

JAN BUCZEK, JAN KRZYŻANOWSKI, HASSAN MOUALLEM

Isolacja *Neisseria ovis* z przypadków zakaźnego keratoconjunctivitis owiec

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych oraz Instytutu Chorób Niezakaźnych
Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Keratoconjunctivitis u owiec jest schorzeniem dość często występującym w krajach o rozwiniętej hodowli tego gatunku zwierząt (1, 4, 6, 10, 11, 13, 15, 17, 18, 20, 21). Schorzenie ma charakter zakaźny, a czynnik etiologiczny jest, jak się wydaje, dość zróżnicowany. Z piśmiennictwa wynika, iż z przypadków *keratoconjunctivitis* owiec izolowano riketsje, mikoplazmy i bakterie (1, 2, 3, 5, 8, 9, 14, 19, 22, 23); z tej ostatniej grupy mikroorganizmów identyfikowano najczęściej zarazki z rodzaju *Moraxella* oraz *Neisseria ovis* (1, 6, 7, 12, 15, 16, 21).

Celem badań własnych była charakterystyka izolowanych z przypadków *keratoconjunctivitis* owiec bakterii oraz przebadanie ich chorobotwórczości dla tego gatunku w warunkach doświadczenia.

Jak wynika z obserwacji rozwój hodowli owiec stwarza nowe problemy w utrzymaniu zdrowotności stad. Zwrócenie uwagi, iż *keratoconjunctivitis* u owiec występuje i w naszym kraju oraz badania nad czynnikiem etiologicznym tego schorzenia ma aspekt teoretyczny i praktyczny.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w jednym ze stad liczących 460 owiec. W stadzie tym w okresie wiosennym wystąpiło u jagniąt *keratoconjunctivitis*, które w ciężkiej klinicznej postaci stwierdzono u ponad 15% jagniąt w wieku do 2 miesięcy. Schorzenie rozwijało się zwykle od drugiego dnia po urodzeniu, a obraz kliniczny w poszczególnych przypadkach był zróżnicowany pod względem stopnia zaawansowania zmian. Obok *keratoconjunctivitis* niemal w wszystkich jagniąt obserwowano zmiany wskazujące na zakażenie wirusem niesztowicy.

Do badań bakteriologicznych pobrano wymazy z worka spojówkowego od zwierząt ze zmianami w oczach o różnym stopniu zaawansowania. Niezależnie pobrano również strupy z warg dla potwierdzenia zakażenia wirusem niesztowicy. Wymazy spojówkowe poddano badaniom bakteriologicznym wysiewając materiał na podłoże agarowe z dodatkiem 10% krwi barana. Izolowane bakterie identyfikowano przy pomocy klasycznych metod bakteriologicznych, tj. badań mikroskopowych, biochemicznych, próby biologicznej oraz porównano serologicznie ze szczepami *Moraxella bovis*. Badania mikroskopowe przeprowadzono w zwykłym mikroskopie optycznym i kontrastowo-fazowym.

Z badań biochemicznych wykonano próby na: indol, siarkowodór, katalazę, rozkład azotanów, Voges-Proskauera, rozkład żelatyny i ściętej surowicy bydła, produkcję hemolizyn na podłożach z krwią barana, konia, królika, bydła, psa, hemolizę krwi bydła na agarze czekoladowym, wzrost na podłożu Koser z cy-

trynianem sodu, próbę z czerwienią metylenową oraz rozkład cukrów: galaktozy, sacharozy, mannozy, glukozy, fruktozy, ramnozy, laktozy, ksylozy, trehalozy i maltozy. Określono również wrażliwość izolowanych szczepów na antybiotyki jak: streptomycyna, chloramycetyna, erytromycyna, neomycyna, ampicylina, gentamycyna, kolimycyna, oksytetracyklina, penicylina oraz tylozyna. Próbę biologiczną wykonano na myszkach, które zakażano dożylnie wprowadzając 0,1 ml spłuczyny zarazka oraz na 2 młodych (2, 3-tygodniowych) jagniątach i 2-letniej matce, zakażonych dospójówkowo dawką 0,5 ml. Kontrolę stanowiły 2 owce dorosłe i 2 jagnięta (bliźniaki użytych do zakażenia) przebywające w tej samej zagrodzie. Dodatkową grupę kontrolną stanowiły 3 owce dorosłe z sąsiedniej zagrody odgradzonej od grupy doświadczalnej pełną ścianą.

Spłuczynę do zakażenia zwierząt przygotowywano przy pomocy PBS z 3-go pasażu 24-godzinnej hodowli bakterii namnożonych na agarze z krwią. Gęstość spłuczyny odpowiadała 10-tej próbówce wg skali Mc Farlanda.

