

MEDYCYNĄ WETERYNARYJNĄ

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

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

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr Ryszard BADURA,
prof. dr Stanisław WOŁOSZYN

Sekretarz naukowy: doc. dr Elżbieta PEŁCZYŃSKA

RADA PROGRAMOWA

Dr Anatol BACHAREWICZ, prof. dr Henryk BALBIERZ, prof. dr Stanisław CAKAŁA, prof. dr Zygmunt EWY, doc. dr Stefan JAKUBOWSKI, prof. dr Lech JASKOWSKI, prof. dr Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr Tadeusz KRZYMOWSKI, prof. dr Zdzisław LARSKI, dyr. dr Henryk LIS, doc. dr Władysław LUTYŃSKI, prof. dr Edward PINKIEWICZ, prof. dr Zbigniew SAMBORSKI, prof. dr Wiktor STEFANIAK, prof. dr Abdon STRYSZAK, prof. dr Eustachy SZELIGOWSKI, doc. dr Krzysztof SWIEŻYŃSKI, prof. dr Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr Janusz WELENTO, prof. dr Eugeniusz ŻARNOWSKI

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZYGMUNT CYGAN, STANISŁAW WOŁOSZYN*, WITOLD JAKUBOWICZ, ZOFIA GUZIK

Zachorowania bydła opasowego na szelestnicę i obrzęk złośliwy w okresie zimowym

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Śłowicza 2, 20-336 Lublin
* Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR, Al. PKWN 30, 20-033 Lublin

Szelestnica bydła (*Gangraena emphysematosa*) stanowi infekcję powodowaną przez *C. chauvoei* (11, 30, 34). Schorzenie pojawia się enzootycznie, najczęściej w lecie i jesieni, na zakażonych tymi bakteriami pastwiskach (32). Tereny takie, określane przez hodowców francuskich jako „przeklęte pola” (*champs maudits*), warunkują stacjonarność występowania tych zakażeń (32, 34). Rzadziej dochodzić może również do zachorowań zwierząt w okresie zimy (28). Przypadki takich enzootii są na ogół gorzej poznane.

Podobnym schorzeniem, wymagającym różnicowania z szelestnicą, jest obrzęk złośliwy (*Oedema malignum*). Najczęściej przedstawia on egzogenne zakażenie ran na tle *C. septicum* (2, 13, 33, 35). Niekiedy stanowi endogenną infekcję (34), uznawaną czasem — pomimo odrębnej etiologii — za szelestnicę (14, 15). Wspólną cechą tych zakażeń są objawy gazowej martwicy mięśni (*myonecrosis* — 19).

Uznanie wyosobnionych beztlenowców *C. chauvoei* i *C. septicum* za przyczynę śmierci zwierzęcia wymaga zachowania szczególnej ostrożności. Laseczki te mogą być bowiem izolowane z tkanek osobników zdrowych (8, 18) i padłych na schorzenia niebeztlenowcowe (10). Trudność diagnostyczną stwarza duże podobień-

stwo *C. chauvoei* do *C. septicum* (1, 12, 16, 22) oraz występowanie szczepów o nietypowych właściwościach (9).

Za cel badań własnych przyjęto opisanie występujących w zimie zachorowań bydła opasowego z objawami martwicy mięśni. Ponadto dalszym zamierzeniem było zidentyfikowanie i poznanie właściwości chorobotwórczych wyosobnionych beztlenowców oraz ustalenie — na tej podstawie — etiologii zakażeń zwierząt.

Materiał i metody

Zwierzęta. Badaniom poddano wycinki chorobowo zmienionych mięśni, które zostały pobrane od 12 padłych buhajów opasowych, pochodzących z 3 różnych ferm, tj. K (próbki 1 — 7), L (8 — 10) i M (11 — 12).

Posiewy i izolacja. Płyn wysiękowy z mięśni wysiewano na podłoże Zeisslera inkubowane przez 3 dni metodą pyrogallolową według Pestiego (27). Po dojrzaniu kolonie wycinano wraz z agarem i wprowadzano na dno probówek z podłożem Wrzóska, wzbogaconym o dodatek 10% surowicy końskiej. Użytkowane w ten sposób hodowle sprawdzano na brak zanieczyszczeń mikroflorą tlenową (wysiewy na pożywkę Zeisslera, namnażanie w atmosferze tlenowej).

