

metody 5' nukleazy, poprzez włączenie sond znaczonej fluorochromami: 5'reporter i 3'quencher. Sondy różnią się pomiędzy sobą, pozwalając rozróżnić badany materiał na genotypy. Opracowano system TaqMan, wykorzystujący próbki pulowane krwi (krew od kilku osobników), który pozwala jednocześnie określić genotyp i liczbę genomów wirusa w badanej próbce. Takie postępowanie jest mniej pracochłonne, zmniejsza koszty i pozwala w krótkim czasie zbadać dużą liczbę zwierząt na obecność patogenu. W przypadku wyniku dodatniego dla badanej grupy zwierząt przeprowadza się badania poszczególnych zwierząt (28).

Wiele zespołów naukowych prowadzi badania, których celem jest obniżenie strat związanych z BVD. Opracowywane są nowe szczepionki, nowe programy zwalczania, jak również prowadzone są intensywne prace hodowlane. Polegają one na poszukiwaniu markerów genetycznych odpowiedzialnych za różną reakcję organizmu zwierzęcia na patogen. Uważa się, że badania związku pomiędzy głównym układem zgodności tkankowej (major histocompatibility complex – MHC), w tym bydlęcymi antygenami limfocytarnymi BoLA-DR/DQ (bovine lymphocyte antigen – BoLA), a podatnością bydła mlecznego na wirusową biegunkę bydła mogą dostarczyć ciekawych wyników.

Piśmiennictwo

1. Bolin, S.R., J.F. Ridpath: Range of viral neutralizing activity and molecular specificity of antibodies induced in cattle by inactivated bovine viral diarrhoea virus vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 1990, **51**, 703-707.

2. Houe H.: Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals* 2003, **31**, 137-143.
3. Wengler G.: Family Flaviviridae, W. R. I. B. Francki, C. M. Fauquet, D. L. Knudson, F. Brown (edit.): *Classification and nomenclature of viruses. Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Springer-Verlag, Berlin 1991. s. 223-233.
4. Meyers G., Tautz N., Stark R., Brownlie J., Dubovi E. J., Collet M.S., Thiel H.-J.: Rearrangement of viral sequences in cytopathogenic pestiviruses. *Virology* 1992, **191**, 368-386.
5. Meyers G., Rümenapf T., Thiel H.: Molecular cloning and nucleotide sequence of the genome of hog cholera virus. *Virology* 1989, **171**, 555-567.
6. Olafson P., Maccallum A. D., Fox F. H.: An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet.* 1946, **36**, 205-213.
7. Thiel H.-J., Plegemann G.W., Moennig V.: Pestiviruses. W: B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley (edit.): *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 1996. s. 1059-1073.
8. Baker J. C.: Bovine viral diarrhoea virus: a review. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1987, **190**, 1449-1457.
9. Barlow R.M.: Border disease virus. W: Dinter Z., Morein B. (edit.): *Virus Infections of Ruminants*. Elsevier, Amsterdam 1990. s. 267-279.
10. Terpstra C., Wensvoort G.: Natural infections of pigs with bovine viral diarrhoea virus associated with signs resembling swine fever. *Res. Vet. Sci.* 1998, **45**, 137-142.
11. Dahle J., Liess B., Frey H.R.: Interspecies transmission of pestiviruses: experimental infections with bovine viral diarrhoea virus in pigs and hog cholera virus in cattle, Commission of the European Communities Publication EUR10238EN. Commission of the European Communities, Luxembourg 1987. s. 195-211.
12. Doyle L.G., Heuschele W.P.: Bovine viral diarrhoea virus infection in captive exotic ruminants. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1983, **183**, 1257-1259.
13. Rümenapf T., Unger G., Strauss J.H., Thiel H.-J.: Processing of the envelope glycoproteins of pestiviruses. *J. Virol.* 1993, **67**, 3288-3294.
14. Deng, R., Brock K.V.: Molecular cloning and nucleotide sequence of a pestivirus genome, noncytopathic bovine viral diarrhoea virus strain SD-1. *Virology* 1992, **191**, 867-879.
15. Meyers G., Tautz N., Becher P., Thiel H.-J., Kümmerer B.M.: Recovery of cytopathogenic and noncytopathogenic bovine viral diarrhoea viruses from cDNA constructs. *J. Virol.* 1986, **70**, 8606-8613.
16. Tautz N., Thiel H.-J., Dubovi E.J., Meyers G.: Pathogenesis of mucosal disease: a cytopathogenic pestivirus generated by an internal deletion. *J. Virol.* 1994, **68**, 3289-3297.
17. Lackner T., Müller A., König M., Thiel H.-J., Tautz N.: Persistence of bovine viral diarrhoea virus is determined by a cellular cofactor of a viral autoprotease. *J. Virol.* 2005, **79**, 9746-9755.
18. Fetzer C., Tews B.A., Meyers G.: The carboxy-terminal sequence of the pestivirus glycoprotein E(rns) represents an unusual type of membrane anchor. *J. Virol.* 2005, **79**, 11901-11913.
19. Krey T., Thiel H. J., Rümenapf T.: Acid-resistant bovine pestivirus requires activation for pH-triggered fusion during entry. *J. Virol.* 2005, **79**, 4191-4200.
20. Lecot S., Belouzard S., Dubuisson J., Rouillé M.: Bovine viral diarrhoea virus entry is dependent on clathrin-mediated endocytosis. *J. Virol.* 2005, **79**, 10826-10829.
21. Ridpath J.F., Bendfeldt S., Neill J.D., Liebler-Tenorio E.: Lymphocytopathogenic activity in vitro correlates with high virulence in vivo for BVDV type 2 strains: Criteria for a third biotype of BVDV. *Virus Res.* 2006, **118**, 62-69.
22. Ridpath, J. E., Bolin S.R., Dubovi E.J.: Segregation of bovine viral diarrhoea virus into genotypes. *Virology* 1994, **205**, 66-74.
23. Fulton R.W., Ridpath J.F., Saliki J.T., Briggs R.E., Confer A.W., Burchell J., Purdy C.W., Loan R.W., Duff G.C., Payton M.E.: Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1b: predominant BVDV subtype in calves with respiratory disease. *Can. J. Vet. Res.* 2002, **66**, 181-190.
24. Giangaspro M., Harasawa R.: Genetic variety of bovine viral diarrhoea virus 2 strains isolated from sheep. *J. Vet. Med. Sci.* 2004, **66**, 323-326.
25. Ferron E., Bussetta C., Dutartre H., Canard B.: The modeled structure of the RNA dependent RNA polymerase of GBV-C Virus suggests a role for motif E in *Flaviviridae* RNA polymerases. *BMC Bioinformatics* 2005, **6**, 255.
26. Munoz-Zanzi C. A., Thurmond M.C., Hietala S.K.: Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers. *Theriogenology* 2004, **61**, 1085-1099.
27. Brackenbury L.S., Carr B.V., Stamataki Z., Prentice H., Lefevre E.A., Howard C.J., Charleston B.: Identification of a cell population that produces alpha/beta interferon in vitro and in vivo in response to noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *J. Virol.* 2005, **79**, 7738-7744.
28. Letellier C., Kerkhofs P.: Real-time PCR for simultaneous detection and genotyping of bovine viral diarrhoea virus. *J. Virol. Methods* 2003, **114**, 21-27.

