

MEDYCYNA WETERYNARYJNA

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CZASOPISMO POSWIĘCONE NAUCE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ
ZAŁOŻONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr Ryszard BADURA, prof. dr Jerzy MAZURCZAK,
prof. dr Abdon STRYSZAK, doc. dr Stanisław WOŁOSZYN,

Sekretarz naukowy: dr Ryszard SŁUŻEWSKI.

RADA PROGRAMOWA

Dr Anatol BACHAREWICZ, prof. dr Henryk BALBIERZ, prof. dr Władysław BIELAŃSKI, prof. dr Stanisław CAKAŁA, prof. dr Zygmunt EWY, prof. dr Roman HOPPE, prof. dr Tadeusz JASTRZĘBSKI, prof. dr Lech JASKOWSKI, płk. doc. dr Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr Zdzisław LARSKI, dyr. dr Henryk LIS, dr Władysław LUTYŃSKI, prof. dr Wincenty PEZACKI, prof. dr Wiktor STEFANIAK, prof. dr Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr Janusz WELENTO, prof. dr Aleksander ZAKRZEWSKI, prof. dr Eugeniusz ŻARŃOWSKI.

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZYGMUNT CYGAN, TADEUSZ JASTRZĘBSKI

Niektóre aspekty diagnostyki mikrobiologicznej wybranych chorób beztlenowcowych owiec

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

W ostatnich latach na całym świecie, a także w Polsce, obserwuje się nawrót do zintensyfikowania hodowli owiec. W związku z tym staje się konieczne zwrócenie szczególnej uwagi na czynniki ograniczające rozwój hodowli tych zwierząt, a zwłaszcza na choroby beztlenowcowe. Zagadnienie chorób beztlenowcowych jest w zasadzie uwarunkowane przez szerokie rozprzestrzenienie silnie chorobotwórczych i wytrzymałych na niekorzystne warunki środowiskowe beztlenowców *Clostridium* w przyrodzie tj. głównie w ziemi (22, 27, 37, 53), w przewodzie pokarmowym człowieka i zwierząt (19, 32, 36, 43, 44, 49, 51) oraz w ich narządach mięsnych (3, 4, 5, 6, 7, 8, 20, 25). Odnośnie nasilających się obecnie i przebiegających jako zakażenia endogenne schorzeń człowieka powodowanych przez beztlenowce niezarodnikujące, głównym źródłem zarazka jest przewód pokarmowy oraz powłoki ciała (15, 45). Istotne przy tym znaczenie posiada stosowanie leków immunodepresyjnych, cytostatycznych, a w szczególności kortyzonowych i radioterapii (42). W odniesieniu do zwierząt podobną rolę aktywującą ten rodzaj infekcji, spełniają mię-

dzy innymi niektóre intensywne systemy tuczu przemysłowego, sprzyjające osłabianiu barier fizjologicznej niewrażliwości makroorganizmu. Ponadto należy też wspomnieć o roli antybiotykoterapii w selekcjonowaniu niektórych beztlenowców, zwłaszcza obdarzonych dużą opornością pałeczek *Bacteroides* (42). Wszystkie powyższe czynniki uaktywniają działanie chorobotwórcze beztlenowców niezarodnikujących i przyczyniają się do wzrostu egzo- i endogenych zakażeń tego typu u człowieka i zwierząt.

Spośród zwierząt gospodarskich szczególną wrażliwością na infekcje beztlenowcowe odznaczają się owce. U tych przeżuwaczy, już w warunkach fizjologicznych stwierdza się częściej niż u innych gatunków zwierząt obecność chorobotwórczych laseczek *Clostridium* zarówno w przewodzie pokarmowym, jak i w narządach mięsnych, a zwłaszcza w wątrobie (7, 8). Jednak należy podkreślić, że przeważnie nawet silnie toksynotwórcze beztlenowce są drobnoustrojami warunkowo chorobotwórczymi i dla wywołania choroby konieczne jest współdziałanie dodatkowych czynników.

Wszelkie dysfunkcje jelit powstałe w następstwie np. gwałtownej zmiany karmy i przekarmienia — usposabiają do enterotoksemii beztlenowcowej (1, 2, 21). W patogenie bradsotu na tle *Cl. oedematiens* B istotną rolę spełnia motylca wątrobowa, która uszkadzając wątrobę obniża potencjał oksydo-redukcyjny tkanek i umożliwia rozwój osiadłego w nich zarazka (20). Spotykane niekiedy u owiec tężec oraz zgorzel gazowa powstają w wyniku zanieczyszczenia ran powstałych przy strzyżycy, ciężkich porodach i zakażeniu pępownicy, a także w wyniku zabiegów operacyjnych np. przy kastracji (25, 46, 47). W niektórych krajach tropikalnych niedobory mineralne i białkowe prowadzą do zjadania trupów drobnych gryzoni (sarcophagia) i następnej intoksykacji botulinowej (52). Natomiast w przypadku zanokcicy owiec predysponujące działanie wywiera, zachodząca pod wpływem wilgotności środowiska zewnętrznego, maceracja tkanek (40).

