

W przypadku pojawienia się choroby u warchlaków i/lub tuczników zalecane jest dwukrotne szczepienie prosiąt w wieku 4 i 7 tygodni życia (2). Ostateczna decyzja co do terminów immunizacji zależy jednak w każdym przypadku od sytuacji epizootologicznej w stadzie.

W diagnostyce różnicowej uwzględnić należy takie jednostki chorobowe, jak: pomór klasyczny swni, pleuropneumonię swni, chorobę Auješzkyego, chorobę obrzękową oraz zatrucia solą lub związkami fosforoorganicznymi (27).

Należy pamiętać, że bakterie z gatunku *S. suis* mogą być patogenne również dla człowieka. Zakażenie ludzi tym drobnoustrojem prowadzić może do utraty słuchu, zapalenia opon mózgowych, a w skrajnych przypadkach również do śmierci (2, 8, 32). Dlatego też, wykonując badania sekcyjne zwierząt podejrzanych o streptokokozę, zachować należy odpowiednie środki ostrożności.

Reasumując należy stwierdzić, że zakażenie swni, przebywających w chlewniach o niekorzystnych warunkach środowiskowych, drobnoustrojami z gatunku *Streptococcus suis* prowadzić może do wystąpienia ostrej klinicznej postaci streptokokozy u warchlaków i/lub tuczników.

Piśmiennictwo

1. Arends J. P.: J. clin. Microbiol. 11, 945, 1984.
2. Barnham M., Neilson D. J.: Epidem. and Inf. 99, 257, 1987.
3. Bocklisch H., Zeppezauer V.: Mh. Vet.-Med. 34, 841, 1979.
4. Clausen H. M.: Kulturelle und tierexperimentelle Untersuchungen zum Vorkommen und zur Bedeutung von Streptokokken der Serogruppe R beim Schwein. Praca dokt. Tierärztliche Hochschule Hannover, 1980.

5. Clifton-Hadley F. A.: Br. vet. J. 139, 1, 1983.
6. Clifton-Hadley F. A., Alexander J. L., Upton I., Doffus W. P.: Vet. Rec. 21, 513, 1984.
7. Clifton-Hadley F. A., Enright M. R.: Vet. Rec. 24, 584, 1984.
8. Dickie A., Bremner D., Wong P., North J., Robertson J. D.: N. Z. med. J. 100, 835, 1987.
9. Elliot S. D., Tai J. Y.: J. exp. Med. 148, 1699, 1978.
10. Engel H., Narucka U., Westendorp J. F.: Tijdschr. Diergeneesk. 99, 1162, 1974.
11. Hinterhaerter F., Koter J.: Tierärztl. Umschau 43, 369, 1938.
12. Hogg A.: Streptococcus suis diseases in swine. Nebraska SPF Swine Conference August 8-9, 1988.
13. Hommez J., Devriese L. A., Henrichsen J., Castryck F.: Vet. Microbiol. 11, 349, 1986.
14. Jansen J. A., Dorsen C. A.: Tijdschr. Diergeneesk. 76, 815, 1951.
15. Kaszubkiewicz Cz., Sołtysiak Z., Bocianowski M.: Medycyna Wet. 36, 139, 1980.
16. Kloppenburg M., Müller N. N., Houwerzijl J.: Lancet 2, 1218, 1975.
17. Koche G., Madux R. L., Cornell W. D.: Am. J. vet. Res. 40, 1640, 1979.
18. Kunter E., Witting W.: Arch. exp. Vet. Med. 30, 211, 1976.
19. Madec F., Kobitsch M., Le Menec M., Saunders P., Guimoto H.: Proc. IPVS Congress, Barcelona 1986 s. 361.
20. Moor C. E.: J. Microbiol. 29, 272, 1963.
21. Poutin A. N.: Veterinarija (Moskwa) 63, 42, 1986.
22. Perch B., Pedersen K. B., Henrichsen J.: J. clin. Microbiol. 17, 993, 1983.
23. Ripley P. H., Windsor R. S., Novotny P.: Proc. IPVS Congress, Copenhagen 1980 s. 190.
24. Sanford S. E., Path D., Tucker A. M. E.: J. Am. vet. med. Ass. 181, 673, 1982.
25. Strojna S., Semka Z., Molenda J., Kozyrczak J., Janas P.: Medycyna Wet. 34, 339, 1978.
26. Sihvonen L., Kur D. N., Henrichsen J.: Acta vet. Scand. 29, 9, 1988.
27. Taylor D. J.: Pig Diseases. The Burlington Press, Cambridge 1985.
28. Upton J.: The immune response of the pig to infection with *Streptococcus suis* typ II. Index of Thesis 36, 381, 1986.
29. Vaissaire J., Gillet J. P., Marcon Ch.: Journées Rech. Porcine en France 19, 173, 1987.
30. Vecht V., Leengoed L. A., Verhelgen E. R.: Vet. Q. 7, 315, 1985.
31. Windsor R. S., Elliot S. D.: J. Hyg. Camb. 75, 69, 1975.
32. Zanen H. C., Engel H. W.: Lancet 1, 1286, 1975.