Identyfikacja. Określano morfologię komórki bakteriologicznej i kolonii, właściwości fermentacyjne (substraty: laktoza, glukoza, sacharoza, maltoza, mannit, salicyna, trehaloza i mannoza) oraz proteolityczne (mleko lakmusowe i 15% żelatyna), a ponadto wytwarzanie indolu i zarodników (barwienie metodą Schae-

ffera i Fultona). Swoistość gatunkową toksyny oznaczano odczynem neutralizacji z wykorzystaniem surowic antytoksykacyjnych przeciwko *C. chauvoei* i *C. septicum* (Wellcome Reagents Ltd., Anglia). W tym celu surowicę mieszano w stosunku 1 do 5 z płynem nadosadowym 48 godzinnej hodowli (podłoże Wrzóska z 0,5% glukozy i 2% surowicy końskiej). Czas wiązania reagentów w 37°C wynosił 60 minut. Następnie dawkę 0,25 ml tych płynów wprowadzano dożylnie myszom CBA (obserwacja zwierząt 4 dni). Równocześnie mianowano toksynę na myszach, a jej moc wyrażano liczbą DLM/ml hodowli.

Aktywność zgorzelotwórcza. Świnkom morskim podawano domięśniowo 0,5 ml 48 godzinnej hodowli bakteryjnej (podłoże Wrzóska z 0,5% glukozy i 10% surowicy końskiej) jednocześnie z 0,5 ml 2,5% chlorku wapnia. Powstanie zgorzeli gazowej oceniano na podstawie wystąpienia przyżyciowych objawów toksemii i charakterystycznych zmian pośmiertnych w tkankach (czas obserwacji zwierząt — 4 dni).

Określanie ilościowe toksyn i hemolizyny. Oznaczano toksynę beta (dezoksyrybonukleaza) i gamma (hialuronidaza) metodą ACRA (Acid Congo Red Alcohol) według Oakley'a i Warrack (24). Za jednostkę funkcjonalną tych enzymów przyjęto najmniejszą ilość toksyny powodującą utratę lepkości 1 dawki wskazującej substratu, tj. kwasu dezoksyrybonukleinowego (Zakład Biologii Molekularnej UMCS) oraz hialuronowego (WSS Warszawa). Wyniki podawano w przeliczeniu na aktywność 1 ml hodowli w podłożu Wrzóska.

Toksynę delta (hemolizyna) badano odczynem hemolitycznym w oparciu o zasadę „hot — cold” (ciepło — zimno) podaną w pracy Meisla i Albrycht (20). Jednostkę aktywności stanowiła najmniejsza dawka hemolizyny powodująca wyraźny ślad lizy erytrocytów (DHM — Dosis Haemolytica Minima). Aktywność szczepów wyrażano liczbą dawek DHM zawartych w 1 ml hodowli bakteryjnej.

Wyniki i omówienie

W 3 fermach młodego bydła opasowego (K, L i M) wystąpiły w miesiącach zimowych (grudzień, styczeń) przypadki nagłych zachorowań i padnięć zwierząt z objawami gazowej martwicy mięśni. Z danych zawartych w tab. 1 wynika, że spośród 8408 buhajów padło w ciągu od 1 do 4 tygodni ogółem 130 osobników, tj. 1,55% łącznego stanu tych stad. Liczba padnięć wynosiła w fermie K — 97 szt. (2,31% stada), L — 22 (0,91%) i M — 11 (0,61%).

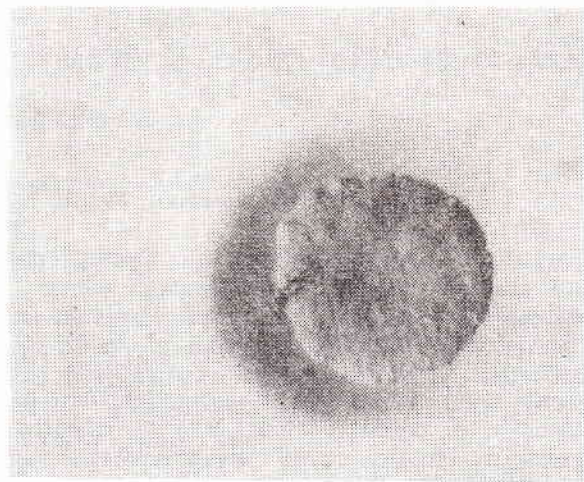
Tab. 1. Rozmiary strat spowodowane padnięciami buhajów

Ferma	Stan zwierząt	Zwierzęta padłe		Czas rejestracji padnięć
		Liczba	procent	
K	4200	97	2,31	4 tygodnie
L	2408	22	0,91	4 tygodnie
M	1800	11	0,61	1 tydzień
Ogółem	8408	130	1,55	

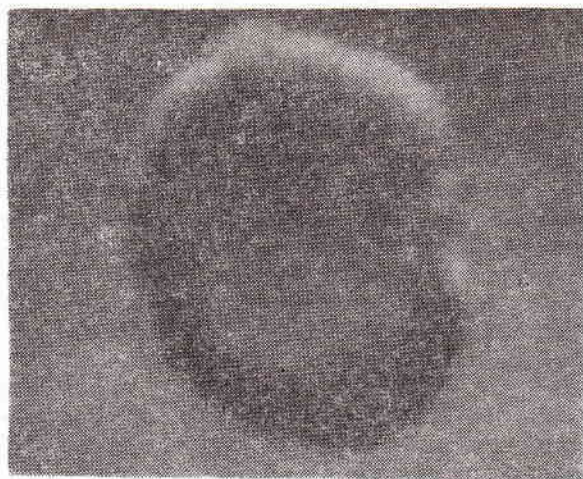
Rozmiary strat były zatem niższe od rejestrowanych w ogniskach obrzęku złośliwego, a zbliżone do występujących w enzootiach szelestinicy (14). Schorzenie atakowało opasy w wieku od 6 miesięcy do 2 lat. Głównym objawem były szeleszczące obrzęki gazowe zlokalizowane w mięśniach miednicy i barków. Zmienione chorobowo tkanki były niemal czarne i miały konsystencję huby drzewnej.

