

- mun. 20, 375, 1978.
 38. Shukla S. K., Sharma V. D.: Indian J. exp. Biol. 23, 653, 1985.
 39. Strzałkowski L.: Medycyna Wet. 42, 200, 1986.
 40. Szulc M., Pińska A., Peconek J.: Medycyna Wet. 38, 652, 1982.
 41. Taylor J., Wilkins M. O.: Indian J. Med. Res. 49, 544, 1961.
 42. Truszczyński M.: Bakteriologia, PWRiL, Warszawa 1984.
 43. Truszczyński M.: Post. mikrobiol. 23, 3, 1984.

Adres autora: lek. wet. Andrzej Lidacki, ul. Sikorskiego 5/28, 24-100 Puławy

ANTONI J. FUROWICZ, DOROTA BRODA*, PAWEŁ ŁOCZEWSKI,
 DANUTA CZERNOMYSY-FUROWICZ**

Ocena immunostymulacji *Propionibacterium acnes* w leczeniu listeriozy szynszyli*)

Katedra Immunologii i Mikrobiologii oraz *Katedra Hodowli Owiec i Zwierząt Futerkowych Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Doktora Judyma 12, 71-460 Szczecin
 ** Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. A. Mickiewicza 41, 70-383 Szczecin

Pałeczki *Listeria monocytogenes* należą do wewnątrzkomórkowych fakultatywnych patogenów bakteryjnych (2, 10, 12). Ich wewnątrzkomórkowy rozwój jest przyczyną wielu trudności związanych z leczeniem listeriozy i eliminowaniem bezobjawowego nosicielstwa (3). Zasadnicze cechy *L. monocytogenes*, to przede wszystkim: neutropizm (występowanie w tkance mózgowej i w płynie mózgowodzeniowym), wykorzystanie w cyklu rozwojowym cytoplazmy monocytów, powinowactwo do komórek ciężarnej macicy oraz wywoływanie w następstwie zakażenia monocytozy krwi obwodowej (2, 6). Z powyższymi cechami wiąże się obraz kliniczny choroby zwierząt i człowieka (12, 16). Najpoważniejszym problemem epizootologicznym i ekonomicznym jest występowanie listeriozy owiec i hodowlanych zwierząt futerkowych (2, 16). U szynszyli wielokrotnie obserwowano enzootie o przebiegu posocznicowym, powodujące olbrzymie straty w hodowli tych gryzoni (3, 12). W Polsce enzootię listeriozy u szynszyli opisał Steffen (13). Choroba miała przebieg ostry, najczęstszym objawem klinicznym była biegunka. Według Seeliger dominującymi objawami listeriozy u szynszyli są zaburzenia ze strony centralnego układu nerwowego, które manifestują się porażeniem mięśni z wcześniej występującym, charakterystycznym skręceniem głowy. Choroba może mieć charakter przewlekły, lub też przebiegać w formie utajonej (12). Larsen (cyt. wg 2) obserwował u szynszyli wydalanie listerii z kałem przez okres ponad 2 lat. Choroba może również przebiegać w formie nadostrej; zejście śmiertelne występuje już po kilku godzinach od wystąpienia pierwszych symptomów (3). Mayer (cyt. wg 2) opisał pojawienie się listeriozy w hodowli szynszyli, liczącej 80 sztuk. W ciągu kilku tygodni padło 51 zwierząt; szczególnie podatne na zakażenie były ciężarne samice. Częstość występowania listeriozy w stadach szynszyli zależy w znacznym stopniu od warunków chowu, jakości karmy i sposobu żywienia, pielęgnacji i higieny.

Szynszyle należą do zwierząt wyjątkowo delikatnych, podatnych na zakażenia wirusowe i bakteryjne (8). Nieprzestrzeganie rygorów żywieniowo-sanitarnych prowadzi do zachwiania odporności. W przypadkach takich należy liczyć się z powstaniem zakażeń listeriozowych.

Celem pracy była próba leczenia listeriozy szynszyli za pomocą immunostymulatora *Propionibacterium acnes*.