Do badań serologicznych antygen przygotowano z hodowli wyrosłych na podstawowym podłożu agarowym, a dezintegrację komórek, w celu uwolnienia antygenów do badań metodą precypitacji w żelu agarowym, wykonano metodą zamrażania i odmrażania.

Wyniki i omówienie

W posiewach na podłożach agarowych z dodatkiem 10% krwi baraniej wymazów pobranych ze spojówek chorych jagniąt, stwierdzono po 24 godzinach inkubacji w 37°C w warunkach tlenowych, wzrost kolonii średnicy około 2—3 mm, gładkich, lśniących, okrągłych, wypukłych, o równym brzegu, zabarwionych na kolor szary. Dookoła kolonii występowała duża strefa hemolizy β . Porównując uzyskane wyniki posiewów z kliniczną postacią schorzenia stwierdzono, iż z przypadków które pod względem klinicznym określono jako zakażenie świeże, uzyskiwano wzrost wyżej opisanych bakterii w czystej kulturze. Natomiast w posiewach z przypadków zaawansowanych, kiedy gałka oczna była zdeformowana lub pęknięta, uzyskiwano wzrost flory mieszanej. Obok kolonii o opisanym wyglądzie występowały kolonie gronkowca, laseczek oraz pałeczki *Proteus*. Wynik badania bakteriologicznego skłonił autorów do bliższej charakterystyki bakterii izolowanych w czystej kulturze i przebadania ich właściwości chorobotwórczych w warunkach doświadczalnych.

Badania morfologiczne wykazały, iż izolowane bakterie są kształtu kulistego, układają

się pojedynczo lub po dwie, a często w dość duże skupiska. Były Gram-ujemne, chociaż w skupiskach obserwowano, iż szereg komórek odbarwia się z opóźnieniem, zatrzymując pierwszy barwnik. Zarazki okazały się niekwaso-oporne, nie posiadały rzęsek, otoczek i nie tworzyły zaradników. W mikroskopie kontrastowym wykazywały typowy układ ziarniaków. Na bulionie izolowane zarazki rosły w postaci osadu oraz cienkiej błonki, tworzącej przy ściankach probówki pierścieni. Poruszenie probówką powodowało opadanie na dno wyrosłych na powierzchni bakterii, bulion pozostawał klarowny.

Na agarze zwykłym izolowane zarazki wyrastały w postaci okrągłych wypukłych kolonii o gładkim brzegu, zabarwionych na kolor szarobiały. W porównaniu z koloniami wyrosłymi na agarze z krwią były one bardziej suche, Φ 2 mm, trudno zawieszalne w płynie fizjologicznym.

Badania biochemiczne pozwoliły stwierdzić iż izolowane bakterie redukują azotany do azotynów i wytwarzają enzym katalazę. Zarazki nie produkowały indolu, siarkowodoru, nie rozkładały ściętej surowicy bydła i żelatyny. Próba z czerwienią metylenową, odczyn Voges-Proskauera, wzrost na podłożu Kosera z cytrynianem sodu — wypadły ujemnie. Izolowane drobnoustroje nie rozkładały cukrów: glukozy, sacharozy, mannozy, galaktozy, fruktozy, ramnozy, laktozy, ksylozy, trehalozy i maltozy.

Na podłożach z krwią konia, krowy, owcy, królika, psa — powodowały hemolizę typu β , nie hemolizowały jednak ściętej krwi bydła i nie rosły w warunkach beztlenowych.

Badania morfologiczne, hodowlane i biochemiczne pozwoliły określić, iż wyosobnione z przypadków *keratoconjunctivitis* owiec bakterie, odpowiadały pod ww. względami zarazkowi izolowanemu z przypadków *keratoconjunctivitis* owiec przez Lindqvista (12). Dla izolowanych zarazków ww. autor zaproponował nazwę *Neisseria ovis*.

Badania chorobotwórczości dla myszy zakażonych dożylnie wykazały, iż izolowane przez nas zarazki były w przeciwieństwie do szczepów Lindqvista całkowicie niechorobotwórcze. Ta cecha różni zatem wyosobnione przez nas szczepy od szczepów Lindqvista (12), a jest zgodna z właściwościami szczepów *N. ovis* izolowanych przez Fairlie w Szkocji (7) i Spradbrowa i Smitha w Australii (21). Izolowane szczepy *N. ovis* były wrażliwe na: streptomycynę, chloromycetynę, erytromycynę, neomycynę, ampicylinę, gentamycynę, oksytetracyklinę oraz tylozynę, a nie wrażliwe na kolimycynę i penicylinę.

