

MEDYCYNĄ WETERYNARYJNA

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CZASOPISMO POŚWIĘCONE NAUCE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ
 ZAŁOŻONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE
 WYDAWANE Z POMOCĄ FINANSOWĄ POLSKIEJ AKADEMII NAUK

REDAKCJA:

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr hab. Ryszard BADURA,

prof. dr hab. Stanisław WOŁOSZYN

Sekretarz naukowy: doc. dr hab. Elżbieta PEŁCZYŃSKA

Sekretarz redakcji: mgr Maria WITKIEWICZ-TOKARSKA

RADA PROGRAMOWA

Prof. dr hab. Stanisław CAKAŁA, prof. dr hab. Zygmunt CYGAN, prof. dr hab. Zygmunt EWY, prof. dr hab. Tomasz JANOWSKI, prof. dr hab. Teodor JUSZKIEWICZ, prof. dr hab. Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr hab. Zdzisław LARSKI, doc. dr hab. Władysław LUTYŃSKI, dr Janusz MAZUREK, prof. dr hab. Michał MAZURKIEWICZ, prof. dr hab. Kazimierz ROSLANOWSKI, prof. dr hab. Zbigniew SAMBORSKI, prof. dr hab. Abdon STRYSZAK, prof. dr hab. Tadeusz STUDZIŃSKI, prof. dr hab. Eustachy SZELIGOWSKI, prof. dr hab. Marcin SZULC, doc. dr hab. Krzysztof ŚWIEŻYŃSKI, prof. dr hab. Stefan TARZYŃSKI, prof. dr hab. Marian TISCHNER, doc. dr hab. Jan TROPIĘŁO, prof. dr hab. Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr hab. Janusz WAWRZKIEWICZ

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZYGMUNT CYGAN

C. chauvoei w niezwyklej infekcji przyrannej u owiec

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin

Zarazek szelestnicy jest przyczyną rzadko w świecie spotykanych u owiec zakażeń (13), może z wyjątkiem Nowej Zelandii, Maroka i Iranu, gdzie zdarzają się one względnie częściej (2, 15, 28). Osobliwością schorzenia jest ścisły jego związek z ranami (3). Zatem patomechanizm infekcji jest odmienny niż w przypadku bydła, u którego przewód pokarmowy stanowi główną bramę wnikania do organizmu laseczki *C. chauvoei* (12). Opisane u małych przeżuwaczy zakażenia tym drobnoustrojem rozwijają się paralelnie z działaniem różnych urazów, najczęściej doznawanych podczas porodu (3) i strzyży (10, 11, 13), a także wykonywania zabiegów chirurgicznych (11), zwłaszcza gdy są przeprowadzane w miejscu dużej koncentracji zwierząt, np. w obrębie zagród (13). Rzadziej natomiast do powikłań dochodzi w warunkach wolnych wypasów owiec, nawet gdy prowadzi się je na terenach stacjonarnych zachorowań

bydła (26). Wysuwane w tym aspekcie pytanie co do ewentualnych różnic w chorobotwórczości szczepów bydłych i owczych nie doczekało się dotychczas odpowiedzi.

Celem niniejszego doniesienia jest zdiagnozowanie infekcji przyrannej u owiec poranionych przez niedźwiedzia, a także przedyskutowanie roli różnych czynników determinujących patomechanizm procesu chorobowego, zwłaszcza w aspekcie toksynogenności wyizolowanych szczepów.

Materiał i metody

1. Próby mięśni. Przeprowadzono badanie bakteriologiczne — nadesłanych od 2 padłych owiec — wycinków mięśni na obecność laseczek *Clostridium*. Z wywiadu bowiem wynikało podejrzenie wystąpienia beztlenowcowej zgorzeli tkanek (przyżyciowo rozległy obrzęk gazowy w okolicy ran zadanych przez niedźwiedzia).

