

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

BOLESŁAW RUBAJ, ZYGMUNT CYGAN, IRENA BARCZ, TADEUSZ SIKORSKI

Próba oceny roli chorobotwórczej szczepów *C. pyogenes* i *P. acnes* w „kulawkach owiec”

Z Zakładu Anatomii Patologicznej Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynaryjnego
AR w Lublinie
Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Bakteryjne infekcje racic owiec, dające objawy tzw. „kulawki”, charakteryzują 3 podobne klinicznie schorzenia, tj.: zanokcicę zakaźną owiec — ZZO („foot rot”), nekrotyczne zapalenie opuszki — IBN (Infective Bulbar Necrosis) oraz nekrotyczne zapalenie skóry w szparze międzyracicowej — OID (Ovine Interdigitalis). Powyższe schorzenia — warunkowane przez wilgotność i temperaturę środowiska zewnętrznego — przedstawiają typowe, wielobakteryjne syndromy chorobowe (8, 10). Nieliczne dotychczas próby doświadczalnej reprodukcji tych schorzeń obejmowały głównie beztlenowce *B. nodosus* i *F. necrophorum* (12, 15). Natomiast brak jest takich badań nad działaniem pałeczek *C. pyogenes*, które, jak ostatnio wykazano, posiadają wyraźną aktywność elastolityczną i fibrynolityczną, co sugeruje pierwotną ich rolę w infekcjach racic owiec (4). Poza tym nieokreślone dotychczas jest znaczenie stwierdzanych ostatnio w „kulawkach” owiec beztlenowych mączugowców *P. acnes*.

W związku z powyższym jako cel niniejszych badań własnych przyjęto:

— sprawdzenie aktywności chorobotwórczej szczepów *C. pyogenes* i *P. acnes* w próbie wywołania doświadczalnej infekcji racic owiec;

— określenie rodzaju zmian makroskopowych i mikroskopowych powodowanych przez powyższe bakterie.

Materiał i metody

Szczepy. W badaniach wykorzystano 3 szczepy tlenowych mączugowców *C. pyogenes* (TB1, TB2, TZ1) opisanych w poprzedniej pracy Cygana i wsp. (3).

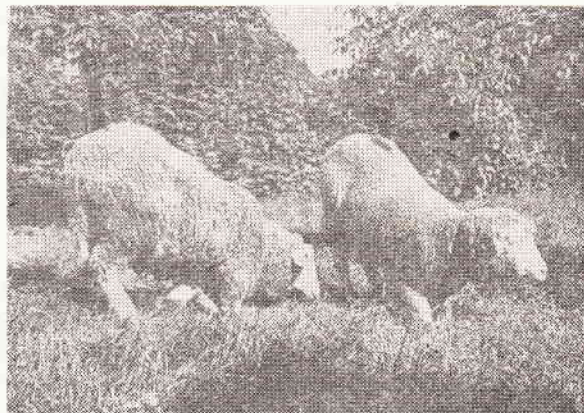
Zakażenie owiec. Zwierzęta zakażano przez założenie w szparę międzyracicową waty nasączonej 48 godziną hodowlą powyższych bakterii w półpłynnym podłożu Wrzoska w modyfikacji Cygana i wsp. (3). Racie owiec zabezpieczano przed wtórnym zakażeniem z ziemi watą i elastyczną opaską (każdy szczep sprawdzano oddzielnie na 2 owcach). Jako dowód udanej próby zakażenia przyjmowano wystąpienie w ciągu 14 dni objawów kulawizny i makroskopowo widocznych ognisk zapalnych skóry w szparze międzyracicowej (wynik dodatni powtarzano 2-krotnie na różnych owcach).

Badanie makroskopowo-mikroskopowe. Próbkę skóry i przylegającego rogu pobierano z sąsiedztwa tkanki chorobowo zmienionej i nie zmienionej i po utrwaleniu w 10% formolu sporządzano skrawki parafinowe barwione hematoksyliną i eozyną oraz metodą Grama-Weigerta na obecność bakterii.