1. Pobieranie i przesyłanie materiałów do badań rozpoznawczych.

Istota chorób beztlenowcowych owiec polega na wytwarzaniu przez zarazki różnych toksyn (tzw. antygenów rozpuszczalnych względnie czynników toksycznych) często o właściwościach neurotoksyn, dermo-toksyn i enzymów (27). Dlatego podstawą rozpoznania większości wspomnianych schorzeń jest wykazanie oprócz zarazka także specyficznych toksyn. Często jest to bardzo trudne zadanie ze względu na małą trwałość niektórych antygenów rozpuszczalnych, zwłaszcza w warunkach szybko postępującego gnicia zwłok zwierzęcia. W związku z tym, dla ostatecznej diagnozy choroby, konieczne jest szybkie przesłanie do badania całego zwierzęcia lub pobranych bezpośrednio po śmierci — prób z narządów mięsnych i z treści jelit. Badanie świeżego materiału nie tylko ułatwia izolację zarazka, ale również orientuje co do jego faktycznej ilości. W przypadku niemożności spełnienia tego warunku zachodzi potrzeba zabezpieczenia próbek przed rozkładem gnilnym. Proponowane są różne fizyczne i chemiczne metody konserwacji. Najskuteczniej z metod fizycznych działa zamrożenie i przesyłanie materiału w suchym lodzie. Powyższy sposób zalecają Sterne i Baty (48) przy każdej przesyłce trwającej w lecie ponad 6 godzin. Inne metody fizyczne polegają na suszeniu próbek lub na zabezpieczeniu ich przed rozkładem przez przesyłkę w chlorku sodu albo 60% glicerolu. Jednak suszenie i chlorek sodu na ogół oddziałują niekorzystnie na formy vegetatywne bakterii i dlatego mogą być użyte tylko dla materiałów badanych w kierunku łatwo zarodnikujących beztlenowców grupy zgorzeli gazowej, szelestnicy, tężca, bradsotu itp. Powyższe postępowanie nie może być zatem zalecane w przypadku enterotok-

semii owiec i zgorzeli gazowej, wywołanych przez trudno zarodnikujące laseczki *Cl. perfringens*. Glicerol w końcowej koncentracji 60% może być stosowany także do konserwacji próbek toksyny botulinowej i tężcowej. Toksyny beta i epsilon *Cl. perfringens* B i D w tych warunkach są nietrwałe. Ponadto ujemną stroną użycia glicerolu jest konieczność, przed wykonaniem badań na zwierzętach doświadczalnych, usunięcia go z próbek przez kłopotliwą dializę, ultrafiltrację itp.

Z chemicznych środków zapobiegających rozwojowi flory gnilnej i konserwujących toksyny wymieniane są fenol, krezol, mertiolat, formaldehyd i antybiotyki. Jednak stosowanie ich w związku z osłabianiem toksyn i działaniem bakteriobójczym na zarazki nie jest pożądane. Z antybiotyków — znaczenie praktyczne wydaje się posiadać jedynie neomycyna, która w stężeniu 100—250 mcg/ml nie hamuje wzrostu przeważającej ilości gatunków *Clostridium* (23, 54).

Powyższe zagadnienia odnoszące się do warunków pobierania i przesyłania materiałów diagnostycznych przy podejrzeniu infekcji na tle *Clostridium*, mają duże znaczenie również przy badaniu w kierunku beztlenowców niezarodnikujących powodujących zanokcicę. Wykrycie ich w chorobowo zmienionych tkankach racie posiada duże znaczenie diagnostyczne, jednak wobec obfitego zanieczyszczenia tych tkanek towarzyszącą florą saprofityczną jest zadaniem niezwykle trudnym. Próbkę do badań w tym kierunku należy wysiewać na miejscu pobrania lub przesyłać przez gońca. Merritt (33) dla ograniczenia wzrostu flory saprofitycznej zaleca poddawać próbki przed posiewem działaniu 0,25 M sacharozy.