Dr hab. Jolanta Oprządek, prof. nadzw., Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębku, e-mail: j.oprzadek@ighz.pl

Mykobakteriozy u psów i kotów

Rafał Sapieryński¹, Dariusz Jagielski²

z Zakładu Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie¹ oraz Przychodni Weterynaryjnej „Białobrzaska” w Warszawie²

Zapalenie ziarniniakowe (*inflammatio Granulomatosa*) jest specyficznym rodzajem zapalenia o charakterze rozplemowo-wytwórczym, w przebiegu którego ma miejsce gromadzenie się komórek pochodzenia histiocytarnego, w tym makrofagów, komórek nabłonkowych i komórek olbrzymich. Nazwa zapalenie ziarniniakowe wzięła się stąd, że nagromadzone komórki zapalne (makrofagi i ich pochodne), a także otaczające je limfocyty wytwarzają małe (średnicy 0,5–2 mm) guzkowate twory (ziarna). U psów i kotów zapalenie o charakterze

ziarniniakowym lub ropno-ziarniniakowym często przebiega z tworzeniem zmian o charakterze guzkowatym, guzowatym; niekiedy przybierają one postać płytek, wrzodów lub ścążących przetok. Ogólnie zapalenia ziarniniakowe lub ropno-ziarniniakowe można podzielić na zapalenia tła zakaźnego (powodowane przez bakterie, grzyby, pasożyty) oraz niezakaźne, czyli jałowe, gdzie udziału drobnoustrojów nie udało się wykazać (1). Dodatkowo, ze względu na praktycznych, wszystkie zapalenia ziarniniakowe można ponadto podzielić na:

- zapalenia zakaźne, w których czynnik etiologiczny można wykazać badaniem histopatologicznym,
 - zapalenia zakaźne, w których czynnik etiologiczny nie jest widoczny w badaniu histopatologicznym,
 - zapalenia jałowe ze znaną przyczyną (np. ciała obce),
 - zapalenia jałowe o nieznaną przyczynę lub wynikające z mechanizmów immunologicznych (np. jałowe idiopatyczne zapalenie ziarniniakowe).
- Do pierwszej i drugiej grupy można zaliczyć zapalenia ziarniniakowe wynikające z zakażenia prątkami z rodzaju *Mycobacterium*, w wielu przypadkach bowiem drobnoustroje można wykazać bez problemu w preparatach histologicznych barwionych metodami barwienia, w innych przypadkach zastosowanie bardziej czułych metod badania (barwienie immunohistochemiczne, hodowla bakteryjna, analizy molekularne)

Mycobacterioses in dogs and cats

Sapierzyński R.¹, Jagielski D.², Division of Animal Pathomorphology, Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW¹, Veterinary Surgery „Białobrzaska” in Warsaw²

The aim of this paper was to present and describe an important group of bacterial infectious diseases in dogs and cats. Diseases characterized by granulomatous or pyogranulomatous nodular to diffuse inflammation can be divided into infectious and non-infectious. In some of them etiological agent can be identified but there are also conditions of unidentified etiology. Infections with *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium mageritense* are referred as tuberculosis, whereas infections with other species of *Mycobacterium* spp. are designated as mycobacterioses or atypical mycobacterioses. Here four clinical forms of mycobacterioses are described: systemic mycobacteriosis, mycobacterial panniculitis, feline leprosy and canine leproid granuloma syndrome. Moreover, two own cases are presented: systemic mycobacteriosis in young dog and nodular mycobacterial panniculitis in obese cat. Mycobacterioses should be included into the list of differential diagnosis in animals with localized or disseminated tumoral masses recognized during clinical examination and/or visualization imaging techniques.

Keywords: cat, dog, granulomas, leprosy, mycobacteriosis.

pozwala na wykrycie tych patogenów w obszarach objętych zapaleniem (1, 2).

Prątki z rodzaju *Mycobacterium* są dużą grupą Gram-dodatnich, tlenowych mikroorganizmów, których ściana obfituje w długołańcuchowe kwasy tłuszczowe i woski. Mykobakterie różnią się patogennością i efektem, jaki wywierają na organizm zwierząt i pod względem tych właściwości dzieli się je za bezwzględne patogeny, patogeny fakultatywne, a także bakterie saprofityczne (3). Na podstawie charakteru wzrostu na podłożach sztucznych drobnoustroje z rodzaju *Mycobacterium* można podzielić na: mykobakterie wolno rosnące (slow-growing mycobacteria – SGM), mykobakterie szybko rosnące (rapid-growing mycobacteria – RGM) oraz mykobakterie niewykazujące wzrostu na sztucznych podłożach.

Choroby wywołane przez *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis* oraz *M. mageritense* są nazywane **gruźlicą**. Choroby wywołane przez inne gatunki prątków są u zwierząt określane mianem **mykobakterioz** lub **zakażeń prątkami atypowymi** (1, 3) i mogą one przybierać postać ziarniniakowego zapalenia płuc, systemowej mykobakteriozy oraz ropno-ziarniniakowych

zapaleń skóry i tkanki podskórnej z lub bez uogólnienia procesu. Do mykobakterioz powodowanych przez SGM należą: *M. avium* complex (zarówno *M. avium* i *M. intracellulare*), *M. kansasii*, *M. genavense* i *M. terrae*. Do mykobakterioz wywołanych przez RGM należą: *M. fortuitum*, *M. peregrinum* i *M. smegmatis*.