Badania chorobotwórczości izolowanych zarazków dla owiec przeprowadzono po wykonaniu kontrolnych badań bakteriologicznych owiec użytych do doświadczenia. Badania te wykazały, iż w posiewach wymazów z worków

spojówkowych inkubowanych w warunkach tlenowych nie stwierdzono wzrostu flory bakteryjnej.

Sukcesywne badania bakteriologiczne owiec doświadczalnych wykonane w odstępach 4—5 dniowych wykazały, iż wprowadzone do worka spojówkowego zarazki spowodowały trwałe zakażenie zwierząt, po upływie 12 dni zakażenie przeniosło się na jagnięta kontrolne, a następnie na owce dorosłe.

Badaniem bakteriologicznym po upływie 35 dni od zakażenia, od wszystkich owiec w stadzie izolowano użyty do badań zarazek. W tym okresie dodatkowe owce kontrolne z sąsiedniej zagrody nie uległy zakażeniu.

Obserwacje kliniczne zakażonych doświadczalnie i w sposób naturalny owiec kontrolnych pozwoliły na stwierdzenie, iż w ciągu 55 dni obserwacji wystąpiły u nich tylko słabo zaznaczone zmiany zapalne spojówek. U żadnej z zakażonych owiec w okresie 55 dni typowych objawów *keratoconjunctivitis* nie obserwowano. Badanie serologiczne owiec użytych do doświadczenia wykazały, iż zakażenie nie stymulowało pojawienia się precypityn anty *N. ovis* w ciągu 55 dni obserwacji.

Porównując uzyskane wyniki doświadczalnego zakażenia owiec z wynikami innych autorów, izolujących z przypadków *keratoconjunctivitis* owiec *N. ovis*, trudno jest jednoznacznie rozstrzygnąć, czy brak chorobotwórczości w warunkach doświadczalnych tego zarazka wyklucza automatycznie ten drobnoustrój jako czynnik etiologiczny. Fairlie (7), który uzyskał podobne wyniki w zakażeniu doświadczalnym 2 jagniąt uważa, iż zarazek ten może powodować schorzenie przy obniżonej odporności zwierząt, w przypadku urazów mechanicznych oka, lub innych infekcjach. Spradbrow i Smith (21) również nie wykluczają takiej możliwości, chociaż w warunkach doświadczenia uzyskali tylko łagodne zapalenie spojówek. Pracy Lindqvista dotyczącej chorobotwórczości izolowanego szczepu dla owiec w warunkach doświadczalnych w piśmiennictwie nie znaleziono.

Wydaje się, iż izolowany przez nas zarazek określony jako *N. ovis*, który w warunkach doświadczalnych nie wywołał klinicznych objawów *keratoconjunctivitis*, lecz spowodował trwałe zakażenie owiec doświadczalnych i kontrolnych, w warunkach terenowych może współdziałać z innymi drobnoustrojami w rozwoju zmian chorobowych określonych klinicznie jako *keratoconjunctivitis*. W obserwowanym przez nas przypadku, jednocześnie z *keratoconjunctivitis* występującym u ok. 30% jagniąt w tym 15% w ciężkiej postaci, stwierdzono klinicznie niesztowicę. Zakażenie wirusem niesztowicy potwierdzono badaniem w mikroskopie elektronowym. Czy istnieje współzależność pomiędzy tymi jednostkami na pytanie to mogą odpowiedzieć dalsze badania.

Piśmiennictwo

1. Baker J. R., Faul W. B., Ward W. R.: Vet. Rec. 77, 402, 1965.
2. Barile M. F., Giudice R. A., Tully J. G.: Infection and Immunity 5, 70, 1973.
3. Blanco Loizeller A.: Revta Patron. Biol. anim. 13, 201, 1969.
4. Cooper B. S.: N. Z. vet. J. 15, 79, 1967.
5. Cooper B. S.: N. Z. vet. J. 22, 181, 1974.
6. Dickinson L., Cooper B. S.: J. Path. Bact. 78, 257, 1959.
7. Fairlie G.: Vet. Rs., 78, 649, 1966.
8. Faye P., Charlton A.: Can. Med. vet., 31, 161, 1962.
9. Hofland G., Leeflag P., Vries T. J.: Tijdschr. Diergeneesk. 94, 353, 1969.
10. Jones G. E., Foggie A., Sutherland A., Harker D. B.: Vet. Rec., 99, 137, 1976.
11. Kummeneje K., Mikkelsen T.: Nord. Vet., 27, 144, 1975.
12. Lindqvist K.: J. infec. Dis. 163, 162, 1960.
13. Litvinov N. A.: Trudy Saratov. Zoovet. Inst., 10, 243, 1961.
14. Livingston C. W., Moore R. W., Hardy W. T.: Am. J. vet. Res. 26, 293, 1965.
15. Nicolet J., Freund E. A.: Zentbl. Vet. Med. 22, B, 302, 1975.
16. Nicolet J., Wanner M., Sturzenegger N., Messerli J., Neuron P. A.: Schweizer Arch. Tierheilk. 116, 435, 1974.
17. Pascucci S., Varani A.: Vet. ital. 10, 537, 1959.
18. Patwardham W. D., Jangnure M. M., Andhari R. V.: Indian vet. J., 52, 7, 1975.
19. Parlov P., Milanov M., Tschulew P.: Zenbl. Bakt. ParasitKde I, 194, 439, 1964.
20. Sato K., Matsuo S., Kagata K., Ito S., Kawabe K., Kinoshita S.: J. Jap. vet. md. Ass., 19, 211, 1966.
21. Spradrow P. B., Smith J. D.: Aust. vet. J. 43, 40, 1967.
22. Surman P. G.: Aust. J. Biol. Sci., 21, 447, 1968.
23. Surman P. G.: Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 51, 589, 1973.

