

HIGIENA ŻYWNOŚCI ZWIERZĘCEGO POCHODZENIA

JOZEF MALESZEWSKI, ANTONI JAKUBCZAK*

Cechy określające właściwości chorobotwórcze pałeczek z rodzaju *Yersinia*

Samodzielna Pracownia Mikrobiologii i Biochemii Produktów Zwierzęcych Instytutu Weterynarii w Puławach, ul. Zamajskiego 15, 03-801 Warszawa
*Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Nowogrodzka 160, 18-400 Łomża

Poza znanymi czynnikami warunkującymi chorobotwórczość pałeczek z rodzaju *Yersinia*, takimi jak: endotoksyczna właściwość lipopolisacharydu ściany komórkowej (1, 8), wytwarzanie ciepłostajłej enterotoksyny (2, 3, 17) oraz inwazyjność (3, 7, 14, 22), istnieją również swoiste cechy wirulencji związane z obecnością plazmidów w komórce bakteryjnej (2, 4, 9, 12, 21, 23). Obserwacje wielu autorów wykazały, że tylko określone biotypy *Yersinia enterocolitica* zawierają plazmidy determinujące patogenność. Natomiast u gatunków *Yersinia intermedia*, *Yersinia frederiksenii* i *Yersinia kristensenii* nie stwierdzono tych plazmidów (3, 4, 8, 15, 18, 23).

Szczepy bakteryjne zawierające plazmidy warunkujące ich chorobotwórczość posiadają swoiste właściwości fizjologiczne, wyrażające się wytwarzaniem antygenów powierzchniowych w postaci V o charakterze białka oraz lipidobiałka w postaci antygeny W (9, 13, 16, 18, 20). U szczepów tych obserwuje się: zależność wzrostu od obecności w podłożu jonów Ca^{++} (6, 9, 12, 18), oporność na bakteriobójcze działanie surowicy ludzkiej (5, 17, 18), autoaglutynację w podłożach używanych do hodowli tkankowych (3, 11, 12, 14) oraz produkcję białek związanych z zewnętrzną błoną komórkową, ale o innych formach antygenowych niż V czy W (4, 11).

W związku z dużym rozprzestrzenieniem pałeczek z rodzaju *Yersinia* w środowisku naturalnym i wywoływaniem przez nie zakażeniami pokarmowymi, istnieje konieczność określenia chorobotwórczości szczepów izolowanych od ludzi, zwierząt i ze środków spożywczych. Przewadzenie tych badań na zwierzętach laboratoryjnych w postępowaniu rutynowym jest zbyt kosztowne, skomplikowane i czasochłonne. Co raz częściej w piśmiennictwie opisywane są pośrednie metody, które pozwalają różnicować szczepy na patogenne i niepatogenne (10, 12, 13, 15, 18, 19).

Laird i Covanaugh (12) stwierdzili, iż patogenne szczepy *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* i *Yersinia enterocolitica* w podłożu

używanym do hodowli tkankowych są zdolne w temp. $37^{\circ}C$ do autoaglutynacji. W temperaturze $26^{\circ}C$ zjawisko to nie zachodziło, ponieważ — jak sugerują badacze — synteza antygeny wirulencji w formie V lub W zachodzi tylko w temperaturze $37^{\circ}C$, a nie $26^{\circ}C$. Późniejsze badania potwierdziły te przypuszczenia (6, 13, 14, 16). Lee i wsp. (14) izolowali *Yersinia enterocolitica* serotyp O:3 z mięsa wieprzowego oraz gardła świń, które wykazywały autoaglutynację oraz jednocześnie wywoływały biegunkę u myszy. Kapperud i Lassen (11) wykazali autoaglutynację zarówno u szczepów *Yersinia enterocolitica* serotyp O:3 izolowanych od ludzi chorych, jak i migdałków świń poddanych ubojowi. Zaden natomiast szczep *Yersinia enterocolitica* izolowany ze środowiska naturalnego nie odznaczał się tą właściwością. Ponadto wykazano ścisły związek między autoaglutynacją a dodatnim wynikiem w teście rogowkowym wykazującym inwazyjność szczepów na świnkach morskich w postaci *keratoconjunctivitis* (19, 21).

