

Wybrany artykuł

Diagnostyka serowaciejącego zapalenia węzłów chłonnych u kóz

Mariusz Nowicki¹, Jarosław Kaba¹, Ilona Stefańska², Magdalena Rzewuska², Tadeusz Frymus¹, Marian Binek²

z Zakładu Chorób Zakaźnych i Epidemiologii Katedry Nauk Klinicznych¹
oraz Zakładu Bakteriologii i Biologii Molekularnej Katedry Nauk Przedklinicznych²
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Diagnostic of caseosus lymphadenitis in goats. Nowicki M.¹, Kaba J.¹, Stefańska I.², Rzewuska M.², Frymus T.¹, Binek M.², Department of Clinical Sciences¹ and Department of Preclinical Sciences², Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw Agricultural University.

Caseosus lymphadenitis (CLA) is a chronic, recurring disease of goats and sheep caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis*. It occurs worldwide and is one of the most important endemic infection in regions with large sheep and goats populations. Economic losses result from reduced milk production and reduced weight gain. CLA has been notified in Poland since many years, both in goats and sheep. The studies conducted in 1997 shown that over 13% of milking goats' flocks (and almost 7% of milking goats' population) was infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. The newest data suggests that the disease has even spread since that time. The clinical signs (caseosus abscessation of lymph nodes and internal organs) occur in one-year old or older animals. Abscesses may develop either in the point of entry into the skin or in the regional lymph node (superficial or external CLA), from which it may spread via the blood or lymphatic system and cause abscessation of internal lymph nodes or organs (visceral or internal CLA). Superficial abscesses occur mainly in the head and neck regions. The diagnosis is based usually on clinical signs and flock history. There are three ways of CLA diagnosis: confirmation of abscesses presence by the autopsy, isolation and identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in the abscess aspirate (microbiological diagnosis) and identification of specific blood antibodies (serological diagnosis) mostly done by ELISA or Western blot.

Keywords: goats, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, caseosus lymphadenitis, clinical signs, microbiological and serological diagnosis.

W ostatnich latach dają się zauważyć zmiany w strukturze populacji kóz w Polsce. Powstają i rozwijają się duże stada produkcyjne, których liczebność przekracza często 50–100, a czasami sięga nawet 1000 i więcej kóz dojnych. W tak dużych skupiskach zwierząt szczególnego

znaczenia nabierają choroby zakaźne. Jedną z takich chorób jest serowaciejące zapalenie węzłów chłonnych (gruźlica rzekoma; caseosus lymphadenitis – CLA; 1). Choroba występuje zarówno u kóz, jak i u owiec. Wywołuje ją *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Bakteria ta jest patogenna również dla innych gatunków zwierząt domowych. U bydła zakażenie prowadzi zwykle do powstawania głębokich ropni podskórnych oraz zapalenia wymienia (2, 3, 4, 5), a jedynie niekiedy do tworzenia ropni w narządach wewnętrznych (2). U koni obserwuje się wrzodzące zapalenie naczyń i węzłów chłonnych (6). Opisano także przypadki ronienia u kłaczy na tle zakażenia *C. pseudotuberculosis* (7). Także u wielbłądów zakażenie manifestuje się zapaleniem węzłów chłonnych (8). Brak doniesień wskazujących na patogenność zarazka dla świń. Bakteria była izolowana z szyjki macicy macior, ale u zwierząt tych nie obserwowano żadnych objawów chorobowych (9). Zakażenia u ludzi zdarzają się rzadko. Notowano jedynie przypadki zapalenia węzłów chłonnych u osób zawodowo związanych z chowem owiec i kóz (strzygacze owiec, pracownicy rzeźni; 10, 11). Choroba występuje najczęściej u małych przeżuwaczy.

W Europie jest diagnozowana we Francji, Hiszpanii, Włoszech, Norwegii, Szwajcarii, Rumunii, Niemczech, Wielkiej Brytanii, Holandii (12), Czechach (13) i Turcji (14). W Polsce jest notowana od wielu lat zarówno u owiec (15), jak i kóz (16). Badania populacji kóz będących pod oceną użytkowości w Polsce przeprowadzone w 1997 r. wykazały, że 13,2% stad i 6,9% zwierząt było zakażonych (17). Wstępne obserwacje wskazują, że obecnie odsetek ten może być dużo większy (18).