Adres autora: doc. dr hab. Zygmunt Pejsak, ul. Kościuszki 12/9, 24-100 Puławy

JERZY MOLENDĄ, MARIA NIKOŁAJCZUK *, WOJCIECH NOWACKI *, TADEUSZ STĘFANIAK *

Syndrom *Haemophilus somnus*-etiopatologia i wykrywanie zarazka*)

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Rodakowskiego 6, 50-966 Wrocław
 * Zakład Immunologii, Immunogenetyki i Prewencji Neonatalnej AR
 ul. Norwida 21, 56-375 Wrocław

Haemophilus somnus, znany od ponad 20 lat czynnik etiologiczny różnych schorzeń bydła, nie znalazł do tej pory swego miejsca w systematyce bakterii. Pierwszy człon jego nazwy określa morfologiczne i hodowlane właściwości drobnoustroju, drugi natomiast wywodzi się od śpiączki — podstawowego objawu klinicznego zakrzepowo-zatorowego zapalenia mózgu i opon mózgowych bydła opasowego (TEME — thrombo-embolic meningo-encephalitis), z którego dokonano pierwszych izolacji (3, 22). W następnych latach okazało się, że zarazek ten powoduje zmiany chorobowe w drogach rodnych krów, głównie zapalenia macicy i poronienia (9, 12, 14, 32)), a także zapalenia płuc u cieląt (3, 12, 27, 35). W

pierwszej połowie lat osiemdziesiątych opisano przypadki zapaleń ucha u jałówek (24, 47) i zapaleń wymienia u krów (1, 17, 23), których przyczyną był *H. somnus*. Ze względu na różnorodność powodowanych schorzeń, atakujących bydło w każdym wieku, zespół objawów klinicznych rozwijających się przy infekcjach tym drobnoustrojem nazywany jest syndromem *H. somnus* (19). Zarazek zaliczany jest do grupy drobnoustrojów oportunistycznych, a więc takich, które ujawniają swe patogenne działanie wtedy, gdy różnego rodzaju czynniki stresu osłabiają mechanizmy miejscowej lub systemowej odporności makroorganizmu. Zatem wyosobnienie go od zwierząt nie wykazujących żadnych zaburzeń w stanie zdrowia sugeruje albo nosicielstwo zarazka, albo infekcję subkliniczną.

*) Praca wykonana w ramach programów: CBPB 05.06.3.2.1. oraz CPBP 05.06.4.3.2C.

Morfologia i wymagania wzrostowe zarazka

H. somnus jest pozbawioną ruchu, gram-ujemną, pleomorficzną pałeczką, nie wytwarzającą fimbrii, ani przetrwalników (3, 38, 46). Badania ultrastruktury zarazka wykazały, że posiada ścianę komórkową zbudowaną — podobnie jak u innych bakterii gram-ujemnych — z błony zewnętrznej, peptydoglikanu i wewnętrznej błony cytoplazmatycznej (3, 41). U zdecydowanej większości szczepów nie stwierdzono otoczki (41, 46). W komórkach zarazka barwionych czerwienią rutenu i negatywno kwasem fosforowotungstenowym (wykrywanie wielocukrów i białek), nie stwierdzono w mikroskopie elektronowym obecności fimbrii, ani wielocukrowej otoczki (41). *H. somnus* nie wymaga do wzrostu obecności w podłożu czynników X (heminy) i V(NAD) (29, 37, 42). Bailie (3) uważa, że czynnik wzrostowy niezbędny dla *H. somnus* zawierają zarówno komórki zwierzęce i bakteryjne, jak i ich ekstrakty i jest on bardzo podobny do heminy. Spostrzeżenie to potwierdzili Stephens i wsp. (42), wg których *H. somnus* syntetyzuje porfiryne z kwasu amino-lewulinowego, co uniezależnia go od obecności w podłożu czynnika wzrostowego X. Asmussen i Baugh (2) stwierdzili, że preparat Iso Vital X (BBL Microbiology System), którego aktywnym składnikiem jest kokarboxylaza (pirofosforan tiaminy) silnie stymuluje wzrost *H. somnus*. Stymulatorem wzrostu zarazka jest także cysteina, lecz mechanizm jej działania nie jest znany (40). Analiza aminokwasów w podłożu (bulion odżywczy) wykonana przed posiewem i po uzyskaniu wzrostu bakterii wykazała, że ani cystyna, ani cysteina nie były przez drobnoustrój wykorzystywane. Przyjęto zatem, że pozytywny wpływ na wzrost ma obniżenie potencjału redox podłoża przez chlorowoderek cysteiny. Obserwowano również intensywny wzrost *H. somnus* w podłożach zawierających skrobię rozpuszczalną (41). Ponieważ nie była ona hydrolizowana przez drobnoustrój, autorzy przypuszczają, że spełnia ona rolę adsorbenta toksyn, które kumulując się w podłożu hamują wzrost zarazka równie skutecznie, jak wyczerpanie substancji odżywczych.

Optymalny wzrost pałeczek *H. somnus* uzyskuje się inkubując je w temp. 37°C w atmosferze mikroaerofilnej (o zwiększonej zawartości CO₂ — 10%), na podłożach o pH 7,8 (37, 38, 41, 42). Wyosobnione z materiału patologicznego szczepy udaje się adaptować do wzrostu w atmosferze tlenowej (27, 38).

