

TADEUSZ FRYMUS, STEPHEN LEŚNIEWSKI, ADAM ŻURAWSKI*

Występowanie toksynotwórczych bakterii z rodzaju *Pasteurella* u przeżuwaczy*)

Katedra Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

*Lecznica dla Zwierząt w Ceranowie, 08-322 Ceranów

Summary

Toxigenic *Pasteurella* strains in ruminants

Nasal swabs from 278 sheep, 118 cattle and 13 goats from several herds in Poland were investigated for the presence of toxigenic strains of *Pasteurella* by a commercial ELISA test. Nasal swabs from 12 dogs and 3 horses were also included in the study. The animals of different sex, age and breed, all clinically healthy, were kept on unsuspected farms except for 27 sheep with the symptoms of fever and mucopurulent nasal discharge. Toxigenic strains of *Pasteurella* were found in the nasal cavities of 8 healthy sheep and cattle.

Rhinitis atrophicans (zakaźne zanikowe zapalenie nosa) jest ważną z ekonomicznego punktu widzenia chorobą świń. Straty, jakie wywołuje wynikają z gorszego wykorzystania paszy, zmniejszenia tempa przyrostu zwierząt, ograniczeń w rozprawianiu świń do celów hodowlanych, a także z dość kosztownych programów profilaktycznych. Najgroźniejsza, tzw. enzootyczna (progresywna) postać tej choroby jest wprowadzanie z reguły infekcją mieszaną, ale decydującą rolę odgrywają w niej szczepy *Pasteurella multocida* subspecies *multocida* produkujące tzw. toksynę dermonekrotyczną (2, 13, 23). Ona to jest odpowiedzialna za zmiany w okolicy nosowej powstające w przebiegu tej choroby (10).

Toksynotwórcze szczepy *Pasteurella multocida* występują też u innych niż świnia gatunków – u bydła, kóz, królików, indyków, psów, kotów, szczerów, a także u człowieka (1, 3, 4, 8, 9, 15, 19, 22, 27). Ich patogenność dla tych zwierząt i ludzi nie jest jasna, ale u bydła (19, 21, 24), kóz (1) i królików (3, 12, 15) znane są naturalne zachorowania, których przebieg i objawy, a także towarzyszące im zmiany anatomopatologiczne są bardzo podobne do zakaźnego zanikowego zapalenia nosa świń, a u chorych zwierząt stwierdzono w jamach nosowych obecność toksynotwórczych szczepów *Pasteurella multocida*. Zarazkami tymi u kóz (1), a toksyną u cieląt (25) i królików (16, 27) udało się wywołać doświadczalnie objawy i zmiany typowe dla zakaźnego zanikowego zapalenia nosa świń. Stąd powstała hipoteza, że *rhinitis atrophicans* jest chorobą wielu gatunków zwierząt i że nie można wykluczyć wzajemnego zakażenia się osobników różnych gatunków.

Zakaźne zanikowe zapalenie nosa świń występuje w Polsce od dawna podobnie jak i toksynotwórcze szczepy *Pasteurella multocida* u tego gatunku zwierząt (10, 18). Niedawno stwierdzono w naszym kraju *rhinitis atrophicans* także i u królików, a z ich jam nosowych wyizolowano toksynotwórcze szczepy *Pasteurella multocida* (14, 15). Pojawiło się zatem pytanie, czy inne niż świnia i królik gatunki są w Polsce nośicielami tych zarazków. Celem niniejszej pracy było znalezienie odpowiedzi na to pytanie. Biorąc pod uwagę znane z literatury

światowej przypadki spontanicznego *rhinitis atrophicans* u kóz i bydła postanowiono przebadać przede wszystkim przeżuwacze.

Materiał i metody

Zwierzęta. Badania przeprowadzono na losowo dobranych zwierzętach różnej płci i wieku pochodzących z indywidualnych oraz uspołeczniionych gospodarstw województw siedleckiego, warszawskiego, ciechanowskiego i poznańskiego. Przebadano 409 przeżuwaczy (278 owiec, 118 sztuk bydła i 13 kóz). Do pracy włączono także wymazy od 12 psów i 3 koni. Wszystkie zwierzęta były klinicznie zdrowe z wyjątkiem 27 owiec, które miały objawy gorączki i śluzowo-ropny wypływ z nosa.

Badania wymazów z nosa na obecność toksynotwórczych szczepów *Pasteurella*. Wymazy pobierano za pomocą jałowych wacików wprowadzanych głęboko do jamy nosowej. W ciągu kilku do kilkunastu godzin od pobrania wysiewano je na agar z krwią baranią z dodatkiem 2 µg/ml siarczanu neomycyny i 3,5 µg/ml bacytracyny. Po inkubacji w temperaturze 37°C przez 18-24 godziny bakterie splukiwano i badano na obecność dermonekrotycznej toksyny testem ELISA (DAKO PMT ELISA, DAKO A/S, Dania).

Wyniki i omówienie

Wyniki pracy przedstawiono w tab. 1.

