

36. Moore J. A., Gupta B. N.: J. Am. vet. med. Ass. 156, 1737, 1970.  
 37. Moore J. A.: J. Am. vet. med. Ass. 155, 2034, 1969.  
 38. Morse E. V.: J. Am. vet. med. Ass. 119, 304, 1951.  
 39. Morrisset R., Spink W. W.: Lancet 2, 1000, 1969.  
 40. Munford R. S., Weaver R. E., Patton C., Feeley J. C., Feldman R. A.: J. Am. med. Ass. 231, 1267, 1969.  
 41. Myers D. M., Varela-Diaz V. M., Coltorti E. A.: Appl. Microbiol. 28, 1, 1974.  
 42. Percy D. H., Egwu I. N., Jonas A. M.: Can. J. comp. Med. 36, 221, 1972.  
 43. Pickerill P. A.: J. Am. vet. med. Ass. 156, 1741, 1970.  
 44. Pickerill P. A., Carmichael L. E.: J. Am. vet. med. Ass. 160, 1607, 1972.  
 45. Robertson M. G.: J. Am. med. Ass. 225, 750, 1973.  
 46. Spink W. W.: J. Am. med. Ass. 155, 2091, 1969.  
 47. Spink W. W.: J. Am. vet. med. Ass. 156, 1734, 1970.  
 48. Swenson R. M., Carmichael L. E., Cundy K. R.: Ann. intern. Med. 76, 435, 1972.  
 49. Ueda K., Magaribichi T., Saegusa J., Urano T., Itoh K., Kiuchi Y., Fujiwara K.: Jap. J. vet. Sci. 36, 381, 1974.  
 50. Ueda K., Saegusa J., Fujiwara K., Muto S., Okada K., Hasegawa A., Saegusa S., Usui K.: Jap. J. vet. Sci. 36, 534, 1974.  
 51. Weber A., Schliesser Th.: Zentbl. VetMed. B, 22, 403, 1975.  
 52. Weber A., Hussein N. A.: Zentbl. VetMed. B, 23, 151, 1976.  
 53. Yamauchi C., Suzuki T., Nomura T., Kukita Y., Iwaki T., Kazuno Y., Ghoda A.: Jap. J. vet. Sci. 36, 175, 1974.

Adres autora: doc. dr habil. Marian Królak, ul. Grunwaldzka 476 m. 10, 80-309 Gdańsk-Oliwa.

JULITTA BIELECKA, JERZY MAZURCZAK, ZOFIA LENARTOWICZ-KUBRAT, WITOLD KLAWE

## Izolowanie szczepu *Treponema hyodysenteriae* z kału świń chorych

Z Zakładu Zoohigieny i Profilaktyki w Produkcji Zwierzęcej Wydziału Zootechnicznego SGGW-AR w Warszawie

Dyżenterya świń jest chorobą opisaną po raz pierwszy w 1921 r., ale dopiero w 1970 r. Taylor (8) stwierdził obecność w jelicie świń chorych na dyżenteryę spirochet typu 1, uważając je za czynnik etiologiczny tej jednostki chorobowej. Spirochety te zostały w 1971 r. wyizolowane przez Taylora i Alexandra (10) na stałym podłożu agarowym z dodatkiem krwi bydlęcej, w warunkach beztlenowych.

Harris i wsp. (4) wyizolowane na tym podłożu duże spirochety, odpowiadające typowi 1 spirochet Taylora (8) nazwali *Treponema hyodysenteriae*. Stwierdzili oni, że ich metoda nie pozwalała na dobry wzrost szczepu w kolejnych przesiewach na podłożu stałym i w podłożu płynnym. Glock i Harris (1) uzyskali wzrost *T. hyodysenteriae* na stałym podłożu agarowym w warunkach beztlenowych w obecności H<sub>2</sub> i katalizatora palladowego. Harris i wsp. (5) uzyskali szybki wzrost *T. hyodysenteriae* w obecności 80—95% H<sub>2</sub> i 20—25% CO<sub>2</sub> w 0,16% agarze odżywczym.

W 1974 r. Kinych i Harris (7), opierając się na sugestii Barnum (Guelph, Ontario), uzyskali dobry wzrost na stałym podłożu agarowym (TSA) z dodatkiem 10% krwi bydlęcej, przeprowadzając inkubację w warunkach beztlenowych, w atmosferze 50% H<sub>2</sub> i 50% CO<sub>2</sub>. Również uzyskali dobry wzrost 20 szczepów *T. hyodysenteriae* w płynnym podłożu bulionowym (TSB) z dodatkiem 10% surowicy bydlęcej lub 5% krwi bydlęcej.