W zdecydowanej większości przypadków drobnoustroje wywołujące mykobakteriozy u zwierząt są organizmami oportunistycznymi, które są obecne w otaczającym środowisku i po zaistnieniu sprzyjających okoliczności prowadzą do rozwoju mniej lub silniej wyrażonych objawów choroby. Do takich okoliczności należą obniżenie ogólnej lub miejscowej odpowiedzi immunologicznej, a także wszczęcie drobnoustrojów (same nie są w stanie przełamać bariery skórnej) w trakcie zakłucia ciałem obcym, zdrapania, ukąszenia lub jako zanieczyszczenie rany (4). Jednak wyniki wielu publikacji wskazują na brak nieprawidłowości stanu ogólnego zwierząt, które mogłyby wpływać na obniżenie odporności, co może sugerować, że w niektórych formach mykobakterioz drobnoustroje są w stanie wywołać chorobę, nawet u osobników z w pełni sprawnym układem immunologicznym (5, 6, 7).

Mykobakterioza z uogólnieniem zakażenia

Do zakażenia psów i kotów dochodzi w wyniku spożycia żywności (często są to niedogotowane podroby) skażonej prątkami (*M. avium* complex – MAC, *M. visibilis* lub inne gatunki prątków) lub bezpośrednio ze środowiska (7, 8). Chociaż szczegółowa patogenesa choroby nie jest znana, to wysoce prawdopodobne jest, że drobnoustroje są fagocytowane przez makrofagi jelitowe, co w pewnym stopniu hamuje rozwój zakażenia. W przypadku stresu lub działania czynników prowadzących do immunosupresji ma miejsce namnożenie drobnoustrojów w makrofagach, wraz z którymi dochodzi do uogólnienia się zakażenia i niekiedy zajęcia licznych narządów wewnętrznych.

Chorobę rozpoznaje się najczęściej u młodych dorosłych psów (często młodsze niż 4-letnie) i dorosłych kotów. Niektóre rasy psów, takie jak basset houndy, sznauclery miniaturowe oraz koty ras abisyńskiej i syjamskiej wydają się predysponowane do mykobakteriozy powodowanej przez MAC.

U zakażonych psów obserwuje się obecność guzowatych tworów ziarniniakowych rozmieszczonych w jelicie grubym, śledzionie, wątrobie i węzłach chłonnych krezkowych. W badaniu klinicznym obserwowano utratę apetytu i spadek masy ciała, nawracającą gorączkę i biegunkę, często

z domieszką krwi w kale. U części zwierząt dominowały objawy zajęcia układu nerwowego, zapalenie błony naczyniowej oka, kulawizny oraz trudności z oddychaniem. W przypadkach zakażenia innymi prątkami z grupy SGM u psa zmiany obserwowano w obrębie płuc, które przebiegały z tworzeniem ropni oraz ropowicą śródpiersia. U kotów obserwuje się najczęściej obecność zmian guzowatych w obrębie skóry i tkanki podskórnej (często w okolicy głowy, co sugeruje związek zakażenia z ranami kłasnymi i zdrapaniami) z towarzyszącym regionalnym powiększeniem węzłów chłonnych. W przypadku uogólnienia procesu badaniem klinicznym można wykryć splenomegalię, hepatomegalię, pogrubienie pętli jelitowych oraz limfadenomegalię krezkową (7, 8). Pośród obserwowanych objawów klinicznych dominują zmiany nieswoiste (spadek masy ciała, utrata apetytu, gorączka) lub bardziej swoiste dla zajętych narządów, w tym płuc (duszność, kaszel).

Wyniki badań morfologicznych i biochemicznych krwi zazwyczaj nie są specyficzne. Stwierdza się najczęściej leukocytozę (wynikającą z neutrofilii, przy jednoczesnej limfopenii), niedokrwistość (z reguły normocytarna i nieregeneratywna), hiperglobulinemię, hipoalbuminemię i hiperkalcemię, a w leukocytach krwi obwodowej i pobranych ze szpiku kostnego można wykazać obecność drobnoustrojów. W przypadku zajęcia wątroby aktywność transaminaz jest podwyższona.

Badania obrazowe wykonane u zwierząt z uogólnioną mykobakteriozą ujawniają zajęcie poszczególnych narządów: badanie rentgenowskie klatki piersiowej wykazuje powiększenie węzłów chłonnych klatki piersiowej, zmniejszenie przejrzystości płuc, nacieczenia śródmiąższowe, obecność zmian guzowatych lub rozsianych prosówkowych, niekiedy widoczne są zwapniałe ogniska (wapniejące ziarniniki zapalne) oraz obecność płynu w klatce piersiowej (9). Badanie rentgenowskie lub ultrasonograficzne jamy brzusznej może wykazać powiększenie narządów (hepatomegalia, splenomegalia, limfadenomegalia), zmiany guzowate (czasami wapniejące) lub obecność płynu w jamie brzusznej. Badanie rentgenowskie może ujawnić ogniskowe zmiany lityczne w obrębie kości lub też wyraźne zmiany o charakterze zapalenia kości w obrębie trzonów kręgowych oraz krążków międzykręgowych (9).

Mykobakterioza tkanki podskórnej

Jest to zakażenie spowodowane przedostaniem się saprofitycznych, występujących dość powszechnie w środowisku prątków atypowych w głąb bogatej w tkankę tłuszczową skóry właściwej i najczęściej występuje u zwierząt otyłych (1, 2). Zakażenie

zdecydowanie częściej rozpoznaje się u kotów niż u psów, chociaż ogólnie jest to schorzenie rzadkie. W patogenezie zakażenia rolę odgrywają uszkodzenia skóry (rany kłusane, zadrapania, iniekcje), poprzez które dochodzi do implantacji drobnoustrojów w głąb skóry. Do zidentyfikowanych prątków mogących wywoływać mykobakteriozę tkanki podskórnej należą: *M. alvei*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis* i *M. chelonae* (2).

Morfologicznie obserwuje się początkowo twarde, z czasem miękniejące i chęłboczące guzki, najczęściej ulegające powierzchownemu owrzodzeniu, z którego sączy się krwotoczno-ropny wysięk (2). Guzki mogą być pojedyncze, ale bywają też liczne. Najczęściej obserwuje się je w okolicy pachwinowej, tylnej części brzucha, ale także po wewnętrznej powierzchni kończyn tylnych, na bokach lub obejmują całą powierzchnię ciała. W przypadku bardziej rozległych zmian można stwierdzić regionalną limfadenomegalię oraz nieswoiste objawy ogólne, takie jak apatia, brak apetytu, spadek masy ciała czy nawracające gorączki. Rzadko dochodzi do uogólnienia się procesu z zajęciem narządów wewnętrznych.

