

PRZYDATNOŚĆ TESTU TYMOLOWEGO I JODOWEGO  
W WYKRYWANIU CHOROBY ALEUCKIEJ U NOREK

Olga Szeleszczuk, Stanisław Jarosz,  
Mirosława Łukowicz-Pędzierska

Zakład Hodowli Zwierząt Futerkowych AR w Krakowie

Najgroźniejszą chorobą obniżającą wyniki produkcyjne na fermach norek jest plazmocytoza (choroba aleucka). Wywołujący ją wirus zaliczany jest do tzw. wirusów powolnych. Chorobie towarzyszy rozplam komórek plazmatycznych w narządach oraz zwiększona ilość  $\gamma$ -globulin w surowicy krwi. Efektem plazmocytozy są poronienia, słaba żywotność i zwiększone upadki szczeniąt w pierwszych 48 h życia. Rokowanie z reguły niepomyślne. Zawleczona na fermę plazmocytoza utrzymuje się przez wiele lat. Jedyną skuteczną metodą walki z chorobą aleucką jest wykrywanie i eliminowanie ze stada zwierząt chorych, będących źródłem zakażenia. W latach pięćdziesiątych została opracowana przez Mallena nieswoista próba jodowa, polegająca na wykrywaniu występującej w tej chorobie hypergammaglobulinemii. Innym, również nieswoistym testem, jest próba tymolowa, która wg Bieriestowa [4] jest dokładniejsza od próby jodowej. W ostatnich latach na fermach skandynawskich i amerykańskich do diag-

nozowania choroby aleuckiej stosuje się swoistą metodę immuno-elektroforetyczną. Ze względu na wysoki koszt i brak odpowiedniej aparatury, jak dotychczas, nie jest możliwe zastosowanie tego testu na fermach polskich.

Niniejsza praca jest próbą określenia przydatności testu tymolowego w powiązaniu z próbą jodową i badaniami anatomopatologicznymi do wykrywania zwierząt chorych na plazmocytozę na polskich fermach.

#### MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na dwóch państwowych fermach w Polsce południowo-zachodniej w latach 1982-1983 na 700 norkach jednorocznych i starszych. Doświadczenie składało się z dwu części. Część I obejmowała badanie kliniczne za pomocą testu tymolowego i próby jodowej. W części drugiej na tych samych zwierzętach po ich uboju wykonywano badania anatomopatologiczne. Krew otrzymywano przez obcięcie pazurka. Otrzymaną przez odwirowanie surowicę badano testem tymolowym wg metody Mc Lagana, próbę jodową - metodą Pinkiewiczza. Surowicy ze śladami hemolizy nie badano, gdyż w takich przypadkach precypitacja występowała niezależnie od poziomu  $\gamma$ -globulin. Wynik próby tymolowej odczytywano po 3 h, określając stopień zmętnienia jednym, dwoma lub trzema plusami. Odczyt stopnia precypitacji określano jednym, dwoma, trzema lub czterema plusami już po 1 min po dodaniu płynu Lugola. Roztwory klarowne bez śladu zmętnienia lub precypitacji w obu próbach określano jako (-). Zarówno przy próbie tymolowej, jak i jodowej, reakcje odczytywano wzro-

kowo, gołym okiem. W celu określenia współzależności między wynikami prób a badaniami sekcyjnymi obliczono współczynnik korelacji.

### WYNIKI

Wyniki doświadczenia przedstawiono w tabelach 1-3. Wykonany na 378 norkach test tymolowy wykazał 48,7% wyników dodatnich, o 35,4% mniej niż próba jodowa. Na I fermie test tymolowy wypadł dodatnio u 56,2%, o 39% mniej od próby jodowej; na fermie II o 33% mniej zwierząt reagowało dodatnio testem tymolowym.

Badania anatomopatologiczne wykazały zmiany chorobowe u 98,5% sekcjonowanych nerek na I fermie, a u 61,3% na fermie II. Zmiany wskazujące na chorobę aleucką sekcyjnie stwierdzono na fermie I u 41,6% nerek w pierwszym roku doświadczenia, a u 65% w drugim roku. Na fermie II takie zmiany stwierdzono u 25,2% nerek. Zmiany te dotyczyły przede wszystkim nerek, wątroby i śledziony.

W zależności od stopnia zaawansowania procesu chorobowego nerki były powiększone, ciemnoczerwone lub żółtogliniaste z wybroczynami podtorebkowymi. Obserwowano również nerki pomarszczone z widocznymi torbielami i bliznami. U zwierząt chorych na plazmocytozę śledziona była z reguły powiększona, niekiedy dwukrotnie, przekrwiona z zaokrąglonymi brzegami. W wątrobie, przekrwionej i powiększonej, obserwowano ogniska zwyrodnienia i podtorebkowe wybroczyny. Tuszka u tych zwierząt była z reguły pozbawiona tkanki tłuszczowej podskórnej. Czasami obserwowano jej zazólcenie.