W krajach, w których chów i hodowla owiec oraz kóz odgrywa istotną rolę ekonomiczną, serowaciejące zapalenie węzłów chłonnych jest uznawane za jedną z ważniejszych chorób zakaźnych u tych gatunków i przyczynę poważnych strat (19). U kóz mlecznych prowadzi do wyniszczenia, a co się z tym wiąże zmniejszonej mleczności, zwiększonego zużycia paszy i obniżenia przyrostów. U zwierząt rzeźnych zmiany w narządach wewnętrznych są natomiast przyczyną konfiskat poubojowych. W Polsce podlega obowiązkowi zgłaszania i rejestracji, a w Holandii wprowadzono nawet program jej zwalczania (20, 21).

Objawy kliniczne

Objawy kliniczne choroby bardzo rzadko obserwuje się u młodych zwierząt. U kóz lat odporność bierna po pobraniu siary chroni je przed zachorowaniem do wieku 3–4 miesięcy (22). Od zakażenia do wytworzenia ropni mija zwykle dalsze 2–5 miesięcy (23). Stąd też kliniczne objawy choroby pojawiają się głównie u zwierząt w wieku jednego roku lub starszych (22). Do zakażenia dochodzi najczęściej w wyniku skaleczeń, chociaż potwierdzono również możliwość wniknięcia bakterii do organizmu poprzez niezranioną skórę lub błonę śluzową (24). Kozy są zwierzętami o dużym temperamencie, wytwarzającymi w stadzie wyraźną hierarchię. Prowadzi to do częstych walk, a co się z tym wiąże do zranień, które znajdują się głównie w przednich częściach ciała. Przez tak powstałe wrota zakażenia bakteria wnika do lokalnych węzłów chłonnych. Zwykle są to węzły chłonne umiejscowione w obrębie głowy, a więc należące do ośrodków chłonnych przyuszniczego, żuchwowego i zagardłowego. Z nich, w wyniku przerzutów drogą krwionośną lub limfatyczną (25), bakteria może przedostać się do innych węzłów chłonnych. Choroba zwykle przebiega łagodnie.

W miejscu zakażenia pojawia się odczyn zapalny, a okoliczne węzły chłonne są bolesne i obrzękłe. Rzadko obserwuje się okresowy wzrost temperatury ciała. Te ostre objawy wkrótce ustępują, a choroba przybiera przewlekły przebieg. Węzły chłonne objęte procesem chorobowym stopniowo się powiększają. Wewnątrz gromadzi się wysięk ropny, który z czasem może ulegać serowaceniowi. Proces tworzenia takich ropni trwa od 41 do 147 dni (23). Następnie dochodzi do ich samoistnego pęknięcia. Przez około 2–3 tygodnie (od 9 do 37 dni) koza taka stanowi potencjalne źródło zakażenia dla innych zwierząt w stadzie (23). Opisane zmiany obserwuje się zwykle w węzłach chłonnych powierzchownych (postać powierzchowna CLA), a rzadziej



Ryc. 1. Ropień węzła chłonnego przyuszniczego



Ryc. 2. Ropień węzła chłonnego zuchwowego



Ryc. 3. Ropnie węzłów chłonnych przyuszniczego i zuchwowego



Ryc. 4. Ropień węzła chłonnego szyjnego powierzchownego



Ryc. 5. Ropień węzła chłonnego podbiodrowego



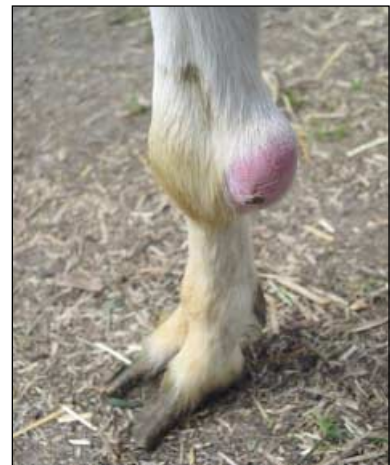
Ryc. 6. Ropień węzła chłonnego podkolanowego głębokiego



