолированы от поросят и подсвинков в возрасте от 4 дней до 15 недель. Большинство изолированных серотипов относилось к серотипу 1 (4 штамма), дальше к серотипу 2 (2 штамма) и к серотипу 5 (1 штамм). Это первые в Польше *A. pleuropneumoniae*, вызвавшие воспаление лёгких у свиной.

Molenda J. — *Actinobacillus pleuropneumoniae* as a causative agent of swine pleuropneumonia

Bacteriological examinations of the internal organs of 164 pigs died with clinical signs of pleuropneumonia were carried out. From seven lungs of the animals under study there were isolated gram-negative, microaerophilic (better growth in the atmosphere of CO₂ — 10%) dependent bacteria upon V factor (NAD). The strains had identical physiological and biochemical characteristics and antigenic structure with reference to standard strains received from Czechoslovak Collection of Microorganisms in Brno. All the strains were isolated from suckling piglets four days old and piglets aged up to 15 weeks. Most of the isolates (four strains) represented serotype 1, two strains — serotype 2, and one strain — serotype 5.