Zachorowania zwierząt narastały przy dłuższym podawaniu kiszonki silnie zanieczyszczonej ziemią (fermy K i L), względnie siana pochodzącego z terenów stacjonarnej szelestinicy (ferma M). Natomiast wyłączenie tych pasz prowadziło do wyraźnego spadku dziennej liczby nowych przypadków chorobowych (z 15 — 21 do 2 — 4). Dane te dowodziły alimentarnej drogi powstawania procesów infekcyjnych. Charakteryzuje ona przede wszystkim szelestinicę (15, 26, 30), endogenny obrzęk złośliwy (34) i enterotoksemię (30). To ostatnie schorzenie wykluczało już „a priori” odmienny przebieg zachorowań (bez wzdęć, objawów nerwowych, śpiączki, itp.), a także inny rodzaj zmian pośmiertnych (obecność gazowej martwicy mięśni).

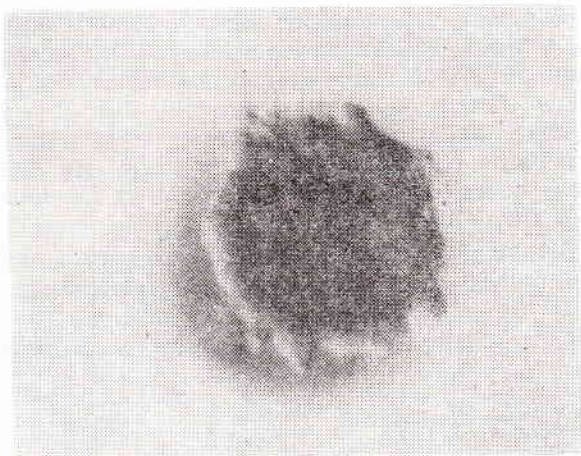
Z próbek mięśni, pobranych od 12 padłych opasów, wyosobniono łącznie 16 szczepów z rodzaju *Clostridium*. Najliczniejszą grupę 9 izolatów (K1C, K2C, K5C, K6C, L8C, L9C, L10C, M11C, M12C) charakteryzowały krótkie bakterie, tworzące hemolityczne kolonie, z reguły różnokształtne, tj. okrągłe, płaskie i regularne (ryc. 1), wydłużone, w środku lekko wklęsłe, regularne (ryc. 2) lub nieregularne (ryc. 3)



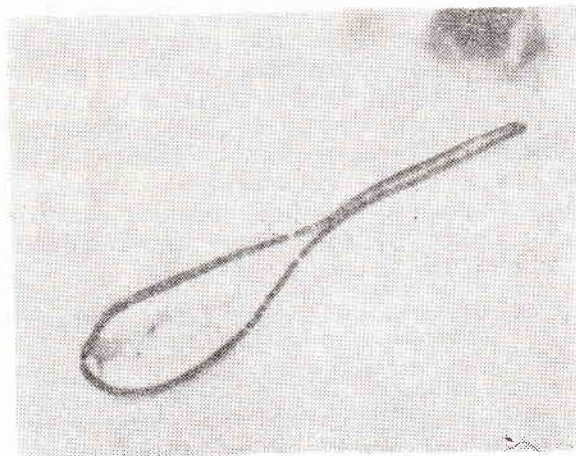
Ryc. 1. Kolonia szczepu K1C (pow. 50 X)



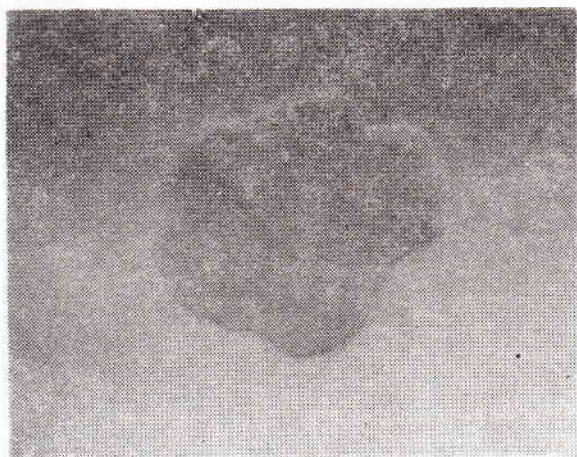
Ryc. 2. Kolonia szczepu K2C (pow. 50 X)



