

GLIŃSKI ZDZISŁAW

Badania nad właściwościami i budową antygenową *Streptococcus pluton*. II. Właściwości biochemiczne i chorobotwórczość

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie
Dyrektor: doc. dr S. WOŁOSZYN

Możliwość zastosowania wyników badań biochemicznych w taksonomii paciorkowców była przedmiotem badań wielu autorów. Pierwsza klasyfikacja paciorkowców opracowana przez Andrewes i Holder'a w 1906 r. (15) opierała się głównie na właściwościach morfologicznych, zdolnościach fermentacyjnych oraz charakterze wzrostu na mleku z dodatkiem błękitu metylenowego lub lakmusu. Klasyfikacja paciorkowców wg Orla-Jensena (34) uwzględniała również w szerokim zakresie właściwości biochemiczne, głównie zdolność fermentowania węglowodanów, tolerancję na działanie różnych temperatur i różne stężenia chlorku sodu. Pomimo wprowadzenia przez Lancefield (29) podziału paciorkowców na grupy serologiczne na podstawie obecności grupowo-specyficznych antygenów wielocukrowych, niektóre właściwości fizjologiczne paciorkowców zostały wykorzystane do ich zgrupowania na cztery główne podrodzaje (39). W oparciu o właściwości fizjologiczne wyróżniono również w obrębie grup serologicznych gatunki i odmiany (27). Wiązało się to z jednej strony ze względnie małą zmiennością cech biochemicznych paciorkowców (36, 38, 39) z drugiej strony z łatwością wykonania testów biochemicznych przy odpowiednim doborze substratów (35).

W przypadku *Str. pluton* istnieją stosunkowo nieliczne prace traktujące o właściwościach biochemicznych tego drobnoustroju. Prowadzone badania dotyczyły głównie zdolności fermentowania węglowodanów i charakteru wzrostu na mleku lakmusowym. W badaniach tych uzyskano niejednokrotnie krańcowo rozbieżne wyniki co mogło się wiązać z mylnym identyfikowaniem *Str. pluton* z *Achromobacter eurydice* (14) lub *Str. faecalis* (30, 42), oraz z izolowaniem z chorego na kiślicę czerwiu paciorkowców o właściwościach morfologicznych i hodowlanych pośrednich pomiędzy *Str. pluton* i *Str. faecalis* (47).

Z danych piśmiennictwa wynika, że *Str. pluton* posiada ograniczone zdolności enzymatycznego rozkładu węglowodanów i fermentuje jedynie glukozę i fruktozę z wytworzeniem kwasu (2, 8, 23, 42). Badania Willego (46) wykazały, że szczepy *Str. pluton* różnią się pomiędzy sobą zdolnością fermentowania tych węglowodanów, charakterem zmian wywołanych w mleku lakmusowym oraz stopniem natężenia wzrostu w obecności biotyny i kwasu foliowego. Wywoływanie zmian w mleku lakmusowym nie jest jednakże cechą stałą ponieważ 7 szczepów

badanych przez Bailey i Gibbsa (8) nie zmieniało zupełnie tego substratu.

W dostępnym piśmiennictwie nie napotkano badań nad innymi właściwościami biochemicznymi *Str. pluton* oraz badań porównawczych nad właściwościami biochemicznymi tego drobnoustroju i szczepami *Str. faecalis* izolowanymi z czerwiu wykazującego kliniczne objawy kiślicy. Zakładano, że podjęcie tych badań stanowi nie tylko uzupełnienie danych dotyczących właściwości morfologicznych i struktury antygenowej *Str. pluton* ale może okazać się pomocne w odróżnieniu obu gatunków drobnoustrojów. W związku z tym postanowiono przebadać niektóre właściwości biochemiczne krajowych szczepów *Str. pluton* i porównać je z właściwościami szczepów wzorcowych i szczepów *Str. faecalis* izolowanych z czerwiu chorego na kiślicę.

Materiał i metody

Do badań użyto 43 szczepy *Str. pluton*, w tym 40 szczepów krajowych i 3 szczepy wzorcowe uzyskane od I. Bailey'a (Rothamsted Exp. Station, Wielka Brytania-szczepy MSZ). Do badań porównawczych użyto 5 szczepów *Str. faecalis* i 2 szczepy *Peptostreptococcus anaerobius*: szczepy MSZ *Str. faecalis*, izolowane z czerwiu pochodziły od L. Bailey'a, zaś szczepy I, II wyselekcjonowano z chorego na kiślicę czerwiu na terenie Polski. Szczepy 580A i 1950 *Peptostreptococcus anaerobius* pochodziły od L. Sebala (Instytut Pasteura, Francja). W badaniach stosowano następujące podłoża podstawowe: a) podłoże Bailey'a bez glukozy i skrobi rozpuszczalnej (3), b) podłoże płynne o składzie: trypton Difco 1,0%, wyciąg drożdżowy Difco 0,5%, KH_2PO_4 0,5%, NaCl 0,5% (pH 6,6 i 7,2) (18), c) podłoże wg Barnes'a (9) o składzie: pepton 1,0% wyciąg drożdżowy Difco 0,3%, agar 1,2% (pH 7,2).