Materiał i metody

Obiektem badań były szynszyle z hodowli Sz. W maju 1986 r. hodowca stwierdził występowanie zachorowań w stadzie szynszyli liczącym 41 sztuk odmiany standard i 29 sztuk odmiany beż. Choroba wystąpiła u 55 zwierząt (78,6%), zejścia śmiertelne zanotowano u 15 sztuk (27,3% chorych szynszyli). Obserwowano najczęściej biegunkę. Nie wykonano badań laboratoryjnych; przyczyny choroby nie rozpoznano. Po upływie 4 tygodni choroba ustąpiła samoistnie. W roku następnym, pod koniec kwietnia, zaobserwowano ponowne zachorowania w tym samym stadzie liczącym 78 szynszyli (57 — standard, 21 — beż). W tym okresie doszło do gwałtownej zmiany paszy; zastąpiono siano z roślin motylkowych sianem z traw. Pierwsze objawy choroby pojawiły się u odmiany beżowej. Początkowo zwierzęta przestały pobierać paszę i stały się osowiałe. Po 2—3 dniach odnotowano symptomy ze strony centralnego układu nerwowego: porażenie mięśni, u leżących osobników charakterystyczne wygięcie szyi. W tym stanie zwierzęta szybko ginęły. U innych zwierząt obserwowano biegunkę. Notowano także bardzo ostry przebieg choroby bez objawów wstępnych; śmierć następowała w ciągu kilku godzin. Choroba pojawiła się u zwierząt w różnym wieku, zarówno u samic jak i u samców. U samic ciężarnych odmiany beż, odnotowano 2 przypadki poronień. Objawy choroby stwierdzono u 72 zwierząt (93,5%). Chorowało 20 sztuk odmiany beż (95,2%) i 52 szynszyle odmiany standard (91,2%).

W celu ustalenia przyczyny choroby wykonano badania sekcyjne i bakteriologiczne. Sekcjonowano 20 szynszyli. U wszystkich odnotowano powiększenie i przekrwienie wątroby i śledziony; pod torebką tych narządów stwierdzono obecność licznych, drobnych jasnoszarych, ostro odgraniczonych ognisk martwiczych. W ścianie jelit cienkich występowanie stanu zapalnego, silne przekrwienie opon mózgowych. W wyniku posiewów bakteriologicznych od wszystkich zwierząt, z wycinków wątroby, śledziony i mózgu wyizolowano w czystej hodowli Gram — dodatnie pałeczki podłoża TSA z 0,015% telurynu potasu), które poddano indentyfikacji biochemicznej i serologicznej. W oparciu o szereg testów biochemicznych

*) Badania finansowane z funduszy MR II 10.3.C-6.

oraz próbę spojówkową Antona, wykonaną na świnie morskiej stwierdzono, że wyizolowany szczep należy do gatunku *Listeria monocytogenes*. W wyniku aglutynacji szkiełkowej z surowicami firmy Dessau, oznaczono szczep jako serotyp 4. Badania laboratoryjne realizowano w oparciu o dane Amtsberga (2), Seelgera (12) oraz Borowskiego i wsp. (3). Ponadto, stosując metodę dyfuzyjno-krażkową (9) określono wrażliwość wyosobnionego szczepu na 25 antybiotyków (zestaw Oxoid). Odnotowano wrażliwość na 11 antybiotyków: penicylinę, erytromycynę, gentamycynę, streptomycynę, ampicylinę, karbenicylinę, tetracyklinę, rifampicynę, sisomycynę, amikacynę, tobramycynę. Średnią wrażliwość wykazywał analizowany szczep na 8 preparatów (kanamycyna, wankomycyna, chloramfenikol, linkomycyna, nowobiocyna, fucydyna, keflin, nitrofurazon), był natomiast oporny na 7 antybiotyków: kolistynę, sulfatriad, oksacylinę, cefalorydynę, nitrofurantoinę, newigram oraz bacytracynę.