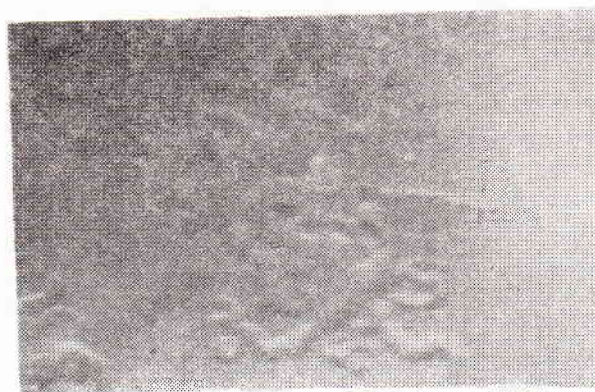
Ryc. 3. Kolonia szczepu L8C (pow. 50 ×)



Ryc. 5. Układ komórek bakteryjnych szczepu K7S (pow. 1200 ×)



Ryc. 4. Kolonia szczepu M11C (pow. 50 ×)



Ryc. 6. Kolonia szczepu M11S (pow. 30 ×)

oraz płaskie w kształcie liścia (ryc. 4). Takie typy wzrostu były podawane w opisach beztlenowców *C. chauvoei* (13, 14).

Właściwości biochemiczne szczepów tej grupy były typowe dla *C. chauvoei*. Wyosobnione izolaty fermentowały bowiem laktozę, glukozę, sacharozę, maltozę i mannozę, ale nie rozkładały salicyny i trehalozy, a także nie hydrolizowały eskuliny. Poza tym nie wytwarzały indolu oraz nie były proteolityczne (mleko i żelatyna-).

Drugą grupę wyosobnionych beztlenowców stanowiło 7 izolatów (K3S, K4S, K5S, K6S, K7S, M11S, M12S). Przedstawiały one smukłe łaseczki, układające się zawsze — w przypadku preparatów sporządzonych z wątroby zakażonych świnek morskich — w formy nitkowate (ryc. 5). W pożywce agarowej wyrastały w postaci hemolitycznych kolonii dwóch typów, a mianowicie: płaskich i nitkowatych (ryc. 6) oraz nieregularnych o postrzępionym brzegu (ryc. 7). Obydwie formy wzrostu są opisywane jako charakterystyczne dla *C. septicum* (31). Szczególnie dotyczy to postaci nitkowatej, która u tych beztlenowców dominuje (14, 31). Powyższe szczepy różniły się od izolatów pierw-



Ryc. 7. Kolonie szczepu K7S (pow. 30×)

szej grupy rozkładaniem trehalozy, salicyny i eskuliny oraz niefermentowaniem sacharozy. Zatem i pod względem cech biochemicznych spełniały aktualne kryteria identyfikacji *C. septicum* (6, 31).

Zastosowany odczyn neutralizacji toksyn potwierdził przeprowadzoną identyfikację wyosobnionych beztlenowców. Aktywność letalną 4 izolatów (K1C, K5C, L9C, M12C), reprezentatywnych dla szczepów pierwszej grupy, neutralizowały surowice antytoksyczne dla *C. chau-*

voei i *C. septicum*. Natomiast toksynę 4 wybranych szczepów drugiej grupy (K3S, K4S, M11S, M12S) zobojętniała jedynie surowica anty *C. septicum*. Wynik ten koreluje z danymi o strukturze tych antygenów. Toksyna *C. septicum* zawiera bowiem komponent alfa 2, nieobecny u *C. chauvoei* (3). Ostatecznie, uwzględniając całokształt badań, zidentyfikowano szczepy pierwszej grupy jako *C. chauvoei*, a drugiej uznano za *C. septicum*.

Tab. 2. Wytwarzane toksyny i aktywność zgorzelotwórcza wyosobnionych szczepów

Szczep	Wytwarzane toksyny				Aktywność zgorzelotwórcza
	alfa	beta	gamma	delta	
<i>C. chauvoei</i> K1C	4	2560	512	10	+
K2C	0	640	64	2	+
K3C	2	2560	128	10	+
K6C	0	1280	64	2	+
L8C	0	1280	32	2	+
L9C	4	2560	512	10	+
L10C	0	1280	128	10	+
M11C	0	2560	256	2	+
M12C	2	2560	128	2	+
<i>C. septicum</i> K3S	20	5120	256	10	+
K4S	20	1280	512	20	+
K5S	2	1280	64	2	+
K6S	4	2560	128	2	+
K7S	10	1280	128	2	+
M11S	4	1280	64	10	+
M12S	2	1280	64	10	+

