

Ramisz A., Urban E., Balicka A. — **Studies on usability of the preparation Fenbendazol (Panacur-Hoechst) to control nematodes of the family Protostrongylidae in sheep.**

Studies were carried out on 258 sheep. The flocks were invaded by *Protostrongylus rufescens* at 70—84% and *Muellerius capillaris* at 31—35%. The preparation Panacur (Fenbendazol) produced by Hoechst was given at the following doses: 5 mg/kg of b.w. for 6 successive days and in single doses of 40 and 15 mg/kg of body weight. The control of the results

of treatment was made on the basis of examinations of feces by Baermann's method on 7, 16, 30 and 50th day after administering the preparation. In the period from 6—12 th week after treatment sectins of 5 sheep infected with protostrongylidae were performed. It was found that the preparation Panacur is characterized by a high effectiveness (100%) against the nematodes *P. rufescens* and *M. capillaris*. It was also found that the preparation given at the doses mentioned can also be used both individually and as an addition to concentrated feeding stuff.

JAN DĄBROWSKI

Charakterystyka prątków kwasoopornych izolowanych od ssaków i ptaków z łódzkiego Zoo

Z Miejskiego Ogrodu Zoologicznego w Łodzi

Zakażenia gruźlicze w ogrodach zoologicznych stanowią jedno z najważniejszych zagadnień z zakresu chorób zakaźnych, występujących w tych obiektach. Problem zakażeń gruźliczych u zwierząt w ogrodach był przedmiotem wielu publikacji (5, 6, 9, 11, 27, 29, 31), z których wynika, iż częstotliwość ich występowania jest duża i zależy nie tylko od liczby posiadanych zwierząt, ale przede wszystkim od warunków, jakie zostały im zapewnione przez człowieka tj. od prawidłowej higieny i żywienia (6, 9, 12, 16).

Jak wynika z piśmiennictwa, gruźlica u ssaków w ogrodach zoologicznych jest wywołwana przez różne typy prątków. Oprócz *M. tuberculosis* (2, 3, 4, 18, 31) izolowano *M. bovis* (13, 18, 25, 31) a także *M. avium* (18, 38). Od ptaków wyosobniano głównie prątek typu ptasiego (21, 26, 32), a tylko sporadycznie prątek typu ludzkiego (1, 15). Niektórzy autorzy donoszą także o wyizolowaniu od zwierząt ogrodów zoologicznych tzw. prątków atypowych (20, 35, 40). Określenie typów prątków występujących na terenie ogrodu ma duże znaczenie dla ustalenia ewentualnych źródeł zakażenia i metod profilaktyki.

Jedną z form zwalczania gruźlicy w ogrodach jest leczenie. Stosowano takie preparaty jak INH, PAS, streptomycynę, rifampicynę, etambutol i cykloserynę, uzyskując różne wyniki u poszczególnych gatunków zwierząt (7, 9, 14, 23, 37).

Mając na uwadze znaczenie epizootologiczne i epidemiologiczne oraz ekonomiczne przedstawionego problemu postanowiono określić częstotliwość występowania zakażeń prątkami kwasoopornymi zwierząt z łódzkiego ZOO, oznaczyć wyizolowane szczepy, zbadać ich strukturę antygenową oraz określić lekooporność wyizolowanych szczepów *M. avium*.

Materiał i metody

Przedmiotem badań były zwierzęta ekspozycyjne oraz ptaki wolno żyjące z terenu łódzkiego Zoo, ponadto

trzy ptaki i jeden ssak (koziorożec kaukaski) pochodzący z innych ogrodów. Wszystkie zwierzęta, od których pobierano materiał do badań hodowlanych poddawano badaniom sekcijnym, a u części z nich przeprowadzono badania histopatologiczne.

Materiał do badań hodowlanych pobierano od tych zwierząt, u których makroskopowo stwierdzano zmiany wskazujące na gruźlicę. Wycinki zmienionych narządów homogenizowano 6% kwasem solnym. Materiał badano bakterioskopowo po zabarwieniu preparatu metodą Ziehl-Neelsena i wysiewano na podłoże Löwensteina-Jensena (L-J). Posiane podłoża inkubowano w 37°C przez 10 tvg. Wyizolowane szczepy przesiewano na świeże podłoże L-J i przechowywano w temp. +4°C.