Ryc. 7. Ropień węzła chłonnego sutkowego



Ryc. 8. Ropień podskórny w okolicy klatki piersiowej



Ryc. 9. Ropień podskórny w okolicy stawu nadgarstkowego

w węzłach chłonnych głębokich i w innych narządach wewnętrznych (postać głęboka CLA). W przypadku postaci powierzchniowej postawienie diagnozy jest stosunkowo proste. Objawy kliniczne są bardzo charakterystyczne. Ze wspomnianych wcześniej przyczyn najczęściej zmiany dotyczą węzłów chłonnych przyusznicznych (ryc. 1) lub zuchwowych (ryc. 2), a niekiedy obu równocześnie (ryc. 3). Zdecydowanie rzadziej zmianami objęty jest węzeł chłonny szyjny powierzchowny (ryc. 4). Niekiedy zmiany obserwuje się w węzłach chłonnych tylnej partii ciała: podbiodrowym (ryc. 5), podkolanowym głębokim (ryc. 6) i sutkowym – nadwymieniowym (ryc. 7). Wyjątkowo w wyniku zakażenia *C. pseudotuberculosis* mogą powstawać również ropnie podskórne w innych częściach ciała (ryc. 8, 9). Ropnie są niebolesne, a wewnątrz znajduje się kremowa, pozbawiona zapachu ropa o konsystencji gęstej śmietany. Po samoistnym pęknięciu lub przecięciu rany goją się bez powikłań, a skóra z czasem porasta włosami (ryc. 10). Zwykle

u zwierzęcia brak jakichkolwiek innych objawów klinicznych choroby. Występują one natomiast w przypadku postaci głębokiej CLA, gdy do zmian ropnych dochodzi w węzłach chłonnych narządów wewnętrznych lub w samych narządach. Zakażenia przez układ oddechowy lub przez uszkodzoną błonę śluzową jamy ustnej prowadzi zwykle do powstania ropni w płucach, co może manifestować się dusznością i kaszlem (26). Tę postać choroby trudno jednak zdiagnozować przyżyciowo. Objawy kliniczne nie są swoiste. Choroba przebiega przewlekle. Z czasem zwierzęta tracą kondycję. Niekiedy uciskające ropnie mogą utrudniać oddychanie lub połykanie.

Diagnostyka sekcyjna

Postać głęboką CLA zwykle diagnozuje się dopiero w trakcie badań sekcyjnych. Najczęściej zmiany chorobowe lokalizują się w płucach (ryc. 11). Rzadziej ropnie powstają w węzłach ośrodka chłonnego śródpiersiowego, wątrobie, nerkach, ośrodkowym układzie nerwowym, mosznie i wymieniu. Sekcyjnie stwierdza się je niekiedy także w innych, mniej charakterystycznych miejscach, jak w węzłach chłonnych zagardłowych przyśrodkowych (ryc. 12) czy też w węzłach chłonnych łędźwiowych aorty (ryc. 13). W ropniach występujących w narządach i węzłach chłonnych wewnętrznych ropa często przyjmuje gęstą, serowatą konsystencję. Niekiedy serowaciejąca ropa tworzy strukturę przypominającą na przekroju koncentryczne rozmieszczenie łusek cebuli (ryc. 14). Rzadko stwierdza się zapalenie opłucnej lub otrzewnej będące wynikiem pęknięcia ropnia głębokiego.