H. somnus może wyrastać na podłożach stałych w postaci kolonii o zróżnicowanej morfologii. Ward i wsp. (46) opisali trzy warianty kolonii zarazka uzyskane z posiewów woreczków żółtkowych, doświadczalnie zakażonych zarodków kurzych. Były to kolonie: przezroczyste, małe-matowe i duże-matowe. Bakterie wyrastające w postaci kolonii przezroczystych syntety-

zowały znacznie cieńszą od pozostałych wariantów ścianę komórkową o nieregularnej powierzchni i miały kształt pleomorficznych kokopaleczek. Małe kolonie matowe (0,1—1,5 mm średnicy) tworzyły komórki o grubszej ścianie komórkowej i pałeczkowatym wyglądzie. Kolonie trzeciej odmiany (około 3 mm średnicy) zawierały bakterie o najgrubszej, sztywnej ścianie komórkowej i jednorodnym pałeczkowatym kształcie. Pałeczki *H. somnus* z kolonii przezroczystych i małych matowych wykazywały zdecydowanie silniejszą adhezję do komórek nabłonka małżowin nosa bydląt niż pochodzące z kolonii dużych. Pierwsze dwie odmiany autorzy określili jako formę S zarazka, trzecią natomiast jako formę zdysocjowaną R.

Budowa antygenowa

Nieliczne są badania struktury antygenowej *H. somnus*. Drobnoustrój ten nie należy do silnych antygenów. Nie posiada na powierzchni komórki determinant takich jak fimbrie, czy otoczka — uznanych czynników wirulencji zarazka. Tak więc najbardziej zewnętrzną strukturą komórki jest kompleks lipidów, białek i wielocukrów ściany komórkowej. Bardziej szczegółowych danych o budowie błony zewnętrznej tego drobnoustroju dostarczyły badania Stephensa i wsp. (43). Uzyskali oni ekstrakt będący kompleksem antygenów błony zewnętrznej *H. somnus* (OMC — outer membrane complex), złożony z 10 dużych polipeptów i licznych mniejszych. Rozdział immunoelektroforetyczny i chromatograficzny tego kompleksu wykazał obecność w nim 3 antygenów, z których 2 posiadały dodatni ładunek elektryczny (cationic antigen — CA), a trzeci ujemny (anionic antigen — AA). W skład AA wchodziła większość polipeptydów tworzących OMC, wśród których zdecydowanie przeważały cztery nieobecne w CA. Z kolei trzy dominujące polipeptydy antygeny katodowego (CA) nie były reprezentowane w AA. Strukturę obu antygenów w około 50% tworzyły białka, natomiast wielocukry w większości występowały w AA. Autorzy nie określili zawartości lipidów w przygotowanych preparatach, stąd udział tych składników ściany komórkowej w poszczególnych antygenach nie jest znany. Właściwości antygeny ochronnego wykazywał głównie AA i w znacznie mniejszym stopniu OMC. Antygen katodowy nie indukował odporności na doświadczalne zakażenie. Na znaczenie białek błony zewnętrznej jako antygenów ochronnych wskazują także wyniki doświadczeń Corbeil i wsp. (11). Analizując białka błony zewnętrznej szczepów *H. somnus* wyosobnionych z różnych przypadków chorobowych stwierdzili immunodominującą rolę dwóch białek o ciężarach 40 i 70 KD. Przeciwciała dla tych protein stwierdzono u wszystkich doświadczalnie zakażonych jałówek, podczas gdy inne, obecne również w błonie zewnętrznej białka o ciężarach 60 KD i 270 KD indukowały przeciwciała u niektó-

rych tylko zwierząt. Znaczenie ochronne antygenów 40 KD i 76 KD podkreśla wg autorów brak odpowiedzi immunologicznej na dominujące w ekstraktach wszystkich szczepów białko o ciężarze 41 KD.

Shigidi i Hoerlein (38) stwierdzili odrębność antygenową *H. somnus* od taksonomicznie bliskich pałeczek *Haemophilus agni*, mimo występowania między nimi reakcji krzyżowych. Spos trzeżenia te potwierdzili i rozszerzyli w stosunku do innych bakterii Miller i wsp. (26). Przygotowali oni surowice przeciw natywnym wielocukrom i białkom *H. somnus*, które następnie reagowały krzyżowo w odczynie hemaglutynacji z wielocukrami i białkami *A. lignieresii*, *B. bronchiseptica*, *S. dublin*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *B. abortus* i *C. pyogenes*. Miana tych reakcji były jednak niskie i nie przekraczały rozcieńczenia 1:4. Nieco silniejsze reakcje stwierdzono tylko z wielocukrami *H. agni* (1:16). Występowanie tych reakcji krzyżowych między nieraz bardzo odległymi taksonomicznie bakteriami uzasadnione jest obecnością na ich powierzchni determinantów o zbliżonej konfiguracji przestrzennej do receptorów *H. somnus*.

