

STANISŁAW WINIARCZYK, KRZYSZTOF KOSTRO

Pityrosporium canis w otitis externa psów

Klinika Chorób Zakaźnych Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR,
Al. PKWN 30, 29-612 Lublin

Zapalenie zewnętrznego przewodu słuchowego jest jednym z często spotykanych schorzeń psów, którego leczenie jest zmusne i nie zawsze przynosi pożądane efekty. Panuje pogląd, że przyczynami tego stanu chorobowego są miejscowe infekcje bakteryjne i grzybicze, ujawniające się przy istnieniu czynników predisponujących. Do występowania schorzenia usposabiają: ukształtowanie małżowin usznych, kanału słuchowego i typ okrywy włosowej, związane z rasą (6, 12, 18), zaleganie brudu i woskowiny, urazy mechaniczne, ciała obce i drażniące roztwory dostające się do ucha (5). Spośród czynników zakaźnych wymienia się gronkowce, drożdżaki rodzaju *Pityrosporium*, pałeczki gramujemne rodzaju *Pseudomonas* i *Proteus* (4, 5, 6, 7, 16, 18, 19). Warto podkreślić, że pierwsze dwa drobnoustroje izolowano również z uszu psów zdrowych, natomiast dwa pozostałe stwierdzono tylko w czasie trwania procesu chorobowego. Oddzielne zagadnienie stanowi *otitis externa* na tle inwazji świerzbowca usznego *Otodectes cynotis*, z tym, że według opinii niektórych autorów jest to schorzenie nader rzadko spotykane (5, 12, 19). Fraser (5, 6) lansuje pogląd, że pierwotne zmiany chorobowe w kanale słuchowym są związane z procesami patologicznymi toczącymi się na skórze, a spośród wymienionych zarazków jedynie pałeczki gramujemne można uznać za czynnik inicjujący stan zapalny przewodu słuchowego.

Celem podjętych badań było określenie rodzaju zarazków występujących w *otitis externa* psów ze szczególnym uwzględnieniem drożdżaków.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły wymazy z ucha 84 psów z objawami *otitis externa*. Wymazy pobrane za pomocą jałowych wacików posiewano na agar z krwią, podłoże stałe Sabourauda z dodatkiem detreomycyny (0,5 g/l). Posiewy inkubowano w 37°C przez 3 do 5 dni. Wyizolowane bakterie określano według ogólnie przyjętych zasad, natomiast drożdżaki uprzednio pasażowano na podłożu Sabourauda o pH 3,0. Czystość wysobnionych kultur kontrolowano mikroskopowo w preparatach barwionych błękitem metylenowym. Do dalszych badań wybrano losowo 30 szczepów drożdżaków, w tym 15 wyizolowanych w czystej kulturze. Właściwości asymilacji i fermentacji glukozy, galaktozy, laktozy, maltozy, sacharozy i rafinozy określono według metody opisanej przez Lodder (15) oraz Kędzię i Koniora (14). Zdolność wytwarzania ureazy oznaczono na agarze Christensena w 35°C (15).

Mikromorfologię prześledzono na zdjęciach wykonanych pod mikroskopem elektronowym. Preparaty ultramikroskopowe barwiono 5% wodnym octanem uranylu i cytrynianem ołowiu (1).

Wyniki i omówienie

Otrzymane wyniki podano w tab. 1. Według danych tabeli najczęściej izolowanymi drobnoustrojami były drożdżaki, następnie gronkowce, pałeczki rodzaju *Pseudomonas* i paciorkowce. W żadnym przypadku nie stwierdzono obecności świerzbowca. Warto podkreślić, że drożdżaki były również drobnoustrojami, które najczęściej występowały w monokulturach (32%), następnie gronkowce (25%) i pałeczki gramujemne (7%).

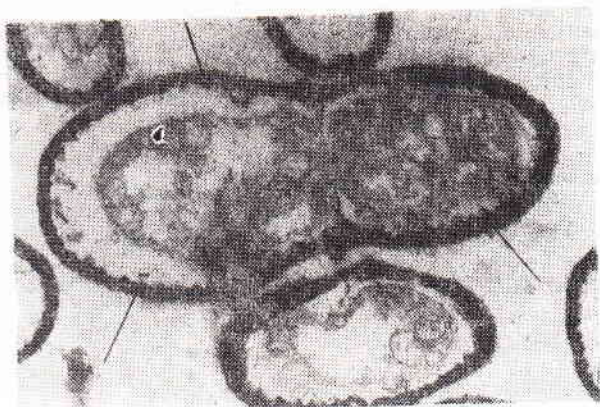
Tab. 1. Wyniki badań mikologicznych i bakteriologicznych wymazów z uszu psów z objawami *otitis externa*