Ryc. 10. Gojenie się ropnia węzła chłonnego przyusznicznego



Ryc. 11. Ropień w płucach



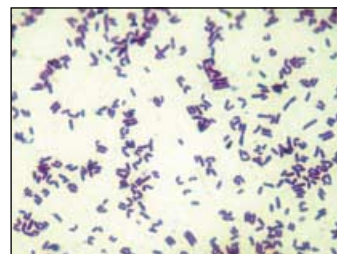
Ryc. 12. Ropień węzła chłonnego zagardłowego przyśrodkowego



Ryc. 13. Ropień węzła chłonnego łędźwiowego aorty



Ryc. 14. Widoczna na przekroju zawartość ropnia



Ryc. 15. Preparat z hodowli *C. pseudotuberculosis* na agarze z krwią, barwiony metodą Grama

Diagnostyka mikrobiologiczna

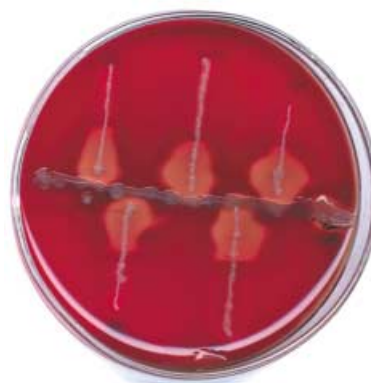
Potwierdzeniem klinicznej diagnozy CLA jest wynik badania mikrobiologicznego, polegającego na izolacji i identyfikacji *C. pseudotuberculosis*. Materiałami do badania bakteriologicznego są wymazy ze ścian ropni oraz ich zawartość, pobrane przyżyciowo lub w trakcie sekcji. We wstępnej diagnostyce mikrobiologicznej duże znaczenie ma bezpośrednie badanie mikroskopowe, polegające na wykonaniu preparatu z materiału klinicznego i zabarwieniu go

metodą Grama. *Corynebacterium pseudotuberculosis* widoczne są jako Gram-dodatnie, nieregularne pałeczki o wymiarach: 1–3 μm długości i 0,5–0,6 μm szerokości (ryc. 15). Komórki często mają kształt maczugowaty, z charakterystycznym rozdęciem na jednym z biegunów. Czasami są tak krótkie, iż mogą wyglądem przypominać ziarniaki. Zwykle tworzą skupiska, rzadziej występują parami lub pojedynczo, układając się w charakterystyczny sposób przypominający pismo klinowe. Wewnątrz komórek znajdują się metachromatyczne ziarnistości, tzw. ziarenka Babesa-Ernsta, zawierające wysokoenergetyczne fosforany, które powodują nierównomierne wybarwienie się niektórych komórek. Pałeczki *C. pseudotuberculosis* nie wytwarzają przetrwalników i nie posiadają zdolności ruchu (27). Do wzrostu wymagają zwykle pożywek wzbogaconych, z dodatkiem krwi lub surowicy. Rutynowo posiewy wykonywane są na agarze odżywczym z krwią. Inkubację posiewów prowadzi się w temperaturze 37°C, przez 48 h, w atmosferze o podwyższonym stężeniu dwutlenku węgla. Kolonie *C. pseudotuberculosis* są drobne, białe-żółte, wypukłe, suche, a pod nimi widoczne są wgłębienia, będące wynikiem proteolizy (ryc. 16). Kolonie otoczone są przez wąską strefę hemolizy typu b (często pojawiającą się dopiero po dłuższym czasie inkubacji, do 72 h), będącą przejawem aktywności fosfolipazy D (PLD) produkowanej przez *C. pseudotuberculosis* (28). Egzotoksyna ta jest jednym z głównych czynników zjadliwości tych bakterii (27, 29, 30).