2. Wyosabnianie beztlenowców.

Uzyskanie hodowli beztlenowców stanowi niejednokrotnie bardzo trudne zagadnienie. Odpowiednie warunki wzrostu można uzyskać przy pomocy niektórych metod biologicznych, fizycznych i chemicznych. Zostały one szczegółowo omówione między innymi w pracy Cygana (7). W ciągu kilkunastu lat badań własnych stosowano z dobrym wynikiem metodę pyrogallolową według Mossela i wsp. (35) lub Pestiego (38). Pozwala ona na wyosabnienie z materiału krajowego wielu bezwzględnych beztlenowców chorobotwórczych zarodnikujących i niezarodnikujących jak np. *Cl. botulinum* C (11), *Cl. oedematiens* A i B (12, 22) oraz *Fusobact. necrophorum* (13) i *Fusif. nodosus* (50). Ponadto metoda ta umożliwiła w badaniach kontrolnych uzyskanie wzrostu szeregu szczepów wzorcowych ścisłych beztlenowców np. *Cl. tetani*, *Cl. oedematiens* D, *Cl. botulinum* A, B, C, D, E i F oraz pałeczek *Bacteroides* sp. i ziarniaków *Veilonella* sp. Na podstawie tych doświadczeń można sądzić, że za-

kres użyteczności metody pyrogalolowej jest większy niż to wynika z jej dotychczasowej opinii.

Podstawą laboratoryjnego rozpoznania szeregu chorób beztlenowych jak np. zgorzeli gazowej, szeleśtnicy i zanokcicy jest wyosobnienie odpowiednich drobnoustrojów. Zakładany cel — wyizolowanie określonego zarazka — winien decydować o wyborze właściwej metody postępowania. Odnosi się to przede wszystkim do czasu inkubacji hodowli mieszanej w podłożu płynnym (18, 41). Przy poszukiwaniu *Cl. perfringens* czas inkubacji należy ograniczyć w temperaturze 46—47°C do 5—6 godz. lub w temperaturze 37°C maksymalnie do 24—48 godz. (41). Zupełnie inaczej przedstawia się optymalny czas wzrostu w przypadku hodowli *Cl. oedematiens*. Wyosobnienie tego zarazka z mieszanej zwykle hodowli wyjściowej udaje się najlepiej jak wykazali Nishida i Nakagawara (37) oraz Jastrzębski i wsp. (22) przy 14, a nawet 21-dniowej inkubacji w warunkach której szereg zarazków ubocznych, a zwłaszcza *Cl. perfringens*, ulega już obumarciu.

Co do podłoża selektywnych to w doświadczeniach własnych najlepsze wyniki zapewniało użycie podłoża Zeisslera z neomycyną (50—100 mcg/ml).

3. Identyfikacja beztlenowców.

Przeprowadzenie pełnej identyfikacji wyosobnionych szczepów *Clostridium* stanowi zagadnienie niesłychanie złożone i trudne. W większości przypadków potrzebne jest rozpo-

znanie nie tylko gatunku, ale i typu toksycznego drobnoustroju. W przypadku beztlenowców chorobotwórczych podstawowe znaczenie posiada analiza tzw. antygenów rozpuszczalnych tj. toksyn przy pomocy seroneutralizacji. Wyższa metoda zawodzi w stosunku do bakterii, które zatraciły całkowicie lub w znacznym stopniu zdolność wytwarzania toksyn, względnie produkują toksyny bardzo nietrwałe. W związku z tym, oprócz konwencjonalnego kierunku badania cech morfologicznych i biochemicznych, często zachodzi potrzeba wykorzystania także właściwości antygenowych komórki i zarodników, różnic w strukturze chemicznej ściany komórkowej zarazka, kierunku metabolizmu niektórych cukrów i aminokwasów, budowy DNA oraz wrażliwości na działanie fagów. Odnośna problematyka została omówiona między innymi w szeregu publikacji polskich autorów (9, 29, 30, 31).

4. Podstawy rozpoznania beztlenowcowych chorób owiec.

Przedstawienie zasad omawianej diagnostyki wymaga krótkiego scharakteryzowania najważniejszych w naszych warunkach chorób beztlenowcowych owiec. Ze względu na etiopatogenezę można je podzielić na szereg odrębnych jednostek chorobowych (tab. 1). Najczęściej występują zgorzel gazowa, enterotoksemia, bradsot, braxy i zanokcica.