Canto i Biberstein (8) podjęli próbę wykorzystania różnic w konfiguracji łańcuchów bocznych wielocukrów *H. somnus* do wyodrębnienia typów serologicznych tych pałeczek. Wydaje się jednak, że siła oddziaływania tych determinantów jest wyraźnie mniejsza niż innych antygenów o swoistości gatunkowej czy grupowej, a ponadto, być może, nie zawsze dochodzi do ich ekspresji. Mogłoby to tłumaczyć obserwowany w badaniach immunoelektroforetycznych brak różnic między różnymi szczepami *H. somnus* (12, 16, 29, 42).

Pozycja taksonomiczna

Miejsce w systematyce *H. somnus* nie zostało dotąd ustalone. Jak wiadomo, jego wzrost nie zależy od czynników V i X, niezbędnych substratów wzrostowych przedstawicieli rodzaju *Haemophilus*. Wyklucza to wg Bibersteina i Zinnemaña (6) jego przynależność do tego rodzaju. Trudno jednak kwestionować, że właściwości morfologiczne i fizjologiczne, cechy fenotypowe oraz zawartość zasad purynowych DNA (C+G=38%—47%) sytuują ten drobnoustrój w grupie *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Pasteurella* (25). Stephens i wsp. (42) porównując właściwości morfologiczne, bochemiczne i antygenowe *H. somnus*, *H. agni*, *Histophilus ovis*, *Actinobacillus agni* i *Actinobacillus seminis*, stwierdzili znaczny stopień pokrewieństwa między *H. somnus*, *H. agni* i *H. ovis*. Zaproponowali więc utworzenie z tych gatunków grupy *Haemophilus*—*Histophilus* (H H group). Odrębność tej grupy została potwierdzona badaniami immunoelektroforetycznymi, w których stwierdzono brak wspólnych antygenów między jej przedstawicielami a *H. influenzae* i *A. lignieresii* (25). Zasadność wyodrębnienia grupy H H potwierdza także hybrydy-

zacja wykonana między jej przedstawicielami, ujawniająca wysoki stopień pokrewieństwa między *H. somnus*, *H. agni* i *H. ovis* (45).

Właściwości chorobotwórcze

Mechanizm patogennego działania pałeczek *H. somnus* nie został dotąd zdefiniowany. Wiele wskazuje na to, że podobnie jak w innych infekcjach bakteryjnych chorobotwórczość zarazka determinowana jest jego zdolnością adherencji do komórek makroorganizmu oraz działaniem dystrukcyjnym na te komórki różnych substancji toksycznych produkowanych przez mikroorganizm. Nie wyodrębniono dotąd żadnego wśród czynników wirulencji umożliwiających zarówno adherencję, jak i uszkodzających tkanki. Stwierdzono przyleganie komórek *H. somnus* do śródbłonka naczyń (46) oraz nabłonka błony śluzowej nosa bydła (44), mimo, że drobnoustrój nie syntetyzuje fimbrii, będących głównymi czynnikami adherencji. Można zatem podejrzewać, że w procesie tym, podobnie jak to stwierdzono u innych bakterii, pośredniczą receptory wiążące fibronektyn, które znajdują się na błonie zewnętrznej komórki bakteryjnej (15). Fibronektyn jest glikoproteiną o wysokim ciężarze cząsteczkowym, obecną we krwi i płynach ustrojowych oraz w postaci nierozpuszczalnej w fibroblastach, makrofagach i komórkach śródbłonka naczyń (48). *In vivo* wchodzi on w połączenie ze specyficznymi strukturami błony zewnętrznej bakterii, umożliwiając ich adherencję do komórek eukariotycznych. Struktury te nie zostały dotąd zdefiniowane.

Aktywność patogenna *H. somnus* jest w głównej mierze następstwem wewnątrznaczyniowej koagulacji krwi w naczyniach włosowatych zaatakowanych narządów. Momotani i wsp. (30) stwierdzili, że w przebiegu infekcji w narządach stwierdza się rozsiane ogniska wewnątrznaczyniowej koagulacji (DIC — disseminated intravascular coagulation). Motorem tych zmian jest tromboplastyna uwalniana z uszkodzonych tkanek, szczególnie śródbłonka naczyń, powodująca koagulację krwi i tworzenie fibrynowych zakrzepów. Należy sądzić, że DIC jest czynnikiem inicjującym patologiczne zmiany w infekcjach *H. somnus*, natomiast nie jest znany mechanizm indukcji tych zmian przez drobnoustrój. Być może również inne czynniki wirulencji np. o charakterze cytotoksyn są także wytwarzane przez zarazek. Stwierdzono jednak, że ekspresja tych czynników jest zmienna, co powoduje niekiedy znaczne różnice w zjadliwości między poszczególnymi szczepami (33).