2. Izolacja zarazka. Płyn wysiękowy z mięśni wysiewano na podłoże Zeisslera inkubowane — przez

3 dni — metodą pyragalolową według Pestiego (23). Podejrzane kolonie namnażano w pożywce Wrzoska wzbogaconej o dodatek 10% surowicy końskiej (uzyskiwane nado wle kontrolowano na brak zanieczyszczeń mikroflorą tlenową).

3. Identyfikacja i charakterystyka zarazka. Badano morfologię kolonii i drobnoustroju oraz jego właściwości fermentacyjne, a także proteolityczne, według metody opisanej w pracy wcześniejszej (6). Wyosobnione szczepy charakteryzowano pod względem mocy wytwarzanej toksyny letalnej (myszy CBA zakażano dożylnie supernatantem 24-godzinnych kultur bakteryjnych, czas obserwacji 3 dni, wyniki przedstawiano w DLM₁₀₀/ml hodowli), a także aktywności w zakresie produkcji hialuronidazy wykrywanej metodą ACRA (22, 1 jedn. = najmniejsza ilość jadu powodująca utratę lepkości 1 dawki wskazującej substratu), dezoksyrybonukleazy oznaczanej metodą leukocytową (27, aktywność wyrażano w dawkach wskazujących w przeliczeniu na 1 ml supernatantu hodowli) oraz hemolizyny mianowanej testem hemolitycznym (17, najmniejsza dawka hemolityczna, tzw. DHM = ilość toksyny w 1 ml powodująca ślad hemolizy). Poza tym sprawdzano zdolność szczepów do wywołania zgorzeli gazowej u zakażonych domięśniowo świnek morskich (dawka 0,5 ml hodowli z 0,5 ml 5% CaCl₂).

Wyniki i omówienie

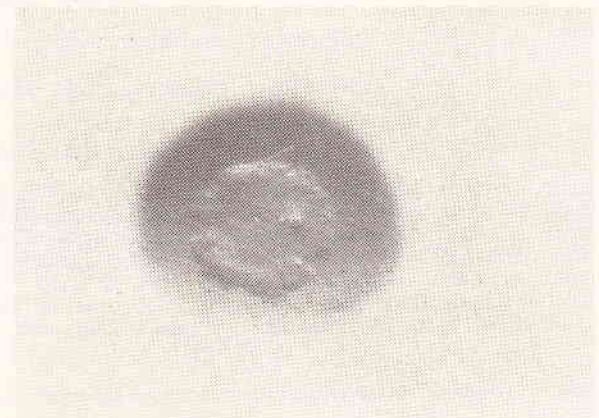
W preparacie bezpośrednim z rozmazu mięśni stwierdzono obecność niezbyt licznych gram-dodatnich laseczek, często nieregularnie rozdzielonych (ryc. 1), które w podłożu Zeisslera tworzyły małe kolonie, raczej płaskie z nieznacznie tylko wyniesionym brzegiem (ryc. 2), względnie lekko wypukłe i w środku kraterowato zapadnięte (ryc. 3). Morfologią zatem obydwie wyizolowane szczepy CCO — 1 i CCO — 2 całkowicie przypominały laseczki *C. chauvoei* wyosobnione od bydła (7, 8). Rozpoznanie wstępne potwierdziły później uzyskane wyniki badań właściwości biochemicznych, które okazały się typowe dla laseczki szelestnicy (laktaza, glukoza, sacharoza, maltoza i salicyna +, ale mannit, eskulina i indol —, a mleko skoaagulowane bez trawienia skrzepu). W przeciwieństwie zatem do Continiego i wsp. (5) nie stwierdzono zdegradowanych izolatów, tj. o zanikłej aktywności wobec sacharozy.

Obydwa szczepy *C. chauvoei* wywoływały po 2 i 4 dniach śmierć świnek morskich wśród objawów zgorzeli gazowej, tj. przy pełnej ekspresji obrzęku gazowego, depilacji skóry i martwicy mięśni (ryc. 4). Warunkiem jednak uzyskania tego efektu było podanie hodowli bakteryjnej z 5% chlorkiem wapnia. Mechanizm stymulowania — przez CaCl₂ — chorobotwórczości beztlenowców *Clostridium* sp. polega na przyspieszaniu kielkowania spor i tworzeniu — na drodze drażnienia tkanek — optymalnego mikrośrodowiska do namnażania się zarazka (24).