W obrazie mikroskopowym zmian usuniętych chirurgicznie obserwuje się ogniska zapalenia ropno-ziarniniakowego, guzkowe lub bardziej rozlane z bardzo licznymi prątkami zlokalizowanymi wewnątrz- i pozakomórkowo. Badanie cytopatologiczne biopsji pobranych drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej (BAC) ujawnia liczne granulocyty obojętnochłonne i makrofagi, mniej liczne komórki plazmatyczne i wielojądrowe komórki olbrzymie (2).

Zespół ziarniniaka trądowego u psów (trąd psów)

Jest on prawdopodobnie wynikiem zakażenia prątkami o niesprecyzowanej przynależności gatunkowej, które charakteryzuje powolny wzrost lub brak wzrostu na pożywkach mikrobiologicznych (1, 6). W części przypadków sekwencja izolowanego DNA pozwoliła na wykazanie 100% homologii z gatunkiem *M. murphy*, w innych zaś izolowane DNA nie wykazywało homologii ze sklasyfikowanymi do tej pory gatunkami *Mycobacterium* (6).

Chorobę opisuje się w krajach o tropikalnym klimacie, obfitującym w deszczowe dni. Wydaje się także, że pasożytnicze stawonogi (muchy, komary) mogą być odpowiedzialne za implantację drobnoustrojów do skóry właściwej. Brak jest wyraźnej predylekcji rasowej i płciowej do występowania tego zakażenia, jednak psy duże, o krótkiej sierści, wydają się być predysponowane (1). W ostatnio przeprowadzonych badaniach wykazano, że rottweilery i bokserzy oraz mieszańce tej drugiej rasy

częściej chorują na trąd psów niż osobniki innych ras (6). Trąd opisuje się u zwierząt w różnym wieku, ze średnią około 6 lat.

Zmiany są najczęściej mnogie, lokalizują się najczęściej na głowie, szczególnie grzbietowej powierzchni małżowin usznych, jednak mogą być obecne w każdym miejscu na ciele. Zmiany mają postać małych (kilka milimetrów średnicy) lub większych (do 5 cm średnicy) zlewających się niebolesnych grudek, płytek, guzków i guzów obejmujących skórę i tkankę podskórną i przebiegają zawsze bez zajęcia regionalnych węzłów chłonnych (6). Zmiany większe mogą ulegać powierzchownemu owrzodzeniu, u chorych zwierząt nie obserwuje się innych objawów klinicznych choroby.

W obrazie mikroskopowym obserwuje się wieloguzkowy lub rozlany naciek ziarniniakowy utworzony z makrofagów, komórek nabłonkowych i komórek olbrzymich, a także limfocytów i komórek plazmatycznych, w połowie przypadków obserwowany proces zapalny ma charakter ropno-ziarniniakowy (6). W części przypadków w obrębie obszaru zapalenia obserwuje się ogniska martwicy. W cytoplazmie makrofagów i ich pochodnych (oraz pozakomórkowo) znajduje się zazwyczaj nieliczne lub umiarkowanie liczne pałeczkiowate, średniej wielkości drobnoustroje (niebarwiące się metodami rutynowymi lub barwiące się na buraczkowo w barwieniu metodą Ziehl-Neelsena), rzadko fagocyty są obładowane dużą ilością bakterii (6).

Trąd kotów

W świetle bieżących informacji trąd kotów jest zespołem dwóch nieco odmiennych jednostek chorobowych wywołanych przez dwa różne gatunki prątków trądu, dotyczącym zwierząt o różnym statusie i innym przebiegu klinicznym.

Pierwsza postać trądu kociego jest wywołana zakażeniem prątkiem trądu gryzoni (*M. lepraemurium*) lub *M. szulgati*, mikroorganizmów, które jak dotąd nie dają się hodować na dostępnych pożywkach mikrobiologicznych (5, 10, 11, 12). Dotyczy ona kotów młodych (zazwyczaj młodszych niż 4-letnie), szczególnie samców, najczęściej w pełni zdrowych, przebywających w obszarach podmiejskich lub wiejskich, gdzie są narażone na kontakt ze szczurami. Przebieg kliniczny tej postaci jest dość agresywny, zmiany pojawiają się szybko, często ulegają owrzodzeniu i rozprzestrzeniają się miejscowo oraz często nawracają po chirurgicznej resekcji (3). Zmiany obserwuje się najczęściej na kończynach piersiowych, co sugeruje związek z narażeniem na kontakt z gryzoniami.

Specyficzna postać trądu kotów, która rozwija się u osobników starszych (powyżej

9-letnich) z nabytymi defektami immunologicznymi (zakażenie wirusem niedoboru immunologicznego kotów – FIV), chorobami osłabiającymi (niewydolność nerek) oraz u osobników starych jest wywołwana przez zakażenie prątkiem dotychczas niezidentyfikowanym (11, 12). Przebieg kliniczny tej postaci trądu kotów jest powolny, jednak początkowo zlokalizowany proces ulega uogólnieniu (11).

W obrazie klinicznym w zależności od postaci trądu obserwuje się obecność pojedynczych lub częściej mnogich guzków skórnych lub podskórnych, wyniesionych ponad powierzchnię, niebolesnych i mięsistych (1, 5, 11). Guzki są zlokalizowane najczęściej na głowie, karku i kończynach, chociaż można je znaleźć na całym ciele (1). Uogólnienie procesu może być obserwowane, proces rozszerza się na otaczające tkanki, jednak regionalne powiększenie węzłów chłonnych obserwowane jest raczej rzadko.

Reakcja zapalna, jaka rozwija się w przebiegu trądu u kotów ma charakter ziarniniakowy, jednak w zależności od postaci trądu może przybierać odmienny obraz histologiczny: gruźliczopodobny (tuberculoïd form) lub trądowy (leprematous form). Postać gruźliczopodobna jest wynikiem zakażenia *M. lepraemurium* lub *M. szulgati*, charakteryzuje się zredukowaną liczbą prątków w fagocytach i rozwija się u kotów z silnym układem immunologicznym, który jest w stanie ograniczyć replikację drobnoustrojów (1, 11). Oprócz makrofagów w nacieku zapalnym w tej postaci trądu obserwuje się także liczne limfocyty i komórki plazmatyczne, a w centrum zmiany występują obszary martwicy serowatej. Postać trądowa jest wynikiem zakażenia nieopisanym gatunkiem prątków i wiąże się z obecnością dużej liczby prątków w cytoplazmie makrofagów, a ta sytuacja jak się wydaje jest spowodowana nieefektywną odpowiedzią immunologiczną, która nie hamuje replikacji drobnoustrojów (1, 11).

