

Bernacki Z., Hoppe A. — A trial of biometric determination of pheromones production in pigs.

There have been determined the weight and size of the submandibular salivary glands in 50 cryptorchic and 50 early castrated boars. There were found some differences in the above parameters of the glands in relation to the kind of their own smell. The glands

with musky smell were about 2 times heavier and those with urinary smell about 1/3 times lighter than those of cryptorchic and early castrated boars and sows with „own smell”. These differences observed among the salivary mandibular glands were probably related to the content of stored and excreted pheromones.

ALICJA WILKOSZ

Analiza szczepów *Vibrio*

Z Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Warszawie

W 1955 r. Bryner i Frank podzielili napotykaną u bydła i owiec szczepu na chorobotwórcze *Vibrio fetus* (produkujące katalazę i nieprodukujące siarkowodoru) oraz niechorobotwórcze *Vibrio bubulus* (katalazo ujemne i H_2S dodatnie). Podział ten wkrótce stał się niewystarczający, gdyż już w 1956 r. Akkermans i Terpstra (1) donieśli o wyosobnieniu z poronionych płodów bydłych szczepów wytwarzających zarówno H_2S jak i katalazę. Florent (5) tę nową odmianę *Vibrio* nazwał mętwikiem sporadycznego ronienia lub *Vibrio fetus intestinalis* typ II. Od owiec *Vibrio* o podobnych właściwościach morfologicznych izolowali Eide i Helle (4). W Polsce Wilkosz i Książek (11, 12) izolowały takie szczepy *Vibrio* od owiec w stadzie, gdzie występowały masowe ronienia. Hoppe i wsp. (7) z układu rozrodczego bydła w Polsce izolowali *Vibrio fetus venerealis* cechujące się wytwarzaniem dużej ilości katalazy i niewytwarzających H_2S oraz *Vibrio bubulus*, dające dodatnią reakcję na H_2S a niewytwarzające katalazy. W 1962 r. (8) autorzy ci donieśli jednak o występowaniu w napletku buhajów, które nigdy nie kryły, nowej odmiany *Vibrio*, cechującej się zarówno wytwarzaniem katalazy jak i H_2S , oraz rosnącej w obecności 1% glicyny. *Vibrio* to uznali za niechorobotwórcze i nazwali typem III, gdyż wykazywał niskie miano aglutynacyjne z *V. fetus venerealis*.

Coraz częściej napotymano w diagnostyce wibriozy na szczepy, których właściwości morfologiczne i biochemiczne nie pozwalały na zakwalifikowanie ich do znanych grup (2, 10). W związku z powyższym postanowiono przebadąć właściwości biochemiczne i serologiczne szczepów *Vibrio* występujących w układzie rozrodczym bydła i owiec w Polsce jak również i w poronionych płodach od tych zwierząt.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 113 szczepów *Vibrio*, w tym 110 szczepów wyizolowanych z układu rozrodczego bydła i owiec na terenie Polski oraz 3 szczepy kontrolne: 1. *Vibrio fetus venerealis* (St₆ — old Terpstra strain, uzyskany z Danii), 2. *Vibrio fetus intestinalis* — pochodzący z RFN, 3. *Vibrio* typ III „Wiech” — opisany przez Hoppego i wsp. (8). Ze 110 szczepów 32 zostały nadesłane przez Zakłady Higieny Weterynaryjnej do określenia.

Materiał z napletka od buhajów i tryków pobierano przy użyciu metody stosowanej do pobierania wypłucznym od buhajów (5, 7, 8). Śluz pochowowy od krów pobierano pipetą szklaną (7, 8) oraz od owiec przy użyciu łyżeczki pochwowej (12). Z poronionych płodów materiał izolowano wg Hoppego (8) i Wilkosz (12). Materiał wysiewano na agar z 5% krwią baranią z dodatkiem cysteiny i zieleni brylantowej oraz na podłoże Bartletta. Badanie bakteriologiczne przeprowadzano w oparciu o metody podane przez Hoppego i wsp. (7, 8). Do oceny biochemicznej szczepów stosowano próbę na katalazę Brynera i Franka (2), próbę na H_2S (pasek bibuły nasączony octanem ołowiu, umieszczony między korkiem a brzegiem próbówki z wysianą hodowlą, różnicową hodowlę na bulionie z dodatkiem 12 glicyny wg Lecce (9) oraz próbę z 3,5% NaCl (6). Podłoża z wysianym materiałem inkubowano w warunkach mikroaerofilnych (92% N₂, 3% CO₂, 5% O₂) wg Hoppego (7, 8).