W dalszym etapie badań przeprowadzono identyfikację 29 szczepów prątków kwasoopornych wyizolowanych od zwierząt z terenu łódzkiego Zoo. Badania hodowlane przeprowadzono na podłożu L-J, na którym określano typ wzrostu, wygląd kolonii oraz zdolność wytwarzania barwnika w ciemności i na świetle. Jako podłoża różnicujące stosowano podłoże z czerwienią bromokrezolową i błekitem toluidynowym, przygotowane wg Linserta i wsp. (28).

Badania biochemiczne przeprowadzono stosując próbkę niacynową oraz oznaczenie aktywności katalazy i peroksydazy, które wykonano wg metody opisanej przez Kedzie i Koniarową (22).

Próbkę biologiczną wykonano na tuberkulino-ujemnych świnkach morskich i kurczętach. Każdym szczepem zakażano po dwie świnki morskie i po dwa kurczeta. Do zakażenia użyto sromogenizowaną hodowlę prątków na podłożu L-J. Świnkom podawano prątki podskórnie w ilości ok. 0,1 mg wilgotnej masy na sztukę, a kurczetom dożylnie w ilości ok. 1,0 mg. W szóstym tygodniu od zakażenia wykonano próbkę tuberkulinową. U kurcząt stosowano tuberkulinę ptasią, a u świnek oprócz ptasiej tuberkuliny farmakopealną (stara tuberkulina Kocha). Jako kontrolę użyto szczep ludzki H₂₇, bydleczy An₂ oraz 5 szczepów ptasich, należących do czterech serotypów.

W badaniu nad lekoopornością oparto się na metodzie opisanej przez Janowca (17). Badanie wykonano metodą pośrednią. Do badań użyto 10 tuberkulostatyków w czystej substancji, które dodawano do podłoża w określonych stężeniach (tab. 1).

W badaniach nad budową antygenową zastosowano odczyn precipitacji w żelu agarowym (30) oraz immunoelektroforez (10).

Surowice odpornościowe i antygeny przygotowano wg metody podanej przez Rzedzickiego (34). Do kontroli użyto antygenów przygotowanych ze szczepów H₂₇ i An₂ oraz *M. avium* (serotypy A, B, C, D). Surowice odpornościowe przygotowano w stosunku do szczepów wzorcowych *M. avium*.

Wyniki i omówienie

W latach 1973—1976 przebadano sekcyjnie łącznie 831 zwierząt, w tym 170 ssaków i 319 ptaków ekspozycyjnych oraz 342 ptaki żyjące na wolności. Z tej liczby zmiany gruźliczopodobne stwierdzono u 8,8% ssaków i 12,5% ptaków ekspozycyjnych oraz 20,2% ptaków wolno żyjących. Obserwowane zmiany najczęściej występowały w wątrobie i śledzionie.

Badania histopatologiczne przeprowadzono u losowo wybranych zwierząt. U ptaków najczęściej obserwowano zmiany w postaci gruzelków w różnym stadium tworzenia. Natomiast u ssaków przedstawiały się one jako bardzo liczne różnej wielkości ogniska, zbudowane z komórek nabłonkowatych, olbrzymich, limfocytów i leukocytów.

Badania bakteriologiczne wykonano w przypadkach stwierdzenia zmian sekcyjnych, nasuwających podejrzenie gruźlicy. Tylko w jednym przypadku badany materiał pobrano przyżyciowo; pochodził on z ropnia stopy bociana białego. Ogółem przebadano bakteriologicznie 129 zwierząt izolując 51 szczepów prątków kwasoopornych. Od ssaków wyizolowano 9 szczepów, od ptaków ekspozycyjnych 27 i od ptaków wolno żyjących 15. Ogółem prątki kwasooporne wyizolowano od 30 gatunków zwierząt tj. od 8 gatunków ssaków i 17 gatunków ptaków ekspozycyjnych oraz od 5 gatunków ptaków wolno żyjących.

Lokalizacja zmian w narządach wewnętrznych oraz występowanie gruzelków w różnych stadiach rozwoju, wskazywała na przewlekłe uogólnienie procesu gruźliczego.

Wyniki badań własnych, dotyczące padnięć z powodu gruźlicy u ssaków i zakażeń gruźliczych u ptaków, są zbieżne z rezultatami innych autorów (19, 29, 31). 3,5% zejść śmiertelnych ssaków z powodu gruźlicy to stosunkowo niski wskaźnik śmiertelności, nic nie mówiący o liczbie aktualnie zakażonych osobników. Badania wykonane u ptaków ekspozycyjnych pozwoliły na ujawnienie 8,5% zakażeń gruźliczych.