Dermonekrotyczna toksyna *Pasteurella multocida* możliwa jest do wykrycia różnymi metodami, m.in. w teście skórnym na świnkach morskich, w badaniu letalności dla myszy, efektu cytotatycznego w hodowli komórkowej, testem ELISA, a ostatnio także przy użyciu sondy genetycznej i innych technik biologii molekularnej. Spośród tych wszystkich metod powszechne zastosowanie znalazł test ELISA z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych, taki jaki użyliśmy w niniejszej pracy. Nie budzi on zastrzeżeń natury humanitarnej, pozbawiony jest niedogodności technicznych związanych z innymi metodami *in vitro*, a ma wystarczającą czułość (6, 7).

Tab. 1. Toksynotwórcze bakterie z rodzaju *Pasteurella* w wymazach z nosa losowo dobranych zwierząt

Gatunek	Liczba zbadanych wymazów	Liczba wymazów z toksynotwórczymi bakteriami z rodzaju <i>Pasteurella</i>
Owce	278	8
Bydło	118	4
Kozy	13	0
Psy	12	0
Konie	3	0
Razem	424	12

*) Praca wykonana w ramach projektu badawczego KBN nr 5 0825 91 01.

Dane przedstawione w tab. 1 wskazują, że w naszym kraju toksynotwórcze bakterie z rodzaju *Pasteurella* występują także u bydła i u owiec. Stwierdzono je w prawie 3,5% wymazów od bydła i w niespełna 3% wymazów pobranych od owiec. Odsetki te wydawać się mogą niezbyt wysokie. Jeśli się jednak weźmie pod uwagę fakt, że badaliśmy w większości zwierzęta klinicznie zdrowe i ze zdrowych stad, trudno nie dostrzec analogii do sytuacji u świń. U tego gatunku nawet w stadach z enzootycznie występującym zakaźnym zanikowym zapaleniem nosa toksynotwórcze szczepy stanowią zazwyczaj jedynie część flory *Pasteurella multocida* zasiedlającej jamy nosowe (2, 26). Także u królików pochodzących ze stada z *rhinitis atrophicans* wyizolowaliśmy uprzednio toksynotwórcze szczepy *Pasteurella multocida* jedynie od trzech na 36 przebadanych zwierząt (15). Być może więc inwazyjność tych zarazków także u owiec, bydła czy królików nie jest duża. Kolonizacja jamy nosowej prosięcia tymi bakteriami dojść może do skutku jedynie po uprzedniej infekcji *Bordetella bronchiseptica* lub zadziałaniu innych czynników sprzyjających (2).

Wytwarzanie dermonekrotycznej toksyny przez izolaty *Pasteurella multocida* pochodzące od różnych gatunków zwierząt, a także przez szczepy należące do serotypów zarówno D jak i A, czy wreszcie ostatnio przez inne podgatunki niż *Pasteurella multocida ssp. multocida* nasuwało pytanie o identyczność wytwarzanej przez nie toksyny. Dotychczasowe badania budowy i właściwości toksyn pochodzących ze szczepów typu D i A izolowanych w różnych rejonach Europy i Ameryki Północnej od różnych gatunków zwierząt (świnia, koza, królik, szczur, kot, drób) i człowieka nie ujawniły różnic pomiędzy nimi (9, 11). Także identyczna okazała się toksyna wytwarzana przez stwierdzone u bydła w Holandii szczepy należące do innego podgatunku niż *Pasteurella multocida ssp. multocida* (19). Wiele wskazuje na to, że zarówno klasyczne izolaty *Pasteurella multocida ssp. multocida* pochodzące od świń i innych gatunków, jak i wyizolowane ostatnio od bydła w Holandii i w Niemczech „nietypowe” bakterie z rodzaju *Pasteurella* mają toksynotwórczość kodowaną takim samym genem (5).

Stwierdzenie w naszym kraju nosicielstwa toksynotwórczych bakterii z rodzaju *Pasteurella* u bydła i owiec, a przedtem u królików rzuca nowe światło na potencjalne drogi szerzenia się zakaźnego zanikowego zapalenia nosa świń. W Wielkiej Brytanii opisane są przypadki zawleczenia enzootycznej (progresywnej) formy tej choroby do chlewni, w których świnie nie wchodziły z pewnością w grę jako źródło zakażenia (17). Z drugiej strony znany jest wybuch pastereleozy królików w związku z zakaźnym zanikowym zapaleniem nosa świń (20). W Norwegii z kolei opisano ogniska *rhinitis atrophicans* u kóz, które nie kontaktowały się ze świniami (1). Wyniki niniejszej pracy wskazują, że i w naszym kraju brać trzeba pod uwagę ryzyko zakażenia świń od innych gatunków zwierząt. Ma to szczególne znaczenie przy zabezpieczaniu chlewni wolnych od tej choroby.

Wniosek

Bydło i owce w naszym kraju są nosicielami bakterii z rodzaju *Pasteurella* wytwarzających toksynę dermonekrotyczną.