Wyniki i omówienie

Pozytywny wynik zakażenia owiec dały wszystkie szczepy *C. pyogenes* (TB1, TB2 i TZ1). Natomiast szczepy beztlenowców *P. acnes* (BB1, BB2 i BZ1) w tych warunkach okazały się niechorobotwórcze.

Pierwsze objawy kulawizny zaczynały się już po 72—96 godzinach, przy czym zwierzęta często przyjmowały ulgową pozycję kłęczącą (ryc.1).



Ryc. 1. Zakażone owce w pozycji kłęczącej

Przy badaniu makroskopowym stwierdzano zwykle zaczerwienienie, miejscową depilację, drobne ubytki, a nawet obecność ognisk zapalnych w skórze szpary międzyracicowej. Ogniska zapalne wykazywały powierzchowną martwicę gnilną i lokalizowały się najczęściej na granicy skóry i rogu (ryc. 2). W niektórych przypadkach rozprzestrzeniania się procesu zapalnego dochodziło do martwicy serowatej i „odklejania” rogu. Obserwowano też zmiany hyperkeratyczne w rogu racicowym.

W preparatach histologicznych stwierdzano wyraźne owróżnienia warstwy rogowej naskórka (ryc. 3). Występowały przy tym zmiany zwyrodnieniowo-martwicze i proteolityczne w komórkach warstwy ziarnistej i kolczastej skóry. Układ komórek, we wspomnianych warstwach, wykazywał cechy dezintegracji z naciekiem obojętnochłonnych leukocytów (ryc. 4). Same komórki cechowały się obrzękiem i wakuolizacją (przy nie zmienionej warstwie podstawowej naskórka). Na uwagę przy tym

zasługuje, że wybarwione bakterie skupiały się przede wszystkim w zewnętrznej warstwie martwiczej (ryc. 5).

Dane na temat roli pałeczek *C. pyogenes* w infekcjach racic owiec są bardzo niekompletne. W poprzedniej pracy własnej opisano po raz pierwszy właściwości proteolityczne szczepów *C. pyogenes* wobec elastyny i fibrynogenu (4).



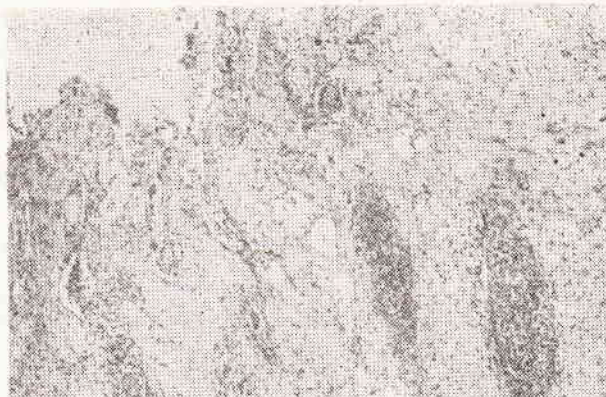
Ryc. 2. Ognisko zapalno-martwicowe na granicy skóry i rogu

Dotychczas, bowiem cechy takie stwierdzano tylko u odpowiedzialnych za ZZO pałeczek *B. nodosus* (2, 6, 14, 16, 18). Wyrażany jest przy tym pogląd, że aktywność proteolityczna tych bakterii stanowi wskaźnik ich chorobotwórczości (6, 14, 18).