Zgorzel gazowa jest według Mac Lennana (28) ostrym, postępującym procesem chorobowym zdrowych, nieuszkodzonych urazem tkanek w wyniku namnożenia się w nich clostri-

Tab. 1. Główne choroby owiec wywoływane przez drobnoustroje beztlenowe rodzaju *Clostridium*, *Fusobacterium* i *Fusiformis*

Jednostka chorobowa	Gatunek drobnoustroju	Główne toksyny patogenetyczne	Istota schorzenia	Główne cechy chorobowe	Podstawy rozpoznania
Zgorzel	<i>Cl. perfringens</i> A <i>Cl. septicum</i> <i>Cl. feseri</i> <i>Cl. oedematiens</i> A ^a	alfa (lecytynaza) alfa (letalna) letalna alfa (letalna), beta (lecytynaza)	martwica mięśni	obrzek gazowy i toksemia	wyosobnienie zarazka w czystej kulturze ^b
Dysenteria jagniąt	<i>Cl. perfringens</i> B	beta, epsilon	toksemia	biegunka	wykazanie toksyny i zarazka
Enterotoksemia owiec	<i>Cl. perfringens</i> C	beta	„	„ <i>enteritis necroticans</i> ” „miękką nerka”	„
Enterotoksemia owiec	<i>Cl. perfringens</i> D	epsilon	„	glukozuria	„
Bradsot	<i>Cl. oedematiens</i> B	alfa (letalna) beta (lecytynaza)	„	„ <i>hepatitis necroticans</i> ”	„
Botulizm	<i>Cl. botulinum</i> D, E	neurotoksyna	neurotoksemia	porażenia wiotkie	„
Tężec	<i>Cl. tetani</i>	neurotoksyna	neurotoksemia	skurcze tężcowe mięśni	kliniczne wyosobnienie zarazka
Braxy	<i>Cl. septicum</i>	alfa (letalna)	toksemia	„ <i>enteritis</i> ” i wybroczyny w narządach wewn.	„
Zanokcica	<i>Fusiformis nodosus</i> <i>Fusobact. necrophorum</i>	elastazy egzotoksyna	stan zapalno-martwicowy rąć	martwica rogu	„

Objaśnienia: a = zgorzel gazowa najczęściej jako tzw. „big head”; b = w przypadku zgorzeli gazowej na tle *Cl. oedematiens* A wykazanie także toksyn alfa i gamma.

dii i wytworzenia różnych biochemicznie i antygenowo toksyn. Najczęściej przy tym stwierdza się *Cl. perfringens* A, *Cl. oedematiens* A, *Cl. septicum* oraz *Cl. fesceri*. Produkowane przez nie toksyny są przedstawione w tab. 2, 3 i 4.

lanej przez *Cl. oedematiens* A, oprócz wyosobnienia zarazka, jest także wykazanie w ekstraktach z chorobowo zmienionych mięśni swoistej toksyny alfa i lecytynazy gamma (48).

W warunkach hodowli wielkostadnej wzrasta znaczenie chorób przebiegających w for-

Tab. 2. Toksyny chorobotwórczych dla owiec laseczek *Cl. perfringens*

Typ toksyczny	T o k s y n y											Wywoływana choroba
	alfa	beta	gamma	delta	epsi- lon	eta	teta	jota	kappa	mi	ni	
A	+	-	-	-	-	±	+	-	+	±	+	zgorzel gazowa dysenteria jagniąt enterotoksemia owiec enterotoksemia owiec
B	+	+	+	+	+	-	+	-	±	+	+	
C	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	
D	+	-	-	-	+	-	+	-	±	±	+	

Objaśnienia: + = toksyny wytwarzane przez wszystkie lub większość szczepów; ± = toksyny wytwarzane przez niektóre tylko szczepy; - = brak wytwarzania toksyn.

Toksynami, którym przypisuje się na ogół największą rolę w patogenezie zgorzeli gazowej są wytwarzane przez *Cl. perfringens* oraz *Cl. oedematiens* — lecytynazy. Działanie tych lecytynaz polega na rozkładaniu lecytyny komórek makroorganizmu na fosforocholeinę i kwasy tłuszczowe, co ułatwia rozprzestrzenianie się infekcji (27, 28). W przypadku zgorzeli gazowej na tle *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens* i *Cl. fesceri* podobnie ważną funkcję spełniają letalne i nekrotyczne toksyny alfa. Natomiast znaczenie drugorzędne posiadają różne antygenowo hialuronidazy (toksyna gamma — *Cl. septicum* i mi — *Cl. perfringens*), prokolagenaza (antygen kappa — *Cl. perfringens*) oraz dezoksyrybonukleazy (czynnik ni — *Cl. perfringens* i beta — *Cl. septicum*).

Tab. 3. Toksyny chorobotwórczych dla owiec laseczek *Cl. septicum*

Toksyny	Aktywność biologiczna			Stwierdzone enzymy
	letalna	nekrotyzująca	hemolityczna	
alfa	+	+	+	?
beta	?	-	-	dezoksyrybonukleaza
gamma	?	-	-	hialuronidaza
delta	?	+	+	?

Objaśnienia: + = wykazywana aktywność; - = brak aktywności; ? = brak danych.