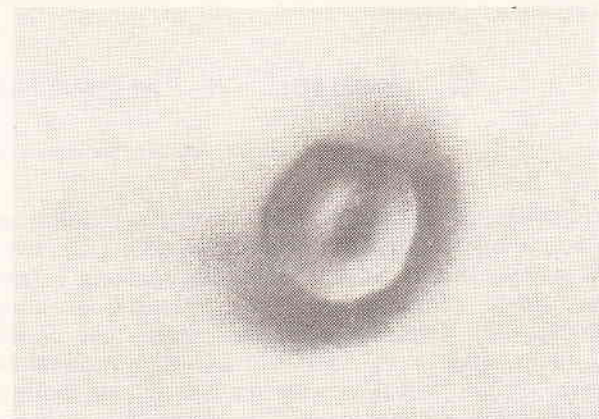
Powyższe wyniki pozwalają uznać obydwie chrobotwórcze izolaty za przyczynę infekcji, która rozwinęła się u 2 owiec zranionych — w czasie ich wypasania na górskim pastwisku — przez niedźwiedzia brunatnego. Zaatakowane zwierzęta doznały rozległych ran dartych długości kilkunastu centymetrów, zlokalizowa-



Ryc. 1. Laseczki *C. chauvoei* w bezpośrednim preparacie z rozmazu mięśni

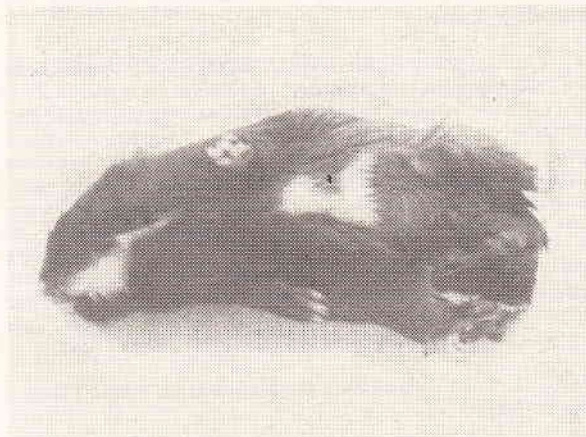


Ryc. 2. Kolonia *C. chauvoei* płaska z nieznacznie wyniesionym brzegiem



Ryc. 3. Kolonia *C. chauvoei* lekko wypukła, a w środku kraterowato zapadnięta

nych w okolicy grzbietu i okolicy łopatkowej. Dobry na ogół początkowo stan ogólny owiec (tryk i maciora) pogorszył się w 7 i 10 dniu, bowiem wtedy dopiero rozwinął się — w miejscu odniesionych ran — maszynowy obrzęk szeleszczący, a po kilkunastu godzinach nastąpiło zejście śmiertelne wśród objawów prostracji i ewidentnej toksemii. Zmienione chorobowo-



Ryc. 4. Zmiany zgorzelowe w mięśniach zakażonej świnki morskiej

wo mięśnie były brunatnoczarne, konsystencji gąbczastej, a trupy tych zwierząt gniły wolno, co jest wyjaśniane zakwaszeniem tkanek jako następstwem nasilonej hydrolizy węglowodanów spowodowanej przez drobnoustrój szelestnicy (14).