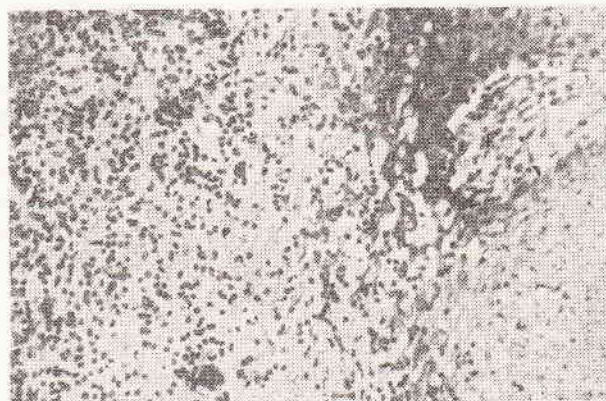
Niniejsze badania wykazały, że szczepy *C. pyogenes* są zdolne do wywołania samodzielnej infekcji racic owiec. Wynik ten nie potwierdza poglądu Roberta (11), Roberta i Egertona (12) oraz Egertona i wsp. (7), którzy powyższym maczugowcom przypisują działanie raczej drugorzędne, tj. polegające na stymulowaniu aktywności inwazyjnej *F. necrophorum* poprzez wytwarzane metabolity wzrostu.

Na uwagę zasługuje duża łatwość własnych szczepów *C. pyogenes* do inicjacji procesów chorobowych przy nie uszkodzonej skórze. Natomiast w przypadku beztlenowców *B. nodosus*, uznanych za specyficzną mikroflorę chorobotwórczą, zakażenie udawało się tylko w warunkach tkanki skaryfikowanej (7, 12, 15). Pierwsze objawy doświadczalnej „kulawki” owiec, wywołanej przez własne szczepy *C. pyogenes*, pojawiały się w ciągu 72–96 godzin. W podobnych próbach Roberta i Egertona (12) przeprowadzonych z użyciem mieszanej hodowli *F. necrophorum*, *B. nodosus* i *C. pyogenes* za początek schorzenia przyjmowano 5–6 dzień. Wskazuje to na szczególnie dużą inwazyjność maczugowców wyosobnionych w badaniach własnych (4).

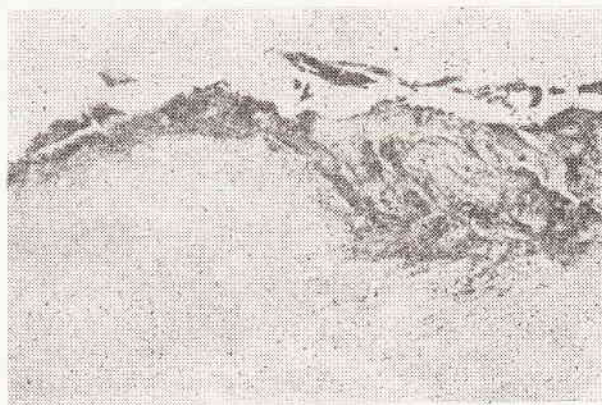
Wyjątkowo interesujące okazały się zmiany mikroskopowe u owiec zakażonych szczepami TB1, TB2 i TZ1. Proces chorobowy obejmował powierzchowne warstwy naskórka i miał charakter zmian głównie martwiczo-zapalnych, ale nie-



Ryc. 3. Zmiany martwicowe i proteolityczne w komórkach naskórka



Ryc. 4. Naciek leukocytny w obrębie naskórka



Ryc. 5. Widoczne skupiska bakterii w powierzchniowej warstwie naskórka

ropnych. Przebiegał on z wyraźnie zaznaczonym „odklejaniem” się rogu racy. W zasadzie więc odpowiadał opisom zmian chorobowych, jakie wykazano przy ZZO, IBN i OID (7, 9, 12, 13). Wszystkie te schorzenia w początkowej fazie rozwoju, rozpoczynają się jako zmiany martwiczo-zapalne w skórze szpary międzyracicowej (1, 13). Taki ich przebieg można tłumaczyć podobnymi właściwościami enzymów proteolitycznych, stwierdzonych u pałeczek *B. nodosus* (2,

6, 14, 16, 17, 18) i własnych szczepów *C. pyogenes* (4).