Liczba badanych psów	Wyizolowane drobnoustroje w %			
	drożdżaki	gronkowce	pał. ropy błękitnej	paciorkowce
84	62 (32)	56 (25)	11 (7)	8 (0)

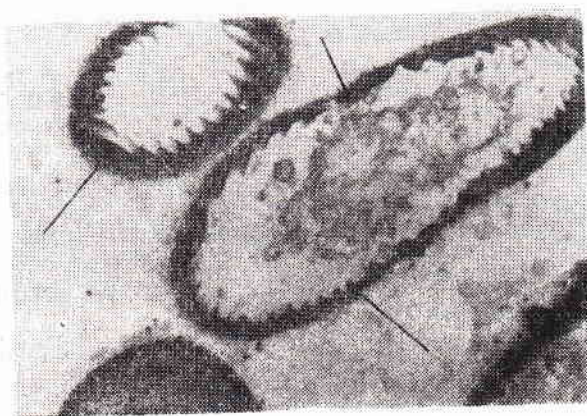
Objaśnienie: w nawiasach podano odsetki psów, od których izolowano czyste kultury.

U chorych psów obserwowano: potrząsanie głową, drapanie podstawy ucha, bolesność przy palpacji ucha, wyciek ropny, lub nadmierną ilość wydzieliny stwierdzanej na waciku wprowadzonym do kanału słuchowego. Dla wstępnego rozpoznania przydatna wydaje się barwa i konsystencja wydzieliny z przewodu słuchowego. Z wydzieliny koloru jasnobrazowego do brązowo-czarnego izolowano z reguły drożdżaki, natomiast z jasnożółtego wycieku pałeczki gramujemne.

Spośród 30 badanych szczepów drożdżaków 22 fermentowały w ciągu tygodnia bez wytwarzania gazu tylko glukoze. W teście asymilacji wykorzystywały one do swego wzrostu, w ciągu trzech dni, jedynie glukoze. Ureaza była wytwarzana w ciągu 24 godzin. W preparatach mikroskopowych stwierdzono charakterystyczne pączkujące blastospory, których wymiary wahały się od 0,2 do 0,4 × 0,4 do 0,8 μm. W żadnym przypadku nie stwierdzono obecności *mycelium* lub *pseudomycelium*. W ultrastrukturze drobnoustroju stwierdzono trójwarstwową budowę ściany komórkowej z mocno rozwiniętą i pofałdowaną wewnętrzną warstwą (ryc. 1, 2). Ta ostatnia cecha według Abou-Gabala i Fagerlanda (1) jest charakterystyczna dla rodzaju *Pityrosporium*. Opisana struktura ściany komórkowej oraz właściwości biochemiczne pozwoliły spośród 30 badanych 22



Ryc. 1. *P. canis* pow. 24.000X. Komórka w fazie podziału, widoczne mitochondria (M) oraz charakterystyczne pofałdowanie wewnętrznej warstwy ściany komórkowej



Ryc. 2. *P. canis*, pow. 24.000X, widoczne pofałdowanie wewnętrznej warstwy ściany komórkowej

szczepki sklasyfikować jako *Pityrosporum canis* (*pachydermatis*). Pozostałych 8 szczepów nie identyfikowano z uwagi na odmienne właściwości morfologiczne i biochemiczne, co pozwoliło wykluczyć ich przynależność do rodzaju *Pityrosporum*.

Do rodzaju *Pityrosporum* zalicza się trzy gatunki (15). Dwa z nich — *P. orbiculare* i *P. ovale* wchodzi w skład normalnej mikroflory ludzkiej skóry i do swego wzrostu wymagają dodatku kwasów tłuszczowych. Według Faergemanna i Bernandera (3) *P. orbiculare* ogólnie uznawane jest za czynnik etiologiczny łupieżu pstrego u ludzi.

P. canis jest drobnoustrojem występującym u psów (4, 5, 7, 8, 9, 11, 16, 18, 19), kotów (8, 16), świń (9) i niektórych wolno żyjących zwierząt (8, 10, 17) w kanale słuchowym i na skórze. Rośnie dobrze na zwykłych podłożach do hodowli grzybów i nie wymaga dodatku kwasów tłuszczowych (8). Cechuje go zdolność wzrostu w warunkach tlenowych, mikroaerofilnych i beztlenowych (2) i ta właściwość wydaje się mieć duże znaczenie dla namnażania tego drożdżaka w kanale słuchowym, zwłaszcza wypełnionym woskowiną lub wydzieliną zapalną, i u niektórych ras psów przykrytym zwisającą małżowiną. Fraser (4) badając florę grzybiczą uszu psów stwierdził obecność *P. canis* u 36% zwierząt zdrowych i 47% z objawami otitis externa. Na tej podstawie uznał ten drobnoustroj za mało znaczący w etiologii tego schorzenia. Odmienne stanowisko prezentują inni autorzy. Gedek i wsp. (7) izolowali tego drożdżaka 4-krotnie, a Sinha i wsp. (18) 6-krotnie częściej od psów chorych niż zdrowych. Ponadto Sinha i wsp. (18) sugerują, że *P. canis* może kolonizować nie zmienioną skórę kanału słuchowego i być pierwotnym czynnikiem przyczynowym otitis externa. Smith (19) zajmując się chronicznymi przypadkami otitis externa wykazał obecność tego drożdżaka u 96% psów chorych. Podobne wyniki uzys-

