

ANTONI J. FUROWICZ, DANUTA CZERNOMYSY-FUROWICZ,
MARZENA MISIURA, MARZENA KOWALCZEWSKA

Enterotoksyczny szczep *Yersinia pseudotuberculosis* przyczyną jersiniozy szynszyli

Katedra Immunologii i Mikrobiologii Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Doktora Judyma 24, 71-460 Szczecin

Summary

Enterotoxigenic strain of *Yersinia pseudotuberculosis* as the cause of yersiniosis in chinchillas

In the chinchilla farm (1000 animals) many cases of sickness and mortality (8%) were noted. Twenty died chinchilla were examined. The symptoms of diarrhea, dehydration and pyometritis were stated. *Pseudotuberculosis hepatitis, enteritis catarrhalis, lymphadenitis mesenterica, splenitis haemorrhagica* and interstitial pneumonia were found during autopsy. A profuse growth of enterotoxigenic strain of *Yersinia pseudotuberculosis* (RPLA test) was obtained from the internal organs of the chinchillas. Clinical signs, gross lesions and bacteriological examinations suggest a septicemic nature of the disease. All chinchilla from the farm were treated with an immunomodulator (*Propionibacterium acnes*, t. I) and then vaccinated with a formalin inactivated culture of *Y. pseudotuberculosis*. In conclusion the efficacy of immunoprophylaxis of yersiniosis by means of an immunomodulator (*P. acnes*) and *Y. pseudotuberculosis* vaccine was clinically demonstrated.

Drobnoustroje *Y. pseudotuberculosis* wywołują różne objawy kliniczne jersiniozy u wielu gatunków zwierząt hodowlanych i dziko żyjących; dotyczy to zarówno ssaków, jak i ptaków (2, 5, 6, 7, 8). Jednakże grupą zwierząt, u których najczęściej dochodzi do zachorowań i (lub) bezobjawowego nosicielstwa, są gryzonie, a wśród nich gatunki dziko żyjące (króliki, zające), hodowlane (nutrie, szynszyle) oraz laboratoryjne (świnki morskie) (11, 14). Dzikie gryzonie poprzez kał mogą zakażać inne zwierzęta i człowieka (2, 15). Hodowane w domu, są niekiedy przyczyną groźnych „epidemii rodzinnych” (9, 10). W okresie 1954-1971 w ZHW w Katowicach wyizolowano z materiału zwierzęcego 44 szczepy *Y. pseudotuberculosis*; aż 35 szczepów (79,55%) wyosobniono od gryzoni, w tym 30 (68,18%) od nutrii (8). Przebieg choroby u hodowlanych gryzoni jest z reguły ostry. Dochodzi do bakteriemii, w wyniku której powstają liczne ogniska zapalne w wątrobie, śledzionie, nerkach i rzadziej w innych narządach wewnętrznych (2). Jersinioza może powodować poważne straty ekonomiczne w hodowli szynszyli, świnek morskich, nutrii i królików (14).

W styczniu 1994 r. rozpoznano enzootię jersiniozy w prywatnej hodowli szynszyli, obejmującej około tysiąca zwierząt odmiany standard i beige, w tym 600 matek. Chorowało i padło 80 szynszyli, w tym 60 osobników dorosłych i 20

młodych. Klinicznie obserwowano objawy silnej biegunki, prowadzącej do gwałtownego odwodnienia i śmierci. U 18-tu ciężarnych samic wystąpiły roniecia, martwica płodu i zaleganie w macicy oraz ropne zapalenie tego narządu.

Zasadniczym celem pracy była identyfikacja drobnoustrojów wyizolowanych z materiału patologicznego oraz ustalenie stopnia ich zjadliwości. Ponadto podjęto próbę ograniczenia choroby poprzez zabiegi immunomodulacji i uodporniania czynnego.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 20 sztuk padłych szynszyli. Wykonano badania sekcyjne, histopatologiczne i bakteriologiczne. Histologicznie badano wycinki wątroby, stosując barwienia HE, PAS, na obecność żelaza i siateczkę. Izolacji drobnoustrojów dokonywano na podłożach McConkeya i *Yersinia I/94* (z zielenią malachitową i mocznikiem). Różnicowanie biochemiczne wykonywano stosując testy zalecane przez Corbela (3) i innych autorów (4, 14), a enterotoksyczność szczepu określano w teście Reversed Passive Latex Agglutination, wykorzystując zestaw Oxoid, przygotowany do oznaczania enterotoksyczności (LT) *E. coli* i *Vibrio cholerae* (17). Ponadto oznaczano wrażliwość szczepu na antybiotyki, stosując metodę dyfuzyjno-krajkową.