Wystąpienie beztlencowcowych infekcji przyranych u owiec warunkuje szereg czynników wiążących się ze źródłem zakażenia, rodzajem rany oraz dawką i właściwościami toksynogennymi zarazka. Jako rezerwuuar *C. chauvoei* wymieniany jest przewód pokarmowy, a zwłaszcza ziemia (25), chociaż nie współtworzy jej ekosystemu bakteryjnego tylko ją zanieczyszcza (19), przy czym przeżywalność zarazka podtrzymują okresowe przypadki namnażania się zwykle w trupach padłych zwierząt, a dopiero z nich przedostają się spory — w rezultacie zabiegów agrotechnicznych i procesów hydrobiologicznych — do powierzchniowej warstwy gleby (14). Inaczej bowiem beztlencowiec zginie w niej samoistnie, aczkolwiek proces tego osobliwego „wyjaławienia” może być opóźniony nawet do kilkunastu lat, jak np. w czarnoziemach (26). Wspomnieć należy, że przedstawiany w pracy przypadek szelestnicy u owiec miał miejsce w rejonie notowania tej choroby u bydła. Zatem z ziemią tych okolic należy wiązać źródła powstałej infekcji.

Kluczowe znaczenie dla rozwoju procesu chorobowego posiada rodzaj urazu tkanek, przy czym najgroźniejsze są rozległe obrażenia, połączone z martwicą i uszkodzeniem naczyń krwionośnych, co ułatwia wtedy rozwój *C. chauvoei* poprzez wywołane niedokrwienie (ischemia) i niedotlenienie (anoksja), prowadzące w końcu do spadku potencjału oksydoredukcyjnego (16). Takie sprzyjające namnożeniu zarazka warunki zapewniają niewątpliwie rany darte, w których szczególnie łatwo o zaleganie cząstek ziemi pobudzającej wzrost *Clostridium* (9, 21). Co więcej, inokulum zakażające zmniejsza się w martwicy pourazowej aż tysiąckrotnie (1), podczas gdy dla tkanek nie zmienionych

Tab. 1. Aktywność toksynogenna wyosobnionych szczepów *C. chauvoei*

Szczep	Wytwarzane toksyny			
	alfa (DLM ₁₀₀ /ml)	beta (dawek wsk./ml)	gamma (dawek wsk./ml)	delta (DHM/ml)
CCO—1	4	640	64	4
CCO—2	2	2560	64	4

wynosi 10⁴/g (4). Inny jeszcze czynnik predysponujący do zachorowań stanowi zimno, przedłużające przeżywalność w mięśniach spor *C. chauvoei* (18). Być może, że odegrało ono jakąś rolę również w przedstawionym przypadku, który miał miejsce w sezonie rozpoczynających się chłodnych dni jesiennych.

Rzadkie przypadki występowania szelestnicy po nieznacznych urazach, np. galki ocznej u jagniąt atakowanych przez kruki (choroba „crow pick”, cyt. wg 15), można tłumaczyć większą zjadliwością niektórych szczepów. W sumie bowiem beztlencowiec *C. chauvoei* wytwarza 4 egzotoksyny (16, 20), tj. letalną (alfa), dezoksyrybonukleazę (beta), hialuronidazę (gamma) oraz hemolizynę (delta). Stwierdzono je także w pełnym komplecie w hodowli obu izolatów CCO — 1 i CCO — 2 (tab. 1), aczkolwiek czynnik alfa występował w niezbyt dużej ilości (2 i 4 DLM₁₀₀/ml), podobnie też hemolizyna delta (4 DHM/ml), ale jest to już cechą tego zarazka (14). Wysoka natomiast była koncentracja hialuronidazy (640 — 2560 dawek wsk./ml) i dezoksyrybonukleazy (64 dawek wsk./ml). Zatem powyższy skład wytwarzanych jadów — nawet przy niezbyt dużej zawartości antygeny alfa — decydował o działaniu zgorzelotwórczym izolatów owczych, które pod tym względem zupełnie przypominały szczepy bydłowe *C. chauvoei* (8, 10, 14).

W tym aspekcie rozważając przypadek szelestnicy u obu zranionych owiec można przyjąć za prawdopodobne wyjaśnienie, iż rozwojowi tak niezwyklej infekcji sprzyjały szczególne okoliczności determinowane nie tylko rodzajem zranień, ale wynikające również ze znacznej możliwości inwazyjnej zarazka (duża aktywność w toksynogenezie antygenów beta i gamma) oraz z uwarunkowań glebowych, tj. związanych ze źródłem zarazka, o czym świadcza przypadki występowania stacjonarnych — w tym rejonie — zachorowań bydła.

