

ZYGMUNT CYGAN*, STANISŁAW WOŁOZYN**, JANUSZ WIERCINIŃSKI***,
IRENA BARCZ*, WITOLD JAKUBOWICZ*

Mikroaerofile *Arachnia propionica* i beztlenowce niesporulujące w guzach promienicowych świń

* Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin
** Klinika Chorób Zakaźnych Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR, Al. PKWN 30,
20-033 Lublin
*** Centralne Laboratorium Aparaturowe AR, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin

Promienica jest przewlekłym schorzeniem zakaźnym, stosunkowo najlepiej poznanym u człowieka (1, 2, 4, 5, 25, 26, 28, 33, 37) oraz bydła (15—18). Natomiast niewiele jest danych, i to w dodatku tylko fragmentarycznych, dotyczących zachorowań świń (14, 20, 40). Opisane u tych zwierząt przypadki choroby charakteryzują zmiany umiejscowione najczęściej w sutkach (16, 20), niekiedy również w płucach (40). Stąd też powstało przekonanie, iż stanowią one jedyne formy kliniczne tego schorzenia (16).

Etiologia promienicy świń wiąże się zwykle z drobnoustrojami *Actinomyces bovis*, *Actinomyces israeli* oraz *Actinomyces suis* (14, 16, 20, 40). Ich różnicowanie jest trudne i całkowicie jeszcze nieopracowane (14, 35—37). Odnosi się to zwłaszcza do szczepów *Actinomyces suis* tworzących ciągle „*species incertae sedis*” (3). Bliższe poznanie wyosobnionych od ludzi szczepów, ujmowanych dawniej jako *Actinomyces propionicus* (13, 21), pozwoliło na ich reklasyfikację do nowego gatunku *Arachnia propionica* (3, 23, 24). Rola tych drobnoustrojów w promienicy zwierząt nie została dotychczas określona.

Za cel badań własnych przyjęto przedstawienie schorzenia świń, przebiegającego ze zmianami przypominającymi procesy promienicowe, zlokalizowane w obrębie głowy. Kolejnym zamierzeniem było wyosobnienie i zidentyfikowanie występujących w tym schorzeniu mikroaerofilii oraz beztlenowców niesporulujących.

Materiał i metody

Swinie. Do badań bakteriologicznych otrzymano w całości głowy od 2 świń dobitych, w wieku 2—3 miesięcy. Zmiany chorobowe dotyczyły okolicy szczęki (przypadek S) i żuchwy (przypadek Z).

Hodowla. Pobrane z głębi guzów wycinki proliferujących tkanek wysiewano na podłoże agarowe z dodatkiem 10% surowicy końskiej oraz na podłoże Zeisslera. Posiane pożywki inkubowano przez okres 4 dni metodą anerostatową, opisaną już w pracach własnych (8, 9). Równocześnie prowadzono rutynowe badania w kierunku mikroflory tlenowej.

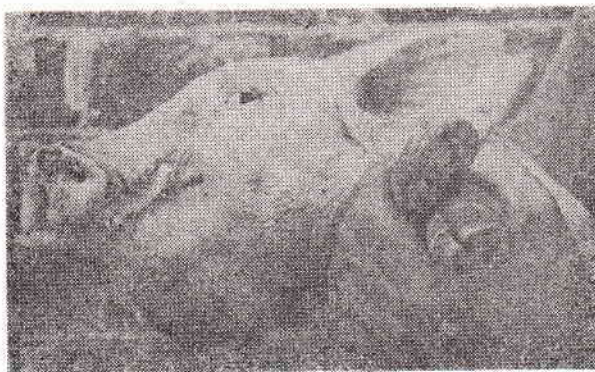
Izolacja. Poszczególne kolonie drobnoustrojów mikroaerofilnych i beztlenowych wycinano wraz z agarem i przenoszono do półpłynnego podłoża Wrzoska w modyfikacji Cygana i wsp. (7). Czas inkubacji, w temperaturze 37°C, wynosił 3—5 dni. Uzyskane hodowle sprawdzano na jednolitość morfologiczną bakterii i ich kolonii.