Podłoża posiewano 0,1 ml (2×10^4 komórek) 48 godz. hodowli badanych szczepów z podłoża płynnego A po sześciokrotnym przemyciu jałowym 0,85% NaCl. Hodowle prowadzono w atmosferze 90% wodoru i 10% dwutlenku węgla w temp. 35°C w przypadku *Str. pluton* i 37°C w przypadku *Str. faecalis*, oraz w atmosferze beztlenowej w temp. 37°C w przypadku *Peptostreptococcus anaerobius*. Przy próbie na zdolność rozpuszczania żelatyny podłoża inkubowano w temp. 20°C.

Zdolność fermentowania węglowodanów i alkoholi wielowodorotlenowych określono na podłożach a i b zawierających 1,0% badanej substancji i purpurę bromokrezolową (pH podłoża 6,6) lub czerwień fenolową (pH podłoża 7,2). Wyniki odczytywano codziennie przez 10 dni. Przebadano zdolność fermentowania arabinozy, ksylozy, fruktozy, glukozy, galaktozy, mannozy, ramnozy, maltozy, laktozy, sacharozy, melibiozy, trehalozy, melecytozy, rafinozy, dulcitolu, mannitolu, sorbitolu, salicyny, eskuliny,

glicerolu i inozytolu. Wykorzystanie związków chemicznych jako jedyne źródła energii oznaczono na podłożach a i b z 1,0% zawartością argininy, cytrynianu sodowego, glukonianu sodowego, malonianu sodowego, pyrogronianu sodowego lub l-seryny. W przypadku argininy do podłoża dodawano jednocześnie 0,05% glukozy. Stopień zmętnienia podłoża oznaczono na fotometrycznej „Unipan” przy długości fali świetlnej 600 m μ pi 48 godz. inkubacji. Za wynik dodatni przyjęto conajmniej 100% wzrostu zmętnienia podłoża posianego w stosunku do kontroli jaką stanowiło zmętnienie posianego podłoża bez dodatku badanych substancji (16, 21).

Hydrolizowanie skrobi określono na podłożu a z dodatkiem 1,0% skrobi rozpuszczalnej oraz na podłożu b zawierającym 0,2% skrobi rozpuszczalnej (32). Strefę hydrolizy wykrywano przy pomocy płynu Lugola w rozcieńczeniu 1:3. Zdolność hydrolizowania eskuliny oznaczono na podłożu a i b zawierającym 0,1% eskuliny i 0,01% cytrynianu żelaza. Podłoże inkubowano przez okres 6 dni. O wyniku dodatnim świadczyło ściemnienie podłoża (10). Hydrolizę kwasu hipurowego określono wg met. Ayers'a (1). Hydrolizowanie argininy oznaczono na podłożu a i b z dodatkiem 1,0% glukozy i 1,0% argininy wg met. Niven i wsp. (33). Hydrolizowanie kazeiny oznaczono wg Deibel i wsp. (19) na podłożu a i b z dodatkiem 2,0% kazeiny i 0,5% glukozy. Zdolność rozpuszczania żelatyny badano metodą płytkową Burneta i wsp. (13) na podłożu a i b z dodatkiem 1,5% żelatyny, 1,0% glukozy i 2,0% agaru Difco.

Zapotrzebowanie na kwas foliowy oznaczono na podłożu Vickena (44) z dodatkiem 0,5 mg; 1,0 mg i 2,0 mg kwasu foliowego na litr podłoża. Stopień zmętnienia określono po 10-dniowej inkubacji przy długości fali świetlnej 600 m μ w stosunku do zmętnienia posianego podłoża bez kwasu foliowego. Dekarboksylację tyrozyny określono wg Sharpe (37) na podłożu a i b zawierającym 0,5% l-tyrozyny i 1,0% glukozy. Redukcję chlorku 2,3,5 — trójfenyltetrazolu (TTC) oznaczono wg Barnes'a (9) na podłożu c. Wzrost i redukcję mleka lakmusowego oznaczano po 9-dniowej inkubacji. Wytwarzanie śluzu z sacharozy badano na podłożu a z dodatkiem 2,0 sacharozy i 2,0% agaru.