Piśmiennictwo

1. Baalsrud K. J.: Vet. Rec. 121, 350, 1987.
2. Chanter N., Rutter J. M.: Pasteurellosis in pigs, w: Pasteurella and Pasteurellosis, red. Adlam C., Rutter J. M., Academic Press, London, 1989.
3. DiGiacomo R. F., Deeb B. J., Brodie S. J., Zimmermann T. E., Veltkamp E. R., Chrisp C. E.: Am. J. vet. Res. 54, 1280, 1993.
4. Donnio P. Y., Avril J. L., Andre P. M., Vauzel J.: J. med. Microbiol. 34, 333, 1991.
5. Ehlers J., Shimmel D., Sachse K., Boehnke H.-J., Schöss P.: Dt. tierärztl. Wschr. 100, 461, 1993.
6. Erler W., Hänel I., Hotzel H., Müller W., Schimmel D.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 106, 194, 1993.
7. Foged N. T., Nielsen J. P., Pedersen K. B.: J. clin. Microbiol. 26, 1419, 1988.
8. Forberger R.: Untersuchungen über toxinbildende Pasteurella multocida. Stämme im besonderen vom Kaninchen. Praca dokt., Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, 1991.
9. Frandsen P. L., Foged N. T., Petersen S. K., Bording A.: J. vet. Med. B 38, 345, 1991.
10. Frymus T.: Rola dermonekrotycznej toksyny Pasteurella multocida w patogenie zakaźnego zanikowego zapalenia nosa świń oraz możliwości immunoprofilaktyki tej choroby. Praca hab., SGGW-AR, Warszawa, 1988.
11. Frymus T., Müller E., Petzoldt K.: J. vet. Med. B 36, 199, 1989.
12. Frymus T.: Dt. tierärztl. Wschr. 97, 364, 1990.
13. Frymus T.: Medycyna Wet. 46, 3, 1990.
14. Frymus T., Jakubowski T., Bielecki W.: Medycyna Wet. 46, 484, 1990.
15. Frymus T., Bielecki W., Jakubowski T.: J. vet. Med. B 38, 265, 1991.
16. Frymus T., Bielecki W., Jakubowski T.: Medycyna Wet. 47, 387, 1991.
17. Goodwin R. F. W., Chanter N., Rutter J. M.: Vet. Rec. 126, 452, 1990.
18. Grądzki Z., Winiarczyk S., Wołoszyn S.: Medycyna Wet. 50, 610, 1994.
19. Kamp E. M., ter Laak E. A., de Jong M. F.: Vet. Rec. 126, 434, 1990.
20. Lund A., Framstad T.: Nor. Veterinaertidsskr. 100, 899, 1988.
21. Martin J.: Mh. Vet.-Med. 24, 219, 1969.
22. Nielsen J. P., Bisgaard M., Pedersen K. B.: Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. B 94, 203, 1986.
23. Pedersen K. B., Nielsen J. P., Foged N. T., Elling F., Nielsen N. C., Willeberg P.: Vet. Rec. 122, 190, 1988.
24. Roumen M. P. H. M., van de Goor P. T. C. H.: Tijdschr. Diergeneesk. 113, 28, 1988.
25. Schimmel D., Erler W., Putsche R., Jacob B.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 105, 233, 1992.
26. Schöss P., Thiel C.-P., Schimmelpfennig H.: Dt. tierärztl. Wschr. 92, 316, 1985.
27. Suckow M. A., Chrisp C. E., Foged N. T.: Lab. Anim. Sci. 41, 151, 1991.

Adres autora: prof. dr hab. Tadeusz Frymus, ul. Wiolinowa 2 m. 54, 02-785 Warszawa

CHASEY D., LUCAS M. H., WESTCOTT D. J., SHARP G., KITCHING A., HUGHES S. K.: Postęp w metodach rozpoznawania krwotocznej posocznicy królików. (Development of adiagnostic approach to the identification of rabbit haemorrhagic disease). Vet. Rec. 137, 158-160, 1995 (7)

Posocznica krwotoczna królików jest wysoce zakaźną, śmiertelną chorobą o ostrym przebiegu, opisaną po raz pierwszy w Chinach w 1984 r. Europe opanowała w latach 1986-1992. Pierwsze przypadki posocznicy krwotocznej u królików zdiagnozowano na terenie Wielkiej Brytanii w 1992 r. Badania nad przydatnością diagnostyczną testu ELISA, odczynu hemaglutynacji oraz negatywnego barwienia w mikroskopie elektronowym przeprowadzono z preparatami sporządzonymi z wątroby królików zakażonych na drodze naturalnej, wykazujących objawy chorobowe oraz królików zakażonych eksperymentalnie. Odczyn hemaglutynacji nie umożliwia rozpoznania wszystkich przypadków zakażeń ponieważ chorobę może też wywołać wirus pozbawiony właściwości hemaglutynacyjnych. Stosując odczyn zahamowania hemaglutynacji wykazano, że duży odsetek królików żyjących w laboratoriach i na wolności posiada przeciwciała dla wirusa posocznicy krwotocznej. W populacji królików występuje więc wirus o pokrewnej strukturze antygenowej z wirusem posocznicy krwotocznej, ale pozbawiony chorobotwórczości. Dodanie wyników odczynu ELISA lub badania w mikroskopie elektronowym u 73% zwierząt były skorelowane z mianami hemaglutynacji > 1024.