Szczepy *P. acnes* (BB1, BB2 i BZ1), pozbawione aktywności elastolitycznej, okazały się niechorobotwórcze w próbach zakażenia owiec. W oparciu o powyższe badania nie można jednak wykluczyć ich wtórnego działania — poprzez stymulację silnych nacieków komórkowych — wspomagających zapoczątkowany pierwotnie proces destrukcji skóry. Tego rodzaju działanie *P. acnes* zostało opisane w niektórych schorzeniach tej tkanki u człowieka (5).

Reasumując uzyskane wyniki wydaje się, że etiopatogeneza „kulawek” jest bardzo złożona i zależy od aktywności elastolitycznej i keratynolitycznej nie tylko poznanych już beztlenowców *B. nodosus*, ale również bakterii tlenowych o cechach *C. pyogenes*. Dalsze badania nad występowaniem takich bakterii są z tych względów cenne i potrzebne.

Piśmiennictwo

1. Benito M.: Revue Med. vet. 75, 611, 1974.
2. Broad T. E., Skerman T. M.: N. Z. J. agric. Res. 19, 317, 1976.
3. Cygan Z., Jastrzębski T., Gałęza J., Pielecki M.: Pol. Arch. wet. 17, 237, 1974.
4. Cygan Z., Wierciński J., Rubaj B., Barcz I.: Właściwości „maczugowców” *C. pyogenes* i *P. acnes* oraz ich występowanie w infekcjach racie owiec. Medycyna Wet. — w druku.
5. Dick G. F., Ashe B. M., Rodgers E. G., Diercks R. C., Goltz R. W.: Acta Dermatovener., Stockholm 56, 279, 1976.
6. Egerton J. R., Parsonson I. M.: Aust. vet. J. 45, 345, 1969.
7. Egerton J. R., Roberts D. S., Parsonson I. M.: J. comp. Path. 79, 207, 1969.
8. Katitch R. V., Matitch G.: Bull. Soc. Sci. vet. med. comp., Lyon 79, 189, 1977.
9. Parsonson I. M., Egerton J. R., Roberts D. S.: J. comp. Path. 77, 309, 1967.
10. Prevot A. R.: Bull. Off. int. Epizoot. 50, 1527, 1963.
11. Roberts D. S.: Br. J. exp. Path. 48, 674, 1967.
12. Roberts D. S., Egerton J. R.: J. comp. Path. 79, 217, 1969.
13. Roberts D. S., Graham N. P. H., Egerton J. R.: J. comp. Path. 78, 1, 1968.
14. Stewart D. J.: Res. vet. Sci. 27, 99, 1979.
15. Thomas J. H.: Aust. J. agric. Res. 13, 725, 1962.

16. Thomas J. H.: Aust. J. agric. Res. 15, 417, 1964.
17. Thomas J. H.: Aust. J. agric. Res. 15, 1001, 1964.
18. Thomas J. H.: Aust. vet. J. 38, 159, 1962.

Adres autora: prof. dr Bolesław Rubaj, ul. Sowińskiego 7 m. 21, 20-040 Lublin.

Рубай Б., Цыган З., Барч И., Сикорский Т. — Попытки оценки болезнетворной роли штаммов *C. pyogenes* и *P. acnes* в пиосептицемиях овец.

Выделенные из случаев пиосептицемии овец 3 штамма *C. pyogenes* (TB1, TB2, TZ1) и 3 штамма *P. acnes* (BB1, BB2 и BZ1) проверили на болезнетворность в попытке инфекции овец (методом вкладывания в межкопытную щель тампона ваты, пропитанной свежей культурой этих бактерий). Все штаммы *C. pyogenes*, показывавшие протеолитическую активность относительно эластина к бибриногена, вызвали в течение 72—96 часов мекротически-воспалительные изменения с отклеиванием рога и симптомы сильной хромоты (анаэробы *P. acnes*, лишённые протеолитических свойств, в этих случаях были неболезнетворными). В работе приведено описание вызываемых макроскопических и микроскопических изменений и продискутирована роль вышеупомянутых бактерий в инфекциях копыт овец.