U odstrzelonych ptaków wolno żyjących w liczbie 342 (64 wrony, 93 srok, 117 kawek, 56 gawronów i 6 synogarlic), zmiany gruźliczopodobne stwierdzono u 20,2%. Z tych przypadków izolowano 15 szczepów (21,7%). Ptaki wolno żyjące mogą zatem stanowić źródło zakażenia dla zwierząt w ogrodach zoologicznych.

Należy stwierdzić, iż zakażenia gruźlicze u zwierząt w łódzkim Zoo występują dość często, a sytuacja epizootologiczna w tym zakresie jest podobna jak w innych ogrodach. Najwięcej przypadków zakażeń notowano w miejscach o dużym skupieniu ptaków.

Badania morfologiczne wykazały, iż wszystkie szczepy były kwasooporne, chociaż w trzech przypadkach wykazano niewielką liczbę bakterii morfologicznie identycznych lecz zabarwionych na niebiesko. W zdecydowanej większości obserwowane prątki miały kształt pałeczek, niekiedy form kulistych, ułożone były pojedynczo lub w niewielkich skupiskach.

Na podstawie badań hodowlanych stwierdzono, iż izolowane prątki należy sklasyfikować w grupie prątków wolno rosnących, niefotochromogennych, różnych pod względem wzrostu na podłożu L-J oraz na podłożach różnicujących z błękitem toluidyny i z czerwienią bromokrezolową, a także pod względem próby niacynowej od szczepów wzorcowych *M. tuberculosis* i *M. bovis*. Wykazano także, iż izolowane szczepy okazały się patogenne dla kurcząt oraz niezdajliwe dla świnek morskich. Wydaje się, iż przeprowadzone badania w sposób dostateczny dokumentują przynależność wyizolowanych mykobakterii do *M. avium*.

Stwierdzenie, iż izolowane prątki od zwierząt łódzkiego Zoo są prątkami ptasimi stanowi potwierdzenie wyników innych autorów. Uzyskanie tylko szczepu ptasiego w badaniach własnych można tłumaczyć tym, iż w ostatnim okresie liczba ludzi zakażonych prątkiem *M. tuberculosis* i wydających ten zarazek, z uwagi na rozwinięty system badań przeciwegruźliczych i stosowanie skutecznych środków chemioterapeutycznych, wybitnie zmalała, zaś likwidacja gruźlicy była eliminuje dość skutecznie możliwość zakażenia prątkiem typu bydłowego. Wyniki badań własnych rozszerzyły liczbę gatunków ssaków i ptaków od których izolowano *M. avium*. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono opisu izolacji prątka ptasiego od następujących gatunków ssaków: koczokodana sowiogłowego, mary karłowatej, wilka amerykańskiego, karakala, koziorożca kaukaskiego oraz od następujących gatunków ptaków: pelikana kędzierzawego, bociana białego, myszółowa zwyczajnego, żurawia stepowego, puchacza i sowy uszatej. Badania własne stanowią zatem przyczynek do poznania spektrum zakaźnego *M. avium*.

Wyniki badań wrażliwości na preparaty tuberkulostatyczne przedstawia tab. 1. Najwięcej badanych szczepów było wrażliwych na etambutol, a następnie na cyklokserynę i wiomycynę. Na podłożu zawierającym etambutol w stężeniu 2 µg/ml było wrażliwych 100%, cyklokserynę w stężeniu 40 µg/ml 76,0%, a na wiomycynę w stężeniu 40 µg/ml 69,0% badanych szczepów. Na podłożu zawierającym dihydrostreptomycynę w stężeniu 8 µg/ml było wrażliwych 31,0% badanych szczepów. Bardzo wysoki procent oporności wykazały wyizolowane szczepy na kapreomycynę i rifampicynę. Natomiast całkowicie były odporne na INH, PAS, etionamid i pirazynamid. Standartowy szczep H₃₇ był wrażliwy całkowicie na INH, dihydrostreptomycynę, cyklokserynę, wiomycynę, etambutol i rifampicynę.

Tab. 1. Lekooporność na tuberkulostatyki izolowanych szczepów *M. avium*

Stosowane leki	CS			CM			RFM			DHSm			WM			INH			PAS			ETB			ETA			PZA		
	30	40	60	20	40	60	20	40	60	4	8	12	30	40	60	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0	1,5	1	2	3	20	30	40	100	300	600
Stężenie leku (µg/ml)	30	40	60	20	40	60	20	40	60	4	8	12	30	40	60	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0	1,5	1	2	3	20	30	40	100	300	600
Ilość szczepów wrażliwych (%)	69	76	93	0	0	10	0	0	7	0	31	66	21	69	79	0	0	0	0	0	0	83	100	100	0	0	0	0	0	0

Wzorcowe szczepy ptasie były najbardziej wrażliwe na etambutol oraz cykloserynę w stężeniu 60 µg/ml.