Obecność dużych spirochet w kale świń chorych na dyżenteryę wykazał Terpstra i wsp. (11) stosując metodę immunofluorescencyjną. Również Hunter i Clark (9) opisali bezpośrednią technikę fluorescencyjną do wykrywania *T. hyodysenteriae*, stosując specyficzne surowice otrzymane w wyniku uodporniania królików za pomocą czystej hodowli *T. hyodysenteriae*. Harris (3) do diagnostyki *T. hyodysenteriae* stosowa-

wał test aglutynacji, używając antygen komórkowy szczepu oraz surowice anty-*T. hyodysenteriae*.

Metodyka izolacji *T. hyodysenteriae* podana przez Taylora w 1975 r. (9) wyglądała następująco: kał lub zawartość jelita mieszano w stosunku 1:10 w roztworze soli fizjologicznej; po odwirowaniu supernatant przesączano przez filtr o średnicy 0,65 µ. Filtry prze-siewano na płytki agarowe z dodatkiem krwi i inkubowano w 37°C w warunkach beztlenowych, w atmosferze 95% H<sub>2</sub> i 5% CO<sub>2</sub>.

Identyfikacja *T. hyodysenteriae* opierała się na:

- zakazaniu świń przy użyciu badanego materiału i uzyskiwaniu typowych objawów dyżenteryi,
- badaniu typu spirochet występujących w kale,
- badaniach histologicznych, prowadzących do wykazania obecności spirochet w ściance jelita,
- izolacji szczepu w hodowli beztlenowej.

Wg Harris i wsp. (4) komórki *T. hyodysenteriae* są podobne do innych spirochet. Komórka *T. hyodysenteriae* posiada 7—9 włókien osiowych, biegnących od końców komórki o kształcie litery S, wzdłuż osi komórki, na zewnątrz ściany komórkowej. Średnica komórki wynosi 0,32—0,38 µ.

Harris (8) prowadził obserwacje komórek *T. hyodysenteriae* w zawiesinie treści jelita cienkiego lub kału w mikroskopie kontrastowo-fazowym i w ciemnym polu. Komórki barwiono także odczynnikiem Giemsa, fuksyną karbolową (wg Harris, Glock, cyt. za 7) lub błękitem Wiktorii 4-R (wg Olsen, Rodabaugh). Wg Harris (3) komórki *T. hyodysenteriae* mają kształt litery S lub charakteryzują się obecnością licznych skrętów.

W jelicie zdrowych świń i czasami u chorych zwierząt występują małe spirochety, które często oznaczają się jako szczepy:

- PF (Abramson, Smibert — cyt. za 3)
- PR — 7 (Smibert, Claterbaugh — cyt. za 3)
- typ 2 spirochet (8).

W 1974 r. Glock i wsp. (2) stwierdzili w jelicie świń chorych i zdrowych obecność małych spirochet o wymiarach 0,20—0,25 µ średnicy i 3—5 µ długości, które charakteryzowały się występowaniem licznych skrętów. Natomiast u świń chorych na dyżenteryę stwierdzono duże spirochety, o wymiarach 0,30—0,38 µ średnicy i 5—8 µ długości. Komórki te były luźno skręcone,

często w kształcie litery S. Na podstawie zdjęć w mikroskopie elektronowym stwierdzono obecność 12—16 włókien osiowych, o średnicy 0,10—0,13  $\mu$ .

Taylor (9) określił również wpływ temperatury na przeżywalność *T. hyodysenteriae* w świeżym kale świń. Przeżywalność tego szczepu wynosi w temperaturze:

- a)  $-20^{\circ}\text{C}$  — 2 lata
- b)  $+4^{\circ}\text{C}$  — 6—9 dni
- c)  $+22^{\circ}\text{C}$  — 1—2 dni
- d)  $+37^{\circ}\text{C}$  — poniżej 24 godz.

W dotychczasowym piśmiennictwie brak jest danych na temat izolacji *T. hyodysenteriae* z przypadków dyzenterii w Polsce.

Celem naszej pracy było wyizolowanie szczepu *T. hyodysenteriae* z próbek kału świń chorych na dyzenterię, a następnie zbadanie jego wrażliwości na ronidazol.