Rozpoznawanie mykobakterioz u psów i kotów

Badanie cytologiczne

Materiałem do badań mogą być aspiraty cienkoigłowe ze zmian guzowatych, preparaty odciskowe lub preparaty wymazowe ze zmian owrzodzonych, rozmazy krwi obwodowej lub szpiku kostnego, osad mocz, rozmazy kału, zeszkrobiny błony śluzowej odbytnicy (11). W barwieniach rutynowych – preparaty barwione barwnikiem Giemsa – podejrzenie zakażeń mykobakteriami można wysnuć na podstawie obecności niebarwiących się pałeczkiowatych struktur obecnych zarówno w cytoplazmie fagocytów (głównie makrofagi i komórki

olbrzymie), jak i leżących pozakomórkowo. Metodą potwierdzającą obecność prątków jest barwienie metodą Ziehl-Neelsena (acid-fast stain), które wybarwia te drobnoustroje na kolor buraczkowy. Obecności drobnoustrojów towarzyszy obecność komórek typowych dla zapaleń o charakterze ziarniniakowym (makrofagi, komórki nabłonkowe, komórki olbrzymie) lub ropno-ziarniniakowym (dodatkowo obecne neutrofile) z cechami martwicy tkanek lub nie.

Badania mikrobiologiczne

W wielu przypadkach ze względu na właściwości prątków hodowla mikrobiologiczna *Mycobacterium* się nie udaje, nawet w przypadkach, w których w obrębie zmian obserwowano olbrzymie ilości drobnoustrojów (5, 11). W przypadku niektórych wolno rosnących gatunków, np. *M. microti* i *M. avium* complex, a także gatunków szybko rosnących, badanie mikrobiologiczne, oprócz potwierdzenia gatunkowej przynależności drobnoustrojów, określa wrażliwość wyhodowanego szczepu na antybiotyki przy planowanym leczeniu farmakologicznym. Materiałem do posiewu mikrobiologicznego mogą być: wysięk z owrzodzeń, fragmenty tkanek, materiał pobrany w trakcie biopsji cienkoigłowej. Pobrany materiał można przesłać do specjalistycznego laboratorium w stanie świeżym lub zamrożonym. Istotne jest, aby materiał był pobrany w sposób jałowy i nie miał kontaktu ze środowiskiem, a w szczególności z wodą wodociągową, w której mogą być obecne prątki atypowe.

Badanie histopatologiczne

Badanie histopatologiczne wycinka zmiany, narządu wewnętrznego lub guzka

usuniętego ze skóry lub tkanki podskórnej pozwala potwierdzić, że mamy do czynienia z zakażeniem prątkami. Oprócz obecności typowego zapalenia o charakterze ziarniniakowym (z martwicą lub bez), badanie ujawnia leżące wewnątrzkomórkowo i zewnątrzkomórkowo prątki (w preparatach barwionych odpowiednimi metodami). W zależności od gatunku drobnoustrojów i postaci choroby liczba fagocytów oraz drobnoustrojów bywa rozmaita i waha się od pojedynczych prątków, aż do olbrzymich ilości, wtedy to drobnoustroje w znacznym stopniu wypełniają fagocyty (11, 13). Z reguły liczba drobnoustrojów w makrofagach jest większa w przypadku zakażenia *M. avium* complex i *M. genavense* niż przy zakażeniu *M. bovis* i *M. tuberculosis*.

Badania immunohistochemiczne

Dzięki zastosowaniu swoistych przeciwciał wykrywających antygeny specyficznych rodzajów bakterii i tym samym potwierdzając, że obserwowane mikroorganizmy należą do rodzaju *Mycobacterium* (14).

Metody molekularne

Do identyfikacji gatunków prątków niegruźliczych służą metody molekularne. Metoda PCR umożliwia identyfikację materiału genetycznego drobnoustrojów z rodzaju *Mycobacterium* (2, 6, 10, 11). Do innych metod należą hybrydyzacja, amplifikacja, sekwencjonowanie DNA oraz analiza długości fragmentów restrykcyjnych. W wielu laboratoriach stosuje się testy komercyjne – sondy DNA, które służą do szybkiej identyfikacji prątków: *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. gordonae*, w krótkim (kilka godzin)

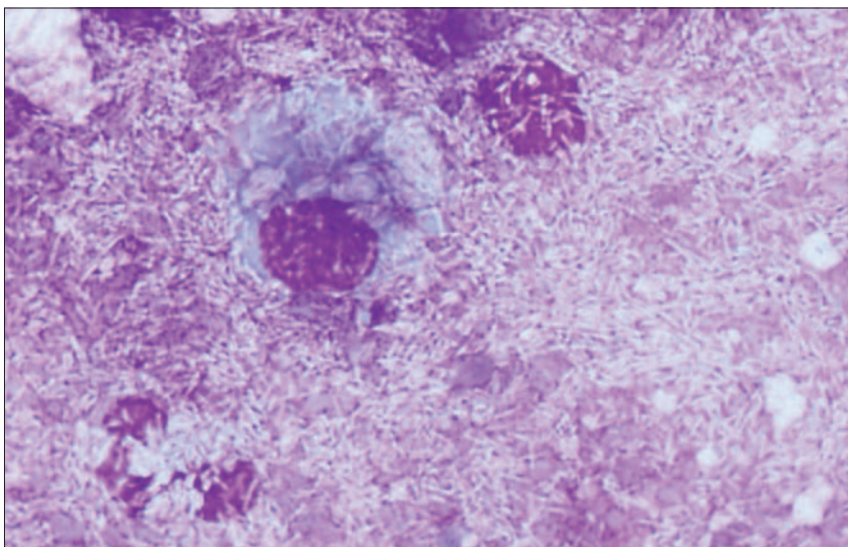
czasie, z czułością powyżej 90%. Materiałem do badań mogą być świeże lub mrożone próbki tkanek lub też zatopione w parafinie i utrwalone w formalinie wycinki zmian z bloczków parafinowych używanych wcześniej do wykonania preparatów histologicznych, chociaż w tym przypadku uszkodzenie bakteryjnego DNA może być przyczyną fałszywie ujemnych wyników takich badań (11).

