

ZDZISŁAW STARONIEWICZ

Izolacja wirulentnych szczepów *Yersinia enterocolitica* z migdałków świń

Katedra Mikrobiologii Weterynaryjnej Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

W ostatnich latach notowane jest nasilenie przypadków yersiniozy tak u ludzi, jak i różnych gatunków zwierząt (1, 15, 17, 19, 22, 25, 30, 33). Wzrosła także częstotliwość izolacji pałeczek *Yersinia enterocolitica* od zdrowych osobników oraz z żywności takiej jak mleko, mięso, drób, a ponadto z gleby, wody, ścieków itd. (5, 6, 8, 9, 18, 21, 23, 31, 32). Dane te wskazują na szerokie rozprzestrzenienie drobnoustroju w przyrodzie. Zdaniem wielu autorów najczęściej do zakażeń dochodzi drogą pokarmową (4, 15, 31). Izolacja *Y. enterocolitica* z produktów pochodzenia zwierzęcego oraz dominujące objawy ze strony przewodu pokarmowego wskazują na alimentarną drogę zakażenia. Dowodem na to, że istnieje związek pomiędzy występowaniem bakterii w żywności, a zakażeniem ludzi była epidemia yersiniozy notowana w Stanach Zjednoczonych w 1976 roku (cyt. 4 i 12). Epidemia ta objęła 220 osób, głównie dzieci szkolne, które spożyły zakażoną czekoladę mleczną. Wiele z nich było hospitalizowanych z rozpoznaniem zapalenia wyrostka robaczkowego, a 16 dzieci miało usunięty wyrostek robaczkowy. Stwierdzono, że odpowiedzialnym czynnikiem były pałeczki *Y. enterocolitica* serotyp 8 biotyp 1.

Spośród serotypów izolowanych obecnie w Europie, Japonii, Kanadzie najczęściej czynnikiem etiologicznym yersiniozy u ludzi i zwierząt (głównie świń) są serotypy 3 i 9 wg Winblada i Wautersa, względnie IA i V wg Knappa i Thala (6, 7, 10, 15, 17, 22, 30, 33). Poza tym stwierdzono, że u świń nosicielstwo *Y. enterocolitica* waha się od 4,4% do 18,2% (cyt. 31). Dlatego też zaczęto zwracać uwagę na ten gatunek zwierząt, który wydaje się być głównym rezerwuarem *Y. enterocolitica* i może stanowić potencjalne źródło zakażenia dla ludzi (4, 31). Przypuszcza się, że zakażenie człowieka tymi drobnoustrojami następuje między innymi poprzez konsumpcję mięsa (4, 15).

Badania serologiczne przeprowadzone w naszym kraju u różnych gatunków zwierząt domowych wykazały, że najwyższy odsetek surowic reagujących dodatnio z serotypami 3 i 9 *Y. enterocolitica* notowano właśnie u świń (21,9%) (26).

Celem obecnych badań były próby izolacji *Y. enterocolitica* od świń oraz określenie ich wirulencji.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły migdałki gardzielowe pobierane po uboju od 154 świń w wieku 6 do 9 miesięcy o wadze około 120 kg. Próbkę z migdałków homogenizowano z dodatkiem buforowanego płynu fizjologicznego (PBS) i posiewano na podłoże MacConcey agar (Merck), *Yersinia* selective agar acc. to Wauters (Merck), Desoxynolate-citrate agar (Oxoid). Podłoże inkubowano w temp. 25°C przez 48 godz. Pozostającą część próbki przetrzymywano w temp. 4°C do 21 dni i co tydzień wysiewano na wymienione podłoża. Identyfikację wyizolowanych szczepów *Yersinia enterocolitica* przeprowadzono na podstawie badań morfologicznych, hodowlanych i biochemicznych. Do określenia serotypu zastosowano odczyn aglutynacji szkiełkowej z wzorcowymi odpornościowymi surowicami kroliczymi.