Patogenność 6 losowo wybranych szczepów *Str. pluton* (1, 9, 22, 31, 36 i Z) dla czerwiu pszczoły określono wg Bailey'a (7) z tą modyfikacją że zakażono czerw w wieku 24—48 godz. 5 μ l zawiesiny 48 godz. hodowli *Str. pluton* (średnio 10⁵ komórek). Każdym szczepem zakażano 5 grup czerwiu liczących po 20 osobników. Każdorazowo z padłego czerwiu wysiewano treść jelita środkowego na podłoże A. Patogenność *Str. pluton* dla myszek, świnek morskich i królików określono wg ogólnie przyjętych zasad.

Wyniki

Właściwości biochemiczne.

W związku z trudnościami uzyskania wzrostu świeżo izolowanych szczepów *Str. pluton* w warunkach tlenowych, właściwości biochemiczne tego drobnoustroju badano na podłożach inkubowanych w atmosferze 90% wodoru i 10% dwutlenku węgla. W tych warunkach uzyskano również dobry wzrost użytych do badań porównawczych szczepów *Str. faecalis* i *Peptostreptococcus anaerobius*. Za odpowiednim doбором podłoża i warunków hodowli przemawia również fakt uzyskania dodatnich wyników w testach biochemicznych z użyciem szczepów wzorcowych *Str. pluton* oraz *Str. faecalis* o znanych właściwościach biochemicznych.

Właściwości biochemiczne określano początkowo na podłożach o pH 6,6 i 7,2, następnie jedy-

nie na podłożach o pH 6,6 ponieważ przy tym pH uzyskiwano dobry wzrost wszystkich szczepów użytych do badań.

Badane szczepy *Str. pluton* fermentowały z wytworzeniem gazu glukozę i fruktozę (tab. 1), różniły się natomiast zdolnością fermentowania sacharozy, melecytozy i salicyny. Po 10 dniach inkubacji sacharozę fermentowało 18 szczepów *Str. pluton*, melecytozę 4 szczepy, zaś salicynę 2 szczepy. *Str. pluton* w odróżnieniu od *Str. faecalis* wyosobnionego z chorego na kiślicę czerwiu nie fermentował galaktozy, maltozy, laktozy, trehalozy, mannitolu, sorbitolu, eskuliny i glicerolu. Ponadto część szczepów *Str. faecalis* nie rozkładała również ksylozy, mannozy i melibiozy.

Tab. 1. Fermentacja węglowodanów przez szczepy krajowe *Str. pluton*, szczepy wzorcowe *Str. pluton* (M.S.Z.), *Str. faecalis* (I, II, M.S.Z.) i *Peptostreptococcus anaerobius* (580A, 1950)

Węglowodan	<i>Str. pluton</i>		<i>Str. faecalis</i>		<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> 580A, 1950
	I-40	M.S.Z.	M.S.Z.	I, II	
Arabinoza	-	-	-	-	±
Ksylota	-	-	±	±	-
Fruktoza	+	+	+	+	+
Glukoza	+	+	+	+	+
Galaktoza	-	-	+	+	-
Mannoza	-	-	(±)	-	-
Laktata	-	-	+	+	+
Maltoza	-	-	+	+	+
Ramnoza	-	-	-	-	-
Sacharaza	(±)	-	±	-	±
Nektaroz	-	-	±	-	-
Trehaloz	-	-	+	+	+
Melecytoza	±	-	+	+	+
Rafinnoza	-	-	+	+	-
Dulcitol	-	-	+	-	-
Mannitol	-	-	+	-	+
Sorbitol	-	-	+	(±)	-
Salicyna	±	-	+	+	+
Eskulina	-	-	+	+	+
Glicerol	-	-	+	+	-
Inazytol	-	-	-	-	-

+ wynik dodatni, - wynik ujemny, ± wynik dodatni u części szczepów (+) wynik dodatni ogólny.