Na podstawie badania anatomopatologicznego oraz badań laboratoryjnych ustalono, że w analizowanym stadzie szynszyli występuje listerioza. W czasie dwóch pierwszych tygodni choroby stosowano antybiotykoterapię. Leczeniem objęto wszystkie zwierzęta stosując podskórnie przez pierwsze 3 dni połowę stawki penicylinę (penicillinum crystallisatum, Polfa) oraz pozostałym zwierzętom erytromycynę (Erythrocin, Abbott). W związku z brakiem skuteczności tej terapii, po pełnej identyfikacji zarazka i określeniu jego wrażliwości na antybiotyki, podawano przez 6 dni podskórnie tetracyklinę (Tetracyclin, Pharmachim). Ponieważ w dalszym ciągu nie stwierdzono pozytywnych rezultatów leczenia, wprowadzono do terapii antybiotyki aminoglikozydowe, stosując gentamycynę (Gentamycin, Polfa) bądź też tobramycynę (Gernebein, Lilly). Nie odnotowano widocznych efektów leczenia. W czasie antybiotykoterapii stwierdzono aż 39 zejść śmiertelnych (50,0%), 17 sztuk odmiany beż (80,9%) i 22 odmiany standard (38,6%). W związku z powyższym rozpoczęto immunostymulację zwierząt *Propionibacterium acnes* (PA). Do szczepienia użyto inaktywowanej formaliną zawiesiny szczepu PA CN 5936 (typ I) o gęstości 20×10^8 komórek/ml. Preparat podawano podskórnie, stosując dawki: 0,5 ml/szt. — osobnikom chorym i ciężarnym samicom, 0,2 ml/szt. — osobnikom młodym, 0,8 ml/szt. — szynszylom klinicznie zdrowym. Po 4 tygodniach stymulację powtórzono, podając PA: 0,5 ml/szt. — osobnikom dorosłym, 0,25 ml/szt. — samicom ciężarnym i 0,1 ml/szt. — osobnikom młodym. W sumie immunostymulacji poddano 39 szynszyli, 35 sztuk odmiany standard i 4 odmiany beż. W momencie rozpoczęcia tego zabiegu u 33 zwierząt (84,6%) obserwowano występujące w różnym stopniu objawy choroby.

Wyniki i omówienie

Mimo intensywnej antybiotykoterapii nie zdołano wyeliminować listeriozy. Wprowadzenie immunostymulacji PA w sposób widoczny doprowadziło do zahamowania zachorowań. Odnotowano w tym okresie (3—4 tydzień choroby) tylko 3 zejścia śmiertelne szynszyli (7,7%), u których wcześniej stwierdzono symptomy nerwowe listeriozy. Padły 2 szynszyle odmiany beż (50,0%) i jeden — standard (2,8%). Pełne dane dotyczące efektów leczenia przedstawiono w tabeli 1. Należy zwrócić uwagę na fakt, iż po dwukrotnym podaniu PA, u 6 szynszyli klinicznie zdrowych nie rozwinął się proces listeriozy. U zwierząt tych, jak również u 30 innych szynszyli uznanych za wyleczone, nie odnotowano do chwili obecnej zachorowań na tę chorobę. Wydaje się, iż ciekawym elemen-

tem podnoszącym wartość prezentowanych badań, byłoby określenie poziomu odporności u szynszyli przed i po stymulacji. Ze względów technicznych, badania takie są jednak trudne do realizacji.

Podsumowując, należy stwierdzić, że przebieg listeriozy w analizowanym stadzie szynszyli miał charakter wyjątkowo ostrego. W czasie dwóch pierwszych tygodni choroby odnotowano aż 39 zejść śmiertelnych (50,0%). Zginęło 17 sztuk odmiany beż (80,6%) i 22 sztuki odmiany standard (38,6%). Zaobserwowano większą wrażliwość na zakażenie i ostrzejszy przebieg choroby u odmiany beżowej. W okresie 4 tyg. obserwacji na 21 osobników tej odmiany chorowało 20 sztuk (95,2%), z czego zginęło 19 szynszyli (95,0%). Natomiast na 57 osobników odmiany standard, chorowało 52 sztuki (91,2%), a zejścia śmiertelne odnotowano u 23 szynszyli (44,2%). Pierwsze objawy choroby wystąpiły u szynszyli odmiany beżowej; częściej obserwowano u nich objawy nerwowe, roniły samice tylko tej odmiany. Należy zwrócić uwagę na bardzo niską skuteczność antybiotykoterapii, mimo że stosowano antybiotyki, na które szczep *L. monocytogenes* był wrażliwy *in vitro*. Wiąże się to w znacznym stopniu z wewnątrzkomórkowym rozwojem tego drobnoustroju (2, 3, 13). Podobną sytuację obserwuje się również w odniesieniu do innych wewnątrzkomórkowych fakultatywnych patogenów bakteryjnych.