Odczynem precypitacji w żelu i immunoelektroforezy przy użyciu swoistych surowic stwierdzono od 4 do 8 frakcji antygenowych w badanych szczepach. Wykazano, iż wśród wyizolowanych szczepów *M. avium* najczęściej występuje serotyp C, który stanowił 41,0% izolowanych szczepów, a następnie serotypy B, A i D, odpowiednio 27,6%, 20,7% i 10,3% izolowanych szczepów.

Terapia zakażeń gruźliczych u wartościowych zwierząt w ogrodach zoologicznych może być brana pod uwagę, a nowe tuberkulostatyki stwarzają nadzieję na skuteczne leczenie zakażeń wywołanych tym zarazkiem. Na zagadnienie to zwracało uwagę szeregi autorów (8, 33, 36, 39). Z kolei niektóre doniesienia (16, 24) wskazują, iż prątek ptasi jest oporny na działanie INH, pirazinamidu i innych tuberkulostatyków.

Badania własne potwierdziły, iż izolowane prątki ptasie były odporne nawet na zwiększoną w stosunku do zalecanej dawki następujących tuberkulostatyków: INH, etionamidu i pirazinamidu. W badaniach własnych najskuteczniej *in vitro* wzrost *M. avium* hamował etambutol i cykloseryna. Ponieważ wyniki badań wrażliwości na tuberkulostatyki prątka ptasiego wskazują duże zróżnicowanie i tak np. szczepy izolowane przez Jorgensena (19) były niewrażliwe na etambutol, który we własnych badaniach okazała się najbardziej skuteczny, trudno byłoby więc pokusić się o jakiegoś uogólnienia. Wydaje się, iż sprawdzenie wrażliwości każdego izolowanego szczepu może dać tylko wiążącą odpowiedź co do jego oporności na preparaty tuberkulostatyczne.

Badania nad budową antygenową wykazały, że izolowane szczepy *M. avium* są zróżnicowane pod względem budowy antygenowej w obrębie czterech grup. Wydaje się, iż zróżnicowana budowa antygenowa przemawia za zakażeniem pochodzącym z różnych źródeł. Jednym z ogniw transmisji zarazka mogą być ptaki dzikie przebywające na terenie ogrodu. Za taką ewentualnością przemawiają wyniki badań własnych, dotyczących ptaków wolno żyjących z terenu ogrodu zoologicznego, od których izolowano prątki *M. avium* należące do różnych serotypów.

Wnioski

1. Zmiany sekcyjne, które określono jako gruźliczopodobne potwierdzono izolacją prątków w 60,0% u ssaków i w 67,5% u ptaków ekspozycyjnych.

2. Ptaki wolno żyjące z terenu ZOO okazały się nosicielami prątków kwasoopornych. Mogą one mieć znaczenie w roznoszeniu tych zarazków.

3. Izolowane od zwierząt w łódzkim ZOO w ciągu 3 lat prątki kwasooporne zostały określone jako *M. avium*.

4. Przeprowadzone badania rozszerzają liczbę gatunków zwierząt, od których izolowano *M. avium*, co wskazuje na wzrost znaczenia tego zarazka w patologii.

5. Badane szczepy *M. avium* były najbardziej wrażliwe na etambutol, co może posiadać praktyczne znaczenie w leczeniu gruźlicy zwierząt w ogrodach zoologicznych wywołanej tym typem prątka.

6. W grupie badanych szczepów metodą precypitacji w żelu i immunoelektroforezy stwierdzono wszystkie znane serotypy *M. avium* (A, B, C, D) z tym, że najwięcej szczepów (41,0%) zakwalifikowano do serotypu C.