W odróżnieniu od *Peptostreptococcus anaerobius* *Str. pluton* nie fermentował arabinozy, laktozy, maltozy, trehalozy, melecytozy (niektóre szczepy), mannitolu, salicyny (niektóre szczepy) i eskuliny. Dane porównawcze dotyczące niektórych właściwości biochemicznych krajowych i wzorcowych szczepów *Str. pluton* oraz *Str. faecalis* i *Peptostreptococcus anaerobius* zestawiono w tab. 2. Szczepy krajowe i wzorcowe *Str. pluton* wykorzystywały glukonian i pyrogronian sodu jako jedyne źródło energii, oraz wykazywały zapotrzebowanie na kwas foliowy jako na niezbędny składnik podłoża wzrostowego. Część szczepów *Str. pluton* powodowała koagulację i peptonizację mleka lakmusowego i redukowałą lakmus (szczepy 1, 8, 9, 14, 22, 24, 32, 34). Wszystkie szczepy *Str. pluton* inkubowane w warunkach beztlenowych nie wytwarzały katalazy, zdolność tę posiadały jedynie szczepy zaadaptowane do wzrostu w warunkach tlenowych.

Do cech odróżniających *Str. pluton* od *Str. faecalis* należało niewykorzystywanie przez *Str. pluton* argininy, cytrynianu i malonianu sodu oraz l-seryny jako jedynych źródeł energii, brak zdolności do hydrolizowania hipuranu sodu i argininy, dekarboksylowania tyrozyny i redukowania TTC. Badane szczepy *Str. faecalis*

Tab 2 Porównanie niektórych właściwości fizjologicznych szczepów krajowych *Str. pluton*, szczepów wzorcowych *Str. pluton* (M.S.Z.), *Str. faecalis* (I, II, M.S.Z.) i *Peptostreptococcus anaerobius* (508 A, 1950)

Właściwości fizjologiczne	<i>Str. pluton</i>		<i>Str. faecalis</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
	1-40	M.S.Z.	I, II, M.S.Z.	580A, 1950
Zródła energii				
Arginina	-	-	+	+
Cytrynian sodu	-	-	+	+
Glukonian sodu	+	+	+	+
Malonian sodu	-	-	(+)	(+)
Pyrogronian sodu	+	+	+	+
l-seryna	-	-	+	+
Hydroliza skrobi	-	-	-	-
eskuliny	-	-	-	-
hipuranu sodu	-	-	+	+
argininy	-	-	(+)	(+)
kazeiny	-	-	-	-
Rozpuszczenie żelatyny	-	-	-	-
Zapotrzebowanie na kw. foliowy	+	+	-	-
Dekarboksylacja tyrozyny	-	-	+	+
Redukcja TTC	-	-	+	+
Mleko lakmusowe	±	-	+	-
Wytwarzanie katalazy	-	-	-	-
Wytwarzanie soku z sacharozy	-	-	-	-

+ wynik dodatni, - wynik ujemny, ± wynik dodatni u części szczepów
 (+) wynik dodatni opóźniony

zużytkowały argininę, cytrynian, glukonian, malonian i pyrogronian sodu oraz l-serynę jako jedyne źródło energii, hydrolizowały hipuran sodu i argininę (hydroliza argininy była opóźniona), dekarboksylowały tyrozynę, zakwaszały i redukowały mleko lakmusowe. Część szczepów *Str. faecalis* redukowała również TTC.

Badane szczepy *Peptostreptococcus anaerobius* zużytkowały jako źródła energii argininę, glukonian, malonian i pyrogronian sodu oraz l-serynę, hydrolizowały hipuran sodu i argininę, dekarboksylowały tyrozynę, redukowały TTC oraz zakwaszały i redukowały mleko lakmusowe.

Chorobotwórczość.

Wszystkie szczepy *Str. pluton* użyte do zakażenia czerwiu spowodowały średnio u 43% zakażonych larw wystąpienie typowych objawów kiślicy. Ponadto około 22% larw zostało usuniętych z komórek przed wystąpieniem klinicznych objawów chorobowych. W grupie kontrolnej padło 7% larw i zostało usunięte 6% czerwiu. *Str. pluton* wyizolowano z treści jelita środkowego wszystkich padłych larw z grupy zakażonej, nie wyosobniono go natomiast od czerwiu z grupy kontrolnej. Badane szczepy *Str. pluton* nie były patogenne dla myszek białych, świnek morskich i królików po zakażeniu podskórnym i domięśniowym w dawce 0,1 ml 48 godz. hodowli płynnej/10 g wagi ciała myszki i świnki morskiej oraz w dawce 0,5 ml 48 godz. hodowli płynnej/kg wagi ciała królika.