Opis przypadków własnych

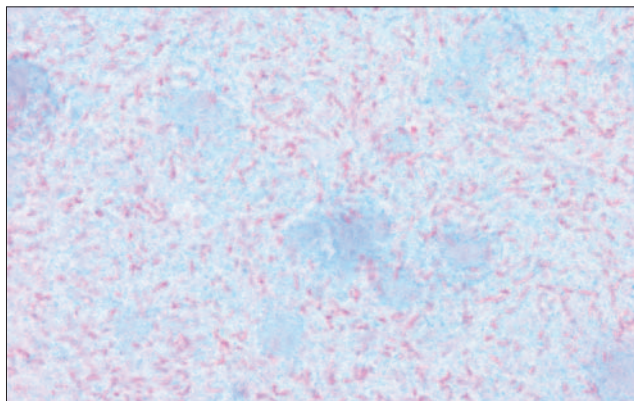
Przypadek 1

Do lecznicy doprowadzono psa, samca, rasy sznaucer miniaturowy, w wieku 1 rok i 10 miesięcy. Przed 9 dniami u psa pojawiła się biegunka, następnie zaparcie, zwierzę stało się osowiałe, traciło masę ciała. W badaniu klinicznym stwierdzono lekkie odwodnienie, częstość i jakość tętna, liczba oddechów, temperatura ciała były prawidłowe, obwodowe węzły chłonne były miernie powiększone, w odbytnicy stwierdzono obecność papkowatego żółtozielonego kału. W badaniu ultrasonograficznym jamy brzusznej obserwowano masywne powiększenie węzłów chłonnych kręzkowych (średnicy 7–8 cm), przemieszczenie pętli jelitowych; pozostałe narządy jamy brzusznej nie wykazywały zmian struktury; płynu wolnego w jamie brzusznej nie obserwowano. Wyniki badania morfologicznego i biochemicznego krwi wskazywały na znaczną wynikającą z neutrofilii leukocytozę (liczba leukocytów 44,3 G/l; norma 6,00–12,00), niedokrwistość (liczba erytrocytów 4,26 T/l; norma 5,5–8,0; stężenie hemoglobiny 5,78 mmol/l; norma 7,45–11,17; hematokryt 0,3 l/l; norma 0,37–0,55) bez cech regeneracji, wzrost aktywności transaminazy asparaginowej (428 U/l). Na podstawie przeprowadzonych badań na liście rozpoznawczych uwzględniono nietypową postać chłoniaka węzłów chłonnych kręzkowych, bez zajęcia śledziony oraz powiększenie węzłów chłonnych tkanienowotworowego.

Celem określenia rozpoznania z powiększonych węzłów kręzkowych pod kontrolą ultrasonograficzną pobrano materiał do badania cytopatologicznego. Rozmazy cytologiczne po wysuszeniu utrwalono przez 10 minut w 70% alkoholu metylowym i zabarwiono barwnikiem Giemsy. Badanie mikroskopowe wykazało cechy nasilonej martwicy, z licznymi makrofagami o obfitej i piankowej cytoplazmie wypełnionej niebarwiącymi się pałeczkowatymi tworami, które w dużej liczbie były też obecne międzykomórkowo (ryc. 1). Powyższy obraz wskazywał na zapalenie ziarniniakowe z martwicą wywołane przez zakażenie prątkami atypowymi. Dla potwierdzenia



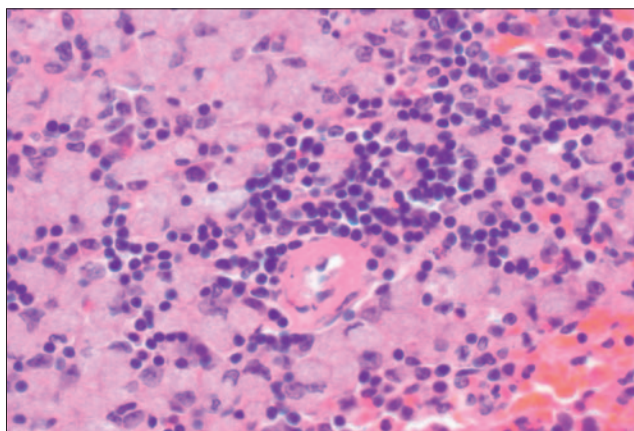
Ryc. 1. Obraz cytopatologiczny materiału pobranego ze zmian guzowatych jamy brzusznej psa (przypadek 1). Widoczne makrofagi z obfitą cytoplazmą z licznymi niebarwiącymi się pałeczkowatymi tworami, które widać także pozakomórkowo. Barwienie barwnikiem Giemsy, powiększenie 1000×



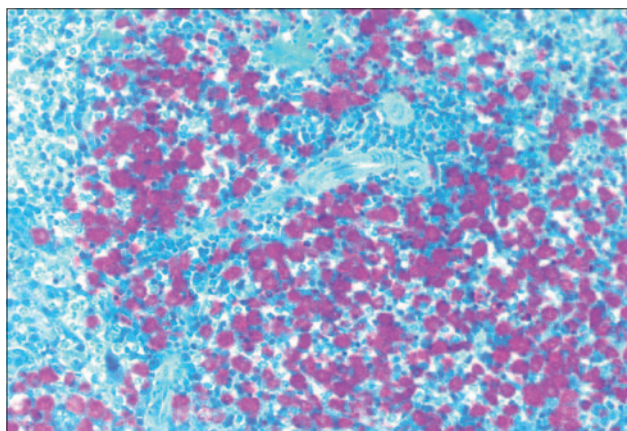
Ryc. 2. Obraz cytopatologiczny materiału pobranego ze zmian guzowatych jamy brzusznej psa (przypadek 1). Zabarwione na różowo liczne prątki. Barwienie metodą Ziehl-Neelsena, powiększenie 1000×