Adres autora: doc. dr hab. Jan Buczek, ul. Bohaterów Monte Cassino 49, 20-705 Lublin.

Бучек Я., Кржижановский Я., Муаллем Х. — Изолирование *Neisseria ovis* из случаев кератоconjunctivitis овец.

Из случаев keratoconjunctivitis овец изолировали бактерии, классифицированные затем как *N. ovis*. Проведенные биологические исследования показали, что изолированные штаммы соответствуют в безвредном отношении штаммы, изолированные в Шотландии и Австралии. Экспериментальная инфекция 2 ягнят и 1 взрослой овцы показала, что возбудитель болезни вызывает устойчивую инфекцию глаза. В течение 35 дней инфекция перешла на 2 контрольных ягнят и 2 взрослых овец, находящихся в общем помещении. У животных, использованных для опыта, в течение 55 дней появился лишь воспалительный процесс соединительной оболочки глаз, в этот период не наблюдался keratoconjunctivitis.

Buczek J., Krzyżanowski J., Mouallem H. — The isolation of *Neisseria ovis* from sheep with infectious keratoconjunctivitis.

Neisseria ovis was isolated from sheep with the symptoms of infectious keratoconjunctivitis. Biological examination performed on mice revealed that the isolated strains possessed the same pathogenic properties as those isolated in Scotland and Australia.

Experimental infection of two lambs and one sheep showed that the microorganism caused a long lasting eye infection. After 35 days the infection was transmitted naturally on two control lambs and two sheep in the same stable. In the experimental animals only conjunctivitis was observed in the period of 55 days observation.

HENRYK LIS
Warszawa

Analiza występowania oraz ocena metod zwalczania klasycznego pomoru świń na świecie i w Polsce

Choć minęło prawie 150 lat (4) od stwierdzenia pierwszych ognisk choroby świń przemawiającej za tym, że był to pomór świń, oraz prawie 100 lat (4) od opisanego tej jednostki, to stanowi ona ciągle aktualny dla wielu krajów problem epizootologiczny i ekonomiczny.

Celem niniejszej pracy jest określenie stopnia rozprzestrzenienia się pomoru świń w latach 1976 i 1977 na świecie oraz przeanalizowanie występowania choroby w naszym kraju. Ocena niektórych metod dotychczasowego zwalczania, jak też podjęcie dalszych skutecznych środków na przyszłość może być wykorzystane w zwalczaniu i ewentualnie likwidacji tej zarazy.

Oceny sytuacji epizootycznej oraz obliczeń liczby ognisk choroby dokonano na podstawie materiałów OIE oraz informacji uzyskanych przy okazji wymiany dokumentów dotyczących eksportu bądź importu zwierząt, środków żywności i surowców pochodzenia zwierzęcego. Występowanie pomoru świń w Polsce określono na podstawie materiałów będących w posiadaniu Ministerstwa Rolnictwa.

Pomór świń na świecie.

W 1976 r. zgłoszono do OIE (14) 2439 ognisk tej choroby, w tym z Europy 524 ogniska, z Azji, (bez Chińskiej Republiki Ludowej, Koreńskiej Republiki Ludowo-Demokratycznej, Socjalistycznej Republiki Wietnamu, Kambodży, Laosu i Indonezji) 1060 ognisk, z Ameryki Południowej 835 ognisk, z Ameryki Północnej 17 ognisk i z Afryki 3 ogniska (tab. 1).

Tab. 1. Występowanie pomoru świń na świecie w latach 1976 i 1977

Kontynent	Liczba ognisk	
	w 1976 r.	w 1977 r.
Europa (w tym Polska)	524 (134)	594 (86)
Afryka	3	2
Ameryka Połudn.	835	685
Ameryka Półn.	17	—
Azja	1060	1370
Ogółem:	2439	2651