W mikrobiologicznym rozpoznaniu zgorzeli gazowej podstawowe znaczenie posiada wyosobnienie z mięśni, pobranych bezpośrednio po śmierci zwierzęcia, licznych i w czystej hodowli laseczek beztlenowych, najczęściej z grupy *Cl. perfringens* i *Cl. oedematiens*. Szczepy *Cl. perfringens*, które produkują lecytynazę w ilości ponad 200 jedn. zmętnieniowych w 1 ml hodowli, wykazują zawsze działanie zgorzeli-
nowe u zakażonych świnek morskich (10). Wykrywanie tej lecytynazy w ustroju z reguły nie udaje się w związku z trwałym związaniem jej przez tkanki lub unieczynnieniem przez obecne w wysięku jony fosforu (28, 55). Natomiast podstawą rozpoznania zgorzeli gazowej wywo-

mie gwałtownych enterotoksemii. Griner (16) określa jako enterotoksemię — ostrą, zwykle śmiertelną chorobę charakteryzującą się obecnością w treści jelit i we krwi toksyn powstałych w wyniku gwałtownego namnożenia się w przewodzie pokarmowym laseczek *Cl. perfringens* B, C i D. Ogólnie przyjmuje się, że u owiec w wieku do 2 tygodni najczęściej stwierdza się dysenterię i enterotoksemię wywołane przez *Cl. perfringens* B i C. U zwierząt starszych, w wieku powyżej 3 tygodni, enterotoksemia występuje na tle działania *Cl. perfringens* D. Griner (16) przypuszcza, że enterotoksemia związana etiologicznie z *Cl. perfringens* C może być u jagniąt spowodowana przez brak lub obniżoną produkcję trypsyny w pierwszych dniach życia. Stwierdzenie przez Laskowskiego i wsp. (26) w siarze zwierząt inhibitorów trypsyny wyjaśnia możliwość intoksykacji toksyną beta tj. głównym czynnikiem letalnym *Cl. perfringens* B i C również w przypadkach dostatecznej produkcji enzymu. Rzadkie na ogół przypadki enterotoksemii owiec dorosłych spowodowane przez *Cl. perfringens* C znajdują wyjaśnienie w świetle badań Meszarosa i Pestiego (34), którzy doświadczalnie wykazali, że nieswoiste stany zapalne żołądka i jelit mogą hamować wytwarzanie trypsyny, co stwarza korzystne warunki dla zachowania aktywności toksyny beta.

Przy rozpoznawaniu enterotoksemii i dysenterii obowiązuje szczególna ostrożność wobec częstego, nawet za życia zwierzęcia, występowania w ich narządach patogennych laseczek *Cl. perfringens*. Przy ocenie wyników badania laboratoryjnego należy również pamiętać, że w sprzyjających okolicznościach może dochodzić do wtórnego namnożenia się bakterii beztlenowych w badanych próbkach z narządów mięsnych i jelit. Często zdarza się też, że wyosobniony szczep *Cl. perfringens* C produkuje tak mało toksyny beta, że zostaje mylnie zakwalifikowany do typu A. W takich przypadkach należy wykorzystać wykazany przez Hauschilda i Pivnicką (17) oraz Pivnicką i wsp.

(39) wpływ dekstryny stymulujący toksynogenezę zarazka w podłożu o stale kontrolowanym pH. Całkowicie pewne rozpoznanie dysenterii i enterotoksemii beztlenowcowej wymaga jednak zawsze wykazania w filtratach z jelit oraz w płynie hodowli zarazka — toksyn beta i epsilon.

genowe tego beztlenowca, co poważnie ogranicza ewentualne stosowanie metod serologicznych (14).

Reasumując należy stwierdzić, że wobec postulowanego rozwoju krajowej produkcji owiec należy się liczyć z nasileniem chorób beztlenowcowych u tego gatunku zwierząt. Zagad-

Tab. 4. Toksyny chorobotwórczych dla owiec laseczek *Cl. oedematiens*

Typ toksyczny	Produkowane toksyny								Choroba
	alfa	beta	gamma	delta	epsilon	dzeta	eta	teta	
A	+	—	+	+	+	?	—	—	zgorzel gazowa „bradset”
B	+	+	—	—	—	+	+	—	

Objaśnienia: + = wytwarzanie toksyn; — = brak wytwarzania toksyn; ? = brak danych.