#### Material i metody

W celu izolacji szczepu *T. hyodysenteriae*, do badań pobierano próbki kału od 7 świń chorych na dyzenterię. Również badaniom poddano próbki kału 3 świń zdrowych. W badaniach zastosowano zmodyfikowaną metodykę Kinyona i Harrisa (7).

Próbki kału rozcierano w moździerzu w roztworze 0,01 M buforu fosforanowego o pH 7,4, stosując rozcieńczenie 1:10. Zawiesinę odwirowywano przez 10 minut przy 1000 obr./min. Supernatant przepuszczano kolejno przez serię filtrów z octanu celulozy, o przeciętnej średnicy otworów: 8,0  $\mu$ ; 5,0  $\mu$ ; 3,0  $\mu$ ; 1,2  $\mu$ ; 0,65  $\mu$ ; 0,45  $\mu$ . Z kolejnych filtratów oraz bezpośrednio z kału świń zdrowych i chorych wykonywano preparaty i barwiono błękitem Wiktorii.

Izolację *T. hyodysenteriae* przeprowadzano na podłożu agarowym TSA (Trypticase Soy Agar), z dodatkiem 10% krwi bydlęcej z cytrynianem sodu. Poszczególne filtraty posiewano po 0,1 i 0,2 ml na płytki Petriego, które następnie inkubowano w warunkach beztlenowych w anaerostacie GasPak 150, w środowisku 50%  $\text{H}_2$  i 50%  $\text{CO}_2$ , w obecności katalizatora palladowego oraz wskaźnika warunków beztlenowych, przez okres 3—10 dni, w temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$ . Również posiewano redukcyjnie eż materiał bezpośrednio z kału, jak i z poszczególnych filtratów.

Równolegle wykonywano badania bakteriologiczne ogólne kału świń zdrowych i chorych na dyzenterię.

W celu uzyskania czystej kultury szczepu *T. hyodysenteriae*, wycinano pojedyncze kostki agaru ze spirochetami i widocznymi strefami hemolizy oraz przesiewano je do podłoża płynnego TSB (Trypticase Soy Broth), z dodatkiem 10% surowicy bydlęcej i 0,5% cysteiny, w atmosferze  $\text{H}_2$  i  $\text{CO}_2$ . Próbki inkubowano 7—10 dni w temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$ .

W kolejnych doświadczeniach, po kilku pasażach hodowli dużych spirochet, oznaczono działanie bakteriobójcze ronidazolu. Do badań zastosowano preparat zawierający 95% ronidazolu firmy MSD. Oznaczenie działania bakteriobójczego preparatu przeprowadzono na stałym podłożu agarowym TSA, o składzie jak wyżej, do którego dostosowano roztwory preparatu o różnych stężeniach. Podłoże TSA bez ronidazolu stanowiło kontrolę. Na płytki posiewano po 0,1 ml bulionowej (TSB) hodowli *T. hyodysenteriae*, następnie inkubowano w anaerostacie GasPak w środowisku  $\text{H}_2$  i  $\text{CO}_2$  w warunkach beztlenowych przez 3—7 dni, w temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$ .

Ponadto oznaczono liczbę komórek *T. hyodysenteriae* w filtratach oraz hodowli na podłożu płynnym metodą płytkową.

#### Wyniki

Dzięki zastosowaniu stałego podłoża agarowego TSA z dodatkiem 10% krwi bydlęcej oraz metodyki badań wg Kinyona i Harrisa z 1974 r. (10) udało się izolować szczep *T. hyodysenteriae* w czystej kulturze z posiewów ostatniego filtratu (filtry o średnicy 0,45  $\mu$ ), uzyskanego z kału świń chorych na dyzenterię. Wzrost *T. hyodysenteriae* objawiał się obecnością hemolitycznych stref o średnicy 2—4 mm na podłożu agarowym TSA z krwią. Obecność dużych spirochet stwierdzono na podstawie badania mikroskopowego. Spirochety występujące w kale jak i z hodowli na podłożu stałym miały wymiary 5—8  $\mu$  długości i 0,3—0,5  $\mu$  średnicy.

W 1 ml badanego filtratu znajdowało się około  $2,4 \times 10^4$  komórek *T. hyodysenteriae*.

Nie stwierdzono dużych spirochet w kale świń zdrowych.

Natomiast w płynnym bulionowym podłożu TSB z dodatkiem 10% surowicy bydlęcej uzyskano wzrost *T. hyodysenteriae* w liczbie około  $10^7$  komórek w ml hodowli, po 7—10 dniach inkubacji w temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  w obecności  $\text{H}_2$  i  $\text{CO}_2$  i warunkach beztlenowych.