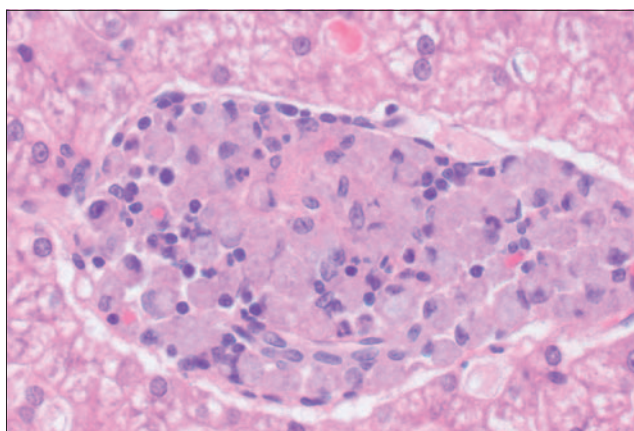
Ryc. 3. Przekrój poprzeczny śledziony psa z trzewną mykobakteriozą (przypadek 1, opis w tekście)



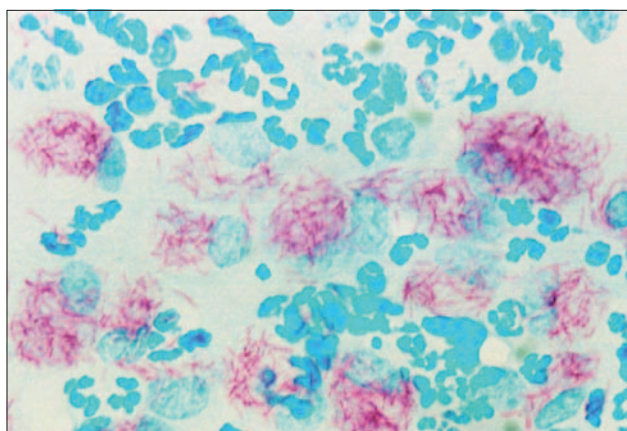
Ryc. 4. Obraz histopatologiczny śledziony psa (przypadek 1). W obrębie miazgi białej widoczne liczne makrofagi o obfitej cytoplazmie, otaczające tętniczkę. Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 200×



Ryc. 5. Obraz histopatologiczny śledziony psa (przypadek 1). Barwienie metodą Ziehl-Neelsena ujawniło obecność bardzo licznych zabarwionych na buraczkowo prątków kwasoopornych; powiększenie 200×



Ryc. 6. Obraz histopatologiczny wątroby psa (przypadek 1). Widoczne dużo skupisko dużych makrofagów; barwienie metodą Ziehl-Neelsena potwierdziło obecność prątków kwasoopornych. Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 400×



Ryc. 7. Obraz cytopatologiczny materiału pobranego z guza tkanki podskórnej kota (przypadek 2). W cytoplazmie makrofagów zabarwione na różowo liczne prątki, widoczne także bładoniebieskie jądra granulocytów obojętnochłonnych. Barwienie metodą Ziehl-Neelsena, powiększenie 1000×

obecności prątków część rozmazów odbarwiono i zabarwiono ponownie metodą Ziehl-Neelsena, którego wynik był dodatni (**ryc. 2**). Przez kilka dni prowadzono leczenie podtrzymujące, jednak w związku z pogarszającym się stanem ogólnym psa oraz określonym rozpoznaniem właściciel zdecydował się na eutanazję. W trakcie sekcji zwłok do badania histopatologicznego

pobrano wycinki płuc, śledziony, wątroby oraz powiększonych węzłów krezkowych i poddano je rutynowej procedurze. Zmiany makroskopowe obserwowano na powierzchni przekroju śledziony (mnogie różnej wielkości szarobiałe do żółtych ogniska nieregularnego kształtu; **ryc. 3**) oraz w obrębie węzłów chłonnych krezkowych (słoniowate, o kruchej konsystencji), w obrębie

wątroby i płuc zmian widocznych makroskopowo nie stwierdzono. Badanie histopatologiczne ujawniło obecność zmian w śledzionie, wątrobie i węzłach chłonnych, w płucach poza zastojem krwi zmian mikroskopowych nie obserwowano. W śledzionie, w obrębie grudek miazgi białej obserwowano masywny naciek aktywowanych makrofagów o obfitej cytoplazmie,

którą wypełniały bardzo liczne prątki (ryc. 4 i 5). Utkanie węzła chłonnego krzewkowego utworzone było z leżących na obwodzie obładowanych prątkami makrofagów oraz centralnie położonych obszarów martwicy. W wątrobie, poza cechami zwyrodnienia glikogenowego hepatocytów, stwierdzono skupiska aktywowanych makrofagów obładowanych dużą liczbą prątków (ryc. 6).

Chociaż nie wykonano oznaczenia gatunkowego obserwowanych prątków, to znaczne wymiary bakterii oraz olbrzymią ich ilość w cytoplazmie fagocytów *M. bovis* i *M. tuberculosis* było mało prawdopodobne, dlatego też na podstawie przeprowadzonych badań ostatecznie rozpoznano trzewną mykobakteriozę wywołaną prątkami atypowymi.

Przypadek 2

Drugi przypadek dotyczył kotki, rasy europejskiej, w wieku 4 lat, o masie ciała około 6 kg, którą doprowadzono celem wykonania biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej zmiany guzowatej, o średnicy 23 mm, zlokalizowanej w tkance podskórnej okolicy pachwin i gruczołu sutkowego. Zmiana była kulista, o dość twardej konsystencji i niezwiązana z tkankami otaczającymi, niebolesna, pokryta niezmienioną, owłosioną skórą. Stan ogólny kota był dobry

i rozpoznana zmiana był jedyną nieprawidłowością. Rozpoznanie wstępne obejmowało guz gruczołu sutkowego.

Wykonano biopsję aspiracyjną cienkoigłową. Uzyskane rozmazy cytologiczne zostały wysuszone, a następnie utrwalone przez 10 minut w 70% alkoholu metylowym i zabarwione barwnikiem Giemsa. Badanie mikroskopowe wykazało zapalenie ziarniniakowo-ropne tkanki podskórnej spowodowane zakażeniem prątkami atypowymi (co potwierdzono barwieniem metodą Ziehl-Neelsena; ryc. 7). Rozpoznanie ostateczne: mykobakterioza tkanki podskórnej.

