

ZDZISŁAW BORYCZKO, ANTONI FUROWICZ*, GRAŻYNA WILK, LUDMIŁA JAKUBOWSKA*

Przypadek zakażenia nasienia tryka pałeczką *Brucella ovis*

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa
* Katedra Immunologii i Mikrobiologii Wydziału Zootechnicznego AR,
ul. Judywa 6, 71-466 Szczecin

W 1953 r. w Nowej Zelandii Buddle i Boyes (3) wyizolowali z przypadków zapaleń w obrębie narządu rozrodczego tryków pałeczki bruceli, które początkowo uważane były jako mutanty *Brucella melitensis*. W 1956 r. ostatecznie ustalono, że czynnikiem etiologicznym wywołującym stany zapalne najądrzy u tryków, a także izolowanym z błon płodowych proniomych płodów owczych jest *Brucella ovis* (2). Według Buddle (2) *Brucella ovis* jest brucelopodobnym mikroorganizmem o wielu właściwościach charakterystycznych dla rodzaju *Brucella*. Są to małe, gramujemne kokopaleczki o wymiarach 0,7—1,2 μm długości i 0,5—0,7 μm szerokości, pozbawione ruchu, niezarodnikujące, nie posiadające rzęsek, nie wytwarzające otoczki. Podczas barwienia metodą Macchiavello lub zmodyfikowaną Ziehl-Neelsena, absorbują zasadową fuksynę, barwiąc się na czerwono, natomiast przy barwieniu zmodyfikowaną metodą Köstera barwią się na niebiesko. Bakterie te do wzrostu potrzebują w podłożach dodatku 10% surowicy krwi, a jako drobnoustroje mikroaerofilne rosną w obecności 10% CO_2 . Szczegółowe właściwości tego gatunku *Brucella* opisał Meyer (4).

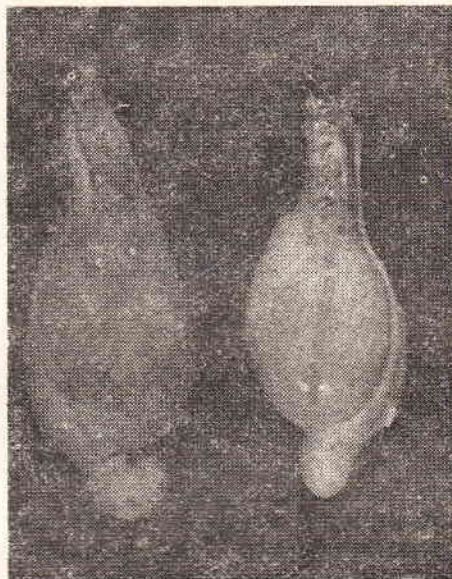
Zakażenie tymi drobnoustrojami wywołuje stany zapalne głównie najądrzy u tryków, a także ronienia u owiec. Przypadki takie notowane były w różnych krajach wszystkich kontynentów, w tym także w krajach położonych w pobliżu Polski tzn. na Słowacji, Węgrzech, w Rumunii i Bułgarii (4).

Opis przypadku

Podczas badania i oceny rozplodowej w stadzie tryków w fermie owczej, położonej na terenie woj. kszalińskiego, stwierdzono u 20% badanych osobników zmiany kliniczne w narządzie rozrodczym lub zmiany w jakości nasienia. Nasienie pobierane metodą elektro ejakulacji poddawano badaniu bakteriologicznemu. W jednym przypadku w preparatach mazanych bezpośrednio, wykonanych z nasienia tryka, barwionych metodą Köstera stwierdzono obecność skupisk pałeczek morfologicznych odpowiadających pałeczkom bruceli. Tryka poddano ubojowi i po wypreparowaniu narządu rozrodczego przeprowadzono badania sekcyjne i bakteriologiczne. W ocenie jakości nasienia stwierdzono nekrospermie, natomiast gęstość nasienia, odsetek plemników zmienionych morfologicznie oraz z nieuszkodzonym akrosomem nie odbiegały od średnich parametrów dla nasienia samca tego gatunku. Przy badaniu klinicznym stwierdzono zmniejszoną przesuwalność lewego jądra, zrosty w jamie pochwowej oraz nieco powiększony lewy ogon najądrza.