Mniejsze na ogół trudności występują przy mikrobiologicznej diagnostyce bradsetu owiec wywołanego przez *Cl. oedematiens* B. Zasadniczo zależy to od większej trwałości i aktywności toksyny letalnej alfa i lecytynazy beta, co ułatwia wykrywanie ich w organizmie. Oprócz tego pewne znaczenie posiada wykazanie w preparatach mazanych z wątroby — wyjątkowo dużych laseczek z osadzonymi w pobliżu bieguna owalnymi zarodnikami. Jednak i w takim przypadku należy ostrożnie oceniać wyniki badania, wobec częstego, jak to wykazał Jamieson (20), nosicielstwa *Cl. oedematiens* B, dochodzącego w wątrobach owiec do 29%.

Pewne rozpoznanie schorzenia określanego jako tzw. „braxy” wymaga wykazania w pobranych natychmiast po śmierci zwierzęcia próbkach z narządów mięszszowych i przewodu pokarmowego — laseczek *Cl. septicum* w czystej hodowli. Należy przy tym pamiętać, że beztlenowiec ten w krótkim czasie po śmierci zwierzęcia przechodzi z jelit do narządów mięszszowych.

Spośród chorób owiec wywołanych przez beztlenowce niezarodnikujące wyjątkową pozycję zajmuje zanokcica owiec, z uwagi na dużą inwazyjność zarazka, nadającą zachorowaniom często charakter masowy. Istotą choroby jest martwiczo-zapalny, z reguły nieropny, wywołany synergistycznym działaniem najczęściej *Fusif. nodosus* i *Fusobact. necrophorum* proces chorobowy, zaczynający się w skórze szpary międzyracicowej i w następstwie uszkodzenia tworzywa powodujący zniszczenie rogu. Podobne objawy mogą jednak występować przy szeregu innych schorzeń, ostatnio omówionych w piśmiennictwie krajowym przez Jastrzębskiego i wsp. (24). Dlatego jak się wydaje jedyną pewną podstawą rozpoznania zanokcicy winno być wyosobnienie i zidentyfikowanie zarazka. Niestety, dotychczasowe metody hodowli i identyfikacji zwłaszcza *Fusif. nodosus* są nadal jeszcze niedopracowane. Dodatkową trudność sprawia różnicowanie anty-

nienie diagnostyki ze względu na swój specyficzny, złożony charakter jest trudne i wymaga wydzielenia specjalnych pracowni rozpoznawczych. Dopiero ich praca pozwoli na uzyskanie pełnego rozeznania w sytuacji epizootologicznej Polski i stanie się podstawą do opracowania swoistej immunoprofilaktyki szeroko już stosowanej w innych krajach.

Piśmiennictwo

1. Bullen J. J.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1453, 1963.
2. Bullen J. J., Battey I.: Vet. Rec. 69, 1268, 1957.
3. Canada J. C., Strong D. H.: J. Fd. Sci. 29, 862, 1964.
4. Chau A. Y. S., Goldbloom V. C., Gurd F. N.: Archs Surg., Chicago 63, 390, 1951.
5. Cobb L. M., McKay K. A.: J. comp. Path. 72, 92, 1962.
6. Cobb L. M., McKay K. A., Archibald J.: Archs Surg., Chicago 78, 52, 1959.
7. Cygan Z.: Clostridia w narządach zwierząt zdrowych i padłych. Praca doktorska, Lublin 1967.
8. Cygan Z.: Medycyna Wet. 24, 164, 1968.
9. Cygan Z.: Medycyna Wet. 27, 289, 1971.
10. Cygan Z., Cygan R.: Medycyna Wet. 32, 287, 1976.
11. Cygan Z., Jastrzębski T.: Medycyna Wet. 26, 199, 1970.
12. Cygan Z., Jastrzębski T., Cygan R.: Pierwszy przypadek wyosobnienia *Cl. oedematiens* B jako przyczyny bradsetu owiec w Polsce — Medycyna Wet. w druku.
13. Cygan Z., Jastrzębski T., Gałęza J., Pielecki M.: Pol. Arch. wet. 17, 237, 1974.
14. Egerton J. R.: J. comp. Path. 83, 151, 1973.
15. Finegold S. M., Miller L. G.: Les bacteries anaerobies, Laval — des — Rapides, Montreal 1967.
16. Griner L. A.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1443, 1963.
17. Hauschild A. H. W., Pivnick H.: Can. J. Microbiol. 11, 15, 1965.
18. Hayward N. J.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1401, 1963.
19. Hobbs B. C., Smith M. E., Oakley C. L., Warrack G. H., Cruickshank J. C.: J. Hygiene 51, 75, 1953.
20. Jamieson S.: J. Path. Bact. 61, 389, 1949.
21. Jansen B. C.: J. S. Afr. vet. med. Ass. 31, 205, 1960.
22. Jastrzębski T., Cygan Z., Nowak J.: Medycyna Wet. 24, 516, 1968.
23. Jastrzębski T., Cygan Z., Nowak J.: Medycyna Wet. 24, 586, 1968.
24. Jastrzębski T., Cygan Z., Uchacz S.: Medycyna Wet. 30, 65, 1974.
25. Kerry J. B.: Vet. Rec. 76, 396, 1964.
26. Laskowski M., Kossel B., Hogerty G.: cyt. wg poz. 16.
27. Mac Lennan J. D.: Bact. Rev. 26, 177, 1962.
28. Mac Lennan J. D., Mac Farlane R. G.: Lancet 2, 301, 1945.
29. Meisel H.: Bull. Off. int. Epizoot. 67, 1163, 1967.
30. Meisel H.: Post. Mikrobiol. 9, 97, 1970.
31. Meisel H.: Post. Mikrobiol. 12, 223, 1973.
32. Meisel H., Trembowlar P., Pogorzelska B.: Med. dośw. 4, 359, 1960.
33. Merritt G. C.: Aust. vet. J. 36, 388, 1960.
34. Meszaros J., Pesti L.: Acta vet. hung. 15, 465, 1965.
35. Mossel D. A. A., Golstein Brouwers G. W. M., Bruin A. S.: J. Path. Bact. 78, 290, 1959.
36. Narayan G. G.: Acta vet. hung. 16, 65, 1966.
37. Nishida S., Nakagawara G.: J. Bact. 88, 1936, 1964.
38. Pesti L.: Acta vet. hung. 15, 447, 1965.
39. Pivnick H., Habeeb A. F., Gorenstein B., Hauschild A. H. W., Stuart P. F.: Can. J. Microbiol. 10, 329, 1964.
40. Roberts D. S., Egerton J. R.: J. comp. Path. 79, 217, 1969.
41. Sasarman A., Horodniceanu T.: Archs roum. Path. exp. Microbiol. 20, 471, 1961.