Identyfikacji szczepów *C. pseudotuberculosis* dokonuje się na podstawie właściwości biochemicznych, które można oznaczyć na przykład w teście API CORYNE (Bio-Mérieux, Francja; 31). Pałeczki *C. pseudotuberculosis* wytwarzają katalazę, ureazę, fermentują glukozę, rybozę, maltozę i mannozę, są oksydazoujemne. Zdolność do redukcji azotanów do azotynów pozwala na wyróżnienie dwóch biotypów: nieredukującego azotany, patogen-nego dla kóz i owiec oraz redukującego azotany, chorobotwórczego dla koni i bydła (29, 32). Duże znaczenie we wstępnej identyfikacji szczepów *C. pseudotuberculosis* ma test CAMP, w którym wykorzystywany jest beta-hemolityczny szczep *Staphylococcus aureus* lub szczep *Rhodococcus equi* (ryc. 17). W pierwszym przypadku obserwowane jest hamowanie hemolizy wywoływanej przez gronkowca, natomiast w obecności *Rhodococcus equi* występuje zjawisko synergistycznej hemolizy przejawiające się jej nasileniem. Lekowrażliwość szczepów *C. pseudotuberculosis* można określać standardową metodą krążkową. Jednak pomimo obserwowanej *in vitro* dużej wrażliwości *C. pseudotuberculosis* na większość chemioterapeutyków, stosowanie antybiotykoterapii w zwalczaniu CLA jest ograniczone z uwagi na słabą, w tym przypadku, skuteczność antybiotyków *in vivo* (33).



Ryc. 16. Wzrost *C. pseudotuberculosis* na agarze z krwią (hodowla 48-godzinna)



Ryc. 17. Test CAMP dla szczepów *C. pseudotuberculosis* (linie pionowe) z *Rhodococcus equi* (linia pozioma)

Diagnostyka hematologiczna i serologiczna

Serowaciejące zapalenie węzłów chłonnych jest chorobą o typowym przewlekłym przebiegu. Jej objawy kliniczne stwierdza się zwykle u niewielkiego odsetka zwierząt w stadzie (do 11–40%), natomiast badania serologiczne wykazują znacznie większe rozprzestrzenienie zakażenia (do 99%; 34). U wielu zwierząt zmiany chorobowe obserwuje się w narządach i węzłach chłonnych wewnętrznych, a co się z tym wiąże diagnostyka kliniczna jest bardzo utrudniona. Badania

hematologiczne mają niewielkie znaczenie w diagnozowaniu zakażeń *C. pseudotuberculosis*. Już w pierwszym tygodniu po eksperymentalnym zakażeniu stwierdza się co prawda znaczną leukocytozę ze wzrostem liczby neutrofilów i zmniejszeniem liczby limfocytów (25), ale obserwacje te nie mają dużego znaczenia diagnostycznego. Wszystko to sprawia, że w diagnostyce, a następnie także w zwalczaniu choroby, duże znaczenie mają badania serologiczne. W stadach zakażonych większość kózłat posiada przeciwciała siarowe zabezpieczające przed zachorowaniem. Odporność bierna zanika w wieku około 3–4 miesięcy. Następnie obserwuje się wzrost liczby zwierząt serododatnich oraz wzrost miana przeciwciał w ich surowicy aż do osiągnięcia wieku 6 lat (22).

Zwykle testy serologiczne wykrywają swoiste przeciwciała skierowane przeciwko egzotoksynie (fosfolipaza D) wytwarzanej przez *C. pseudotuberculosis*, rzadziej przeciwko antygenowi ściany komórkowej (35, 36). Opracowano wiele testów pomocnych w diagnostyce CLA: aglutynację probówkową (37), mikroaglutynację (38), odczyn wiązania dopełniacza (37), hemaglutynację bierną (37), immunodyfuzję w żelu agarozowym (39), test zahamowania hemolizy (40) i zahamowania synergicznej hemolizy (41, 42, 43, 44). Badania porównawcze testów wykazały, że aglutynacja probówkowa może być przydatna w diagnostyce między 3 a 18 tygodniem po zakażeniu. Odczyn wiązania dopełniacza i test zahamowania hemolizy charakteryzują się niską czułością, a immunodyfuzja w żelu agarozowym niską swoistością. Spośród wymienionych metod diagnostycznych test hemaglutynacji pośredniej dawał najbardziej trafne wyniki (37). Rzadziej w diagnostyce zakażeń *C. pseudotuberculosis* stosuje się inne metody. Potwierdzono przydatność zarówno testu dot-blot (45), jak i Western blot. Ten ostatni jest wykorzystywany zwykle jako test referencyjny (21, 46). W szczególnych przypadkach znajduje również zastosowanie metoda PCR (14, 30). Ostatnie badania wskazują, że test gamma-interferonowy może być bardzo przydatny we wczesnym wykrywaniu zakażeń *C. pseudotuberculosis* (47). Najczęściej jednak w rutynowej diagnostyce, a szczególnie w programach zwalczania choroby, wykorzystuje się różne testy ELISA, wykorzystujące antygen ściany komórkowej, jak i egzotoksynę (21, 35, 36, 46, 48, 49). Czulość i swoistość testów ELISA jest bardzo wysoka i wynosi często ponad 90% (46, 48). Test ELISA opracowany w oparciu o rekombinant *Escherichia coli* zawierający plazmid odpowiedzialny za wytwarzanie fosfolipazy D charakteryzował się natomiast mniejszą czułością i swoistością (odpowiednio 86,3 i 82,1%; 50).