Podczas badania sekcyjnego widoczne było włókni-

kowe zapalenie osłonki wspólnej i własnej jądra lewego ze zrostami włóknistymi. Na zmienionej zapalnie osłonce odłożone były znaczne złogi włóknika (ryc. 1). Na przekroju ogona najądrza stwierdzono krwawe wybroczyny.



Ryc. 1. Włóknikowe złogi na osłonce lewego jądra tryka, z których izolowano pałeczkę *Brucella ovis*. Prawe jądro bez widocznych zmian klinicznych

Z materiału patologicznego tzn. z tkanki jąder oraz złogów włóknika wykonano bezpośrednie preparaty odciskowe, które barwiono metodami Köstera oraz zmodyfikowaną Ziehl-Neelsena. W pierwszym wypadku obserwowano ułożone wewnątrzkomórkowo, niebiesko barwiące się kokopaleczki, w drugiej metodzie barwienia kokopaleczki barwiły się na czerwono.

W dalszym ciągu badań materiał posiano na płynne podłoże Liver Broth (Oxoid) oraz stałe podłoża: *Brucella Medium Base* (Oxoid) — z dodatkiem 10% surowicy wołowej oraz z 5% krwi bydlęcej. Hodowle prowadzono w obecności 10% CO_2 ; co dwa dni obserwowano charakter wzrostu. Na podłożu płynnym zanotowano po 6 dniach inkubacji nieznaczne zmętnienie pożywki i wzrost w postaci ziarnistego osadu. Materiał ten przesiano na podłoża stałe. Na podłożach stałych wyraźny wzrost zaobserwowano po 4 dniach inkubacji. Zanotowano wzrost drobnych kolonii szarobiałych, o brzegu gładkim, charakterze śluzowym (autoaglutynacja w 0,9% roztworze NaCl), pozbawionych właściwości hemolitycznych. Po 6—8 dniach hodowli kolor kolonii stawał się żółty, a średnica dochodziła do 1—1,5 mm. Pojedyncze kolonie z podłoża *Brucella Medium Base* (z surowicą wołową), przesiewano na cztery wersje tej samej pożywki, zawierające następujące barwniki: fiolet metylowy (1:100 000), fiolet krystaliczny (1:100 000), fuksynę zasadową (1:25 000) oraz tioninę zasadową (1:25 000). Na dwóch ostatnich po 4 dniach inkubacji w atmosferze 10% CO_2 zanotowano wyraźny wzrost. Natomiast fiolet metylo-

wy i krystaliczny hamowały wzrost badanych drobnoustrojów (21 dni obserwacji). W hodowli na podłożu Brucella Medium Base z surowią i krwią w warunkach tlenowych stwierdzono brak wzrostu.

W preparatach mikroskopowych wykonanych z materiału z podłoża bakteriologicznych stwierdzono kokopalczki barwiące się metodą Grama — ujemnie, zmodyfikowaną metodą Ziehl-Neelsena na czerwono oraz metodą Köstera na ciemnoniebiesko (inne brucele barwią się na czerwono) (1).

Właściwości biochemiczne (badano na materiale wyrosłym na podłożach w obecności CO₂) były następujące: oksydaza⁻, H₂S⁻, V—P⁻, M—R⁻, ureaza⁻, glukoza⁻, katalaza⁺, laktoza⁻, red. azotanów⁻. W hodowli na podłożach Levina i MacConcey w warunkach tlenowych oraz 10% CO₂ nie stwierdzono wzrostu.

Szczep przesłano do Instytutu Pasteura w Paryżu do pracowni prof. H. H. Mollaret z podejrzeniem o przynależność do gatunku *Brucella ovis*. Wynik został potwierdzony (Instytut Pasteura, pismo nr 785-83 z 12.10.83). Metodami serologicznymi i typowaniem fagowym wykluczono *Brucella abortus* i *Brucella melitensis*.