W tab. 2 przedstawiono właściwości letalne i zgorzelotwórcze wyosobnionych beztlenowców oraz ilości produkowanych przez nie toksyn. Toksyna alfa, odpowiedzialna za powyższe oddziaływania, osiągała koncentrację wynoszącą w hodowlach szczepów *C. chauvoei* 2 — 4 DLM/ml i *C. septicum* 2 — 20 DLM/ml. Brak aktywności letalnej dla myszy posiadało 5 spośród 9 izolatów *C. chauvoei*. Wszystkie szczepy, bez względu na ilość wytwarzanej toksyny alfa, wywoływały śmierć świnek morskich wśród objawów gazowej martwicy mięśni. Poza tym w hodowlach laseczek *C. chauvoei* i *C. septicum* stwierdzano kolejno — dla nich — inne czynniki toksyczne w koncentracjach wynoszących w przypadku dezoksyrybonukleazy (antygen beta) 640 — 2560 i 1280 — 5120 dawek wsk./ml, hialuronidazy (antygen gamma) 32 — 512 i 64 — 512 dawek wsk./ml, oraz hemolizyny 2 — 10 i 2 — 20 DHM/ml.

Uzyskane wyniki potwierdziły dane o niskiej *in vitro* toksynogenności beztlenowców *C. chauvoei* i *C. septicum* w zakresie toksyny alfa (6, 23). Przyjęto bowiem, że tylko nieznaczne izolaty mogą w takich warunkach wytwarzać ten antygen w wyższej koncentracji, osiągającej 100 DLM/ml hodowli (17). Okazało się przy tym, że szereg szczepów w ogóle nie produkuje toksyny alfa w sztucznych podłożach. Natomiast w tkankach żywych zwierząt łatwiej o mikrośrodowisko sprzyjające tej toksynogenezie (34). Tym można tłumaczyć działanie zgorzelotwórcze tych szczepów własnych, które w podłożu Wrzóska nie wytwarzały czynnika alfa. Jak wiadomo jest on odpowiedzialny za działanie letalne i nekrotyczne laseczek *C. chauvoei* i *C. septicum* (19).

Wszystkie wyosobnione szczepy produkowały duże ilości dezoksyrybonukleazy i hialuronidazy. Podobnie zachowywały się izolaty badane w dawniejszej pracy własnej (10). Zatem wysoka aktywność w zakresie wytwarzania enzymów chorobotwórczych wydaje się być cechą charakterystyczną beztlenowców *C. chauvoei* i *C. septicum*.

Ustaloną etiologię 12 rozpatrywanych przypadków chorobowych (pc) ilustruje tab. 3. La-

Tab. 3. Etiologia badanych przypadków chorobowych (pc)

Ferma	Przypadek chorobowy	Oznaczenie szczepu	Wysobnione beztlenowce Clostridium	Rozpoznanie schorzenia
K	1, 2	K1C, K2C	<i>C. chauvoei</i>	szeleśtnica
	3, 4	K3S, K4S	<i>C. septicum</i>	obrzęk złośliwy
	5, 6	K5C, K6S	<i>C. chauvoei</i> + <i>C. septicum</i>	szeleśtnica
L	7	K7S	<i>C. septicum</i>	obrzęk złośliwy
	8, 9, 10	L8C, L9C, L10C	<i>C. chauvoei</i>	szeleśtnica
M	11, 12	M11C, M11S M12C, M12S	<i>C. chauvoei</i> + <i>C. septicum</i>	szeleśtnica

seczki *C. chauvoei* stanowiły jedyną mikroflorę izolowaną od 5 zwierząt (ferma K, pc 1, 2 oraz ferma L, pc 8, 9, 10). W zakażeniach 4 buhajów występował zespół złożony z 2 gatunków bakteryjnych, tj. *C. chauvoei* z *C. septicum* (ferma K, pc 5, 6 oraz ferma M, pc 11, 12). Podkreślić należy, że beztlenowce *C. chauvoei* były wyosabniane z próbek mięśni pobranych natychmiast po śmierci zwierzęcia. Wyrastały one w czystej kulturze (pc 1, 2, 8, 9, 10) i w dominującej ilości (pc 5, 6, 11, 12). Zatem przypadki te można było uznać bez zastrzeżeń za szeleśtnicę. W stosunku do nich spełnione bowiem zostały postulowane kryteria diagnostyki tego schorzenia (34). Z danych piśmiennictwa wynika ponadto, że dotychczas nie udało się wyosobnić laseczek *C. chauvoei* z mięśni zdrowego bydła. Opisano jedynie udane próby izolacji tych beztlenowców z wątroby krów (18), a także psów (8).