Pismienictwo

1. Santoro D., Prisco M., Ciaramella P.: Cutaneous sterile granulomas/pyogranulomas, leishmaniasis and mycobacterial infections. *J. Small Anim. Pract.* 2008, 49, 552-561.
2. Beccati M., Peano A., Gallo M.G.: Pyogranulomatous panniculitis caused by *Mycobacterium alvei* in a cat (letter). *J. Small Anim. Pract.* 2007, 48, 664.
3. Malik R.: Mycobacterial diseases of cats and dogs. W: Eds A., Hiller A., Foster A., Kwocha K.: *Advances in Veterinary Dermatology*. Blackwell Publishing, Oxford, UK, 2005, str. 219-237.
4. Jang S.S., Hirsh D.C.: Rapidly growing members of the genus *Mycobacterium* affecting dogs and cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2002, 38, 217-220.
5. Courtin F., Huerre M., Fyfe J., Dumas P., Boschirolu M.L.: A case of feline leprosy caused by *Mycobacterium lepraemurium* originating from the island of Kythira (Greece): diagnosis and treatment. *J. Fel. Med. Surg.* 2007, 9, 238-241.
6. Conceicao L.C., Acha L.M.R., Secorum Borges A., Assis F.G., Loures F.H., Silva F.F.: Epidemiology, clinical signs,

histopathology and molecular characterization of canine leproid granuloma: a retrospective study of cases from Brazil. *Vet. Dermatol.* 2011, 22, 249-256.

7. Gunn-Moore D.A., McFarland S.E., Brewer J.L., Crawshaw T.R., Clifton-Hadley R.S., Kovalik M., Shaw D.J.: Mycobacterial disease in cats in Great Britain: I. Culture results, geographical distribution and clinical presentation of 339 cases. *J. Fel. Med. Surg.* 2011, 13, 934-944.
8. Appleyard G.D., Clark E.G.: Histologic and genotypic characterization of a novel *Mycobacterium* species found in three cats. *J. Clin. Microbiol.* 2002, 40, 2425-2430.
9. Bennett A.D., Lalor S., Schwarz T., Gunn-Moore D.A.: Radiographic findings in cats with mycobacterial infections. *J. Fel. Med. Surg.* 2011, 13, 718-724.
10. Hughes M.S., Ball N.W., Beck L.A., De Lisle G.W., Skuce R.A., Neil S.D.: Determination of the etiology of presumptive feline leprosy by 16S rRNA gene analysis. *J. Clin. Microbiol.* 1997, 35, 2464-2471.
11. Malik R., Hughes M.S., James G., Martin P., Wigney D.L., Canfield P.J., Chen S.C.A., Mitchell D.H., Love D.N.: Feline leprosy: two different clinical syndromes. *J. Fel. Med. Surg.* 2002, 4, 43-59.
12. Hughes M.S., James G., Taylor M.J., McCarroll J., Neill S.D., Chen S.C.A., Mitchell D.H., Love D.N., Malik R.: PCR studies of feline leprosy cases. *J. Fel. Med. Surg.* 2004, 6, 235-243.
13. Gunn-Moore D.A., McFarland S.E., Schock A., Brewer J.L., Crawshaw T.R., Clifton-Hadley R.S., Shaw D.J.: Mycobacterial disease in a population of 339 cats in Great Britain: II. Histopathology of 225 cases, and treatment and outcome of 184 cases. *J. Fel. Med. Surg.* 2011, 13, 945-952.
14. Bonengrger T.E., Ihrke P.J., Naydan D.K., Afflotter V.K.: Rapid identification of tissue microorganisms in skin biopsy specimens from domestic animals using polyclonal BCG antibody. *Vet. Dermatol.* 2001, 12, 41-47.

Dr hab. Rafał Sapierzyński,
e-mail: rafal_sapierzynski@sggw.pl

Zapaść powysiłkowa u psów

Emilia Duszyńska, Joanna Gruszczyńska

z Katedry Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Zapaść powysiłkowa (exercise induced collapse – EIC), zwana także zespołem nietolerancji wysiłku, jest jedną z niedawno opisanych chorób psów (1). Choroba ma charakter wrodzony i jest związana z odziedzicznym defektem genetycznym (2). Pierwszą rasą psów, u której zaobserwowano jej występowanie była rasa labrador retriever. Choroba ta ujawnia się najczęściej u młodych psów między piątym miesiącem a trzecim rokiem życia, co związane jest z wiekiem, w którym rozpoczynają się wyczerpujące treningi psów szkolonych do konkursu pracy retrieverów. Prawdopodobieństwo wystąpienia zapaści powysiłkowej u rodzeństwa chorego psa oraz innych spokrewnionych osobników jest duże, ale pojawienie się objawów jest ściśle uzależnione od temperamentu oraz trybu życia danego psa. Choroba występuje niezależnie

od umaszczenia i bez względu na płęć. Psy, u których obserwuje się objawy nietolerancji wysiłku są wyjątkowo sprawne fizycznie, dobrze umięśnione, wzorcowe pod względem budowy, z nieokiełznanym temperamentem i niespożytą energią (1).

Pozostałymi rasami podatnymi na tę chorobę są następujące rasy psów: curly coated i chesapeake bay retriever, wyżeł niemiecki szorstkowłosy, welsh corgi pembroke oraz rasa jeszcze nie uznana przez FCI – boykin spaniel (3).

Objawy choroby

Objawy choroby pojawiają się po 5–20 min intensywnego wysiłku fizycznego (4). Pierwszym objawem zapaści powysiłkowej jest kołyszący chód i wiotki niedowład mięśni. Tylnie kończyny stają się słabe i nie są

w stanie utrzymać ciała psa. Pomimo tego, większość psów stara się kontynuować ćwiczenia lub bieg, ciągnąc bezwładne tylne kończyny za sobą. Pozostałymi objawami są nieskoordynowane ruchy, szczególnie tylnych kończyn, sztywno i nietypowo szeroko stawiane tylne kończyny, co jest charakterystyczne dla osłabionych mięśni. Zachowany jest odruch rzepkowy. W niektórych przypadkach osłabienie tylnych kończyn postępuje, obejmując również przednie kończyny, aż w końcu dochodzi do całkowitej niemożności ruchu zwierzęcia. Część psów może mieć problemy z utrzymaniem równowagi prowadzące do całkowitej jej utraty; szczególnie często się to zdarza w przypadku powracania do zdrowia po epizodzie zapaści powysiłkowej. Większość psów jest przytomna podczas ataku zapaści i podejmuje próby wstawania oraz dalszego wykonywania ćwiczenia. Około 25% chorych psów wykazuje oszołomienie lub zdezorientowanie podczas wystąpienia objawów choroby (1). Czasami występuje pogorszenie się stanu zdrowia chorego psa i wystąpienie epizodów zapaści w trzy do pięciu minut po wysiłku (4). Odnotowano kilka przypadków padnięć psów podczas ćwiczeń lub bezpośrednio po ich wykonaniu, a także podczas