Omówienie wyników

Badane szczepy *Str. pluton* cechowały się słabą aktywnością sacharolityczną w porównaniu do *Str. faecalis* i *Peptostreptococcus anaerobius*. Fermentowały one zawsze z wytworzeniem kwasu glukozę i fruktozę a tylko część szczepów krajowych fermentowała ponadto melecyczozę, sacharozę i salicynę. Stwierdzenie zdolności fermentowania glukozy i fruktozy przez *Str. pluton* jest zgodne z wynikami badań Smirnowa (47), Czerepowa i Kulikowa (23) oraz Bailey'a (2). W dostępnym piśmiennictwie nie napotkano na-

tomiast doniesień o fermentowaniu melecyczozy, sacharozy i salicyny, przy czym Czerepow i Kulikow (23) podkreślają wyraźnie że badane przez nich szczepy *Str. pluton* nie fermentowały sacharozy. Nie badali oni natomiast zdolności fermentowania melecyczozy i salicyny. Można przypuszczać, że słabe wykształcenie układu enzymów sacharolitycznych w przypadku *Str. pluton* przemawia za dużego stopnia przystosowaniem tego drobnoustroju do pasożytniczego trybu życia w organizmie czerwiu. Wszystkie bowiem cukry fermentowane przez *Str. pluton* za wyjątkiem salicyny, występują stale lub okresowo w jelicie środkowym czerwiu (22, 43, 45).

Jak wynika z badań Bailey'a i Gibbsa (8) oraz Willego (46) *Str. pluton* posiada zdolność peptonizacji i koagulacji mleka lakmusowego i redukuje lakmus. Te właściwości wykazywały jedynie nieliczne szczepy krajowe *Str. pluton* i to jedynie te które jednocześnie fermentowały sacharozę i melecyczozę. Na podstawie zdolności fermentowania sacharozy, melecyczozy i salicyny oraz zdolności wywoływania zmian w mleku lakmusowym badane szczepy *Str. pluton* można było podzielić na 5 grup (tab. 3).

Tab 3. Podział szczepów *S. pluton* na grupy na podstawie niektórych właściwości biochemicznych

Grupa	Fermentacja			Wzrost w mleku lakmusowym	Szczepy
	sacharoza	melecyczoza	salicyna		
I	+	+	+	+	18, 34
II	+	+	-	+	1, 8, 9, 14, 22, 24, 32
III	+	+	-	-	2-7, 11-13, 16, 16, 17, 20, 21, 23, 25, 26
IV	+	-	-	-	10, 15, 19, 27, 40
V	-	-	-	-	2, 4, 5, 28, 31, 33, 35-39

Str. pluton hodowany w warunkach beztlenowych nie wytwarza katalazy. Aktywności tego enzymu pozbawione są prawie wszystkie paciorkowce i jedynie nieliczne szczepy enterokoków izolowanych głównie ze ścieków (13) wytwarzają katalazę (17). Bailey i Gibbs (8) podają, że badane przez nich szczepy *Str. pluton* wytwarzały katalazę po zaadoptowaniu do wzrostu w warunkach tlenowych. Jednakże szczepy te traciły równocześnie bardzo szybko zdolność do wzrostu w warunkach tlenowych już po pierwszym przesiewie.

Do cech charakterystycznych *Str. pluton* należy zapotrzebowanie na kwas foliowy, który jest niezbędnym składnikiem stymulacji wzrostu. Na podstawie zapotrzebowania na ten związek i na biotynę Wille (46) podzielił szczepy *Str. pluton* na dwie grupy. Pod względem wykorzystania glukonianu i pyrogronianu sodu jako jedynych źródeł energii *Str. pluton* nie różni się od *Str. faecalis* i *Peptostreptococcus anaerobius* (21). W przypadkach *Str. faecalis* zdolność do wykorzystywania tych dwóch substancji jako źródła energii jest cechą adaptatywną i występuje zarówno przy inkubacji tego drobnoustroju zarówno w warunkach tlenowych jak i w warunkach beztlenowych (18).

Szczepy *Str. pluton* nie wykazywały właściwości które Shadhauge (40), Shattock (38) Barnes (9), Deibel i wsp. (18) oraz Breed i wsp. (11) przypisują *Str. faecalis*. Badane szczepy krajowe i wzorcowe nie odpowiadają kryteriom biochemicznym wprowadzonym przez Shattock i zmodyfikowanym przez Pleceas (35) dla odróżnienia paciorkowców z grupy serologicznej D oraz kryteriom różnicowania paciorkowców zawartych w Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (11). Jak podano w pierwszej części pracy (25) *Str. pluton* nie rośnie w temp. 10°C, słabo rośnie w temp. 45°C, nie wyrasta na podłożach o pH 9,6 oraz na agarze z dodatkiem 10 i 40% żółci bydłowej, na bulionie zawierającym 6,5% NaCl oraz na mleku z dodatkiem 0,1% błękitu metylenowego. Szczepy *Str. pluton* nie hemolizują również krwinek czerwonych, nie upłynniają żelatyny i nie wyrastają na podłożach z dodatkiem 0,01 i 0,05% tellurynu potasu.