Wykrycie przypadku zakażenia u tryka palczką *Brucella ovis* wskazuje na możliwość występowania tego schorzenia w stadach owczych w Polsce. W tej sytuacji celowe wydaje się podjęcie badań serologicznych za pomocą OWD z antygenem *Brucella ovis* w stadach owiec szczególnie tam, gdzie występuje znacznie nasilenie zapaleń najądrzy u tryków ewentualnie ronień, dla określenia zasięgu i nasilenia tego schorzenia.

Piśmiennictwo

1. Blobel H., Schlessner T.: Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren. T. IV, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1982.
2. Buddle M. B.: J. Hyg. 54, 351, 1956.
3. Buddle M. B., Boyes M. W.: Aust. vet. J. 29, 145, 1953.
4. Meyer M. E., Blobel H., Schlessner T.: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. T. IV. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1982.

Adres autora: doc. dr hab. Zdzisław Boryczko, ul. Nowoursynowska 164/24, 02-766 Warszawa.

Борычко З., Фурович А., Вильк Г., Якубовская Л.
— Случай инфекции семени барана палочкой *Brucella ovis*

У барана, в семени которого отметили некро-спермии и клинические изменения в генеративном органе в непосредственном мазке из семени, окрашенном методом Циля-Нельсена и Кестера, нашли палочки из рода *Brucella*. Подробные бактериологические исследования, выполненные после забоя животного, из ткани ядра и отложений фибрина с поверхности собственной оболочки ядра, позволили изолировать палочки *Brucella ovis*.

Boryczko Z., Furowicz A., Wilk G., Jakubowska L. — Contamination of a ram semen with *Brucella ovis*

In the necrotic semen, obtained from a ram with clinical lesions in the genital organ, there were found the rods of *Brucella* sp. after staining with the modified Ziehl-Neelsen method and Köster's method. PM bacteriological examinations enabled to isolate *B. ovis* from the testicle tissue and fibre deposits from the surface of the testicular sheath.

KAZIMIERZ ROSŁANOWSKI, CARL H. PEDERSEN*,
STEFAN WIERZBOWSKI**, EWA ANDRZEJEWSKA

Występowanie bakterii *Campylobacter sputorum* subsp. *bubulus* w worku napletkowym buhajów zebu i bawołów

Zakład Profilaktyki Niepłodności Instytutu Weterynarii Oddział w Poznaniu, ul. Poznańska 35,
62-020 Swarzędz

* FAO Livestock Development Project, Zanzibar, Tanzania P.O. Box 159

** Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasienniania Zwierząt Instytutu Zootechniki w Krakowie, 32-083 Balce

Spośród bakterii rodzaju *Campylobacter* w narządach rozrodczych bydła, oprócz szczepów chorobotwórczych, takich jak *C. (Campylobacter) fetus subsp. fetus* i *C. fetus subsp. intestinalis*, występować może również szczep niechorobotwórczy, określony według systematyki bakterii w VII wydaniu Bergeya (1974) jako *C. sputorum subsp. bubulus* (dawna nazwa *Vibrio bubulus* (4)). Obecność tych bakterii stwierdza się bardzo często w worku napletkowym buhajów, natomiast tylko sporadycznie występują one w narządach rozrodczych krów i jałówek.

Liczni autorzy (3, 5, 14, 17) wykazali, że *C. sputorum subsp. bubulus* występuje u 18,0—85,0% buhajów. W toku własnych obserwacji stwierdzono, że ten podgatunek mętlika bytuje w worku napletkowym 50—80% buhajów

starszych, a znacznie rzadziej występuje u buhajów młodych (9). Rola tego drobnoustroju nie jest dokładnie poznana. Wiadomo, że bakterie te usadawiają się w przedniej części worka napletkowego i bytują na powierzchni nabłonka, nie wnikając do głębszych warstw błony śluzowej (10). Próby sztucznego doszyjkowego zakażenia jałówek tymi bakteriami w toku własnych badań (6) nie dały pozytywnego efektu, co przemawiałoby również za ich niechorobotwórczością. Istnieją jednak prace, których autorzy (11, 13, 17) wykazali obecność *C. sputorum subsp. bubulus* w postaci czystych kultur w poronionych płodach bydłych.

Podjęte badania miały na celu ocenę częstotliwości występowania bakterii rodzaju *Campylobacter*, a szczególnie *C. sputorum subsp. bubulus* w materiale pobranym od buhajów