Pai i de Stephano (7) stwierdzili, że oporność *Yersinia enterocolitica* na bakteriobójcze działanie surowicy ludzkiej związana jest z patogennymi właściwościami. Podobnie jak autoaglutynacja, zależność ta występuje tylko w temperaturze $37^{\circ}C$. Wykazano, że szczepy takie były patogenne dla królików i myszy, a także wykazywały hamowanie wzrostu w obecności jonów Ca^{++} . Szczepy nie posiadające w/w cech były wrażliwe na bakteriobójcze działanie surowicy ludzkiej w temperaturze $37^{\circ}C$. Chiesa i Bottone (5) sugerują, że synteza antygeny wirulencji postaci V determinuje tę właściwość.

Aby odróżnić szczepy patogenne *Yersinia enterocolitica* Gemski i wsp. (9) wykorzystali inną fizjologiczną właściwość a mianowicie różnicowanie we wzroście w obecności jonów Ca^{++} . Do tego celu użyto agaru MOX (magnesium oxalate agar), na którym w temp. $37^{\circ}C$ zahamowany był wzrost szczepów *Yersinia enterocolitica* wykazujących inwazyjność oraz produkcję antygenów V i W. Późniejsze prace wyka-

zały ścisłą korelację między wzrostem na agarze MOX a chorobotwórczością tych drobnoustrojów (6, 14, 16, 19). Okamoto i wsp. (16) wykazali, że cytotoksyczne zmiany komórek linii HeLa powodowane są tylko przez szczepy tzw. Ca⁺⁺ — zależne i wytwarzające antygen V. Delmas i Vidon (6) również wykazali tę zależność szczepów izolowanych z gotowych produktów z mięsa wieprzowego.

W poszukiwaniu nowych metod umożliwiających różnicowanie wyizolowanych szczepów z rodzaju *Yersinia* w warunkach *in vitro* na chorobotwórcze i niechorobotwórcze, zwrócono uwagę na zachowanie się tych bakterii wobec barwnika czerwieni Kongo. Prpic i wsp. (19) stwierdzili wzrost dwóch typów kolonii w temp. 25°C po 72 h na podłożu agarowym z dodatkiem tego barwnika. Jeden typ stanowiły kolonie *Yersinia enterocolitica* intensywnie czerwone wiążące barwnik, a drugi typ kolonie bezbarwne lub bladoróżowe. Szczepy dające pierwszy typ wzrostu były chorobotwórcze dla myszy, zawierały plazmidy warunkujące syntezę antygenów wirulencji V i W, były odporne na działanie bakteriobójczej surowicy oraz zdolne do autoaglutynacji. Podobne zachowanie się szczepów *Yersinia enterocolitica* wobec czerwieni Kongo izolowanych z wieprzowiny, wykazano we Francji (6).

Lazere i Gemski (13) zaobserwowali wytwarzanie dwóch typów kolonii w czasie wzrostu serotypów 8 i 3 *Yersinia enterocolitica* na agarze sojowo-tryptozowym w temp. 37°C po 24 — 30 h inkubacji. Szczepy rosnące w postaci małych, wypukłych, matowych kolonii zawierały plazmidy determinujące syntezę antygenów wirulencji V i W. Natomiast kolonie duże, płaskie i przezroczyste wytwarzane były przez niechorobotwórcze pałeczki *Yersinia enterocolitica*. Uczeń ci polecają zastosowanie tej metody jako wstępnej oceny szczepów izolowanych od chorych ludzi oraz środków spożywczych. Mazigh i wsp. (15) proponują dla odróżnienia szczepów chorobotwórczych podłoże agarowe z dodatkiem N-2 hydroxyetylpiperazine- N-2-ethanesulfonic acid, na którym szczepy *Yersinia enterocolitica* rosną w postaci małych kolonii o średnicy 0,5 mm oraz dużych ponad 1 mm. Wzrost taki obserwowano w temperaturze 37°C po 48 h inkubacji. Szczepy *Yersinia enterocolitica* wytwarzające małe kolonie na tym podłożu były zdolne do autoaglutynacji, co może wskazywać pośrednio na ich chorobotwórczość.

Badania 381 szczepów z rodzaju *Yersinia* pochodzących od ludzi, zwierząt oraz środowiska naturalnego wykonane przez Kondolo i Wattersa (10) wykazały zróżnicowanie w hydrolizie pirazyny. Szczepy wytwarzające piramidazę, która hydrolizowała pirazynę nie zawierały plazmidów warunkujących chorobotwórczość. Ujemny test pirazynowy wykazywały szczepy potencjalnie chorobotwórcze. Jest to więc wg

tych autorów test, który można zastosować w dochodzeniu epidemiologicznym. Dla określenia aktywności enterotoksycznej szczepów potencjalnie chorobotwórczych *Yersinia enterocolitica* wykorzystuje się 4-dniowe oseski mysie oraz metodę podwiązanych pętli jelitowych królików (1, 2). Obie te metody, obok określenia właściwości antygenowych i biochemicznych, stanowią aktualnie podstawę określania chorobotwórczości szczepów *Yersinia enterocolitica*.