Wyniki i omówienie

Sekcyjnie stwierdzono: *pseudotuberculosis hepatitis, enteritis catarrhalis, lymphadenitis mesenterica, splenitis haemorrhagica, pneumonia interstitialis*; u ciężarnych matek: *pyometritis*, martwicę płodu i zaleganie w macicy. U większości szynszyli na powierzchni wątroby i śledziony odnotowano liczne, jasno szare ogniska martwicze o średnicy 2-3 mm.

Histologicznie stwierdzono w wątrobie martwicę hepatocytów z piknozą i rozpryskiem jąder, liczne ziarniniaki. Ogniska zapalne utkane były z histiocytów, komórek limfoidalnych i neutrofilów.

Wykazano przydatność izolacyjną podłoża McConkeya i *Yersinia I/94*. W wyniku testów biochemicznych, określono wyosobniony szczep jako *Y. pseudotuberculosis* (tab. 1) oraz oznaczono szereg jego właściwości (tab. 2), które były typowe dla tego gatunku.

W oparciu o RPLA-test stwierdzono, że wyizolowany szczep wytwarza enterotoksynę LT (tab. 3). Ponadto odnotowano, że wykazywał on wrażliwość na streptomycynę, neomycynę, sizomycynę, amikacynę, trimetoprim, kanamycynę, tobramycynę, kwas nalidyksowy, chloramfenikol, gentamycynę, nitrofurantoinę oraz karbenicylinę. Wymienione antybiotyki nie zostały wykorzystane w leczeniu tego przypadku jersiniozy. Po dokonaniu selekcji w stadzie (eliminacja osobników chorych), pozostałe szynszyle (poza oseskami) poddano zabiegowi immunoprofilaktyki. Zabieg ten wykonywano w 2 etapach.

Tab. 1. Zasadnicze cechy szczepu *Yersinia*

Barwienie metodą Grama	Krótkie, grube, Gram-ujemne pałeczki, barwiące się biegunowo
Wzrost na podł. <i>Yersinia</i> 1/94 z zielenią malachitową (0,12%), z mocznikiem (25%) i czerwienią fenolową (0,12%)	Wzrost po 6 godz. inkubacji (37°C); w wyniku hydrolizy mocznika zmiana zabarwienia podłoża
Próba O.N.P.G.* wg Le Minor i Ben Hamida	+++
Fermentacja laktozy	****
Fermentacja ramnozy	+
Ruch w temp. 22°C w temp. 37°C	+ -

Objaśnienia: * o-nitrofenilo-B-D-galaktopiranozyd, +++ wytwarzanie enzymu galaktohydrolazy B-D-galaktozydów (B-galaktozydazy), **** brak enzymu B-galaktopermeazy (acetylotransferazy galaktozydowej), odpowiedzialnej za transport substratu.

Tab. 2. Właściwości biochemiczne szczepu *Yersinia pseudotuberculosis*

Testy	Reakcje
Redukcja azotanów, katalaza, fermentacja i gaz z glukozy, hydroliza mocznika, DN-aza	+
Oksydaza, indol, H ₂ S, żelatynaza	-
VP (temp. 25°C) MR (temp. 37°C)	- +
Eskulina, salicyna, melobioza, galaktoza	+
Sorboza, sorbitol, sacharoza	-
Dekarboksylacja lizyny i ornityny	-
Liaza izocytrynianowa	-

Tab. 3. Badanie enterotoksyczności w teście odwróconej biernej aglutynacji lateksowej (RPLA)