Przeprowadzone badania własne wskazują, że szeleśtnica w większości przypadków stanowi jednogatunkową infekcję na tle *C. chauvoei*. Analogiczne wnioski wynikają z prac innych autorów (2, 36). Również stwierdzone w fermach K i M występowanie mieszanych zespołów *C. chauvoei* z *C. septicum* znajduje potwierdzenie w piśmiennictwie (5, 7, 15). Znaczenie jednak obecności laseczek *C. septicum* w takich zespołach nie jest bliżej poznane. Przypisuje się im rolę zarówno mikroflory przyczynowej (29), jak i tylko towarzyszącej (4). Własne spostrzeżenia o występowaniu w mięśniach zwykle niewielkiej liczby beztlenowców *C. septicum*, izolowanych w formie nitkowatych kolonii, zdają się przemawiać za drugą z tych alternatyw.

Wysobnioną mikroflorę od 3 opasów (ferma K, pc 3, 4, 7) reprezentowały wyłącznie laseczki *C. septicum* (tab. 3). Podczas ich wyosabniania, ze zgorzelowo zmienionych i bez-

względnie świeżych mięśni, wyrastały one w czystej hodowli jako kolonie nieregularne o postrzępionym brzegu (ryc. 7). Dlatego wprost nieprawdopodobne, ażeby ich obecność w mięśniach była następstwem pośmiertnej migracji z jelit. Proces taki zwykle bowiem zachodzi po pewnym dopiero czasie od śmierci zwierzęcia (25). Ostatecznie więc omawiane przypadki chorobowe rozpoznano jako obrzęk złośliwy.

Mechanizm szerzenia się obrzęku złośliwego w fermie K nie został wyjaśniony. Brak ran w okolicy ognisk zapalnych, mógł sugerować endogeny rozwój schorzenia. Nie można jednak było wykluczyć również egzogeny zakazów, do jakich często dochodzi w stosowanym systemie chowu zwierząt nie wiązanych.

Pewną osobliwością było wystąpienie w fermie K przypadków jednoczesnych zachorowań na szeleśnicę i obrzęk złośliwy. Powstanie tych zakażeń mogły warunkować podobne czynniki związane z prowadzonym opasem buhajów i z pochodzeniem toksynogenychnych beztlenowców. Sugestia taka jest prawdopodobna w świetle badań nad patogenizacją obu schorzeń (5, 21, 23), a także w kontekście poglądu uznającego *la-seczki C. chauvoei* i *C. septicum* za różne tylko typy jednego gatunku (1, 21).

Wnioski

1. Opisane przypadki rejestrowanych w okresie zimy zachorowań bydła opasowego, wśród objawów gazowej martwicy mięśni, okazały się szeleśnicą i obrzękiem złośliwym. Obydwa schorzenia pojawiły się jednocześnie w jednym ze stad zwierząt i posiadały podobny przebieg kliniczny.

2. Wyosobnione szczepy *C. chauvoei* i *C. septicum* charakteryzowała wysoka aktywność w zakresie działania zgorzelowego i produkcji czynników inwazyjności (antygeny beta i gamma), przy niewielkiej na ogół zdolności wytwarzania *in vitro* toksyny letalnej (antygen alfa).

Piśmiennictwo

1. Al-Khatib G.: Arch. exp. VetMed. 23, 963, 1969.
2. Barnes D. M., Bergeland M. E., Highbee J. M.: Can. vet. J. 16, 357, 1975.
3. Beer J.: Choroby zakaźne zwierząt domowych, PWRiL, 1980.
4. Blood D. C., Henderson J. A., Radostts O. M., Arundel J. H., Gay C. C.: Veterinary medicine, Bailliere Tindall, London 1979.
5. Breed F.: J. Am. vet. med. Ass. 43, 521, 1937.
6. Buchanan R. E., Gibbons N. E.: Bergey's manual of determinative bacteriology, Williams and Wilkins, Baltimore 1975.
7. Byrne J. L., Armstrong J. H. O.: Can. J. comp. Med. 12, 153, 1948.
8. Cobb L. M., McKay A., Archibald J.: Archs Surg., Chicago 78, 52, 1959.
9. Contini A., Marongin E., Idini G.: Maladies animales causées par les anaérobies. IV^e Symposium, Paris 1982.
10. Cygan Z.: Clostridia w narządach zwierząt zdrowych i chorych. Praca dokt., Lublin 1967.
11. Darling T.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1583, 1963.
12. Gadajski-Omerović G.: Maladies animales causées par les anaérobies. IV^e Symposium, Paris 1982.
13. Huttyra F., Marek J., Manninger R., Mocsy J.: Szczegółowa patologia i terapia chorób zwierząt, PWRiL 1962.
14. Jensen R., MacKay D. R.: Diseases of feedlot cattle. Lea and Febiger, Philadelphia 1971.
15. Katitch R. V.: Les maladies des animaux domestiques causées par les microbes anaérobies. Vigot Freres, Paris 1963.
16. Katitch R. V.: Immunol. Thér. antimicrob. 27, 21, 1963.
17. Kerrin J. C.: J. path. Bact. 38, 219, 1934.
18. Kerry J. B.: Vet. Rec. 76, 396, 1964.
19. MacLennan J. D.: Bact. Rev. 26, 177, 1962.
20. Meisel H., Albrycht H.: Med. dośw. 7, 27, 1955.
21. Minett F. C.: J. comp. Path. 58, 201, 245, 259, 1948.
22. Moussa R. S.: J. path. Bact. 77, 341, 1959.
23. Nestoresco N., Mesrobian L., Theodoresco A.: Archs roum. Path. exp. Microbiol. 12, 455, 1942.
24. Oakley C. L., Warrack G. H.: J. path. Bact. 63, 45, 1951.
25. Patrizi F., Patrizi R.: Atti Soc. ital. Sci. vet. 17, 528, 1964.
26. Pemberton J. R., Bates F., Matson R., Macheak M. E.: Am. J. vet. Res. 35, 1041, 1974.
27. Pestil L.: Acta vet. hung. 15, 447, 1965.
28. Popescu S. C.: Cercetari asupra carbunelui emfizematos in RPR, teza de doctorat, Bucuresti 1964.
29. Prevot A. R.: Biologie des maladies dues aux anaérobies. Flammarion, Paris 1972.
30. Smith L. D.: Adv. vet. Sci. 3, 463, 1957.
31. Smith L. D., Holdeman L. V.: The pathogenic anaerobic bacteria. Ch. C. Thomas, USA 1968.
32. Stamati N., Ungureanu C.: Bull. Off. int. Epizoot. 67, 1251, 1967.
33. Stamp J. T.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1271, 1963.
34. Sterne M., Batty I.: Pathogenic Clostridia. Butterworths, London and Boston 1957.
35. Wawter L.: Diseases of cattle. Am. Vet. Public., Illinois 1956.
36. Williams B. M.: Vet. Rec. 100, 90, 1977.