Z testów biochemicznych znaczenie taksonomiczne dla różnicowania *Str. pluton* od *Str. faecalis* posiada fermentacja ksylozy, galaktozy, laktozy, maltozy, trehalozy rafinozy, mannitolu, sorbitolu, eskuliny i glicerolu, zdolność wykorzystywania argininy, cytrynianu, malonianu i seryny jako jedynych źródeł energii, hydroliza hipuranu i argininy, zapotrzebowanie na kwas foliowy, dekarboksylacja tyrozyny, redukcja TTC i charakter wzrostu na mleku lakmusowym (11).

Arabinozę fermentuje część szczepów *Str. faecalis* oraz *Str. faecium* (41), sorbitol *Str. faecalis*, melibiozę *Str. faecium* i *Str. bovis*, melecycytozę *Str. faecalis*, mannitol *Str. faecalis* i *Str. faecium* (41), glicerol beztlenowo *Str. faecalis* (19, 27), laktozę i trehalozę *Str. faecalis* (11, 41). Argininę hydrolizują wszystkie enterokoki (33), przy czym *Str. faecalis* wykorzystuje uwalnianą podczas hydrolizy energię w procesie wzrostu (16). Również *Str. faecalis* wykorzystuje cytrynian, malonian i serynę (18, 20, 40) oraz hipuran jako jedyne źródło energii. Kwas foliowy jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym nie tylko dla *Str. pluton* ale również dla *Str. faecium* (15). Większość enterokoków posiada zdolność dekarboksylacji tyrozyny (24). *Str. faecium* w odróżnieniu od *Str. pluton* i *Str. faecalis* redukuje TTC (35), zakwasza i ścina mleko lakmusowe i redukuje lakmus, zaś szczepy *Str. faecalis var. liquefaciens* peptonizują ścięte mleko (17).

Peptostreptococcus anaerobius występuje w jamie ustnej, jelitach i w pochwie zwierząt i ludzi (11) i dotychczas nie doniesiono o jego występowaniu u czerwiu i pszczoł dorosłych.

Wyniki badań własnych nad patogennością *Str. pluton* dla czerwiu pszczoły miodnej pokrywają się z wynikami Bailley'a (4, 5, 6) i Komburova (28), którzy zakażali czerw czystą hodowlą świeżo izolowanych szczepów *Str. pluton*. Szczepy przesiewane kilkakrotnie na podłoża

szuczne bardzo szybko traciły zjadliwość, która jednak ulegała rewersji po pasażach przez czerw (6).

Wnioski

1. Badane szczepy *Str. pluton* cechowała słaba aktywność biochemiczna. Wszystkie szczepy fermentowały glukozę i fruktozę beztlenowo z wytworzeniem kwasu, wykorzystywały glukonian i pyrogronian sodu jako jedyne źródło energii i wykazywały zapotrzebowanie na kwas foliowy jako na niezbędny czynnik wzrostowy. Część szczepów *Str. pluton* fermentowała ponadto sacharozę, melecycytozę i salicynę oraz zakwaszała i redukowała mleko lakmusowe.

2. Znaczenie taksonomiczne w odróżnieniu *Str. pluton* od *Str. faecalis* i *Peptostreptococcus anaerobius* mogą odgrywać następujące testy biochemiczne: fermentacja arabinozy, sorbitolu, melibiozy, melecycytozy, laktozy, trehalozy, salicyny, mannitolu, glicerolu, wykorzystywanie argininy, cytrynianu, malonianu i seryny jako jedyne źródła energii, hydroliza hipuranu i argininy, zapotrzebowanie na kwas foliowy, dekarboksylacja tyrozyny, redukcja TTC oraz charakter wzrostu na mleku lakmusowym.

3. W zależności od zdolności fermentowania sacharozy, melecycytozy i salicyny oraz charakteru wzrostu na mleku lakmusowym badane szczepy *Str. pluton* można podzielić na pięć grup.