kali Losson i Benakhla (16), którzy w przypadkach ostrych izolowali go od 56%, a w przewlekłych od 80% psów. W badaniach własnych drożdżaki *P. canis* były dominującymi drobnoustrojami izolowanymi z uszu psów chorych. Warto podkreślić, że w monokulturach wyosabniano je prawie wyłącznie z przypadków chronicznych. Wydaje się zatem, że przy leczeniu przyczynowym otitis externa psów należałoby mieć na uwadze zakażenia spowodowane przez *P. canis*.

Piśmiennictwo

1. Abou-Gabal M., Fagerland I. A.: Mykosen 22, 85, 1979.
2. Faergemann J., Bernander S.: Sabouraudia 19, 117, 1981.
3. Faergemann J., Bernander S.: Sabouraudia 17, 171, 1979.
4. Fraser G.: J. comp. Path. 71, 1, 1961.
5. Fraser G.: J. small Anim. Pract. 6, 443, 1965.
6. Fraser G.: Vet. Rec. 73, 55, 1961.
7. Gedek B., Brutzel C., Gerlach R., Netzer F., Roeken H., Vuger H., Symoens J.: Vet. Rec. 104, 138, 1979.
8. Gordon M. A.: Sabouraudia 17, 305, 1979.
9. Gustafson B. A.: Acta path. microbiol. scand. 45, 275, 1959.
10. Gustafson B. A.: Acta path. microbiol. scand. 48, 51, 1960.
11. Hajsig M., Lukman P.: Vet. arhiv 50, 43, 1980.
12. Joshau J. O.: Vet. Rec. 70, 1115, 1950.
13. Kaufmann E., Frost Ch.: Vet. Rec. 61, 368, 1949.
14. Kedzia W., Konior H.: Diagnostyka mikrobiologiczna. PZWL, 1980.
15. Lodder J.: The yeast — A taxonomic study. North — Holland Publ. Comp. 1970.
16. Losson B., Benakhla A.: Ann. Med. Vet. 124, 435, 1980.
17. Salkin I. F., Gordon M. A., Stone W. B.: Sabouraudia 16, 35, 1978.
18. Sinha B. K., Mohapatra L. N., Kumor R.: Mykosen, 19, 63, 1976.
19. Smith J. M. B.: Aust. vet. J. 44, 413, 1968.
20. Tarkiewicz S.: Pies 6, 170, 1980.

Adres autora: lek. wet. Stanisław Winiarczyk, ul. Langiewicza 5/612, 20-032 Lublin.

Винярчик С., Костро К. — *Pityrosporum canis* в отитис externa собак

Цель предпринятых исследований состояла в определении рода возбудителей, повяляющихся в отитис externa собак с особенным учетом первично-сумчатых грибов. Провели бактериологические и микологические исследования мазков из уха 84 собак с симптомами отитис externa. Чаще всего изолированными микроорганизмами были первично-сумчатые грибы, определенные как *P. canis* (62%), затем стафилококки (56%), палочки из рода *Pseudomonas* (11%) и стрептококки (8%). *P. canis* в монокультурах изолировали главным образом из хронических случаев.

Winiarczyk S., Kostro K. — *Pityrosporium canis* in case of otitis externa in dogs

The purpose of the work was to determine on the basis of bacteriological and mycological examinations the kind of microorganisms, especially of yeasts, occurring in cases of otitis externa in 84 dogs tested.

The most often isolated microorganisms appeared to be yeasts classified as *Pityrosporium canis* (62%), staphylococci (56%), *Pseudomonas* sp. (11%), and streptococci (8%). *P. canis* was isolated in monocultures mainly from chronic cases.

MARCIN SZULC, ANNA PLISZKA, JANINA PĘCONEK

Wpływ napromieniowania pałeczek *Salmonella* promieniami X na wytwarzanie enterotoksyny*)

Katedra Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Nowoursynowska 166, 02-975 Warszawa

Poglądy na mechanizm wywoływania przez pałeczki *Salmonella* zaburzeń jelitowych zmieniły się radykalnie w ostatnich latach. Do niedawna główną rolę w powstawaniu tych zaburzeń przypisywano endotoksynie, która miałaby się uwalniać podczas rozpadu komórek. Obecnie wiadomo, że bakterie te, podobnie jak niektóre inne pałeczki należące do rodziny *Enterobacteriaceae*, mogą wytwarzać enterotoksynę, uwalnianą z komórek do środowiska również w hodowlach *in vitro* (7, 8, 9, 10). Enterotoksynie przypisuje się obecnie główną rolę w wywoływaniu biegunek dziecięcych przez *E. coli* (14). Prace nad tą enterotoksyną prowadzone są również w Polsce (20, 23).