Antygeny do próby aglutynacji próbówkowej (pełny przecinkowiec pochodzący z logarytmicznej fazy wzrostu) wykonano ze wszystkich 113 szczepów. 24-godzinna żywa hodowla *Vibrio* z pożywki stałej zmywano roztworem fizjologicznym, dwukrotnie wirowano przy 5000 obr./min., przemywano 0,85% NaCl i dodawano 0,2 ml formaldehydu na 100 ml antygeny. Używano antygeny o gęstości optycznej 2 wg skali McFarlanda.

Surowice diagnostyczne otrzymywano, szczepiąc dożylnie króliki spluczną *Vibrio* z hodowli stałej, wzrastającymi dawkami od 0,2 do 1 ml. w odstępach 4 dniowych. Króliki skrwawiano przy wzroście miana aglutynacyjnego od 5120 do 10240. Uzyskano surowice: anty *Vibrio fetus venerealis*, anty *Vibrio fetus ovis*, anty *Vibrio* typ III, anty *Vibrio bubulus* typ owczy i bydłowy. Uzyskano również surowiec przeciw kontrolnym szczepom (anty *Vibrio fetus venerealis* — St₆, anty *Vibrio fetus intestinalis* — RFN i anty *Vibrio* typ III — Wiech). Odczyn aglutynacji próbówkowej badanych szczepów przeprowadzano wg Mitscherlicha (10).

Wyniki

Od bydła wyizolowano 60 szczepów *Vibrio*, w tym 14 szczepów patogennych z napletka buhajów i 6 od krów ze śluzu pochwowego, a 6 z poronionych płodów; pozostałe 34 szczepy bydłowe uznane za niepatogenne *Vibrio bubulus*. Od owiec wyizolowano 21 szczepów patogennych, w tym 12 z poronionych płodów i 9 szczepów ze śluzu pochwowego. Od tryków wyizolowano 10 szczepów niepatogenne *Vibrio bubulus* i 20 takich szczepów ze śluzu pochwowego owiec. Wyizolowane szczepy podzielono na 10 typów. Podstawą podziału była obecność w szczepach katalazy, wytwarzanie siarkowo-

doru oraz wzrost w obecności 1% glicyny i 3,5% chlorku sodu.

W tab. 1 i 2 przedstawione zostały właściwości biochemiczne szczepów *Vibrio* jak również wyniki aglutynacji próbówkowej wszystkich badanych szczepów z surowicami homologicznymi i heterologicznymi dla danego typu.

Tab. 1. Właściwości biochemiczne szczepów *Vibrio*

Ilość szczepów	Typy <i>vibrio</i>	Liczba katalazowa	Próba na H ₂ S	Wzrosty na bulionie		
				zwykłym	z 1% glicyną	z 3,5% NaCl
13	<i>V. fetus venerealis</i>	0,8 - 2,2	-	+	-	-
11	<i>V. fetus venerealis</i> podtyp I	0,8 - 1,7	-	+	+	-
2	<i>V. fetus intestinalis</i>	0,5 - 0,8	+	+	+	-
16	<i>V. fetus ovis</i>	1,0 - 2,9	-	++	+	-
5	<i>V. fetus ovis</i> podtyp I	0,5 - 1,8	+	++	-	-
4	<i>V. typ III</i>	0,8 -	+	+	+	+
18	<i>V. bubulus</i> bydłęcy	0,0 - 0,1	+	+	-	++
11	<i>V. bubulus</i> bydłęcy-podtyp I	0,05 - 0,2	+	++	+	-
17	<i>V. bubulus</i> owczy	0,0 - 0,2	++	++	-	+
13	<i>V. bubulus</i> owczy podtyp I	0,0 - 0,3	+	++	+	-

W typie *Vibrio fetus venerealis* znalazły się typowe szczepy *Vibrio* przenoszące się drogą krycia, głównie izolowane z napletka buhajów (10 szczepów) i 3 szczepy ze śluzu pochwowego jałowujących krów. Szczepy te charakteryzowały się najwyższą liczbą katalazową (od 0,8 do 2,2 — średnio 1,5), nie wytwarzały H₂S, nie rosły na bulionie z 1% glicyny ani na bulionie z 3,5% NaCl.

typ *Vibrio fetus venerealis* miano w granicach 160—1280 wykazywały z surowicą przeciw szczepowi *Vibrio fetus intestinalis* — RFN. Surowicę anty *Vibrio* typ III aglutynowały w granicach od 160—320.