Piśmiennictwo

1. Ayers S. H., Rupp P.: J. inf. Dis. 20, 388, 1922.
2. Bailey L.: J. gen. Microbiol. 17, 39, 1951.
3. Bailey L.: I. Insect. Path. 1, 80, 1959.
4. Bailey L.: J. Insect. Path. 2, 67, 1960.
5. Bailey L.: Bull. Apicole 4, 111, 1961.
6. Bailey L.: J. Insect. Path. 5, 198, 1963.
7. Bailey L.: J. Apic. Res. 7, 103, 1954.
8. Bailey L., Gibbs A. J.: J. gen. Microbiol. 28, 385, 1962.
9. Barnes E. M.: J. gen. Microbiol. 14, 57, 1956.
10. Barnes E. M., Ingram M., Ingram G. C.: J. appl. Bact. 19, 294, 1956.
11. Breed R. S., Murray E. G. D., Smith N. R.: Bergey's manual of determinative bacteriology. VII. Williams and Wilkins Co. Baltimore 1957.
12. Bucher G. E., Stephens J. M.: J. Insect Path. 1, 3/4, 1959.
13. Burnet G. W., Pezcar M. J., Conn H. J.: Preparation of media. Manual of microbiological methods. Mc Graw-Hill Co Inc. NY, 1957.
14. Burri K.: Beih. Schweiz. Bienen. Ztg. 1, 209, 1943.
15. Deibel R. H.: Bact. Rev. 28, 331, 1964.
16. Deibel R. H.: J. Bact. 87, 908, 1964.
17. Deibel R. H., Evans J. B.: J. Bact. 79, 356, 1960.
18. Deibel R. H., Lake D. E., Niven C. F.: J. Bact. 86, 1275, 1963.
19. Deibel R. H., Niven C. F.: J. Bact. 70, 141, 1955.
20. Deibel R. H., Niven C. F.: Bact. Proc. 164, 1960.
21. Deibel R. H., Niven C. F.: J. Bact. 88, 4, 1964.
22. Curyto J.: Roczn. Nauk. Pol. 63, 325, 1954.
23. Czeepow W. T., Kulikow N. S.: Veterinarija 6, 25, 1966.
24. Gale E. F.: Adv. Enzymol. 6, 1, 1946.
25. Gliński Z.: Medycyna Wet. 1972 w druku.
26. Gunsalus I. C., Sherman J. M.: J. Bact. 45, 155, 1943.
27. Kjellander J.: Acta path. microbiol. Scand. suppl. 136, 48, 1960.
28. Komburov G.: Naucz. Trud. Wyssh. Wet.-metd. Inst. Sofija, 11, 317, 1962.
29. Lancefield R. C.: J. exp. Med. 57, 571, 1933.
30. Lochhead A. G.: Science 67, 159, 1928.
31. Lungston C. W., Cutierrez J., Bouma C.: J. Bact. 80, 693, 1960.
32. Medrek T. F., Barnes E. M.: J. appl. Bact. 25, 159, 1962.
33. Niven C. F., Smiley K. L., Sherman J. M.: J. Bact. 43, 651, 1942.
34. Orla-Jensen S.: Mem. Acad. Roy. Sci. Denmark. 8, 81, 1919.
35. Pleceas P.: Zentbl. Bakt. Parasit. Kde. I. 214, 130, 1970.
36. Seelemann M.: Biologie der Streptokokken. Hans Carl, Nürnberg, 1954.
37. Sharpe E. M.: Proc. Soc. appl. Bact. 13, 118, 1963.
38. Shattock P. M. F.: Anns. Inst. Pasteur, Lille. 7, 95, 1955.

39. Sherman J. M.: J. Bact. 35, 81, 1933.
 40. Skadhauge K.: Studies on enterococci with special reference to the serological properties. E. Munksgaards Forlag, Copenhagen, 1950.
 41. Smith D. G., Shattock P. M. F.: J. gen. Microbiol. 34, 165, 1964.
 42. Smirnova N. J.: Veterinarija, 5, 100, 1966.
 43. Taranow G. F.: Anatomija i fizjologija miedonosnych pcel. Kolos, Moskwa 1963.
 44. Vicken T., Richard O., Oebi H.: Schweiz. Z. Allg. Path. Bakt. 15, 492, 1952.
 45. White J. W.: J. Ass. Agric. Chim. 43, 638, 1969.
 46. Wille H.: Proc. XI Int. Congr. Entomol. 521, 1960.
 47. Wille H.: Schweiz. Bienen. Ztg. 4, 8, 1961.

Adres autora: dr Zdzisław Gliński, Lublin, ul. Akademicka 12.

Глиньски З. — Исследования свойств и антигенной структуры бактерий *Streptococcus pluton*. II. Биохимические свойства и патогенность.