Piśmiennictwo

- Ackerman E. J., Benbrook S. C., Walton B. C.: Amer. Rev. resp. Dis. 109, 388, 1974.
- Borg K.: Tijdschr. Diergeneesk. 89, 90, 1964.
- Brack M., Stoll L.: Tijdschr. Diergeneesk. 89, 94, 1964.
- Chavalier H.-J., Böhm K. H., Seeger J.: Kleintier-Prax. 14, 213, 1969.
- Dąbrowski J.: Medycyna Wet. 30, 596, 1974.
- Dozza I.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1964, s. 113.
- Francke H.: Tijdschr. Diergeneesk. 89, 176, 1964.
- Gernez-Rieux Ch., Devulder B.: Scand. J. resp. Dis. 71, 22, 1970.
- Gölsenboth R., Klös H.-G.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1972, s. 47.
- Grabar P., Williams C. A.: Biochim. Biophys. Acta 17, 67, 1955.
- Graham-Jones O.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1964, s. 80.
- Gucwiński A.: Materiały z konferencji poświęconej chorobom ptaków w ogrodach zoologicznych. 25-26.X.1968 Wrocław.
- Heje N. J.: Nord. Vet. Med. 14, 199, 1962.
- Heymon H.: Kleintier-Prax. 4, 123, 1959.
- Hinshaw W. R.: Am. Rev. Tub. 28, 273, 1933.
- Ippen R.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1969, s. 25.
- Janowiec M.: Mikrobiologiczne metody diagnostyki laboratoryjnej stosowane w ośrodkach przeciwgruźliczych. Instytut Gruźlicy, Warszawa 1974.
- Jentsch K.-D., Schröder H.-D.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1969, s. 7.
- Jorgensen J. B., Engbaek H. C., Dam A.: Acta vet. scand. 13, 66, 1972.
- Karlson A. G., Seiboldt H. R., Wolf R. H.: Pathologia vet. 7, 448, 1970.
- Kast A.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1966, s. 2, 269.
- Kędzia W., Koniar H.: Diagnostyka mikrobiologiczna. PZWL, Warszawa 1974.
- Klöppel G.: Kleintier-Prax. 4, 138, 1959.
- Kostrzewiński W., Paklerska-Pobratyn H.: Gruźlica 42, 21, 1974.
- Kraft H.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1971, s. 35.
- Kronberger H.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1969, s. 19.
- Kronberger H., Schüppel K.-F.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1972, s. 29.
- Linsert H., Schimmel D., Kleistein P.: Bakteriologisch-serologisches Laboratorium. Mappe 1. Hirzel-Verlag, Löss 1970.
- Madej J. A.: Medycyna Wet. 31, 79, 1975.
- Ouchterlony O.: Prog. Allergy 5, 1, 1958.
- Pinowarczyk S.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1964, s. 102.
- Powers R. D., Prince R. A.: J. Am. vet. med. Ass. 151, 890, 1967.
- Rimearson T. K., Schronts J. S., Wolinsky E.: Am. Rev. resp. Dis. 104, 272, 1971.
- Pzedzicki J.: Medycyna Wet. 29, 211, 1973.
- Schüppel K.-F., Beraman A., Kikopa R., Kronberger H., Altman D.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1973, s. 63.
- Schronts J. S., Rimearson T. K., Wolinsky E.: Am. Rev. resp. Dis. 104, 722, 1971.
- Sosnowski A.: Erkrankungen der Zootiere, Akademie-Verlag, Berlin 1964, s. 125.
- Tilden E. B., Williamson W. M.: J. Am. vet. med. Ass. 131, 526, 1957.
- Tovar D. R.: J. Am. vet. med. Ass. 153, 805, 1968.
- Viallier J., Moulin G., Viallier G.: Bull. Soc. Sci. vet. Lyon 72, 473, 1970.

Adres autora: dr Jan Dąbrowski, ul. Kollataja 40 m. 18, 24-100 Puławy.

JOHNSTON N. E., OXENDER W. D.: Wpływ zmian poziomu glukokortykoidów w surowicy na zdolność absorpcji siarowych immunoglobulin u cieląt. (Effect of elevated serum glucocorticoid concentrations on the ability of the newborn calf to absorb colostral immunoglobulin). Am. J. vet. Res. 40, 32-34, 1979 (1).

Badania nad wpływem stężenia glukokortykoidów w surowicy na zdolność absorpcji immunoglobulin siarowych przesledzono na 21 cielętach w trzech grupach doświadczalnych. Cielęta pierwszej grupy otrzymały iniekcje ACTH w dawce 200 jm, drugiej grupy metyrapon w dawce 250 mg, zaś grupy trzeciej rozpuszczalnik (0,1% żelatyna w 0,85% roztworze chlorku sodowego). Siarę podano cielętom po 2 godzinach po wycieleniu. Iniekcja ACTH powodowała wzrost poziomu tego hormonu w okresie 2-26 godzin życia; metyrapon jego spadek w okresie 1-12 godzin. Stężenie surowiczych IgG było znacznie wyższe u cieląt które otrzymały ACTH w porównaniu do cieląt z grupy kontrolnej oraz cieląt u których zastosowano metyrapon.

G.