Wyosobnienie i identyfikacja zarazka

Wskaźnikiem infekcji lub nosicielstwa zarazka u bydła jest wyosobnienie go z narządów wewnętrznych lub mózgu zwierząt padłych, zamarych płodów, wymazów z nosa i narządu rozrodczego, spermy i wypłuczyn napletkowych poranycia od zwierząt chorych lub siewców. W

celu wyosobnienia zarazka materiały patologiczne wysiewa się równoległe na podwójną liczbę podłoży agarowych (agar żywycowy lub agar PPLO — Difco) z dodatkiem 0,5% ekstraktu drożdżowego i 10% krwi wołowej. Jeden komplet podłoży inkubuje się w temp. 37°C przez 48 godzin, w atmosferze mikroaerofilnej, drugi w tlenowej. Charakterystyczne, drobne (0,5—1,5 mm średnicy), okrągłe, błyszczące o delikatnym szaro-żółtym odcieniu kolonie *H. somnus* wyrastają po 24, a niekiedy po 48 godzinach hodowania, tylko w atmosferze mikroaerofilnej. Stosowanie podłoży transportowych w niewielkim stopniu zwiększa częstość izolacji. Powodem tego jest zapewne stosunkowo niedługi (kilka dni) okres przeżywania zarazka w płynach ustrojowych (krew, mleko, płyn mózgowo-rdzeniowy, śluz nosa lub pochwy). Tylko w moczu zarazek ginie szybko i czas jego przeżywania wynosi 15 minut w temperaturze otoczenia 15°C oraz około 2 godzin w temperaturze 0°C (13). Częstym utrudnieniem izolacji drobnoustroju jest przerost przez inne, obecne w badanej próbce bakterie. Dotyczy to szczególnie takich materiałów jak: wymazy z nosa, z dróg rodnych oraz wypłuczyn napletkowych, które najczęściej przerastają pałeczkami *Proteus*. Z szeregu testowanych inhibitorów towarzyszącej flory bakteryjnej, stosunkowo najlepsze wyniki uzyskano dodając do podłoży wodnik chloralu w stężeniu 0,1% (7).

Identyfikacji wyrosłych bakterii dokonuje się na podstawie ich cech fizjologicznych, biochemicznych i antygenowych. Charakterystyczne właściwości pałeczek *H. somnus*, umożliwiające ich wstępną identyfikację, przedstawiono w tabeli 1. Cechy biochemiczne zarazka w badaniach różnych autorów są zbliżone (16, 22, 27, 29, 32, 38, 42). Większe różnice dotyczą w zasadzie tylko zdolności fermentowania węglowodanów i wynikają najprawdopodobniej z różnych metod badania tej aktywności. W tabeli 2 przedstawiono cechy biochemiczne zarazka stwierdzone u szczepów wyosobnionych w różnych krajach. W badaniach własnych posłużono się komputerowym zestawem mikrotestów API 20E (Francja); pozostali badacze przygotowywali substraty we własnym zakresie. W identyfikacji *H. somnus* wykorzystywana jest także charakterystyczna dla tego drobnoustroju aktywność enzymów, odróżniająca go od pokrewnych gatunków (10). Wyniki tych badań, wykonanych z substratami firmy Rosco Diagnostica Taastrup (Dania) wskazują, że rozkład hipuranu sodu oraz wytwarzanie beta-glukozydazy i beta-glukuronidazy umożliwiają odróżnienie tego drobnoustroju od pozostałych przedstawicieli grupy H H, a także *Pasteurella multocida* i *Taylorella equigenitalis*.

Wśród serologicznych metod diagnozowania *H. somnus* prostotą i szybkością wykonania odznacza się test bezpośredniej immunofluorescencji (12, 33). Szersze jej stosowanie ogranicza jednak brak komercyjnych odczynników. W roz-

Tab. 1. Cechy identyfikacyjne *H. somnus* wg Humphrey i Stephensa (19)

Właściwości stwierdzone u wszystkich szczepów	
—	gram-ujemne, pleomorficzne kokopaleczki
—	brak ruchliwości
—	wytwarzanie oksydazy cytochromowej
—	wytwarzanie reduktazy azotanowej
—	utylicacja kwasu aminolewulinowego
—	brak utylizacji cytrynianów i mocznika
—	ujemne reakcje VP i MR
—	brak wzrostu na agarze Mac Conceya
Właściwości stwierdzone u większości szczepów	
—	b. słaby wzrost na podłożach bez dodatku krwi
—	wzrost satelitarny dookoła kolonii gronkowców na podłożach bez dodatku krwi
—	stymulacja wzrostu przez kokarboksylazę
—	słaby wzrost lub brak wzrostu w atmosferze tlenowej (bez zwiększonej zawartości CO ₂)
—	brak wytwarzania katalazy

Tab. 2. Cechy biochemiczne *H. somnus* wg różnych autorów (12, 29, 33, 39)

(12) 22 szczepów	(29) 48 szczepów	(33) 105 szczepów	(38) 7 szczepów
+++ oksydaza cyt. lizyna eskulina	+++ oksydaza cyt. fermentacja: glukozy	+++ oksydaza cyt.	+++ oksydaza cyt.
+ redukcja azotanów fermentacja: mannitolu glukozy	+ fermentacja: mannitolu sorbitolu ramnozy melecycytozy arabiny	+ lizyna fermentacja: mannitolu	+ —
MR VP indol mocznik ruch czynnik V czynnik X KCN H ₂ S	MR VP indol mocznik czynnik V czynnik X cytryniany żelatyna ONPG H ₂ S	katalaza H ₂ S indol mocznik ruch czynnik-V czynnik X cytryniany żelatyna	MR VP lecytynaza mocznik
— fermentacja: laktozy dulcitolu adonizolu salicyny inozytolu sacharozy	— lizyna ornityna arginina TDA katalaza	— fermentacja: laktozy dulcitolu adonitolu salicyny inozytolu sacharozy MR VP	— —
—	d fermentacja: inozytolu sacharozy amygdaliny redukcja azotanów	—	—

Objaśnienia: +++ reakcje regularnie pozytywne, --- reakcje regularnie negatywne, + reakcje zwykle pozytywne, — reakcje zwykle negatywne, d — reakcje różne.

poznaniu zarazka stosowany jest także odczyn aglutynacji (27, 33, 34, 38). Aglutynowanie wyosobnionego szczepu do wysokości miana przez surowicę referencyjną jest decydującym momentem diagnostycznym.