Antygeny i podłoża	Obecność enterotoksyny LT
<i>Y. pseudotuberculosis</i> – podłoże Mundell'a	+++
<i>Y. pseudotuberculosis</i> – woda peptonowa (Oxoid CM9)	±
<i>E. coli</i> O149:K91, K88ac* – podłoże Mundell'a	+++
<i>E. coli</i> O149:K91, K88ac – woda peptonowa	++
Liofilizowana enterotoksyna <i>Vibrio cholerae</i> (TD 923) (kontrola zestawu Oxoid)	+++

Objaśnienia: * wzorcowy serotyp *E. coli* z kolekcji C.L.V. Weybridge; kontrola pozytywna, +++ bardzo wyraźna aglutynacja cząstek lateksu opłaśczonego przeciwciałami anti-LT z rozpuszczalnym antygenem bakteryjnym (enterotoksyna), ++ wyraźna aglutynacja, ± odczyn wątpliwy.

W pierwszym wszystkie szynszyle otrzymały preparat Stimulvac (*Propionibacterium acnes* t. 2 – szczep „Kraków”, podskórnie 0,2 mg/kg m.c.) produkcji Wytwórni Surowic i Szczepionek w Warszawie. Następnie po 6-7 dniach, prze-

prowadzono wakcynację, stosując inaktywowaną formaliną szczepionkę, przygotowaną z wyizolowanego szczepu *Y. pseudotuberculosis* (podskórnie 0,2/0,3 ml preparatu/szt.; 1 ml preparatu zawierał 9×10^{12} k. *Y. pseudotuberculosis*).

Opisany przypadek jersiniozy szynszyli został wywołany przez wyjątkowo zjadliwy szczep *Yersinia pseudotuberculosis*. Wskazują na to ostry przebieg choroby (z wysoką śmiertelnością) oraz zmiany anatomopatologiczne. Czynniki mający wpływ na wystąpienie jersiniozy są zaburzenia w zakresie gospodarki wapniowej (niedobór Ca, niekiedy z jednoczesnym wysokim poziomem Mg) oraz żelazowej (długotrwałe podawanie preparatów Fe) (3). Elementy te mogą mieć wpływ na przebieg choroby u szynszyli; nie wykonano jednak badań pozwalających stwierdzić to w sposób jednoznaczny. Zwrócono natomiast uwagę, iż w okresie poprzedzającym zachorowania szynszyli, zarówno stan zoohigieniczny pomieszczeń, jak i sposób żywienia tych zwierząt, nie odbiegały od przyjętych norm hodowlanych. Według Christie i Corbela (2), generalizacja zakażenia *Y. pseudotuberculosis* rozpoczyna się jako drugi etap choroby. W pierwszym, po kolonizacji bakterii na powierzchni receptorów, znajdujących się na mikrokosmkach enterocytów jelita cienkiego, następuje ich inwazja via tkanka limfoidalna jelita do krezkowych węzłów chłonnych i lokalizacja infekcji (*lymphadenitis*). W drugim etapie (generalizacja zakażenia), dochodzi do przenikania (dzięki inwazyjności) i lokalizacji pałeczek *Yersinia* w układzie retikuloendotelialnym (RES). Należy podkreślić, iż należą one do fakultatywnych wewnątrzkomórkowych patogenów bakteryjnych. Wewnątrzkomórkowe przeżycie (zwłaszcza w cytoplazmie komórek fagocytarnych), umożliwiają antygeny V i W oraz białka membrany zewnętrznej, których ekspresja jest determinowana przez plazmid o ciężarze 42×10^6 (1). Wyizolowany szczep w teście odwróconej lateksowej aglutynacji biernej (RPLA), wykazał zdolność do wytwarzania enterotoksyny typu LT. Miało to swoje kliniczne odzwierciedlenie przebiegu choroby (ostra biegunka, szybko prowadząca do odwodnienia i śmierci zwierząt). W piśmiennictwie nie znaleziono danych odnośnie enterotoksyczności *Y. pseudotuberculosis* związanej z produkcją enterotoksyny LT lub ST. Najczęściej wymieniane do tej pory czynniki zjadliwości tego gatunku to: obecność wielu białek zewnętrznej membrany, wykazujących różne funkcje (determinacja oporności na wewnątrzkomórkowe mechanizmy bójcze makrofagów, synteza receptorów dla sideroforów, stymulacja endocytozy przez komórki pozbawione cech fagocytarnych); wytwarzanie adhezyn (kolonizacja), inwazyjność (penetracja), endotoksyny oraz toksyny letalnej dla królików i świnki morskiej (3, 12, 16). Wydaje się, iż opisana właściwość *Y. pseudotuberculosis*, może być efektem przekazania jej w procesie koniugacji przez inne bakterie (zwłaszcza ETEC). Wiadomo, że u *Enterobacteriaceae* cecha ta jest zakodowana w plazmidzie bakteryjnym (2). Przeprowadzone zabiegi immunoprofilaktyczne miały wpływ na zatrzymanie rozwoju jersiniozy; nie obserwowano nowych przypadków zachorowań. Założono, iż dwuetapowy sposób iniekcji, będzie miał w pierwszym rzędzie wpływ na stymulację oporności komórkowej i wzrost liczby aktywnych limfocytów B (Stimulvac), a następnie na wzrost oporności humoralnej (swoiste uodpornianie czynne) (12). Najprawdopodobniej sytuacja taka zaistniała. Jednakże w związku z tym, iż nie wykonywano monitorowania immunologicznego chorych i zdrowych szynszyli, stwierdzenie powyższe ma charakter domniemania i jest oparte na obserwacjach klinicznych.