## Zestawienie wyników próby jodowej i tymolowej na fermie I i II

Ferma	Rodzaj próby	Liczba zwierząt	Procent zwierząt reagujących ujemnie	Procent zwierząt reagujących dodatnio				
				+	++	+++ i więcej	razem	
I	jodowa	250	4,8	26,8	46,8	21,6	95,2	
	tymolowa	162	43,8	45,1	10,5	0,6	56,1	
I	jodowa	20	40,0	60,0	-	-	60,0	
	tymolowa	20	10,0	50,0	40,0	-	90,0	
II	jodowa	178	28,7	47,8	17,4	6,2	71,3	
	tymolowa	196	61,7	18,9	16,8	2,6	38,3	
Razem	jodowa	348	15,8	36,6	33,0	14,5	84,1	
	tymolowa	378	51,3	21,7	15,3	1,6	48,7	

## Wyniki badania anatomopatologicznego zwierząt doświadczalnych

Ferma	Badanie	Liczba zwierząt	Zwierzęta ze zmianami plazmocytozy	
			typowymi, %	nietypowymi, %
I	1	261	41,6	56,4
I	2	20	35,0	75,0
II	1	111	25,2	38,3
Razem			37,2	56,6

Zgodność próby jodowej i tymolowej ze zmianami anatomopatologicznymi  
 typowymi i nietypowymi dla choroby aleuckiej

Rodzaj testu diagnostycznego	Zmiany plazmocytozy			
	wynik ujemny	typowe	wynik dodatni	wynik dodatni nietypowe
Próba tymolowa	33,7	29,7	33,4	14,0
Próba jodowa	17,4	33,4	26,6	22,0

Oprócz zmian patognomicznych dla choroby aleuckiej u zwierząt sekcjonowanych stwierdzono zmiany nietypowe dla tej choroby. Na fermie I najwięcej tych zmian zlokalizowanych było w płucach.

W tabeli 3 zestawiono wyniki próby tymolowej i jodowej oraz badań sekcyjnych. W zestawieniu uwzględniono tylko te zwierzęta, u których wykonywano wszystkie te badania.

Wskazania próby jodowej były zgodne z wynikami badań sekcyjnych w 50,8%, biorąc pod uwagę zarówno wynik dodatni jak i ujemny. Natomiast test tymolowy wykazał 63,4% zgodności z wynikami badań anatomopatologicznych. W przypadku jednak wyników dodatnich procent zgodności próby tymolowej (29,7%) był niższy niż taki sam wskaźnik obliczony dla próby jodowej (33,4%) w przypadku zmian typowych dla plazmocytozy. W przypadku zmian nietypowych dla choroby aleuckiej zgodność próby tymolowej z badaniami anatomopatologicznymi wyniosła 14%, natomiast próby jodowej 22%.

Współczynnik korelacji testu tymolowego i badań sekcyjnych wyniósł 0,146 i jest on istotny przy prawdopodobieństwie 0,05. Natomiast współczynnik korelacji dla próby jodowej i badań anatomopatologicznych jest nieistotny.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zastosowany do diagnozowania choroby aleuckiej test tymolowy wypadł dodatnio u 184 norek (48,7%), podczas gdy dodatnia próba jodowa u 377 (84,1%). Jednak zgodność wskazań próby jodowej i badań anatomopatologicznych stanowił 63,4% i wskaźnik

ten był o 12,6% wyższy od wskaźnika obliczonego dla próby jodowej i stwierdzonych na sekcji zmian patognomicznych dla plazmocytozy. Świadczy to o nieco większej czułości testu tymolowego. Do podobnych wniosków doszedł Bieriestow [3, 4].

Test tymolowy, podobnie jak i próba jodowa, oparty jest na wykrywaniu naruszonej równowagi koloidowej białek surowicy krwi. Białka surowicy są mieszaniną koloidów, wykazujących różny stopień uwodnienia. Najbardziej hydrofilnym wśród nich jest albumina. Dzięki tej właściwości oraz stosunkowo małej masie cząsteczkowej albumina najtrudniej koaguluje [8, 19]. Globuliny, zwłaszcza  $\gamma$ , są słabiej rozpuszczalne i łatwiej ulegają koagulacji. Przy zachowanym prawidłowym stosunku tych białek zbuforowany r-r tymolu nie wywołuje jego koagulacji. Przy zachowaniu tej równowagi, wynikającej w przypadku plazmocytozy ze zwiększonego poziomu  $\gamma$ -globulin, następuje zmniejszenie trwałości mieszaniny koloidowej i wytrącenie białek w postaci kompleksu fosforo-tymolo-globulinowego. Na tej samej zasadzie oparty jest też drugi z testów diagnostycznych - próba jodowa. Precypitacja przy próbie jodowej zachodzi przy zwiększeniu  $\gamma$ -globulin powyżej 22 mg% [16, 24]. Ponadto u nerek zakazonych szczepem o niskiej patogenności (NP-AD) test ten daje w większości przypadkach wynik ujemny [11, 13, 14]. Badania tej pracy wykazały zgodność próby jodowej z wynikami sekcji w 50,8%, co pokrywa się z obserwacjami innych autorów [13, 14, 18, 22].