Zakażenie zwierząt doświadczalnych

Doświadczalne zakażenia zwierząt laboratoryjnych okazały się mało przydatne dla oceny zjad-

liwości wyosobnionych szczepów. Próby takie, z odtworzeniem objawów klinicznych, występujących w naturalnych zakażeniach udają się jedynie po dożylnym, a zwłaszcza domózgowym zakażeniu cieląt (40). Próby wywołania choroby u innych gatunków zwierząt zakończyły się co najwyżej ograniczonymi sukcesami (13). Również próby wykonywane na zwierzętach laboratoryjnych najczęściej kończą się niepowodzeniem (22, 37). Niekiedy uzyskuje się efekt śmiertelny po dootrzewnowym zakażeniu królików lub domózgowym białych myszy (22, 37). Dewey i Little (13) porównywali przydatność różnych zwierząt laboratoryjnych (myszy, szczurów, królików i chomików) dla określenia zjadliwości wyosobnionych szczepów *H. somnus*. Badania te wykazały, że zmiany patologiczne, specyficzne dla schorzeń powodowanych przez ten zarazek a mianowicie: meningitis, ogniska hemoragiczne w płucach, sercu, jelitach, pęcherzu moczowym i obrzęk węzłów chłonnych, rozwijały się jedynie u chomików.

Metody pośrednie diagnozowania zarazka

Pośrednim dowodem kontaktu zwierząt z zarazkiem jest obecność u nich swoistych przeciwciał wykrywanych badaniami serologicznymi. Celem tych badań jest ewidencja stopnia ekspozycji zwierząt w poszczególnych obiektach hodowlanych na pałeczki *H. somnus*. Wykrywają one swoiste przeciwciała w surowicy, a także w przypadkach infekcji narządu rozrodczego, w wydzielinie pochwy, plazmie nasienia i wypluczynie napletkowej. Najpowszechniej stosowanym testem jest odczyn mikroaglutynacji płytowej, rzadziej — odczyn wiązania dopełniacza i ELISA. Ten ostatni, mimo że jest wysoce czuły i umożliwia wykrywanie przeciwciał w poszczególnych klasach immunoglobulin (21, 39), nie jest szerzej stosowany z powodu braku komercyjnych odczynników. Szczególną jego użyteczność wykazano przy wykrywaniu przeciwciał w plazmie nasienia i w wypluczynie napletkowej (21).

Badania serologiczne wskazują na znacznie wyższy odsetek seroreagentów w gospodarstwach dużych, niż małych (4, 34). Z badań własnych wynika, że w gospodarstwach, w których stwierdzono nosicieli, miana aglutynin surowicy u większości zwierząt były wyższe od 1:16, natomiast w gospodarstwach wolnych od zarazka — przeciwciała stwierdzano w rozcieńczeniach niższych niż 1:16 (4, 31).

Istnieją różnice poglądów co do wysokości miana aglutynin, wskazujących na stan choroby, natomiast ogólnie akceptuje się, że poziom przeciwciał u zwierząt chorych na zapalenie płuc, TEME, WCS (syndrom słabego cielęcia) zdecydowanie przewyższa miana seroreagentów, indukowane ekspozycją zarazka (18, 20, 21, 28, 34). Humphrey i wsp. (20) uważają, że miano $\geq 1:32$ jest u krów roniących lub chorujących na zapalenie dróg rodnych, wskaźnikiem aktualnej in-

fekcji *H. somnus*. W badaniach własnych (28), wykonanych u krów po poronieniu, za miano wskaźnikowe uznano reakcje rozcieńczeń surowicy $\geq 1:128$. Z kolei Howard i wsp. (18) uważają, że wskaźnikiem procesu chorobowego są miana $\geq 1:256$. Newman (cyt. za 5) natomiast oraz Jackson i wsp. (21) twierdzą, że reakcje surowic w rozcieńczeniach $\geq 1:1024$ są dopiero nie kwestionowanym wskaźnikiem infekcji płucnych lub mózgowych *H. somnus*. Ponadto wg ostatnich badań, wykrycie w surowicach przeciwciał wiążących dopełniacz w rozcieńczeniu wyższym niż 1:4 potwierdza aktualność choroby. W celu ułatwienia interpretacji badań serologicznych, szczególnie w stadach, w których nasilają się objawy kliniczne sugerujące infekcję *H. somnus*, niektórzy autorzy (5, 18, 35) zalecają ich powtórzenie po upływie 14 dni dla porównania wyników. Wystąpienie serokonwersji mian u znacznego odsetka zwierząt jest istotnym momentem diagnostycznym.