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

Цыган З., Волошин С., Якубович В., Гузик З. — Заболевания откормочного скота эмкармом и злокачественным отеком в зимний период

Описано появляющиеся в зимние месяцы случаи эмкармы и злокачественного отека на фермах откормочного скота. Среди 8408 откармливаемых быков пало в течение 1—4 недель в общем 130, т.е. 1,55% общего поголовья исследуемых стад. Оба заболевания появились на одной из ферм и не были отличаемы на основе клинических исследований. Заболевания животных росли при кормлении силосом, сильно загрязненным землей (фермы К и Л), либо сеном из эмкармных районов (ферма М). Исключение же этих кормов из кормления сокращало отчетливо число падежа от 15—21 до 2—4 годов в сутки. Это внушало, что при отсутствии ран при отеках алиментарный путь развития инфекции. По отношению к злокачественному отеку не исключалось также экзогенная инфекция через микроотравы, которые могли появляться в применяемой системе откорма не связываемых животных.

Изолируемую из случаев эмкармы микрофлору представляли палочки *C. chauvoei*, появляющиеся часто в ассоциации с *C. septicum*. Заболевания, признанные злокачественным отеком, были связаны лишь с *C. septicum*. Изолированные штаммы *C. chauvoei* и *C. septicum* отличались высокой активностью в области гангренозного действия и производства факторов инвазивности (бета- и гамма-антигены) при небольшой зачастую способности образования „in vitro” летального токсина (альфа-антиген).

Cygan Z., Wołoszyn S., Jakubowicz W., Guzik Z. — Blackleg and malignant oedema in fattening cattle in winter

The authors described cases of blackleg and malignant oedema in farms of fattening cattle which appeared in winter months. 130 (1.55%) out of 8408 fattened bulls died in 1—4 weeks. Blackleg and malignant oedema appeared in one farm and they were not differed by clinical examinations. The number of sick animals increased after application of silage heavily contaminated by soil (farms K and L) or hay from the regions where blackleg was enzootic (farm M). Excluding from feeding these fodders reduced significantly the number of dead animals from 15—21 to 2—4 per day. The authors suggest that at the lack of wounds in the region of oedema, alimentary route of infection is possible. In the case of malignant oedema exogenous route of infection by microtraumas in the applied system of breeding could

not be excluded. The microflora isolated from the cases of blackleg was represented by *Cl. chauvoei* often in association with *Cl. septicum*. From two cases recognized as malignant oedema *Cl. septicum* was only isolated. The strains of *Cl. chauvoei* and

Cl. septicum characterized a high gangrenous activity and production of invasion factors (antigen beta and gamma) and generally a low ability to produce in vitro a lethal toxin (antigen alpha).