Szczegółowe badania dotyczące wytwarzania enterotoksyny przez pałeczki *Salmonella* rozpoczęto dopiero w latach siedemdziesiątych, chociaż pierwsze publikacje dotyczące tego zagadnienia datują się z roku 1961 (21). Pierwsze wyniki były kontrowersyjne (5, 6, 21), ale dalsze badania (8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 22, 24) wykazały niewątpliwie, że większość szczepów *Salmonella* wytwarza swoisty czynnik enterotoksyczny i że ta właściwość odgrywa ważną rolę w powstawaniu zaburzeń jelitowych (6, 9, 10, 11, 12).

Dotychczas nie uzyskano jeszcze enterotoksyny pałeczek *Salmonella* w postaci oczyszczonej, co pozwoliłoby na produkcję swoistej surowicy i zastosowanie metod serologicznych do wykrywania tej enterotoksyny. Prace te są w toku w różnych ośrodkach (11, 12, 16). Obecnie poszczególni autorzy stosują do wykrywania tej enterotoksyny różne testy biologiczne. Thapliyal i Singh (22), a także Sakazaki i wsp. (15) stosowali test na izolowanych pętłach jelitowych królika. Koupal i Deibel (9) używali próby na oseskach mysich. Sandefur i Peterson (16), a także Tschäpe i wsp. (10, 24) stosują test skórny na królikach, gdyż jak wykazały badania, enterotoksyna pałeczek *Salmonella* wykazuje — podobnie jak enterotoksyna LT *E. coli* i cholerygen *V. cholerae* — obok działania enterotoksycznego również

działanie dermatotoksyczne. Mechanizm w obu przypadkach jest taki sam; polega na aktywowaniu cykazy adenylowej i powstawaniu cyklicznego AMP, zwiększającego przepuszczalność błon komórkowych. W jelitach objawia się to zaburzeniami resorpcji wody i elektrolitów prowadzących do biegunki, w skórze powoduje zwiększenie przepuszczalności naczyń włosowatych i powstanie ograniczonych zmian rumieniowych (16). Ponadto różni autorzy przeprowadzali badania dotyczące działania enterotoksyny pałeczek *Salmonella* na różne komórki (4, 13, 16).

Celem pracy było poznanie zdolności wytwarzania toksyn przez szczepy *Salmonella*, które przetrwały działanie promieniowania jonizującego. W warunkach, gdy przy utrwalaniu środków spożywczych promieniami jonizującymi pewna część bakterii pozostawałaby żywa, co się obecnie zakłada, zagadnienie to wydaje się interesujące i istotne dla higieny żywności oraz dla ochrony zdrowia konsumentów. Jednocześnie, biorąc pod uwagę przedstawione wyżej informacje postanowiono przyjmując jako przedmiot pracy zdolność wytwarzania omawianej enterotoksyny przez badane szczepy *Salmonella*. Bliższe rozeznanie tego zjawiska, dotychczas jeszcze nie w pełni poznanego i nadal kontrowersyjnego było więc dodatkowym celem badań.

Materiał i metody

Bakterie. Do badań użyto dwa szczepy *Salmonella*: *S. enteritidis* nr 410 i *S. typhimurium* nr 29. Oba te szczepy, wyizolowane od chorych z zatruciem pokarmowym, otrzymano z Wolskiego Szpitala Zakaźnego w Warszawie.

Napromieniowanie bakterii. Bakterie napromieniano promieniami X przy następujących parametrach pracy aparatu: napięcie lampy 200 kV, natężenie 10 mA, moc dawki 0,11 Gy/s (11 radów/s). Ustalono i przyjęte we wstępnych doświadczeniach wielkości dawek napromieniowania wynosiły 1, 100, 200 Gy. Przygotowując bakterie do napromieniowania rozcieńczano 24-godziną hodowlą badanego szczepu w stosunku 1:4 roztworem fizjologicznym (PBS) i wlewano po 1,2 cm³ do specjalnych próbek. Zawiesiny, oprócz próbek kontrolnej poddawano napromienianiu wyżej wymienionymi dawkami.

Określenie radiowrażliwości bakterii. Bezpośrednio po napromienianiu sprawdzano przeżywalność ba-

*) Praca wykonana w ramach problemu resortowego MNSzWiT w latach 1979—1980.