Mimo rozbieżności interpretacyjnych, wynikających zapewne z użycia w różny sposób wystandardyzowanych antygenów, stosowanie odczynu mikroaglutynacji w badaniach rozpoznawczych jest polecane ze względu na łatwość wykonania i możliwość zbadania dużej liczby zwierząt. Brak serotypowego zróżnicowania zarazka jest kolejnym czynnikiem upraszczającym rozpoznanie, które wobec znacznych trudności z izolacją drobnoustroju może być pomocne w diagnozowaniu przyczyn zachorowań.

Z przedstawionych danych wynika, że zgodnie z obecnym stanem wiedzy o zarazku, najistotniejsze dla jego wyosobnienia i rozpoznania są właściwe warunki hodowli oraz określenie cech morfologicznych i biochemicznych wyosobnionych szczepów, a także stwierdzenie ich tożsamości serologicznej z referencyjnymi szczepieniami. Pomocne w rozpoznaniu infekcji *H. somnus* jest również, jak to wynika z cytowanych badań, stwierdzenie podwyższonych mian przeciwciał dla tego drobnoustroju, a szczególnie ich konwersja u zwierząt w badanym obiekcie.

Piśmiennictwo

1. Armstrong K. R.: Can. vet. J. 27, 211, 1986.
2. Asmussen N. D., Baugh C. L.: J. clin. Microbiol. 14, 178, 1981.
3. Bailie W. E.: Diss. Abst. 30 B, 2482, 1969.
4. Balbierz H., Nowacki W., Molenda J., Nikołajczuk M.: Medycyna Wet. 41, 272, 1985.
5. Beeman K. B.: Comp. cont. Educ. 7, 5259, 1985.
6. Biberstein E. L., Zimmernan K.: Int. J. syst. Bact. 32, 244, 1982.
7. Brewer R. A., Smith R. A., Corbeil M. J.: Lett. Appl. Microbiol. 3, 13, 1986.
8. Canto G. J., Biberstein E. L.: J. clin. Microbiol. 15, 1009, 1982.
9. Chladek D. W.: Am. J. vet. Res. 36, 1041, 1975.
10. Corbeil M. J., Piggott J. K., Brewer R. A.: Lett. Appl. Microbiol. 3, 13, 1986.
11. Corbeil L. B., Arthur J. E., Widders F. R., Smith J. W., Barbet A. F.: Inceft. Immunity 55, 1381, 1987.
12. Corboz L., Nicolet J.: Schweitzer Arch. Tierheilk. 117, 493, 1975.
13. Dewey K. J., Little P. B.: Can. J. comp. Med. 48, 23, 1984.
14. van Dreumek A. A., Kierstend M.: Can. vet. J. 16, 367, 1975.
15. Fröman G., Switalski L., Formal S. B.: Gastroenterology 66, 215, 1984.
16. Garcia-delgado G. A., Little P. B., Barnum D. A.: Can. J. comp. Med. 41, 380, 1977.

17. Hatzlett K. J., Little P. B., Barnum D. A.: Am. J. vet. Res. 46, 2229, 1985.
18. Howard D. R., Foley C. F.: H. somnus herd health memo. University of Kentucky. July, 1983.
19. Humphrey J. D., Stephens L. R.: Vet. Bull. 53, 987, 1983.
20. Humphrey J. D., Little P. B., Stephens L. R., Barnum D. A.: J. Am. vet. med. Ass. 43, 791, 1982.
21. Jackson J. A., Andrews J. J., Hargis J. W.: Vet. Path. 24, 129, 1987.
22. Kennedy P. C., Biberstein B. L., Hawarth J. A., Frazier L. M., Dungworth D. L.: Am. J. vet. Res. 21, 403, 1960.
23. Küpel H.: Arch. exp. Vet. Med. 40, 164, 1986.
24. Mc Even, Hulland T. J.: Can. vet. J. 26, 7, 1985.
25. Mannheim W., Pohl S., Holländer R.: Ztbl. Bakt. Parasit. Kde I, Orig. A 246, 512, 1980.
26. Müller R. J., Renshaw H. W., Evans J. A.: Am. J. vet. Res. 36, 1124, 1975.
27. Molenda J., Kozyrzszak J.: Medycyna Wet. 36, 209, 1980.
28. Molenda J., Sobiech E., Wiernicka-Czopek E., Strojna S.: Medycyna Wet. 43, 435, 1987.
29. Molenda J., Sobiech E.: 9 th Int. Symposium W.A.V.M.I., Perugia 1987.
30. Momotani E., Yabiki Y., Miho H., Ishikawa Y., Yoshino T.: J. comp. Path. 95, 15, 1985.
31. Nowacki W., Molenda J., Stefanlak T., Chetmońska A., Nikołajczuk M.: Medycyna Wet. 44, 136, 1988.
32. Patterson R. M., Hill J. F., Shtel M. J., Humphrey J. D.: Aust. vet. J. 61, 301, 1984.
33. Rauth S., Bisping W., Kirpal G.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 99, 405, 1986.
34. Sanjacon D., Higgins R.: Can. J. comp. Med. 47, 456, 1983.
35. Saunders J. R., Janzen E. D.: Clin. vet. J. 21, 219, 1980.
36. Simonson R. R., Maheswaran S. K., Ward G. E.: Am. J. vet. Res. 42, 1235, 1984.
37. Shigidi M. A.: Diss. Abst. Int. 30 B, 4726, 1970.
38. Shigidi M. A., Hoerlein A. B.: Am. J. vet. Res. 31, 1017, 1970.
39. Stefanlak T., Molenda J., Króliński J., Chetmońska A.: Medycyna Wet. 43, 621, 1987.
40. Stephens L. R., Little P. B., Wilkie B. N., Barnum D. A.: J. Am. vet. med. Ass. 178, 378, 1981.
41. Stephens L. R., Little P. B.: Am. J. vet. Res. 42, 1638, 1981.
42. Stephens L. R., Humphrey J. D., Little P. B., Barnum D. A.: J. clin. Microbiol. 17, 728, 1986.
43. Stephens L. R., Little P. B., Wilkie B. N., Barnum D. A.: Am. J. vet. Res. 45, 234, 1984.
44. Thompson K. G., Little P. B.: Am. J. vet. Res. 42, 749, 1981.
45. Walker P. L., Biberstein B. L., Pritchett R. F., Kirkham C.: Int. J. syst. Bacteriol. 35, 46, 1985.
46. Ward G. E., Nivard J. R., Maheswaran S. K.: Am. J. vet. Res. 45, 336, 1984.
47. Watton P. W., Frelier P. F., Gifford G. A., Carmat B. D.: Can. vet. J. 24, 238, 1983.
48. Yamada K. M.: Ann. Rev. Biochim. 52, 761, 1983.