Identyfikacja. Metabolizm wyosobnionych szczepów określano badając rodzaj lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) w hodowli, a z kwasów dwukarboksylo-

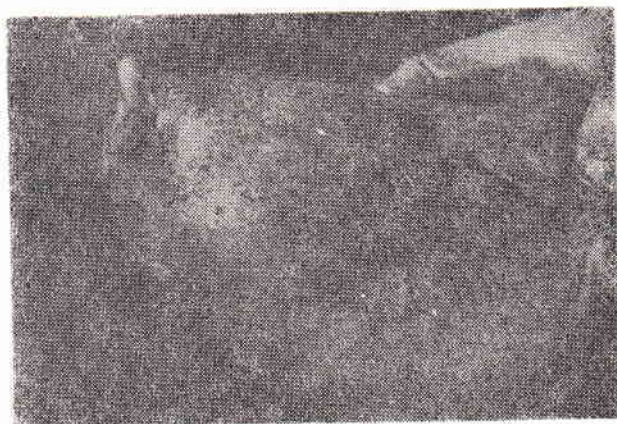
wych — kwasu bursztynowego, przy zastosowaniu chromatografii gazowej według Ottensteina i Bartleya (22). Przy analizowaniu LKT dodawano 20 µl 10% eterowego roztworu kwasu heptanowego (C7 — standard wewnętrzny) do 2 ml hodowli w podłożu Beerensa (czas inkubacji w 37°C — 7 dni). Następnie 1 µl tej mieszaniny wstrzykiwano do kolumny chromatograficznej w aparacie Perkin-Elmera F30 (USA). W celu zidentyfikowania kwasu bursztynowego (poszukiwany w badanej hodowli po wprowadzeniu dodatku kwasu laurynowego C12 — jako standardu wewnętrznego) stosowano estryfikację z użyciem 14% BF₃ w propanolu według Daenensa i Laruelle (10). Uzyskane estry wysalano wodnym, nasyconym roztworem NaCl, a próbkę w objętości 1 µl, pobraną z górnej warstwy estrowej, wprowadzano do kolumny SCOT (aparat Perkin-Elmera F30, USA). Wyniki oznaczeń wyliczono przy pomocy programowanego integratora M-1 (USA). W dalszym etapie diagnostycznym sprawdzano aktywność fermentacyjną szczepów w stosunku do niektórych cukrów i alkoholi oraz działanie proteolityczne wobec mleka i żelatyny. Katalazę oznaczano według metody podanej przez Slacka (35).

Wyniki i omówienie

W stadzie liczącym około 200 świń (180 prosiąt i 23 maciory) wystąpiły u 7 prosiąt obrzęki, na ogół niebolesne, zlokalizowane w okolicy podżuchwowej (przypadek Z — ryc. 1) i bocznej powierzchni szczęki (przypadek S — ryc. 2 i 3). Posiadały one średnicę 5—12 cm oraz spoistą, a nawet twardą konsystencję. Nacięcie obrzękłej skóry odsłaniało rozrosty tkanek z niewielkimi uchyłkami, które zawierały skąpą ilość stałej masy martwiczej (ryc. 4). Powyższe zmiany chorobowe rozciągały się aż do przestrzeni międzyzębowych. Schorzenie po 2—3-tygodniowym przebiegu spowodowało śmierć 1 prosięcia (w tym czasie ubito dwa dalsze z powodu wychudzenia).



Ryc. 1. Obrzęk umiejscowiony w okolicy podżuchwowej (przypadek Z).



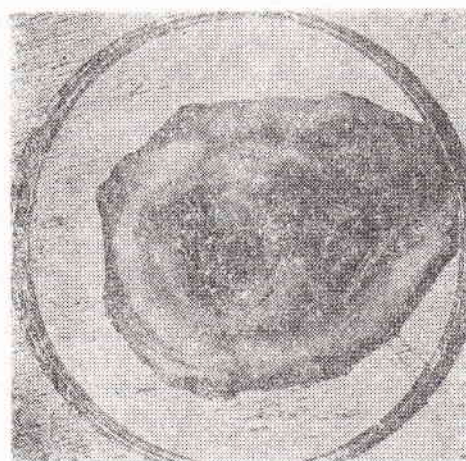
Ryc. 2. Obrzęk umiejscowiony w okolicy kości szczękowej (przypadek S, ujęcie boczne)