Pozytywne rezultaty leczenia listeriozy stymulacją PA, związane są zapewne z mechanizmem działania tego preparatu. Pobudza on aktywność elementów komórkowych i pośrednio — pozakomórkowych, odpowiedzialnych za odporność typu komórkowego (17). Dotyczy to przede wszystkim komórek linii monocytarno-makrofagowej, cytotoksycznych limfocytów T oraz komórek NK i K (1, 7). Z elementów pozakomórkowych trzeba wymienić interleukiny 1 i 2, czynnik wzrostowy limfocytów B (BCGF) oraz interferon gamma (17). Wydaje się, że w przypadku listeriozy szynszyli, immunostymulacja PA może stanowić cenny zabieg profilaktyczno-terapeutyczny. W literaturze brak jest danych na ten temat. Istnieje natomiast szereg prac dotyczących oddziaływania szczepów lub ekstraktów *Propionibacterium sp.* na organizmy gryzoni laboratoryjnych, przede wszystkim myszy (7, 17). Z doniesień Fauve i wsp. (4), Fauve (5), Ruitenberga i wsp. (11), Swartberga i wsp. (14) oraz Tuttle i wsp. (15), wynika iż pobudzenie różnych mechanizmów odpornościowych, skutecznie hamuje u myszy rozwój zakażenia listeriozowego. Dotyczy to również infekcji u tych gryzoni wywoływanych przez *Salmonella typhimurium* (5).

Wnioski

1. W przypadku zachorowań szynszyli, przebiegających z objawami ze strony centralnego

Tab. 1. Rezultaty leczenia listeriozy szynszyli

Sposób leczenia	Antybiotykoterapia 1-2 tydzień choroby			immunostymulacja PA 3-4 tydzień choroby		
	Bez	Standard	Razem	Bez	Standard	Razem
liczba zwierząt	21	57	78	4	35	39
Objawy kliniczne choroby n (%)	20 (95,2)	52 (91,2)	72 (93,5)	3 ^x (75,0)	30 ^x (85,7)	33 ^x (84,6)
Zajścia śmiertelne n (%)	17 (80,9)	22 (38,6)	39 (50,0)	2 (50,0)	1 (2,8)	3 (7,7)

Objaśnienia: n (%) — liczba zwierząt (%), x liczba szynszyli wykazujących objawy choroby w momencie rozpoczęcia stymulacji.

układu nerwowego oraz powodujących ronienia, należy podejrzewać listeriozę.

2. Ze względu na wewnątrzkomórkowy rozwój listerii, trzeba liczyć się z trudnościami związanymi z leczeniem choroby. Wyniki oznaczeń wrażliwości na antybiotyki *in vitro* nie mogą być bezkrytycznie wykorzystywane w realizacji zabiegów leczniczych.

3. Nieswoistą immunostymulację *P. acnes* można polecić jako jeden z zabiegów w terapii listeriozy szynszyli.

Piśmiennictwo

- Adiam C., Broughton E. C., Scott M. T.: Nat. New Biol. 209, 219, 1972.
- Amisberg G.: Listerien. Red. Blobel H. und Schlieber T., w: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren t. 2, Veb G. Fischer Verlag, Jena 1980.
- Borowski J., Furowicz A. J., Kęzica A., Tomaszewski R., Zaremba M.: Listerioza. PZWL, Warszawa 1974.
- Fauve R. M., Hevin M. B.: Ann Inst. Pasteur Paris 120, 399, 1971.
- Fauve R. M.: Stimulating effect of *Corynebacterium parvum* and *C. parvum* extract on the macrophage activities against *S. typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. Red. Haepfen B., w: Application in experimental and clinical oncology, Plenum Press, New York 1976.
- Furowicz A. J.: Medycyna Wet. 20, 221, 1964.
- Jank M.: Modyfikacja nieswoistych reakcji cytotoksyczności komórkowej pod wpływem preparatu *Propionibacterium granulosum*. Praca nab. Warszawa 1986.
- Jarosz S., Rzewski W.: Chów szynszyli, PWRiL, Warszawa 1969.
- Kalużewski S.: Zasady i metodyka oznaczania wrażliwości bakterii na chemioterapeutyki w rutynowych badaniach diagnostycznych. Wyd. Met. PZH, Warszawa 1976.
- Kanicka W.: Post. Mikrob. 22, 69, 1983.
- Kautenborg E. J., van Norder Jansen: Zbl. Bact. Hyg. I. Abt. Orig. A. 231, 197, 1975.
- Seeliger H. P. K.: Listeriosis, S. Karger, Basel-New York 1961.
- Steffen J.: Medycyna Wet. 18, 22, 1962.
- Swarczoerg J. E., Krahenoul J. E., Remington J. S.: Infect. Immunity 12, 1037, 1975.
- Turtie R. L., North R. J.: J. Natl. Cancer Inst. 53, 1403, 1975.
- Wachnik Z.: Listerioza ludzi i zwierząt. Mat. Sesji Nauk., Zeszyty Dolnośląskiego Zespołu do Spraw Zoonoz, Nr 2, Wrocław 1979.
- Zignebain J., Berd D.: Immunology of *Corynebacterium parvum*. Red. Mitchell M. S., w: The modulation of immunity, Pergamon Press, New York 1985.