Przegląd piśmiennictwa dotyczącego określenia pałeczek *Yersinia enterocolitica* wskazuje na ciągle poszukiwania mające na celu opracowanie szybkich, prostych, a zarazem czułych metod pozwalających odróżnić szczepy chorobotwórcze od niechorobotwórczych. Ma to kapitalne znaczenie w wiarygodnym udokumentowaniu zatruc pokarmowych wywołanych spożyciem środków spożywczych zanieczyszczonych tymi drobnoustrojami.

Piśmiennictwo

1. Bottone E. P.: The Prokaryotes. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1981, s. 1225.
2. Bottone E. J.: Infectious diarrheal diseases. Marcel Dekker, Inc. New York—Basel, 1984, s. 13.
3. Bottone E. J., Janda J. M., Chiesa C., Wallen J. W., Traub L., Calhoun D. H.: J. clin. Microbiol. 22, 449, 1985.
4. Bradford A. K., Wachsmuth K., Gemski P.: J. clin. Microbiol. 15, 1161, 1982.
5. Chiesa C., Bottone E. J.: Infect. Immun. 39, 469, 1983.
6. Delmas C. L., Vidon D.: Appl. Environ. Microbiol. 50, 767, 1985.
7. Devenish J. A., Schiemann D. A.: Infect. Immun. 32, 48, 1981.
8. Diaz R., Urra E., Toyos J., Moriyon I.: J. clin. Microbiol. 22, 1035, 1985.
9. Gemski P., Lazera J. R., Casey T.: Infect. Immun. 27, 682, 1980.
10. Kandolo K., Wauters G.: J. clin. Microbiol. 21, 980, 1985.
11. Kapperud G., Skarpeid H. J., Solberg R., Bergan T.: Acta path. microbiol. immunol. scand. Sect. B. 93, 27, 1985.
12. Laird W. J., Cavanaugh D. C.: J. clin. Microbiol. 11, 430, 1984.
13. Lazera J. R., Gemski P.: FEMS Microbiol. Let. 17, 121, 1983.
14. Lee W. H., Smith R. E., Damare M. J., Harris M. E., Johnston R. W.: J. appl. Bact. 50, 529, 1981.
15. Mazigh D., Alonso M. J., Mollaret H. H.: J. clin. Microbiol. 17, 555, 1983.
16. Okamoto K., Kobayashi T., Shinoda S., Inoue T., Yukitake J., Shimizu K., Kawamoto Y., Moriyama T., Miyama A.: Microbiol. Immunol. 28, 33, 1984.
17. Pai Ch., De Stephano L.: Infect. Immun. 35, 605, 1982.
18. Perry R. D., Brubaker R. R.: Infect. Immun. 40, 166, 1983.
19. Prpic K. J., Robins-Browne R. M., Davey R. B.: J. clin. Microbiol. 18, 486, 1983.
20. Schiemann D. A., Devenish J. A.: Infect. Immun. 29, 500, 1980.
21. Schiemann D. A., Devenish J. A., Toma S., Infect. un. 32, 400, 1981.
22. Smith R. E., Carey A. M., Damare J. M., Hetrick M., Johnston R. W., Lee W. H.: Infect. Immun. 34, 550, 1981.
23. Une T., Brubaker R. R.: Infect. Immun. 43, 895, 1984.

Adres autora: prof. dr hab. Józef Maleszewski, ul. Sobieskiego 113, m. 21, 00-763 Warszawa

PACITTI A. M., JARRETT O., HAY D.: Przenoszenie wirusa białaczki kotów z mlekiem kotów wiremicznych. (Transmission of feline leukaemia virus with the milk of a viremic cat). Vet. Rec. 118, 381—384, 1986 (14)

Prześlędzono możliwość przenoszenia wirusa białaczki kotów (FeLV) za pośrednictwem mleka matek. Jedna kotka zakaziła 4 mioty kociąt za pośrednictwem mleka. Kocięta w okresie wirerii zakaziły wrażliwe koty. W mleku po 6 tygodniach wykazano obecność antygeny wirusa FeLV. Natomiast u kociąt tuż przed padnięciem badania w kierunku obecności antygeny wirusa FeLV we krwi i wirusa w szpiku kostnym wypadły ujemnie.

G.