Исследовали 40 местных и 3 стандартные штаммы *Str. pluton*. Штаммы были изолированы из больного европейским гнильцом расплода пчел (*Apis mellifica*). Установили, что все исследованные штаммы в анаэробных условиях ферментируют глюкозу и фруктозу с образованием кислоты, используют как единый источник энергии глюкозам и пировинат натрия; необходимым ростовым фактором является для них фолиевая кислота. Кроме того часть штаммов *Str. pluton* ферментирует сахарозу, меллицитозу и салицин, подкисляет и редуцирует молоко с лакмусом. В зависимости от способности ферментирования сахарозы, меллицитозы и салицина и вызывания изменений в молоке с лакмусом можно штаммы *Str. pluton* разделить на 5 групп. Шесть произвольно избранных штаммов оказалось патогенными для пчели-

ного расплода возрастом в 24—48 часов зараженного перорально дозой 1×10^5 бактерий в 50% растворе сахара. Симптомы европейского гнильца наблюдали в среднем 43% зараженного расплода; кроме того 22% зараженного расплода было изъято из сотов до появления патологических симптомов. Исследованные штаммы оказались непатогенными для белых мышей, морских свинок и кроликов.

Gliński Z. — Investigations on the properties and antigenic structure of *Streptococcus pluton*. II. Biochemical properties and pathogenicity.

Biochemical properties of 40 native and 3 standard strains of *Str. pluton* were investigated. The strains were isolated from sick honey bee brood suffering from European foulbrood (EFB). There was found that all the strains under study split glucose and fructose with acid production under anaerobic conditions; sodium gluconate and pyruvate served as a sole source of energy, and in addition they needed folic acid as a necessary growth factor. Besides, some of the strains split saccharose, mellicytose and salicin, acidified and reduced litmus milk. On the above properties it was possible to divide the strains under study on five groups. Six randomly chosen strains of *Str. pluton* were pathogenic for bee larvae at the age of 1—2 days following oral infection with 1×10^5 bacteria in 50.0% sugar solution. On the average in 43.0% of the infected larvae appeared the symptoms of the disease and besides above 22.0% of larvae were removed from combs before appearance of clinical symptoms. The strains under study were not pathogenic for white mice, guinea-pigs and rabbits.

CZESŁAW KUREK, WIESŁAW STAWICKI

Badania nad *mastitis* u krów w woj. gdańskim. V. Występowanie chorobotwórczej flory bakteryjnej w zasuszonych gruczołach mlecznych

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku
 Kierownik: dr E. STRZELECKI

Wg Neavea i wsp. (12), Olivera i wsp. (15, 16) i innych, gruczoły wymieniowe około 1/3 krów mogą ulegać zakażeniom bakteryjnym w czasie zasuszenia. Większość z nich utrzymuje się w czasie zasuszenia przechodząc w podkliniczne wzg. kliniczne bakteryjne stany zapalne wymienia w okresie laktacyjnym, co prowadzi do dewastacji tkanki wydzielniczej i niskich wskaźników ekonomicznych w produkcji mleka (10, 12, 15, 18). Patologia i mechanizm powstawania bakteryjnych stanów zapalnych wymienia w tym okresie są mało poznane (11). Ponieważ założenia programu zwalczania *mastitis* u krów w woj. gdańskim przewidują masowe zasuszanie gruczołów wymieniowych pod osłoną antybiotyków — celem pracy było określenie gatunków drobnoustrojów występujących w wydzielinie zasuszonych gruczołów wymieniowych, oraz zachodzących między nimi stosunków ilościowych. Określono również wpływ za-

każeń bakteryjnych na właściwości organoleptyczne wydzieliny gruczołowej.

Materiał i metody

Do badań pobierano losowo wydzielinę zasuszonych gruczołów mlecznych z 341 ćwiartek wymieniowych 90 krów w 6 gospodarstwach hodowli wielkostatnej w różnych porach roku. Krowy dojne były przy użyciu aparatury mechanicznej, bez zachowania wymogów prawidłowej higieny udoju. Materiał pobierano co najmniej 14 dni po ostatnim pozyskaniu mleka i 14 dni przed spodziewanym terminem wycielenia, z uwzględnieniem zasad umożliwiających jatowe pozyskanie próbek. Wysiewano je na agar odżywczy z dodatkiem 5% krwi końskiej oraz podłoże wybiórcze wg Edwardsa w modyfikacji Chodkowskiego (2). Badania bakteriologiczne i interpretację otrzymanych wyników przeprowadzono wg analogicznych zasad jak badanie próbek mleka, które opisano poprzednio (8). W badaniach klinicznych uwzględniano ciepotę zewnętrznej skóry poszczególnych ćwiartek wymieniowych, reakcje bólowe na dotyk i obrzęki deformacyjne.