Adres autora: prof. dr hab. Antoni J. Furowicz, ul. Doktora Judyńca 12, 71-460 Szczecin

Фуrowич А. Я., Брода Д., Лочевский П., Черномысы-Фуrowич Д. — Оценка иммуностимуляции *Propionibacterium acnes* в лечении листериоза шиншилл

Объектом исследований были 72 шиншиллы с разными клиническими формами листериоза. Болезнь была вызываема серотипом 4 *Listeria monocytogenes*. В течение 2 первых недель болезни отметили 54,2% смертельных исходов. Животных лечили антибиотиками, вводя пенициллин либо эритромицин,

затем окситетрациклин и, наконец, тобрамицин либо гентамицин. Через 2 недели после начала антибиотикотерапии всех шиншилл подвергли стимуляции, вводя подкожно формализованный препарат *Propionibacterium acnes* CN5936 (20×10^8 клеток/мл). Отметим ничтожные клинические эффекты антибиотикотерапии. Препарат же *P. acnes* оказался эффективным стимулятором в лечении листериоза. В течение 1—2 недель от ввода этого препарата исчезли все клинические симптомы болезни.

Furowicz A. J., Broda D., Łoczewski P. O., Czernomy-sy-Furowicz D. — Therapeutic value of immunostimulation with *Propionibacterium acnes* in the treatment of listeriosis in chinchilla

The investigations were performed on 72 chinchilla suffering from various forms of listeriosis. The disease was caused by *Listeria monocytogenes* type 4. Within two weeks 54.2% of the animals died. The animals were treated with antibiotics i.e. with penicillin or erythromycin, later with oxytetracycline and at last with gentamycin or tobramycin. Two weeks after the beginning of the therapy all chinchilla were given a formalized preparation of *Propionibacterium acnes* CN5936 (20×10^8 cells/ml) subcutaneously. It was found that the antibiotics administered did not give a considerable clinical effect. On the contrary *P. acnes* proved to be a good immunostimulant: the signs of the disease disappeared within 1—2 weeks after its administration.

RAJKUMAR R. R., ARGO C. M., RODWAY R. G.: Płodność owiec po zastosowaniu gąbek zawierających melatonin lub progesteron. (Fertility of ewes given either melatonin or progesteron sponges). Vet. Rec. 124, 215-217, 1989 (9)

Porównano płodność owiec, u których zastosowano gąbki dopochwowe zawierające melatonin oraz leczenie konwencjonalne. W czerwcu 15 owcom w wieku 15 miesięcy wprowadzono do pochwy pessaria zawierające octan medroxyprogesteronu w ilości 60 mg (Veramix, Upjohn), zaś u 15 zastosowano gąbki nasyczone melatoninem. Gąbki i pessaria usunięto 20 sierpnia z tym, że u owiec, u których stosowano pessaria zastosowano w iniekcji domięśniowej 500 jm gonadotropiny surowicy ciężarnych kłacz. Następnie owce pokryto i po 50 dniach poddano ubojowi. W grupie, w której zastosowano melatonin uzyskano 87% zapłodnień, zaś w grupie, w której stosowano postępowanie konwencjonalne 61,5% zapłodnień, natomiast liczba żywych płodów przypadających na jedną owcę wyniosła odpowiednio 1,47 i 1,08.

G.