Piśmiennictwo

1. Carniel E., Mazigh D., Mollaret H. H.: Infect. Immun. 55, 277, 1987.
2. Christie A. B., Corbel M. J.: Plague and other Yersinia Diseases, w: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Bacterial Diseases. Red. G. R. Smith, Ch. S. F. Easmon, t. 3, A Division of Hodder and Stoughton, London 1990.
3. Corbel M. J.: Yersinia, w: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Systematic Bacteriology. Red. M. T. Parker, B. I. Duerden, t. 2, A Division of Hodder and Stoughton, London 1990.
4. Falcão D. P.: Estudos Sobre as Especies Y. enterocolitica e Y. pseudotuberculosis, Tese apresentada á Faculdade Farmacia e Odontologia de Araraquara, para Concurso de Livre Docente na Dis. de Microb. e Immun. do Dep. de Ciên. Pat., Araraquara 1976.
5. Falcão D. P., Ewins W. H., Davis B. R., Hermann G. J.: Rev. Microbiol. (S. Paulo) 9, 109, 1978.
6. Furowicz A. J., Steffen J.: Medycyna Wet. 20, 596, 1964.
7. Furowicz A. J., Steffen J.: Medycyna Wet. 22, 660, 1966.
8. Furowicz A. J., Wachowicz R.: Występowanie rodencjozy u zwierząt na terenie woj. katowickiego, Mat. Nauk. VI Zjazdu Pol. Tow. Epid. i Lek. Ch. Zak., Szczecin 1972, s. 193.
9. Furowicz A. J., Bagnat E., Terzolo H. R., Crenovich H., Pereyra J. J.: Med. Mal. Infect. (Paris) 7, 426, 1977.
10. Furowicz A. J., Terzolo H. R., Bagnat E., Crenovich H., Pereyra J. J.: Medicine (Buenos Aires) 38, 45, 1978.
11. Furowicz A. J., Czernomysy-Furowicz D., Dąbrowski W., Misiura M.: Yersinioza u szynszyli, Mat. X Konf. Nauk.: „Diagnostyka Mikrobiologiczna”, Rocznik Woj. Inst. Hig. Epidem., t. 31, supl. 1, Puławy 1994.
12. Furowicz A. J., Czernomysy-Furowicz D., Kowalczywska M.: Mechanizmy zjadliwości Yersinia związane ze ścianą komórkową, Medycyna Wet. (w druku).
13. Isberg R. R., Falkow S.: Nature 317, 262, 1985.
14. Knapp W., Weber A.: Yersinia pseudotuberculosis w: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Red. H. Blobel, T. Schlisser, Veb. Gustav Fischer Verlag, Jena 1982.
15. Steffen J., Furowicz A. J., Zieliński Z.: Medycyna Wet. 22, 270, 1966.
16. Straley S. C., Bowmer W. S.: Infect. Immun. 51, 445, 1986.
17. The Oxoid Manual (katalog), 6th Ed. Revised, 1990.