Ryc. 3. Obrzęk umiejscowiony w okolicy kości szczękowej (przypadek S, ujęcie z przodu)

Obserwowane zmiany chorobowe nie odpowiadały makroskopowemu obrazowi typowych ropni, opisanych u świń (20). Uważa się bowiem, że słoninowate rozrosty tkanek, niekiedy z ogniskami martwicy, mogą sugerować promienicę (18). Pewnym odchyleniem był brak wydzieliny ropnej, co uniemożliwiło przeprowadzenie badań na obecność tzw. ziaren promienicowych. Wspomnieć należy, że nie występują one w przypadkach chorobowych wywołanych przez *Actinomyces eriksoni* (11).

Z pobranych materiałów wyosobniono ogółem 5 szczepów. Ich przynależność rodzajową, ustaloną w oparciu o skład wytwarzanych



Ryc. 4. Uchyłki tkanek po przecięciu guza (przypadek S)

kwasów tłuszczowych i zdolność do produkowania katalazy, ilustrują — zestawione w załączonej tabeli — dane. Wynika z nich znaczne podobieństwo metaboliczne 3 izolatów, tj. S1, S3 i Z1. Hodowle tych szczepów wytwarzały w dominującej ilości kwas propionowy — P (18,6 mM, 34,13 mM i 25,81 mM/l) oraz octowy — O (9,25 mM, 15,18 mM i 12,42 mM/l), przy niewielkiej zawartości kwasu masłowego — M (0,31—0,66 mM/l), izomasłowego — IM (0,04—0,23 mM/l) i izowalerianowego — IW (0,1—0,28 mM/l). Z kwasów nietlonych wykazany został jeszcze kwas bursztynowy — B, w średniej koncentracji (< 2,5 mM/l). Zatem wszystkie te izolaty posiadały, w swojej formule metabolicznej, kwasy uznawane — według obowiązujących zasad — za typowe dla rodzaju *Arachnia*, względnie *Propionibacterium* (3). Praktycznym kryterium dalszego różnicowania tych 2 rodzajów jest test na katalazę (19, 35, 36). Na tej podstawie katalazonegatywne szczepy S1 i Z1 zaliczono do rodzaju *Arachnia*, a izolat S3, wytwarzający ten enzym, zidentyfikowano jako *Propionibacterium*. Profil metaboliczny pozostałych 2 izolatów odpowiadał — w przypadku szczepu S2 — wrzecionowcom *Fusobacterium* (kwas masłowy — M w najwyższej koncentracji: 10,06 mM/l), a w odniesieniu do Z2 beztlenowcom *Bacteroides* (główne kwasy: O — 11,98 mM, P — 2,97 i B — 2,16 mM/l).

Tab. 1. Przynależność rodzajowa wyosobnionych szczepów

Szczep	Lotne kwasy tłuszczowe (w mM/l hodowli)						Kwas bursztynowy (w mM/l)	Katalaza	Rodzaj bakteryjny
	O	P	IM	M	IW	W			
S1	9,25	18,6	0,13	0,44	0,1	—	2,23	—	<i>Arachnia</i>
S2	4,11	1,04	—	10,06	—	—	0,19	—	<i>Fusobacterium</i>
S3	15,18	34,13	0,23	0,66	0,28	—	0,17	+	<i>Propionibacterium</i>
Z1	12,42	25,81	0,04	0,31	0,19	—	2,46	—	<i>Arachnia</i>
Z2	11,98	2,97	0,53	0,14	0,59	0,12	2,16	—	<i>Bacteroides</i>

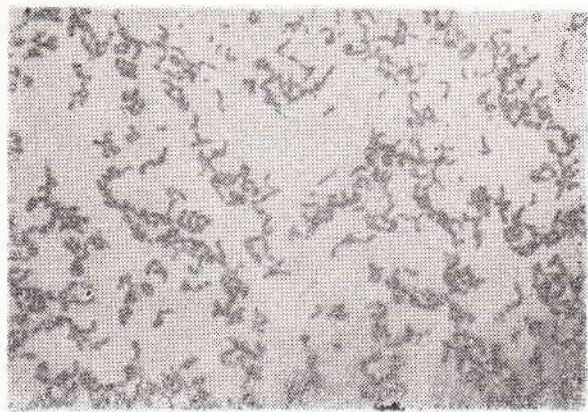
Objaśnienia: O = kwas octowy, P = propionowy, IM = izomasłowy, M = masłowy, IW = izowalerianowy, W = walerianowy.