Próba tymolowa i jodowa dają reakcje dodatnie nie tylko przy chorobie aleuckiej, ale i przy innych jednostkach chorobowych, charakteryzujących się podwyższonym poziomem  $\gamma$ -globu-



lin [19, 20]. Autorzy niniejszej pracy otrzymali zgodność próby tymolowej ze zmianami patologicznymi, nietypowymi dla choroby aleuckiej w 14%, natomiast wskaźnik ten obliczony dla próby jodowej był wyższy i wyniósł 22%.

Przy ocenie zarówno testu tymolowego, jak i próby jodowej, nie możemy wykluczyć, że zwierzęta były chore na plazmocytozę, ale wczesne stadium choroby uniemożliwiło jej sekcyjne rozpoznanie. Według Wachnika [24] wysoka zawartość  $\gamma$ -globulin występuje we krwi nerek zakażonych patogennym szczepem wirusa plazmocytozy już w 6 tygodniu po zakażeniu. Objawy kliniczne natomiast po dalszych 3-6 tygodniach. Jeszcze później możemy zaobserwować pierwsze objawy anatomopatologiczne.

Praktycznym błędem wskazań testu tymolowego jest 15% prób, które wypadły ujemnie, mimo że na sekcji rozpoznano chorobę aleucką. Błąd ten był wyższy o 3,7% od wskazań próby jodowej. Tak wysoki błąd spowodowany był niedokładnością odczytu, który wykonywano w trudnych warunkach terenowych gołym okiem. Badania przy użyciu kolorymetru, co znalazło zastosowanie w medycynie, zwiększyłyby dokładność odczytu. W medycynie próba tymolowa, dzięki wysokiej czułości, stosowana jest nie tylko do rozpoznawania schorzeń, ale i jako wskaźnik ich rozwoju.

Porównując wyniki doświadczenia, możemy wyciągnąć wniosek, że test tymolowy jest bardziej obiektywny niż próba jodowa. Biorąc pod uwagę jego pracochłonność i trudności dokładnego odczytu w trudnych warunkach terenowych nie możemy jednoznacznie określić, który z testów jest lepszy. Nieswoistość obu testów może być pomocna w brakowaniu zwierząt również z innymi schorzeniami, które powodują obniżenie wyników produkcyjnych na fermach nerek.

## LITERATURA

1. Bartoszcze M., Roszkowski J., Brodnicki S.: Zastosowanie immunoenzymatycznej metody ELISA w diagnostyce wirusologicznej. *Medycyna Wet.* 1978, 10, 582-584.
2. Bieriestow W. A., Korzewninkowa L.K.: Fermenty krwi puszných zwieriej. Nauka, Leningrad 1981.
3. Bieriestow W. A.: Laboratoryjne metody sostajania puszných zwieriej. Pietrozawodsk, Karelia 1981.
4. Bieriestow W. A.: Praktyczne rady dla polskich hodowców zwierząt futerkowych. *Hod. Drobn. Inw.* 1982, 2-4.
5. Bołotnikowa I. A., Jakowlewa K. E.: Dopełnitelnyj metod diagnostiki Krokawodstwo i zwierawodstwo. 1981, 1, 30.
6. Bratiucha C. I.: Bolezni puszných zwieriej. Urożaj, Kijew, 1980.
7. Dikur I. I.: Naucznyje trudy. Referatiwnyj Żurnał, 1977, 16, 24.
8. Ewy Z.: Fizjologia zwierząt. PWN, Warszawa 1977.
9. Griellford B. Ch. H.: Aleutian disease in mink. Helsinki 1976.
10. Gorham J. R., Shen D. T.: Aleutian disease in mink. Pulman, 1976.
11. Haagsma J., Boikhaut B. A.: Contribution to the epidemiology and eridication of aleutian disease, 1980.
12. Homolka J.: Dioagnostyka biochemiczna. PZWL, Warszawa 1958.
13. Jarosz S.: Choroba aleucka i sposoby jej zwalczania na fermach norek, *Hod. Drobn. Inw.* 1983, 9, 19.
14. Jarosz S.: Serologiczna metoda wykrywania choroby aleuckiej u norek przy pomocy CIEP. *Hod. Drobn. Inw.* 1976, 13-14.
15. Kammer H.: New test for aleutian disease. United, 1975, 2.
16. Lange-Moroz E.: Ocena testu jodowego w odniesieniu do wyników elektroforezy białkowej surowicy krwi. *Medycyna Wet.* 1967, 11, 680-683.