Przy rozpoznawaniu serowaciejącego zapalenia węzłów chłonnych w stadzie kóz należy przede wszystkim zwrócić uwagę na charakterystyczne objawy kliniczne. Pomocne tu będzie zarówno badanie zwierząt, jak też zebranie dokładnego wywiadu. Należy zwrócić uwagę na informacje dotyczące występowania w przeszłości ropni powierzchownych u kóz i ewentualne powiązanie tych danych z faktem zakupu zwierząt z innych stad. W przypadku użytkowania mięsnego kóz warto także zebrać informacje na temat stwierdzanych poubojowo ropni w narządach wewnętrznych. Pewną wskazówką diagnostyczną mogą być również informacje o częstym występowaniu trudnych do wyjaśnienia przypadków chudnięcia i wyniszczenia u kóz. Jednoznacznym potwierdzeniem diagnozy będzie izolacja *C. pseudotuberculosis* z wymazu pobranego przyżyciowo z ropnia powierzchownego lub sekcyjnie ze zmian w węzłach chłonnych albo narządach wewnętrznych. Dokładnych danych dotyczących rozprzestrzeniania zakażenia w stadzie dostarczają badania serologiczne. Mogą one być podstawą do ewentualnego wdrożenia programu uzdrawiania stada (1, 20, 21).

Piśmiennictwo

1. Kaba J.: Zapalenie serowaciejące węzłów chłonnych u kóz. *Życie Wet.* 1998, **73**, 220–223.
2. Yeruham I., Elad D., Ven-Ham M., Shpigel N. Y., Perl S.: *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in Israeli cattle: clinical and epidemiological studies. *Vet. Rec.* 1997, **140**, 423–427.
3. Adekeye J. D., Shannon D., Addo P. B.: Mastitis in cow caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. ovis*). *Vet. Rec.* 1980, **106**, 270.