Szczepy S1 i Z1 rozwijały się w warunkach beztlenowych, a z pewnym opóźnieniem (1—2-dniowym) również w atmosferze tlenowej. Poza tym cechował je duży polimorfizm komórek, polegający na występowaniu form rozgałęzionych (ryc. 5) oraz kokopodobnych (ryc. 6). Stąd też nie różniły się one zasadniczo od opisów podanych przez Gerencser i Slacka (12, 13) dla izolatów *Arachnia propionica* (dawniej *Actinomyces propionicus*). Młode hodowle izolatów S1 i Z1 tworzyły na agarze z surowicą mikrokolonie nitkowate typu „pająka” („spider microcolony”). Natomiast przedłużenie inkubacji do 4 dni prowadziło do powstawania dużych kolonii o nieregularnym brzegu, miernie wypukłych i nieprzezroczystych. Podobną morfologią charakteryzują się drobnoustroje z rodzaju *Arachnia* i *Actinomyces*, izolowane z przypadków promienicy ludzi (1, 2, 4, 5, 25, 26, 28, 33, 37) i zwierząt (14, 15, 17, 18, 20, 40).

Obydwa szczepy S1 i Z1 posiadały jednakową, a przy tym dość silną aktywność fermentacyjną (glukoza, galaktoza, maltoza, laktoza, sacharoza i mannit +; ksyloza, cellobioza i mannit —; indol i żelatyna —; mleko koagulowane bez proteolizy). Wykazane cechy nie mogły stanowić jednak podstaw dla przeprowadzenia identyfikacji gatunkowej. Podobne bowiem właściwości cechują szczepy różnych gatunków rodzaju *Actinomyces* (27, 36). Uwzględniając jednak całokształt powyższych danych, łącznie ze zdolnością wytwarzania dużej koncentracji kwasu propionowego, na ogół nie stwierdzanego u *Actinomyces* (21), uznano izolaty S1 i Z1 za należące do gatunku *Arachnia propionica*. Jedynym odchyleniem w tych właściwościach było nierozpuszczanie żelatyny przez własne szczepy, co odróżniało je od izolatów badanych przez Gerencser i Slacka (13).

Szczep S2 tworzył formy nitkowate komórek ze sferoidami i kolonie w postaci sadzonego jaja („free egg”). Poza tym fermentował glukozę, maltozę i mannozę, ale nie rozkładał sorbitolu i trehalozy (indol +). Zatem całkowicie spełniał aktualnie obowiązujące kryteria identyfikacyjne beztlenowców *Fusobacterium necrophorum* (3, 42).

Również ustalenie przynależności gatunkowej izolatu S3 nie przedstawiało większych trudności. Wykorzystując bowiem postulaty diagnostyczne Cummins (6) został on uznany za *Propionibacterium acnes* (glukoza i sorbitol +, ale sacharoza i eskulina —, indol +, rozpuszczanie żelatyny +). Jedynym odstępstwem od cech przyjętych za typowe dla bakterii tego gatunku było rozkładanie maltozy. Prace jednak Puhvela (30), Reida i Joya (32) oraz Pulverera i Ko (31), a także Soureka i Hudaca (39) wskazywały na występowanie szczepów fermentujących maltozę. Według Vossa (41) izolaty takie, rzadziej na ogół spotykane, tworzą tzw. II grupę biochemiczną *Propionibacterium acnes*.



Ryc. 5. Komórki tworzące rozgałęzienia (szczep S1, pow. 800×)



Ryc. 6. Komórki o układzie przypominającym ziarnia-ki (szczep Z1, pow. 800×)



Ryc. 7. Kolonie szczepu Z2 (pow. 10×)

Szczep Z2 charakteryzowały krótkie pałeczki Gram-ujemne, a przy wzroście na pożywce z hemolizatem krwi — czarne, okrągłe i wypukłe kolonie (ryc. 7). Profilem metabolicznym (kwas octowy dominujący, obecność izokwasów) i fermentacyjnym (glukoza, sacharoza, maltoza i mannoza +, wytwarzanie indolu i proteoliza mleka +) odpowiadał właściwościom typowych beztlenowców *Bacteroides melaninogenicus* (3).