WIESŁAW DEPTUŁA *, JAN BUCZEK

Granulocyty obojętnochłonne i ich rola w przebiegu zakażenia bydła wirusem *Bovid herpesvirus 1* (BHV1)

* Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Boh. Warszawy 4, 66-400 Gorzów Wlkp.
Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12,
20-033 Lublin

Współdziałanie swoistych i nieswoistych reakcji obronnych w przebiegu zakażenia wirusowego wynika ze stanu immunologicznego gospodarza, rodzaju zarazki i miejsca wnikięcia do organizmu (30, 31, 39). Rouse i Babiuk (39, 40) oraz Pastoret (34) na podstawie badań własnych i innych autorów wyrażają pogląd, że w odporności bydła zakażonego wirusem *Bovid herpesvirus 1* (BHV1) najważniejszą rolę odgrywają mechanizmy komórkowe. Straub (51) oraz Gerber i wsp. (10) wskazują jednak, że mechanizmy komórkowe są wspomagane przez swoistą odporność humoralną, w której udział poszczególnych klas immunoglobulin jest stosunkowo mało poznany. Badania *in vitro* mechanizmów odporności nieswoistej w odniesieniu do wirusa BHV1, pozwoliły na rozpoznanie wielu dotychczas nieznanych reakcji immunologicznych i wskazują, że w zakażeniach bydła wirusem BHV1 granulocyty obojętnochłonne stanowią pierwszą linię obronną (1—3, 12—16, 23, 24, 26, 34, 38—46, 53, 54).

Granulocyty obojętnochłonne — komórki polimorfonuklearne (PMN) układu mieloidalnego rozwijają się z komórek multipotencjalnych szpiku (stem cells) w procesie granulopoezy (31). Wright (55), Kaaya i wsp. (21) wyróżniają następujące stadia rozwoju granulocyta: mieloblast, promielocyt, mielocyt, metamelocyt, granulocyt młody i granulocyt dojrzały. W warunkach fizjologicznych granulocyty dojrzałe występują we krwi i tkankach, zaś formy rozwojowe do granulocytów młodych — w szpiku i od stadium rozwojowego promielocyta można je rozpoznawać metodami histologicznymi, z uwagi na stopień zasadowości cytoplazmy, dużą ilość i charakter ziarnistości cytoplazmatycznych i różny kształt jądra komórkowego (32, 33, 37, 49, 52). Dojrzałe komórki PMN i ich stadia rozwojowe tworzą układ, w którym wyodrębniono: w szpiku granulocyty proliferujące, dojrzewające i rezerwowe, we krwi obwodowej granulocyty krążące i marginalne, w narządach i tkankach granulocyty tkankowe (4). Cechą charaktery-

styczną granulocytów jest olbrzymia dynamika rozwoju i duża aktywność na czynniki zewnętrzne i wewnętrzne. W ciągu 14 dni u ludzi (4), a w 6 dni u bydła (5, 49), z komórki macierzystej szpiku powstają granulocyty dojrzałe. Ich okres półtrwania we krwi wynosi około 6 dni u człowieka (4) i 9 dni u bydła (5, 49), w tkankach okres ten trwa odpowiednio 24—48 i 36—72 godzin (4, 5, 49). Za fizjologiczną liczbę granulocytów obojętnochłonnych u bydła, osiąganą między 70—127 dniem życia, przyjęto $6,43 \times 10^8$ komórek na kg masy ciała (kg m.c.) (5). We krwi obwodowej liczba komórek PMN wynosi około $6,3 \times 10^8$ na kg m.c., a ich pula marginalna jest 10—15% większa. W tkankach ilość komórek PMN jest większa od ilości granulocytów obojętnochłonnych krwi obwodowej (5, 49). W ciągu 24 godzin ginie $12,5 \times 10^8$ na kg m.c. komórek PMN, co potwierdza ich duży przepływ między szpikiem, układem krwionośnym i tkankami (5, 49). Komórki PMN bydła wykazują dużą zdolność przylegania do szkła i wrażliwość na czynniki hemotaktyczne (11, 17, 33, 40). Posiadają receptory powierzchniowe dla dopełniacza, czerwonych krwinek barana, fragmentu Fc immunoglobulin podklasy G_2 i (lub) G_{2a} oraz immunoglobulin podklasy G_1 , klasy G i M (12, 20, 46, 48).

Ciągły jednokierunkowy przepływ komórek PMN ze szpiku do krwi, a następnie tkanek, bez możliwości powrotu i wyjątkowo duża szybkość migracji w tkankach sprawia, że granulocyty obojętnochłonne pojawiają się jako pierwsze elementy obronne w miejscu wnika-
nia zarazki, gdzie są rozpoznawane jako komórki wczesnej fazy zapalenia (16, 31, 33, 41, 42, 48, 52). Według Klebanoffa (23, 24), Wrigtha (55), Quie'a (35), Reitera (36) oraz Paape i wsp. (34) granulocyty obojętnochłonne są wysoko wyspecjalizowanymi komórkami układu obronnego organizmu, a ich masowy i wielokierunkowy „atak” na wnikające do organizmu zarazki w tym wirusy sprawia, że przeżywają tylko nieliczne drobnoustroje.

Do podstawowych funkcji komórek PMN należy wewnątrzkomórkowe niszczenie fagocyto-
owanego materiału (24) — głównie mikroor-

Praca wykonana z kredytów PAN, MR.II.17.