42. Sebald M.: Gazette Medicale de France 81, 1335, 1974.
 43. Shigemitsu O.: Jap. J. vet. Res. 14, 131, 1966.
 44. Sidorenko G.: Z. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol. 11, 29, 1965.
 45. Smith H. W.: J. Path. Bact. 90, 495, 1965.
 46. Stamp J. T.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1271, 1963.
 47. Sterne M., Batty I.: Pathogenic clostridia, Butterworths, London and Boston 1975.
 48. Sterne M., Thompson A.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1487, 1963.
 49. Taylor A. W., Gordon W. S.: J. Path. Bact. 50, 271, 1940.
 50. Truszczyński M., Cygan Z., Uchacz S.: World Veterinary Congress, Thessaloniki 1975.
 51. Turner G. C., Wong M. M.: J. Path. Bact. 82, 529, 1961.
 52. Underwood E. J., Shier F. L.: Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 14, 77, 1936.
 53. Wijewanta E. A.: J. Path. Bact. 88, 339, 1964.
 54. Willis A. T., Hobbs G.: J. Path. Bact. 77, 511, 1959.
 55. Wright G. P., Hopkins S. J.: J. Path. Bact. 58, 573, 1946.

Adres autora: doc. dr habil. Zygmunt Cygan, ul. Słowicza 2/7, 20-336 Lublin.

STANISŁAW WOŁOSZYN, JACEK ANDRYCHIEWICZ, KRZYSZTOF KOSTRO

Badania nad przydatnością trychofityny w leczeniu i zwalczaniu grzybic skórnych lisów hodowlanych

Z Kliniki Chorób Zakaźnych Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Grzybice skórne lisów hodowlanych, ze względu na przewlekły, często bezobjawowy przebieg oraz tendencję do nawrotów, są niezmiernie uciążliwe do zwalczania. Wywołują one mogą znaczne straty ekonomiczne, spowodowane pracochłonnym leczeniem, zahamowaniem rozwoju zwierząt młodych oraz obniżeniem wartości skór (3, 5, 7, 14, 21). Poza tym lisy chore, ozdrowieńcy jak również bezobjawowi nosiciele stanowią niebezpieczne źródło zakażenia dla obsługi ferm (2, 3, 5, 13, 21). Do tychczas w zwalczaniu tej choroby u lisów stosowano izolację, leczenie miejscowe różnymi środkami fungicydnymi oraz doustne podawanie griseofulwiny (3, 7, 14, 17, 21). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono prac dotyczących stosowania preparatów swoistych. Celem podjętych badań było porównanie dotychczasowych metod postępowania leczniczego przy grzybicach skórnych lisów z zastosowaniem trychofityny, która okazała się być stosunkowo skuteczna w leczeniu grzybic skórnych bydła (19, 20).