17. Larski Z.: Wirusologia weterynaryjna. PWRiL, Warszawa 1982, 432-433.
18. Ocetkiewicz J., Wojtacha H.: Wartość metod rozpoznawczych chorobry aleuckiej i ich zastosowanie w hodowli norek. Acta Agr. et Silves. 1972, XII, 2.
19. Ostrowski W.: Wybrane metody z chemii klinicznej. PZWL, Warszawa 1974.
20. Pinkiewicz E.: Podstawowe badania laboratoryjne. PWRiL, Warszawa 1971.
21. Pawłowski W.: Referatiwnyj Żurnał. 1978, 2.
22. Ruszczyc Z.: Metodyka doświadczeń zootechnicznych, PWRiL, Warszawa 1978.
23. Steffen J., Sandar-Wachowicz R.: Choroba aleucka norek. Medycyna Wet. 1967, 3, 7.
24. Wachnik Z.: Zarys chorób zakaźnych. PWRiL, Warszawa 1983.
25. Wilkie B. N.: Cell mediated immunity in mink with Aleutian Disease.
26. Wright P., De Pauli F. J., Wilkie B. N.: ELISA assay of Aleutian Disease Viral Antibodies and International Scientific Congress in Fur Animal Production.

O. Szeleszczuk, S. Jarosz, M. Łukowicz-Pędzierska

USEFULNESS OF THE THYMOL AND IODINE TEST  
IN DIAGNOSING THE ALEUTIAN DISEASE IN MINKS

S u m m a r y

One of the causes of high losses at mink farms is the Aleutian disease (plasmocytosis) provoked by parvoviruses. It is characterized by increased mortality of pups within the first 48 hours of life and in adult animals by an atypical course and disease symptoms hardly observable at its initial stage.

Nonspecific iodine test based upon gypergammaglobulininaemia occurring in the disease in question is most often applied in Poland for diagnosing it.

The aim of the respective investigations was to determine usefulness of other nonspecific test - the thymol test, in diagnosing the Aleutian disease and in comparison of its efficiency with the iodine test and anatomo-pathological examinations.

The experiment was carried out at two farms in southern Poland on 700 minks of different varieties. The experimental material was examined using the thymol and iodine tests and after slaughter sectional examinations were performed.

The experiment has proved a better conformity of the thymol test and anatomo-pathological examinations 63.5% than of the iodine test 57.8%. The results obtained have proved a higher sensitiveness and accuracy of the thymol test. The iodine test is, however, easier in performance under field conditions. Using the photocolorimeter is necessary for an exact reading of the thymol test.

О. Шелешук, С. Ярош, М. Лукович-Пендзерска

ПРИГОДНОСТЬ ТИМОЛЕВОГО И ИОДОВОГО ТЕСТА  
В ДИАГНОЗИРОВАНИИ АЛЕУТСКОЙ БОЛЕЗНИ У НОРОК

Р е з ю м е

Одной из причин значительных потерь в фермах норок является алеутская болезнь (плазмоцитоз). Эта болезнь, вызываемая парвовирусом, характеризуется повышенной смертностью щенят в

течение первых 48 часов жизни, а у взрослых животных – нетипичным, хроническим ходом и патологическими симптомами, трудными для наблюдения в первой, начальной, стадии болезни.

Для диагностирования этой болезни в Польше применяют, прежде всего, иодовый тест, основывающийся на выступающей в ходе болезни гипергаммаглобулинемии.

Целью труда было определение пригодности другого неспецифического теста – тимолового, в диагностировании алеутской болезни и сравнение эффективности этого теста с иодовым тестом и анатомо-патологическими исследованиями.

Опыты проводились в двух фермах в южной части Польши на 700 головах различных разновидностей. Опытные животные исследовали с использованием тимолового и иодового тестов, а после убоя проводились секционные исследования.

Опыты показали более хорошее согласие тимолового теста с анатомо-патологическими исследованиями (63,5%), чем иодового теста (50,8%). Полученные результаты свидетельствуют о лучшей чувствительности и точности тимолового теста, однако, иодовый тест менее трудоёмкий для выполнения в полевых условиях. Для точного отсчета тимолового теста необходим фотокolorиметр.