Dwa szczepy *Vibrio* izolowane z napletka od buhajów wykazywały identyczne właściwości jak kontrolny szczep RFN — tj. dość niską liczbę katalazową (0,5—0,8 średnio 0,6), wzrost na bulionie z 1% glicyny, a przede wszystkim występowanie śladów H₂S. Szczep

py te wykazywały obniżone miano aglutynacyjne w stosunku do obu szczepów patogennych *Vibrio fetus venerealis* (320—640) jak i *Vibrio fetus ovis* (320), natomiast w stosunku do surowicy przeciw *V. fetus intestinalis* ich miano aglutynacyjne utrzymywało się w granicach 640—1280. Surowicę anty *V. fetus ovis* szczepu patogennego jak i anty *Vibrio* typ III (szczepu niepatogennego) aglutynowały do miana 1:320. Z surowicami przeciw typom *Vibrio bubulus* miano aglutynacyjne utrzymywało się w granicach fizjologicznego (20—80).

Tab. 2. Właściwości serologiczne (aglutynacyjne) szczepów *Vibrio*

Ilość szczepów	Typy <i>Vibrio</i>	Surowice przeciw żywej komórce <i>Vibrio</i>					
		<i>V. fetus vener.</i>	<i>V. fetus intest.</i>	<i>V. typ. III</i>	<i>V. fetus ovis</i>	<i>V. bubul. bydłęcy</i>	<i>V. bubul. owczy</i>
13	<i>V. fetus venerealis</i>	640—5120	20—320	40—160	160—1280	20—40	10—40
11	<i>V. fetus venerealis</i> -podtyp I	320—2560	160—1280	160—320	80—640	20—80	20—40
2	<i>V. fetus intestinalis</i>	320—640	640—1280	320	320	40—80	20—40
16	<i>V. fetus ovis</i>	320—2560	160—320	40—320	640—2560	20—80	20—80
5	<i>V. fetus ovis</i> podtyp I	640—1280	320	80—320	640—1280	20—40	20—40
4	<i>V. typ III</i>	80—160	160—320	320—640	160	40—80	20
18	<i>V. bubulus</i> bydłęcy	10—80	20—80	10—80	20—80	640—5120	640—2560
11	<i>V. bubulus</i> bydłęcy-podtyp I	10—160	20—160	10—160	10—160	320—1280	320—1280
17	<i>V. bubulus</i> owczy	40—80	20—40	10—80	10—80	160—640	1280—5120
15	<i>V. bubulus</i> owczy-podtyp I	20—80	20—40	20—160	20—160	80—640	160—5120

Antygeny uzyskane z tych szczepów (tab. 2) aglutynowały do wysokiego miana (640—5120) homologiczną surowicę „140”; z homologiczną surowicą szczepu kontrolnego „St₆” aglutynowały w granicach 640—2560. Szczepy tego typu reagowały również dość wysoko z heterologiczną surowicą przeciw patogennym szczepom owczym (160—1280). Natomiast z surowicami przeciw szczepom *Vibrio fetus intestinalis* wykazywały miano aglutynacyjne w granicach 20—320 i z surowicą przeciw typowi III w granicach od 40—160. Z surowicami przeciw szczepom *Vibrio bubulus* wykazywały niskie miano. Do typu *Vibrio fetus venerealis* podtyp I zaliczono 2 szczepy wyizolowane także z napletka buhajów, 3 szczepy ze śluzu pochwowego jałowujących krów i 6 szczepów wyizolowanych z poronionych płodów bydłęcych. Szczepy te wykazywały nieco niższą liczbę katalazową, od 0,8 do 1,7, średnio 1,0; pozostałe próby biochemiczne wypadły dla nich jak dla typu poprzedniego, z jednym wyjątkiem — a mianowicie rosły na bulionie z 1% glicyny. Aglutynowały do nieco niższego miana surowicę przeciw szczepom patogennym „140” w granicach 320—2560 i „St₆” w granicach 160 do 1280. Natomiast wyższe niż