Piśmiennictwo

1. Attemeier W. A., Furste W. L.: *Surg. Gynecol. Obstet.* 84, 537, 1947.
2. Ardehal M., Darakhshan H.: *Archs Inst. Razi* 27, 37, 1975.
3. Blood D. C., Radostits O. M., Henderson J. A., Arundel J. H., Gay C. C.: *Blackleg, in Veterinary Medicine, Bailliere Tindall, London — Philadelphia — Toronto 1983*, s. 541.
4. Brummelkamp W. H., Legutt P., Lam D., Boissevain Ch. H.: *Anaerobic infection, Acad. Press, Amsterdam 1980*.
5. Contini A., Marazain E., Indini G.: *IV^e Symp. de la Commission pour l'étude maladies causées par les anaérobies*, 16—18 novembre, Paris 1982.

6. Cygan Z.: Clostridia w narządach zwierząt zdrowych i raniących. Praca dok. Lublin 1967.
7. Cygan Z., Buczek J., Tomaszewska M., Chwesiak W.: Wyuczne laboratoryjnego rozpoznawania szelstnicy u bydła i owiec. Instytut Weterynarii, Puławy 1969.
8. Cygan Z., Wotoszyn S., Gązik Z., Jakubowicz W.: Medycyna Wet. 40, 199, 1984.
9. Finegold S. M., Rosenblatt J. E.: Medicine 52, 411, 1973.
10. Jakubowicz W.: Clostridia w zakażeniach mięśni u bydła i owiec. Praca dok., Lublin 1966.
11. Jensen R.: Diseases of sheep. Lea and Febiger, Philadelphia 1974, s. 317.
12. Jensen R., MacKay D. R.: Diseases of feedlot cattle. Lea and Febiger, Philadelphia 1971, s. 135.
13. Jensen R., Swift B. L.: Diseases of sheep. Lea and Febiger, Philadelphia 1982, s. 271.
14. Kautch R. V.: Les maladies des animaux domestiques causées par les microbes anaérobies. Vigot Freres, Paris 1965.
15. Kerry J. B., Jackson M. A.: IV^e Symp. de la Commission pour l'étude des maladies animales causées par les anaérobies, Paris 16-18 novembre 1982, s. 9.
16. MacLennan J. D.: Bact. Rev. 26, 177, 1962.
17. Meisel H., Albrycht H.: Med. dośw. 1, 27, 1955.
18. Minett F. C.: J. comp. Path. 58, 259, 1948.
19. Minett F. C., Dhanda M. R.: Indian J. vet. Sci. 11, 308, 1942.
20. Moussa R. S.: J. Bact. 76, 538, 1958.
21. Oakley C. L.: Br. med. Bull. 10, 52, 1954.
22. Oakley C. L., Warrack G. H.: J. Path. Bact. 63, 45, 1951.
23. Pesti L.: Acta vet. hung. 15, 447, 1965.
24. Princewill T. J.: J. comp. Path. 75, 343, 1965.
25. Smith L. D.S.: The pathogenic anaerobic bacteria. Thomas C. C., Springfield, 1975, s. 231.
26. Stamatini N., Ungureanu C.: Bull. Off. int. Epizoot. 67, 1251, 1967.
27. Warrack G. H., Bidwell E., Oakley C. L.: J. Path. Bact. 63, 293, 1951.
28. Anonym.: New Zealand 7, 13, 1980.

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

Цыган З. — *C. chauvoei* в необычной раневой инфекции у овец

У 2 овец раненных бурым медведем, пребывающих на горном пастбище, развился через 7 и 10 дней шестеластый газовой отек, а вследствие возникшего осложнения последовала через короткое время смерть обоих животных. Из взятых вырезок мышц изолировано 2 штамма *C. chauvoei*, как единственную болезнетворную микрофлору. Изолированные микроорганизмы были охарактеризованы по токсиногенной активности, т.е. по части количества образуемого детального альфа-, а также бета-, гамма- и дельта-токсина. На основе этого случая и отмеченных черт болезнетворных штаммов про- дискутировано механизм возникшей инфекции.