Rubaj B., Cygan Z., Barcz I., Sikorski T. — The role of *C. pyogenes* and *P. acnes* strains in sheep „lameness”.

Three strains of *C. pyogenes* (TB1, TB2, TZ1) and three strains of *P. acnes* (BB1, BB2, BZ1) isolated from the cases of sheep lameness were testified towards their pathogenicity for sheep (insertion of a plug with bacterial suspension into the hoof rima). All the strains of *C. pyogenes* with proteolytic activity against elastine and fibrinogen brought about necrotic and inflammatory lesions within 72—96 hours, and the signs of desorption and lameness. *P. acnes* strains without proteolytic properties appeared to be apathogenic under such conditions. The authors described macro- and microscopic changes and discussed the role of the bacterial cells in hoof infection of sheep.

SHEWEN P. E., POREY R. C., WILSON M. R.: Porównanie skuteczności żywej i czterech inaktywowanych szczepionek w ochronie kotów przed doświadczalnym zakażeniem *Chlamydia psittaci*. (A comparison of the efficacy of a live and four inactivated vaccine preparations for the protection of cats against experimental challenge with *Chlamydia psittaci*). Can. J. comp. Med. 44, 244-251, 1980 (3).

U kotów po doświadczalnym zakażeniu szczepem Cello *Chlamydia psittaci* rozwija się zapalenie spojówek. Szczepienie żywą szczepionką chroni koty całkowicie przed wystąpieniem objawów zapalenia spojówek zarówno po donosowym jak i po doświadczeniowym challenge *C. psittaci* (0,5 ml, 10⁴ ELD₅₀/ml). Dobre wyniki notowano również po stosowaniu czterech inaktywowanych szczepionek z których jedna oparta była o szczep *A. C. psittaci* namnożony na woreczku żółtkowym zaś trzy pozostałe o szczep B przepasażowany sześciokrotnie przez woreczek żółtkowy zarodka jaja kurzego. Natężenie odporności u szczepionych zwierząt nie było ściśle skorelowane z wysokością miana przeciwciał w odczynie wiązania dopełniacza. Występowała natomiast zależność między natężeniem odporności u kotów szczepionych oraz natężeniem odporności komórkowej w odczynie blastogenezy limfocytów.

G.

KADAMA Y., OGATA M., SHIMIZU Y.: Charakterystyka przeciwciał zawartych w immunoglobulinie surowiczej klasy IgA świń zakażonych wirusem zakaźnego zapalenia żołądka i jelit. (Characterization of immunoglobulin A antibody in serum of swine inoculated with transmissible gastroenteritis virus). Am. J. vet. Res. 41, 740-745, 1980 (5).

W surowicach oraz treści jelit cienkich prosiąt zakażonych doświadczalnie wirusem zakaźnego zapalenia żołądka i jelit (TGE) określono metodą radioimmunoprecypitacji zawartość swoistych przeciwciał występujących w immunoglobulinach klasy IgA. U prosiąt zakażonych doustnie szczepem zjadliwym wirusa TGE przeciwciała zawarte w IgA występują w treści jelit cienkich i w surowicy od 7 do 56 dnia po zakażeniu. Aktywności tych przeciwciał nie stwierdzono w treści jelit cienkich i w surowicy prosiąt zakażonych szczepem atenuowanym wirusa TGE. U prosiąt zakażonych doustnie zjadliwym szczepem wirusa przeciwciała neutralizujące wirus występowały w klasie IgA i IgG immunoglobulin surowicy, zaś u prosiąt zakażonych szczepem atenuowanym jedynie w klasie IgG immunoglobulin surowiczych. Surowicze przeciwciała zawarte w klasie IgA były syntetyzowane wyłącznie w tkance limfoidalnej przewodu pokarmowego.

G.