Bulionową hodowlę szczepu *T. hyodysenteriae* 53 i 54 wzięto do oznaczenia wrażliwości na ronidazol. Stwierdzono wrażliwość szczepów *T. hyodysenteriae* na 50 mcg/ml ronidazolu.

#### Omówienie wyników

Izolowane w badaniach własnych duże spirochety swoją morfologią przypominają komórki *Treponema hyodysenteriae*. Również ich wzrost na podłożu TSA z dodatkiem krwi bydlęcej jest typowy dla *T. hyodysenteriae*, zgodnie z badaniami Harrisa i wsp. (3) oraz Glocka i wsp. (2). Wydaje się jednak konieczne poznanie substrukury komórek izolowanych szczepów w oparciu o zdjęcia w mikroskopie elektronowym oraz na podstawie immunofluorescencji.

Jak wynika z przedstawionych badań, duże spirochety znajdowano tylko w kale zwierząt chorych na dyzenterię i obecność ich potwierdzano na podstawie hodowli drobnoustroju. Wydawać mogłoby się, że szybkie stwierdzenie w kale obecności dużych spirochet na podstawie badania mikroskopowego wystarczy do zdiagnozowania jednostki chorobowej jako dyzenterii. Jednakże uważamy, że konieczne jest pełne badanie mikrobiologiczne i serologiczne. Opisana przez nas metoda izolacji *T. hyodysenteriae*, która technicznie jest kłopotliwa ze względu na krótką przeżywalność spirochet w warunkach tlenowych (w temp.  $37^{\circ}\text{C}$  — poniżej 24 godz., a w temp. pokojowej 1—2 dni, wg Taylora (9)), oraz ze względu na podłoża, których nie produkuje się w kraju, nie może jeszcze być prowadzona rutynowo w laboratoriach. Sugerujemy jednak konieczność prowadzenia takich badań ze względu na to, że u świeżo izolowanych

szczepów terenowych spirochet można sprawdzić wrażliwość ich na chemioterapeutyki i zastosować do leczenia odpowiedni lek.

Z naszych badań wynika, że ronidazol (będący substancją czynną w preparacie Ridzol S), działa bójco *in vitro* na izolowane 2 szczepy *Treponema hyodysenteriae* w stężeniu 50 mcg/ml.

#### Piśmiennictwo

1. Glock R. D., Harris D. L.: Vet. Med. Small Anim. Clin. 67, 65, 1972.
2. Glock R. D., Harris D. L., Kluge J. P.: Infection and Immunity 9, 167, 1974.
3. Harris D. L.: J. Am. vet. med. Ass. 164, 809, 1974.

4. Harris D. L., Glock R. D., Christensen C. R., Kinyon J. M.: Vet. Med. Small Anim. Clin. 67, 61, 1972.
5. Harris D. L., Kinyon J. M., Mullin M. T., Glock R. D.: Canad. J. Comp. Med. 36, 74, 1972.
6. Hunter D., Clark A.: Res. Vet. Sci. 19, 98, 1975.
7. Kinyon J. M., Harris D. L.: Dep. of Vet. Microb. and Prevent Med. Iowa State Univ. Ames, Iowa 1974. (Materiały nie publikowane).
8. Taylor D. J.: Vet. Rec. 87, 416, 1970.
9. Taylor D. J.: Materiały konferencji: Aktualne aspekty profilaktyki i leczenia dysenterii u świń. Warszawa-Ursynów, październik 1975.
10. Taylor D. J., Alexander T. J. L.: Brit. Vet. J. 127, 58, 1971.
11. Terpstra J. L., Akkermans I. P. V. M., Ouwkerk M.: Netherlands J. Vet. Sci. 1, 5, 1968.
12. Whiting R. A., Doyle L. P., Spray R. S.: Purdue Univ. Agr. Exp. Bull. 257, 1, 1921.

Adres autora: dr Julitta Bielecka, ul. Nowoursynowska 166, 02-766 Warszawa.