Cygan Z. — *C. chauvoei* in uncommon wound infection in sheep

In two sheep injured by a teddy bear on mountains grazing developed after 7 and 10 days rustling gas oedema and the animals died after a short time as a result of complications. From samples of muscles, only two strains of *C. chauvoei* were isolated as a pathogenic microflora. The isolates were characterized on the basis of toxinogenic activity: amounts of produced lethal toxins alpha, beta, gamma and delta. In the light of the described clinical case and pathogenic properties of the isolated strains the mechanism of clostridial infection in sheep was discussed.

KRZYSZTOF KWIATEK, CEZARIUSZ ŻÓRAWSKI,
WOJCIECH KOZACZYŃSKI, BOLESŁAW WOJTON

Odczyn tuberkulinowy i zmiany patologiczne u świń sztucznie zakażonych *Myc. avium* i *Myc. intracellulare*

Instytut Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Alergię tuberkulinową i zmiany chorobowe u świń mogą wywoływać wszystkie trzy typy prątka gruźlicy, jak również prątki atypowe (7, 11, 13, 16, 17, 19, 20). Zakażenie świń tymi drobnoustrojami odbywa się niemal wyłącznie drogą przewodu pokarmowego, a miejscem wniknięcia zarazka w obrębie tego układu bywa zwykle jelito cienkie lub migdałki. Dalszy rozwój procesu chorobowego zależy od szeregu czynników, a przede wszystkim od stopnia zjadliwości zarazka, jego ilości, od stanu ogólnego i wieku zwierzęcia, które uległo zakażeniu oraz od warunków środowiskowych.

W naszym kraju prątki ptasie i atypowe są obecnie najczęstszą przyczyną występowania u świń rzeźnych zmian chorobowych, określanych jako gruźlicze lub gruźliczopodobne, w węzłach chłonnych, zwłaszcza zuchwowych i krezkowych (4, 7, 13, 17). Spośród trzech serotypów *Myc. avium* występujących u świń, dominującą rolę odgrywa serotyp 2 (4, 7, 17).

Z grupy prątków atypowych *Myc. intracellulare* serotyp 8 jest opisywany stosunkowo często jako czynnik wywołujący masowe zakażenia u świń (19, 20).

Celem pracy było: a) zbadanie czy istnieją różnice w zjadliwości dla świń *Myc. avium* serotyp 2 i *Myc. intracellulare* serotyp 8, które taksonomicznie należą do jednej grupy prątków MAIS, ale różnią się serologicznie, b) określenie ich chorobotwórczości dla świń oraz właściwości uczulających na stosowanie w badaniach rutynowych tuberkuliny.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 16 tuberkulinoujemnych warchlakach w wieku ok. 3 miesięcy. Pochodziły one od 2 macior (po 8 prosiąt w miocie) znanego pochodzenia i zdrowotności. Warchlaki podzielono na 2 równe grupy A i B. Zwierzęta grupy A zostały zakażone *per os* zawiesiną 14-dniowej hodowli *Myc. avium* serotyp 2 (szcep TB). Warchlakom grupy B podano tą samą drogą podobną zawiesinę *Myc. intracellulare* serotyp 8 (Davies). Szczepy pochodziły z kolekcji szczepów Pracowni Immunologii Gruźlicy Instytutu Weterynarii w Puławach. Każdy warchlak otrzymał dawkę ok. 100 mg półsuchej masy prątków, podawaną w ciągu trzech dni z karmą tj. ok. 1 mg prątków na 1 kg masy ciała/dzień.

Zakażone warchlaki (po 2 z każdej grupy) poddawano ubojowi diagnostycznemu w następujących terminach: po 6 i 48 h oraz po 42 i 84 dniach. Po uboju przeprowadzano badanie sekcyjne, w czasie któ-