Adres autora: prof. dr hab. Antoni J. Furowicz, ul. Monte Cassino 16a/2, 70-466 Szczecin

MIROSLAW M. MICHALSKI

Występowanie *Cysticercus tenuicollis* i *Echinococcus* u świń rzeźnych

Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej ART, ul. M. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn-Kortowo

Summary

Prevalence of *Cysticercus tenuicollis* and *Echinococcus* in slaughter pigs

The aim of the studies was to evaluate the extensiveness and intensity of *T. hydatigena* and *E. granulosus* invasion and analyse their localization in the liver of pigs. 2500 livers were examined in the Olsztyn abattoir in 1994. In 129 (5.16%) cases tapeworm larvae were found. In 82.17% of cases 1-3 larvae were found in the liver, while in 17.83% more than 3 larvae were noted. In 52.71% of livers larvae were localized in the left hepatic lobe, in 27.13% in the right lobe and in 20.15% they were disseminated in both hepatic lobes. The extensiveness of tapeworm invasion was high and comparable to a mean value estimated for the whole country. Therefore, it is necessary to draw the attention of dog owners to a regular dehelminthization of dogs and to protect pigs against the penetration of tapeworm eggs into piggeries and pig fattening houses.

Do najczęściej stwierdzanych w wątrobie świń larw tasiemców psa należą *Cysticercus tenuicollis* i *Echinococcus*. Pierwsza jest formą rozwojową tasiemca *Taenia hydatigena*, druga – *Echinococcus granulosus*. Larwy te, pod torebką wątroby lub w jej mięszu tworzą mniejsze lub większe pęcherzyki z płynem i jednym skoleksem (*Cysticercus*) lub z płynem i dużą liczbą skoleksów oraz komór łęgowych (*Echinococcus*).

U świń inwazja larw może być tak duża, że prowadzi do zaniku mięszu wątroby, rozrostu tkanki łącznej oraz przerostu regeneracyjnego, a także do poważnych zaburzeń przemiany materii i strat ekonomicznych (15).

Inwazja larw tasiemców *Taenia hydatigena* i *Echinococcus granulosus* jest często ujmowana w badaniach łącznie – jako bąblowica wątroby. Lis (8, 9) w oparciu o wyniki badań poubojowych stwierdził, że świnię zarażoną są w 5,22-5,62% larwami tych tasiemców, Kozakiewicz (5) zaś stwierdził bąblowicę wątroby świń w rzeźniach woj. poznańskiego w 9,3%. Dużą inwazję larw wymienionych tasiemców stwierdzono także u świń ubijanych w rzeźniach woj. toruńskiego, olsztyńskiego, bydgoskiego, białostockiego, Lublina i Łodzi (2-4, 12, 17-18). Tak duży odsetek świń zarażonych larwami obu tasiemców, stanowić może zagrożenie dla ludzi, szczególnie przy karmieniu psów odpadkami poubojowymi zawierającymi larwy tasiemca *E. granulosus*. Zarażony tasiemcem pies wydalą do otaczającego środowiska dużą liczbę jaj i staje się źródłem zarażenia dla żywicieli pośrednich, w tym ludzi. Mimo tak znacznego zarażenia świń w Polsce wymienionymi rodzajami tasiemców, nie stwierdza się na ogół częstych przypadków zachorowań ludzi. Być może szczep *E. granulosus* występujący u psów w kraju nie daje larw inwazyjnych, a tylko płonne. Możliwe są także inne przyczyny, które prowadzą do powstawania pęcherzy bąblowcowych bez skoleksów i komór łęgowych.

Celem badań była ocena ekstensywności i intensywności inwazji larw tasiemców *T. hydatigena* i *E. granulosus* oraz analiza miejsc ich lokalizacji w wątrobie świń.