W skład mikroflory, wykazanej w opisywanym przypadku, wchodziły mikroaerofile *Arachnia propionica* oraz beztlenowce niesporulujące *Fusobacterium necrophorum*, *Propionibacterium acnes* i *Bacteroides melaninogenicus* (przy niewystępowaniu właściwie tlenowców). O stwierdzeniu podobnie złożonych zespołów bakteryjnych w promienicy człowieka doniósł niedawno Schal (33).

Wyosobnienie od obu badanych prosiąt (przypadki chorobowe S i Z) mikroaerofilnych drobnoustrojów *Arachnia propionica* pozwoliło uznać opisywane zmiany — nie odpowiadające ropnym — za promienicę. Wspomnieć wypada, iż powyższe schorzenie świń wiązano dotychczas z zarazkami z rodzaju *Actinomyces* (14, 40). Natomiast pałeczkom *Arachnia propionica* przypisywano jedynie znaczenie w niektórych postaciach promienicy człowieka, zwłaszcza dotyczących kanałów łzowych, a opisaną jako formę „lacrimal canaliculitis” (4, 26).

Uzyskane wyniki badań własnych wskazują na możliwość występowania guzów promienicowych także w obrębie głowy świń. Dotychczas bowiem sądzono, iż zmiany chorobowe — u tych zwierząt — lokalizują się jedynie w sutkach (16, 18, 20) oraz w płucach (40). Obserwowane w przypadkach S i Z guzy drażniły do przestrzeni międzyczębowych, co mogło dowodzić orальной drogi rozwoju zakażenia. Sugestię tę popiera fakt wyosobnienia głównie takich drobnoustrojów, które — jak się uważa — normalnie w jamie ustnej bytują (29, 34, 38).

Piśmiennictwo

- Beerens H.: Anns Inst. Pasteur, Paryż 84, 1026, 1953.
- Beerens H., Tunon-Castel M. M.: Injections humaines à bactéries anaérobies non toxigènes, Presses Acad. Europ., Bruxelles, 1969.
- Buchanan K. E., Gibbons N. E.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Baltimore, 1970.
- Buchanan B. B., Fine L.: J. gen. Microbiol. 23, 805, 1962.
- Coleman R. M., Georg L. K.: Appl. Microbiol. 18, 420, 1969.
- Cummings C. S.: J. clin. Microbiol. 2, 194, 1975.
- Cygan Z., Jastrzębski T., Gałęza J., Pielecki M.: Pol. Arch. wet. 17, 231, 1974.
- Cygan Z., Spruch T., Barcz I.: Med. dośw. 33, 85, 1981.
- Cygan Z., Wierciński J., Rubaj B., Barcz I.: Medycyna Wet. 37, 68, 1981.
- Duenens P., Laruelle L. J.: J. Ass. off. analyt. Chem. 59, 613, 1976.
- Georg L., Robertstad G. W., Brinkman S. A., Hicklin M. D.: J. infect. Dis. 115, 88, 1965.
- Gerencser M. A., Slack J. M.: J. Bact. 88, 209, 1964.
- Gerencser M. A., Slack J. M.: J. Bact. 94, 109, 1967.
- Grasser R.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I 184, 478, 1962.
- Hagan W. A., Bruner D. W.: The Infections Diseases Of Domestic Animals With Special Reference To Etiology, Diagnosis, And Biologic Therapy, Ed. Comstock Publ. Ass., New York, 1957.
- Hutyra F., Marek J., Manninger R., Mócsy J.: Szczegółowa patologia i terapia chorób zwierząt, PWRiL, Warszawa, 1962.
- Jensen R., MacKey D. R.: Diseases of feedlot cattle, Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1971.
- Katitch R. V.: Les maladies des animaux domestiques causées par les microbes anaérobies, Ed. Vigot Frères, Paris, 1965.
- King S., Meyer E.: J. Bact. 74, 234, 1957.
- Kostyra J., Wołoszyn S.: Anns Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. DD, 17, 313, 1962.
- Li Y. F., Georg L. K.: Can. J. Microbiol. 14, 749, 1968.
- Ottenstein D. M., Bartley D. A.: J. Chromat. Sci. 9, 673, 1971.
- Pine L.: Int. J. syst. Bact. 20, 445, 1970.