KONRAD ANTONI DZIAŁBA, TERESA RICHTER

## Powikłania po szczepieniach przeciw wścieklicznie psów oraz próby ich leczenia

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR w Warszawie

Choroba poszczepienna u psów opisana była już w 1949 r. przez Stryszaka (4), kiedy to wystąpiła po raz pierwszy po przeprowadzonej w 1948 r. akcji masowych szczepień przeciw wścieklicznie. Chorobę tę opisali również Kocowicz i Ratomski (1). Poza pracą Przymusa (3) brak jest w piśmiennictwie weterynaryjnym doniesień na temat leczenia tej choroby, dlatego wydało się celowe przedstawienie uzyskanych wyników leczenia, które mogą być wykorzystane przez lekarzy weterynarii w ich praktyce terenowej.

#### Materiał i metody

W okresie 1968—74 w Klinice Chorób Zakaźnych Wydz. Wet. leczono ogółem 72 psy z objawami choroby poszczepiennej. Wiek chorych psów wahał się od 3 miesięcy do 12 lat, były one różnej rasy i kondycji. Wszystkie psy szczepione były szczepionką produkcji polskiej „Rabiesvac” produkowaną przez Przemysł Bioweterynaryjny w Puławach. Rozpoznanie kliniczne choroby poszczepiennej oparto na wywiadzie, badaniu klinicznym i laboratoryjnym. U psów padłych lub uśpionych rozpoznanie potwierdzono badaniem anatomicznym i histopatologicznym mózgu oraz laboratoryjnym, polegającym na izolacji wirusa szczepionkowego z mózgu. U pięciu losowo wybranych psów z objawami formy mózgowej choroby poszczepiennej badano krew na poziom cukru.

Na podstawie badania klinicznego chore psy zaliczono do jednej z następujących form choroby: mózgowej, rdzeniowej i mieszanej mózgowo-rdzeniowej.

W leczeniu choroby poszczepiennej stosowano glikokortykoidy jako leki działające przeciwzapalnie i przeciwuczuleniowo. Używano preparaty: deltacortil (Pfizer), hostacortin (Hoechst), zawierające w ml 10 mg octanu prednisolonu. Z preparatów polskich stosowano

hydrocortizon (Polfa), zawierający w 5 ml 125 mg kortyzonu. Stosowano dawki od 10—30 mg dziennie w zależności od wagi zwierzęcia. W momencie poprawy w stanie zdrowia psa dawki glikokortykoidów stopniowo zmniejszono o 5 mg w każdym następnym tygodniu leczenia. Glikokortykoidy stosowano zawsze pod osłoną antybiotyków, najczęściej debecyliny. Ważne znaczenie w leczeniu tej choroby ma witamina B<sub>1</sub> stosowana w iniekcjach codziennych w dawkach od 25 do 100 mg w zależności od wagi ciała przez cały okres leczenia. W stanach porażennych podawano środki tonizujące jak: opotoninę, asconerin oraz nivalgin (prod. Pharmachin-Bułgaria).

W leczeniu stanów porażennych zwracano dużą uwagę na właściwą pielęgnację zwierząt. Psy całkowicie porażone były kilkakrotnie w ciągu dnia przekładane z boku na bok oraz kładzione na mostku w celu odpowiedniego przewietrzenia płuc, aby nie dopuścić do wystąpienia zapalenia płuc i odleżyn. Ponieważ po około 2 tygodniowym bezwładzie z reguły dochodzi do zaniku mięśni, stosowano zapobiegawczo gimnastykę i masaż kończyn. W przypadku porażenia zwierzęcy odbytu i pęcherza moczowego, prowokowano defekację, wlewy doodbytnicze oraz stosowano masaż i cewnikowanie pęcherza moczowego. Ponadto podawano choremu zwierzęciu antyseptyki dróg moczowych jak nitrofurantoinę lub urenil. W formie mózgowej choroby poszczepiennej w postaciach przebiegających często z atakami padaczki stosowano leki przeciwdrgawkowe i uspokajające jak luminal w dawce 100—150 mg dziennie, hydantoinal doodbytniczo w dawkach frakcjonowanych 100 mg/kg c.c.

#### Wyniki i omówienie

Na podstawie wywiadu i badania klinicznego wszystkie przypadki choroby poszczepiennej zakwalifikowano do jednej z trzech postaci: mózgowej, rdzeniowej oraz mieszanej mózgowo-

Tab. 1. Formy kliniczne choroby poszczepiennej psów oraz wyniki ich leczenia

Ogólna liczba chorych psów	Formy kliniczne i wyniki leczenia								
	mózgowa			rdzeniowa			mózgowo-rdzeniowa		
	ogółem	padło	wylecz.	ogółem	padło	wylecz.	ogółem	padło	wylecz.
73	9	8	1	41	2	39	23	8	15