Szczepy *Vibrio* izolowane od owiec ze śluzu pochwowego w stadzie, gdzie występowały masowe ronienia (13) i z poronionych płodów podzielono na 2 typy. Podstawą podziału w obrębie szczepów patogennych izolowanych od owiec była różnica we wzroście poszczególnych szczepów w obecności 3,5% NaCl i 1% glicyny, jak również wytwarzanie siarkowodoru. Natomiast w próbie aglutynacji próbówkowej wszystkie szczepy zachowywały się podobnie. Wysoko aglutynowały z heterologiczną surowicą przeciw patogennym szczepom bydłęcym (w granicach 320—2560), podobnie jak z homologiczną surowicą (640—2560). Jest rzeczą charakterystyczną, że szczepy patogene owcze wykazywały znacznie niższe miano aglutynacyjne z surowicami przeciw szczepowi *V. fetus intestinalis* i przeciw *Vibrio* typ III. Ich własności an-

tygenowe okazały się bliższe szczepom patogennym bydłowym — *Vibrio fetus venerealis* — niż *Vibrio fetus intestinalis*. W typie *Vibrio* III — znalazły się szczepy odpowiadające właściwościom biochemicznym i serologicznym niepatogennemu szczepowi kontrolnemu „Wiech”. Były to szczepy izolowane z napletka buhajów, u których poprzednio stwierdzono *Vibrio fetus venerealis* i poddano je leczeniu (3 szczepy); jeden szczep wyizolowany był od młodego buhaja, który nigdy nie krył. Liczba katalazowa tych szczepów nie była wysoka (0,6); wytwarzały, choć niezbyt obficie, H_2S oraz rosły na bulionie z 1% glicyny i 3,5% NaCl. Szczepy te wykazywały niezbyt wysoką aktywność serologiczną zarówno z surowicą homologiczną jak i surowicą przeciw szczepom patogennym bydłowym. Na podstawie właściwości biochemicznych i serologicznych uznano te szczepy za niepatogenne, ale o własnościach antygenowych zbliżonych do szczepów patogennych bydłowych.

Wśród szczepów *Vibrio bubulus* izolowanych od bydła i owiec wyróżniono 4 typy, głównie na podstawie wytwarzania śladów katalazy. Wszystkie szczepy *Vibrio bubulus* wykazywały duże pokrewieństwo serologiczne w krzyżowej aglutynacji z ich homologicznymi i heterologicznymi surowicami.

Jak z powyższego wynika wyizolowane w Polsce szczepy *Vibrio* tylko bardzo ogólnie dają się zaszereżować do 3 podstawowych typów serologicznych i bardziej szczegółowy podział staje się koniecznością. Niektóre szczepy izolowane z poronionych płodów bydłowych, szczepy izolowane ze śluzu jałowięjących krów jak również 2 szczepy uzyskane z napletka buhajów musiały być zaliczone do nowej podgrupy w obrębie szczepów *Vibrio fetus venerealis* (rosły na bulionie z 1% glicyny).

Właściwości serologiczne szczepów izolowanych z poronionych płodów bydłowych w Polsce okazały się bliższymi choć nie identycznymi do *Vibrio fetus venerealis* niż do *Vibrio fetus intestinalis*. Natomiast 2 szczepy z napletka buhajów o właściwościach serologicznych jak i biochemicznych pokrewnych szczepom *Vibrio fetus intestinalis* oraz 4 szczepy z napletka, które właściwościami biochemicznymi jak i serologicznymi odpowiadały niepatogennemu szczepowi *Vibrio* typ III, wskazują na występowanie w napletku buhajów, oprócz właściwych szczepów *V. fetus venerealis*, również szczepów, które mogą być efektem dysocjacji, ale których nie można zaliczyć do jednego typu, choć wszystkie wykazują liczbę katalazową. Różnią się one bowiem właściwościami serologicznymi.