4. Shpigel N. Y., Elad D., Yeruham I., Winkler M., Saran A.: An outbreak of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in an Israeli dairy herd. *Vet. Rec.* 1993, **133**, 89–94.
5. Aroch I., Harmelin A., Saran A., Levin D., Shpigel N. Y.: Experimental *Corynebacterium pseudotuberculosis* mastitis in dairy cows. *Vet. Rec.* 2003, **153**, 746–750.
6. Aleman M., Spier S. J., Wilson W. D., Doherr M.: *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in horses: 538 cases (1982–1993). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1996, **209**, 804–809.
7. Poonacha K. B., Donahue J. M.: Abortion in a mare associated with *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1995, **7**, 563–564.
8. Afzal M., Sakir M., Hussain M. M.: *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection and lymphadenitis (taloa or mala) in the camel. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 1996, **28**, 158–162.
9. Zhao H. K., Yonekawa K., Takahashi T., Kikuchi N., Hiramune T., Yanagawa R.: Isolation of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from the cervical canal of clinically normal sows. *Res. Vet. Sci.* 1993, **55**, 356–359.
10. Schreuder B. E. C., TerLaak E. A., DeGee A. L. W.: *Corynebacterium pseudotuberculosis* in milk of CL affected goats. *Vet. Rec.* 1990, **130**, 387.
11. Bregenzer T., Frei R., Ohnacker H., Zimmerli W.: *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in a butcher. *Clin. Microbiol. Infect.* 1997, **3**, 696–698.
12. Schreuder B. E. C., TerLaak E. A., Griesen H. W.: An outbreak of caseosus lymphadenitis in dairy goats: first report of the disease in the Netherlands. *Vet. Quart.* 1986, **8**, 61–67.
13. Draveckê T., Trávníček M., Balascak J., Zubricky P., Skalka B., Zelezny I., Seidl H.: Vyskyt kazeoznej lymphadenity koz. *Veterinarstvi* 1986, **36**, 456–457.
14. Cetinkaya B., Karahan M., Atil E., Kalin R., De Baere T., Vaneechoutte M.: Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. *Vet. Microbiol.* 2002, **88**, 75–83.
15. Kempski W., Kneblewski P.: Obserwacja nad paratuberkulozą w stadzie owiec hodowlanych. *Życie Wet.* 1982, **57**, 150–152.
16. Sikora J.: Gruźlica rzekoma u kóz. *Magazyn Wet.* 1993, **2**, 44–45.
17. Kaba J.: Analiza zagrożeń epizootycznych w populacji kóz hodowlanych w Polsce na przykładzie wybranych chorób zakaźnych. *Zeszyty Naukowe Zakładu Hodowli Owiec i Kóz SGGW*, Warszawa 1997, s. 115–123.
18. Nowicki M., Kaba J., Witkowski L., Papierska D., Frymus T.: Występowanie i szerzenie się serowacującego zapalenia węzłów chłonnych u kóz w Polsce. *Materiały Sympozjum „System identyfikacji zwierząt w hodowli i ochronie zdrowia kóz”*, Warszawa 4 X 2003, s. 9–10.
19. Paton M. W., Rose I. R., Hart R. A., Sutherland S. S., Mercy A. R., Ellis T. M., Dhaliwal J. A.: New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production. *Aust. Vet. J.* 1994, **71**, 47–49.
20. Derksen D. P., TerLaak E. A., Schreuder B. E.: Eradication programme for caseosus lymphadenitis in goats in the Netherlands. *Vet. Rec.* 1996, **138**, 237.
21. TerLaak E. A., Bosch J., Bijl G. C., Schreuder B. E. C.: A double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot analysis used for control of caseosus lymphadenitis in goats and sheep. *Am. J. Vet. Res.* 1992, **53**, 1125–1132.
22. Holstad G.: *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in goats III. The influence of age. *Acta Vet. Scand.* 1986, **27**, 598–608.
23. Arsenault J., Girard C., Dubreuil P., Daignault D., Galarneau J. R., Boisclair J., Simard C., Ashfaq M. K., Campbell S. G.: Experimentally induced caseosus lymphadenitis in goats. *Am. J. Vet. Res.* 1980, **41**, 1789–1792.
24. Blood D. C.: *Veterinary Medicine*, 7th edit., Bailliere Tindall, London 1989, s. 578.
25. Holstad G., Teige J.: *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in goats VII. Clinical, pathological and hematological changes after subcutaneous inoculation of the organism. *Acta Vet. Scand.* 1988, **29**, 287–294.
26. Timoney J. F., Gillespie J. H., Scott F. W., Barlough J. E.: *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals*. Comstock Publishing Associates, Ithaca 1988, s. 251–252.
27. Brown C. C., Oleander H. J.: Caseosus lymphadenitis of goats and sheep: a review. *Vet. Bull.* 1987, **57**, 1–12.
28. Quinn P. J., Carter M. E., Markey B. K., Carter G. R.: *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe, London 1994, s. 137–143.
29. Pépin M., Boisramé A., Marly J.: *Corynebacterium pseudotuberculosis*: biochemical properties, production of toxin and virulence of ovine and caprine strains. *Ann. Rech. Vét.* 1989, **20**, 11–115.
30. McNamara P. J., Bradley G. A., Songer J. G.: Targeted mutagenesis of the phospholipase D gene results in decreased virulence of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Molec. Microbiol.* 1994, **12**, 921–930.