Materiał i metody

Badania prowadzono w latach 1973—75 w dwóch małych (B, M) oraz trzech dużych fermach (W, Z, G) lisów hodowlanych. Rozpoznanie grzybicy opierano na badaniach klinicznych i mikologicznych. Zeskrobiny pobrane od lisów chorych i podejrzanych badano mikroskopowo na obecność elementów grzybiczych oraz pasożytów, celem wykluczenia świerzbu a następnie posiewano na podłoża stałe Sabourauda z dodatkiem aktydionu. Wyosobnione szczepy określano na podstawie właściwości wzrostowych oraz cech morfologicznych mikrokultur.

Do leczenia miejscowego używano: Lactoderm (prod. Biowet), Laktofenol (prod. własnej), 10% roztwór wodny Ectimaru (prod. f-my Bayer) oraz maść przeciugrzybiczą Mycoderm (prod. INCO — Zakłady Chemii Gospodarczej w Górze Kalwarii). Do odkażenia skóry zwierząt oraz klatek stosowano: 5% roztwór Mycofixu (prod. INCO) oraz 5% roztwór Pollena-Jod K (prod. Pollena).

Ponadto po wstępnych badaniach na nieszkodliwość i aktywność wprowadzono do leczenia preparat swoisty — trychofitynę, przygotowaną ze szczepów *Trichophyton mentagrophytes* wyizolowanych od lisów chorych. Był to zagęszczony filtrat 3 mies. hodowli płynnej tego dermatofita konserwowany 0,5% feno-

lem. Każdą serię preparatu kontrolowano na jałowość, toksyczność oraz zawartość swoistego antygenu odczynem precypitacji dyfuzyjnej w żelu. Do badań terenowych używano trychofityny, które w rozcieńczeniu 1/100 dawały ze swoistą surowicą — uzyskaną od hiperimmunizowanych królików — dwie ostro zarysowane linie precypitacyjne. Trychofitynę stosowano podskórnice po wewnętrznej stronie uda, dwukrotnie co 3—4 dni w dawkach 0,1 i 0,2 ml dla lisów młodych oraz 0,2 i 0,3 ml dla dorosłych. We wszystkich fermach dzielono zwierzęta na dwie grupy — doświadczalną i kontrolną. W grupach doświadczalnych stosowano dwukrotnie trychofitynę i jednorazowe — zwykle po drugiej iniekcji — smarowanie lub opryski ognisk grzybiczych środkiem fungicydnym. U zwierząt kontrolnych preparatami Lactoderm, Laktofenol czy Mycoderm smarowano miejsca chorobowe zmienione i podejrzane trzykrotnie co 3 dzień. Roztwór Ectimaru stosowano zgodnie z zaleceniami producenta przez 5 kolejnych dni.

Po 5 lub 6 tygodniach porównywano uzyskane wyniki i podawano trychofitynę wszystkim lisom kontrolnym oraz z grup doświadczalnych tym, u których zmiany chorobowe utrzymały się. W okresie jesiennym, po uboju kontrolowano skóry i w razie stwierdzenia zmian nasuwających podejrzenie grzybicy, pobierano wycinki do badania mikologicznego.

Wyniki

Ferma B. Pierwsze zachorowania z objawami wyprysków i wyłysień wystąpiły w końcu czerwca 1974 r. w miocie pochodzącym od samicy zakupionej z fermy Z, w której od dwóch lat notowano grzybicę. Właściciel sądząc że to świerzbu, stosował zmywanie chorych lisów roztworami Neguvonu i Unifoxu. Z uwagi na brak poprawy i dość szybkie szerzenie się choroby, zwrócił się w pierwszych dniach sierpnia o pomoc do kliniki.

W oparciu o przeprowadzone badania rozpoznano grzybicę skórną wywołaną przez *T. mentagrophytes*. W tym czasie, tj. ok. 5 tygodni od pojawienia się, choroba objęła prawie 33% pogłowia, przy czym zatakowane były głównie lisy młode. Żywnienie zwierząt i stan sanitarny fermy dobre. Zmiany chorobowe o charakterze strupiatym zlokalizowane były na głowie, łapach i ogonie. Całe pogłowia podzielono na dwie grupy: doświadczalną i kontrolną. Wszystkim lisom doświadczalnym podano dwukrotnie trychofitynę. W grupie kontrolnej stosowano trzykrotnie co trzeci dzień Laktofenol. Po zakończeniu kuracji przeprowadzono dwukrotne opryski wszystkich lisów i klatek 5% wodnym roztworem Pollena-Jod K oraz kontrolę fermy po 3 i 6 tygodniach.

Wyniki ilustruje tab. 1. Jak widać, po upływie 3 tyg. odsetek lisów chorych był w gru-