- Pine L., Georg L. K.: Int. J. syst. Bact. 19, 267, 1968.
- Pine L., Hardin H.: J. Bact. 78, 164, 1959.
- Pine L., Hardin H., Roberts S. S., Turner L.: Am. J. Ophthalmol. 49, 1278, 1960.
- Pine L., Howell A., Watson S. J.: J. gen. Microbiol. 23, 403, 1960.
- Prévot A. R.: Les Bactéries Anaérobies, Ed. Crouan et Roques, Paris, 1972.
- Prévot A. R., Joubert L., Goret P.: Anns Inst. Pasteur, Paryż 101, 771, 1961.
- Puhvel S. M.: J. gen. Microbiol. 50, 313, 1968.
- Pulverer G., Ko H. L.: Appl. Microbiol. 25, 222, 1973.
- Reid J. D., Joya M. A.: Int. J. syst. Bact. 19, 273, 1969.
- Schal P.: 1er Symp. Europ. Consacré Aux Bactéries Anaérobies D'Intérêt Médical, Lille, 1960.
- Shah H. N., Williams R. A. D., Bowden G. H., Hardie J. M.: J. appl. Bact. 41, 473, 1976.
- Slack J.: Int. J. syst. Bact. 18, 253, 1968.
- Slack J. M., Landfried S., Gerencser M. A.: J. Bact. 97, 873, 1969.
- Slack J. M., Snyder I. S.: Bacteria And Human Disease. Year Book Medical Publishers, Chicago — London, 1979.
- Smith L. D., Holdeman L.: The Pathogenic Anaerobic Bacteria, Ed. C. C. Thomas, USA, 1968.
- Sourek J., Hudac A.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I 235, 494, 1976.
- Vawter L. R.: J. Am. vet. med. Ass. 834, 198, 1946.
- Voss J. C.: J. Bact. 101, 392, 1970.
- Werner H.: Med. Microbiol. Immun. 157, 299, 1972.

Adres autora: doc. dr hab. Zygmunt Cygan, ul. Żelazowej Woli 6 m. 13, 20-854 Lublin

Цыган З., Волошин С., Верциньский Я., Барч И., Якубович В. — Микроаэрофилли *Arachnia propionica* и неспорულიрующие анаэробы в актиномикозах свиней

Описан случай актиномикоза у 7 среди 200 свиной в стаде. Заболевание характеризовалось отеками, локализованными в поднижнечелюстной и верхнечелюстной областях. Они обладали диаметром 5—12 см и твердой консистенцией. Болезненные изменения, проникающие в межзубные пространства, представляли разрастания тканей с дивертикулами, содержащими небольшое количество устойчивой некротической массы. Выделение из 2 исследуемых свиной микроаэрофильных микроорганизмов *Arachnia propionica* (типичная морфология, пропионовая кислота, доминирующая в культуре, каталаза-) позволило признать описываемые изменения — не соответствующие нарывам — актиномикозом. Кроме того констатировали наличие неспорულიрующих анаэробов *F. necrophorum* и *P. acnes* (случай с изменениями в верхнечелюстной области) а также *B. melaninogenicus* (бугры, локализованные в поднижнечелюстной области). Авторы выдвинули предположение об оральной пути инфекции свиней.

Cygan Z., Wołoszyn S., Wierciński J., Jakubowicz W. — *Arachnia propionica* and asporogenic anaerobes in actinomycotic tubers of pigs

Seven cases of actinomycosis out of 200 pigs examined were described. The disease was characterized by tubers situated in the submandible and jaw regions. The tubers were 5—12 cm in diameter of tough consistency. The lesions consisted of tissue proliferation and necrotic material reaching the interdental spaces. *Arachnia propionica* isolation from the lesions of two pigs (typical morphology, predominant propionic acid, catalase-) allowed to diagnose the disease as actinomycosis. Besides, the presence of asporogenic bacilli, i.e. *F. necrophorum*, *P. acnes* (the case with the lesions in the jaw region) and *B. melaninogenicus* (tubers localized in the submandible region) was noted. The authors suggest the alimentary route of infection.