31. Soto A., Zapardiel J., Soriano F.: Evaluation of API Coryne system for identifying coryneform bacteria. *J. Clin. Path.* 1994, **47**, 756–759.
32. Songer J. G., Bechenbach K., Marshall M. M., Olsen G. B., Kelley L.: Biochemical and genetic characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Am. J. Vet. Res.* 1988, **49**, 223–226.
33. Judson R., Songer J. G.: *Corynebacterium pseudotuberculosis*: in vitro susceptibility to 39 antimicrobial agents. *Vet. Microbiol.* 1991, **27**, 145–150.
34. Holstad G.: *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in goats II. The prevalence of caseous lymphadenitis in 36 goat herds in northern Norway. *Acta Vet. Scand.* 1986, **27**, 584–597.
35. Maki L. R., Shen S. H.: Diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in sheep, using enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. J. Vet. Res.* 1985, **46**, 212–214.
36. Sutherland S. S., Ellis T. M., Mercy A. R., Paton M., Middleton H.: Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep. *Aust. Vet. J.* 1987, **64**, 263–266.
37. Shigidi M. T. A.: A comparison of five serological tests for the diagnosis of experimental *Corynebacterium ovis* infection in sheep. *Br. Vet. J.* 1979, **135**, 172–177.
38. Menzies P. I., Muckle C. A.: The use of a microagglutination assay for the detection of antibodies to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in naturally infected sheep and goat flocks. *Can. J. Vet. Res.* 1989, **53**, 313–318.
39. Burrell D. H.: A simplified double immunodiffusion technique for detection of *Corynebacterium ovis* antitoxin. *Res. Vet. Sci.* 1980, **28**, 234–237.
40. Burrell D. H.: A haemolysis inhibition test for detection of antibody to *Corynebacterium ovis* exotoxin. *Res. Vet. Sci.* 1980, **28**, 190–194.
41. Brown C. C., Oleander H. J., Biberstein E. L., Morse S. M.: Use of toxoid vaccine to protect goats against intradermal challenge exposure to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Am. J. Vet. Res.* 1986, **47**, 1116–1119.
42. Knight H. D.: A serologic method for the detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in horses. *Cornell Vet.* 1978, **68**, 220–237.
43. Skalka B., Literak I.: Sérodiagnostika kazeózní lymfadenitidy (pseudotuberkulózy) ovci. *Ved. Med. Czech.* 1994, **39**, 533–539.
44. TerLaak E. A., Bosch J., Bijl G. C., Schreuder B. E.: Double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot analysis used for control of caseous lymphadenitis in goats and sheep. *Am. J. Vet. Res.* 1992, **53**, 1125–1132.
45. Prodhan M. A., Oleander H. J., Gardner I. A.: A comparison of dot-blot assay with the synergistic haemolytic inhibition test in goats naturally infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Vet. Res. Commun.* 1993, **17**, 193–196.
46. Kaba J., Kutschke L., Gerlach G. F.: Development of an ELISA for the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats. *Vet. Microbiol.* 2001, **78**, 155–163.
47. Paule B. J., Azevedo V., Regis L. F., Carminati R., Bahia C. R., Vale V. L., Moura-Costa L. F., Freire S. M., Nascimento I., Schaer R., Goes A. M., Meyer R.: Experimental *Corynebacterium pseudotuberculosis* primary infection in goats: kinetics of IgG and interferon-gamma production, IgG avidity and antigen recognition by Western blotting. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2003, **96**, 129–139.
48. Dercksen D. P., Brinkhof J. M., Dekker-Nooren T., Maanen K., Bode C. F., Baird G., Kamp E. M.: A comparison of four serological tests for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. *Vet. Microbiol.* 2000, **75**, 167–175.
49. TerLaak E. A., Schreuder B. E. C.: Serological diagnosis of caseous lymphadenitis in goats and sheep. *Vet. Rec.* 1991, **128**, 436.
50. Menzies P. I., Muckle C. A., Hwang Y. T., Songer J. G.: Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay using an *Escherichia coli* recombinant phospholipase D antigen for the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. *Small Rumin. Res.* 1994, **13**, 193–198.