Adres autora: doc. dr hab. Jerzy Molenda, ul. Rodakowskiego 6, 50-966 Wrocław

ALEKSANDRA HARTWIG, KRZYSZTOF MIECZKOWSKI

Choroby jedwabników. I. Choroby wirusowe

Pracownia Chorób Owadów Użytkowych Katedry Epizootologii
Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Poszerzenie programu studiów weterynaryjnych o wiadomości z zakresu chorób jedwabników spowodowało konieczność przybliżenia większemu gronu tej problematyki. Jedwabniki i pszczoły należą bowiem do owadów od wieków wykorzystywanych przez człowieka. Udomowienie jedwabników, które miało miejsce w Chinach około 2600 lat temu, poszło tak daleko, że dziś już jedwabniki nie występują w stanie naturalnym, a motyle jedwabnika przestały latać.

Jedwabnik morwowy (*Bombyx mori*) należy do gromady owadów (*Insecta*), rzędu motyli (*Lepidoptera*), rodziny przadkowatych (*Bombycidae*). Wiosną z jaj (grena) wykluwają się larwy, które w ciągu 28—34 dni podczas V okresów wzrostowych stają się dojrzałymi gąsienicami. Gąsienice żywią się liśćmi morwy. Przeobrażając się w poczwarkę tworzą oprzęd z jedwabnej nici. Po 2—3 tygodniach wyklują się owad doskonały.

W skali światowej roczne straty spowodowane występowaniem chorób w hodowli jedwabników szacowane są na około 10—15% ogólnej produkcji. Dawniej były one znacznie większe. Prawdziwa klęska w hodowli nastąpiła w latach 1845—1867, kiedy to pebryna zaatakowała nie tylko większość hodowli w Europie, lecz także w wielu krajach azjatyckich. Dzięki badaniom Ludwika Pasteura (1868—1870) i wprowadzeniu tzw. celkowej produkcji jajeczek pebryna dziś nie stanowi tak dużego zagrożenia.

Przez wiele lat dla określenia chorób obserwowanych u jedwabników stosowano terminy:

żółtaczką, martwota-flaszerią, gnilec-septicemą czy suchoty. Postęp badań, coraz dokładniejsze poznanie etiologii i patogenezы chorób, które dawniej nie były diagnozowane, pozwoliło na wyróżnienie następujących jednostek chorobowych:

- A. choroby wirusowe: poliedroza jądrowa, poliedroza cytoplazmatyczna, flaszeria zakaźna, poliedroza jądrowa jelista środkowego;
- B. choroby pasożytnicze: pebryna;
- C. choroby grzybicze: muskardyna, aspergiloza;
- D. choroby bakteryjne: choroba Sotto, posocznica, choroby bakteryjne przewodu pokarmowego;
- E. choroby związane z nieprawidłowym żywieniem, zaburzeniami równowagi hormonalnej itp.

Największe zagrożenie dla hodowli stanowią: poliedrozy jądrowa i cytoplazmatyczna, pebryna i grzybice.

Poliedrozy

Poliedrozy to grupa wirusowych chorób owadów, w których przebiegu stwierdza się występowanie kryształopodobnych ciałek wtretowych w jądrach lub cytoplazmie zaatakowanych komórek (ciałka wtretowe mają tu formę wielościanów i stąd też nazywane są poliedrami (gr. polyhedron — wielościan). W skład poliedr wchodzi białko stanowiące 95% ciałek wtretowych i wiriony danego wirusa — 5%. Zasadnicza funkcja poliedr polega na ochronie wirionów przed niekorzystnymi czynnikami środowiska zewnętrznego. Nie zabezpieczają one jednak cząsteczek wirusa przed działaniem silnych zasad, kwasu trójchlorooctowego, pod-