Powyższe wyniki zgodne są z doniesieniami Mitscherlicha (10), Franka (6), Berga (2) i Walska (11), którzy na podstawie właściwości serologicznych wyodrębnili większą ilość typów wśród patogennych szczepów *Vibrio*.

Wnioski

1. W napletku buhajów obok typowego *Vibrio fetus venerealis* i *Vibrio bubulus* występują patogenne szczepy *Vibrio fetus intestinalis* i *Vibrio fetus venerealis* podtyp I oraz niepatogenne *Vibrio* typ III.

2. Szczepy *Vibrio* izolowane z poronionych płodów bydłowych bliższe są właściwościami biochemicznymi i serologicznymi szczepom *Vibrio fetus venerealis* niż *Vibrio fetus intestinalis*.

3. Szczepy *Vibrio bubulus* bydłowe i owcze mimo różnic biochemicznych nie wykazują różnic serologicznych.

4. Szczepy patogenne owcze bliższe są właściwościami biochemicznymi jak i serologicznymi szczepom zaliczanym do *Vibrio fetus venerealis* (podtyp I) niż szczepom *Vibrio fetus intestinalis*.

Piśmiennictwo

1. Akkermans I. P., Terpstra I. S.: Tijdschr. Diergeneesk. 81, 430, 1956.
2. Berg R. L., Julita I. W., Firchamer M. S.: Am. J. vet. Res. 29, 11, 1971.
3. Bryner H. J., Frank A. N.: Am. J. vet. Res. 16, 76, 1955.
4. Eide G., Helle G.: Am. J. vet. Res. 19, 887, 1958.
5. Florent A.: Zuchthyg. 3, 30, 1959.
6. Frank A. H., Bryner H. J., O'Berry P. A.: Am. J. vet. Res. 28, 1237, 1967.
7. Hoppe R., Ryniewicz Z.: Zesz. Probl. Post. N. Roln. 31, 84, 1961.
8. Hoppe R., Ryniewicz Z.: IVth. Int. Congress on Animal Reprod. Haga 1961.
9. Lecce: J. Bact. 76, 312, 1958.
10. Mitscherliche E., Lien B.: Dt. tierärztl. Wschr. 65, 36, 1958.
11. Walsk A. E., White F. H.: Am. J. vet. Res. 29, 1377, 1968.
12. Wilkosz A., Książek B.: Medycyna Wet. 24, 741, 1968.
13. Wilkosz A., Książek B.: Medycyna Wet. 25, 389, 1969.

Adres autora: dr Alicja Wilkosz, ul. Daniłowiczowska 11 m. 67, 00-084 Warszawa.

Вилькош А. — Анализ штаммов *Vibrio*.

Исследованиям подвергли 113 штаммов *Vibrio* выделенных из полового аппарата и выкидышей крупного рогатого скота и овец а также 3 контрольные штаммы. Определили биохимические и серологические свойства этих штаммов. Получили антигены и иммунные сыворотки штаммов *V. fetus venerealis*, *V. fetus intestinalis*, *V. typ III*, *V. fetus ovis*, *V. bubulus typus bovinus* и *typus ovinus*. Провели перекрестные агглютинации между патогенными и непатогенными штаммами *Vibrio* от крупного рогатого скота и от овец. На основании биохимических и серологических свойств разделили выделенные штаммы *Vibrio* на 10 типов. Установили, что в крайней плоти быков выступает 5 типов *Vibrio*.

Wilkosz A. — Analysis of *Vibrio* strains.

There have been examined 113 strains of *Vibrio* isolated from the genital tract and aborted foetuses of cattle and sheep. Three strains were used as controls. There were determined biochemical and serological characteristics of the strains under study. There were obtained antigens and anti-sera against *V. fetus venerealis*, *V. fetus intestinalis*, *Vibrio type III*, *V. fetus ovis* and *V. bubulus* of cattle and sheep type. Cross agglutination was performed with pathogenic and nonpathogenic strains of *Vibrio* isolated from cattle and sheep. On the basis of biochemical and serological properties the strains were divided in ten types. It was found that in the prepuce of bulls 5 types of *Vibrio* can occur.