Wyizolowane szczepy sprawdzono na zjadliwość. W tym celu użycio 3 testy:

a). Badanie zahamowania wzrostu i wytwarzania antygenów V i W na podłożu magnezium-oxalate agar według metody Gemskiego i wsp. (11). Zawiesinę badanego szczepu o gęstości 1×10^7 /ml wysiewano po 0,01 ml na dwie płytki podłoża magnezium-oxalate agar. Próbkę kontrolną stanowił posiew na dwóch płytkach podłoża Blood Agar Base (Difco). Płytki z posiewami inkubowano w 26°C i 37°C przez 18 godz. Zahamowanie wzrostu testowanego szczepu w temp. 37°C na podłożu magnezium-oxalate agar wskazywało, że szczep posiada wrażliwość na temperaturę Ca zależny plazmid, który wytwarza V i W antygeny warunkujące zjadliwość.

b). Autoaglutynacja wykonana według metody Laird i Cavanaugh zmodyfikowanej przez Doyle i wsp. (4). Wyosobnione szczepy nodowano na Trypcase soy broth (bioMérieux) przez 18 godz. w temp. 22°C. Następnie wlewano i zawieszano je w 1% wodzie peptonowej z 40,5% glicerolem. Zawiesinę bakterii w objętości 0,1 ml przenoszono do dwóch próbek zawierających po 2 ml Trypcase soy broth. Jedną probówkę inkubowano w 37°C, drugą w 22°C przez 18 godz. Za autoaglutynacyjne dodatnie szczepy przyjmowano te, które dawały wyraźną aglutynację w temperaturze 37°C.

c). Badanie zjadliwości szczepów na myszach. Każdy wyizolowany szczep *Y. enterocolitica* badano na 4 myszy Balb/c samcach o ciężarze 10–20 g. Mysz przed zakażeniem pozostawiono wódy przez 24 godz., po czym podawano do picia od ubiawną wodną zawiesinę bakterii o gęstości 1×10^7 /ml. Sledzionę i wątrobę padłych zwierząt badano bakteriologicznie na obecność *Y. enterocolitica*. Obserwacje zakażonych zwierząt trwały 14 dni.

Wyniki i omówienie

Ze 154 migdałków gardzielowych świń wyizolowano 13 szczepów *Y. enterocolitica*. Szczepy nie różniły się pod względem biochemicznym od typowych cenn gatunku *Y. enterocolitica* wg Bergey Manual (2). Z 13 wyosobnionych szczepów, 8 zakwalifikowano do serotypu 3, a 5 do serotypu 9.

Występowanie pałeczek *Y. enterocolitica* u zdrowych świń opisane zostało przez szereg autorów (1, 3, 4, 7, 12, 13, 14, 16, 20, 24, 27, 28, 29). Izolacji dokonywano zarówno z migdałków, gardła, języka, mięsa, jak również z kału. Stengel (27) ze 103 migdałków pochodzących od świń rzeźnych izolował 14 szczepów, z których 10 należało do serotypu 3, a 2 do serotypu 9. Podobne wyniki uzyskali również Weber i wsp. (28), którzy stosując metodę inkubacji w 4°C na PBS wyosobnili z 115 migdałków 9 szczepów należących do serotypu 3 i 2 do serotypu 9. Natomiast używając zmodyfikowanego podłoża Rappaporta uzyskali aż 39 szczepów, z czego do serotypu 3 zakwalifikowali 24 szczepy, a do 9 serotypu 9 szczepów. *Y. enterocolitica* serotyp 3 był również izolowany przez Wautersa i wsp. (cyt. 12) z wymazów z gardła (47 szczepów z 426 wymazów) i języków wieprzowych (75 szczepów z 142 języków). W Szwajcarii z próbek kału Leemann (20) uzyskała 28 szczepów, z czego 10 szczepów stanowił serotyp 3. Również w Kanadzie i Japonii od świń izolowano głównie serotyp 3 (8, 24). Natomiast w Stanach Zjednoczonych Hanna i wsp. (12) z 27 migdałków wyosobnili 8 szczepów, które należały do serotypu 5, zaś Doyle i wsp. (4) z gardła świń izolowali szczepy *Y. enterocolitica* głównie serotyp 8.

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że występowanie w świecie poszczególnych typów serologicznych *Y. enterocolitica* izolowanych od świń jest niejednolite. W krajach europejskich wśród wyosobnionych szczepów dominuje serotyp 3, w mniejszym stopniu 9. Uzyskane wyniki badań własnych wskazują, że również w Polsce u świń występują te serotypy. Interesujące jest, że serotypy 3 i 9 są także dominujące w materiałach pochodzących od ludzi na terenie kraju (30, 32). Dlatego też wyizolowane szczepy z migdałków świń były badane na potencjalną patogenność. Zastosowano trzy metody oceny zjadliwości szczepów *Y. enterocolitica*: autoaglutynację, śmiertelność dla myszy i zahamowanie wzrostu na magnesium-oxalate agar. Uzyskane wyniki przedstawia tab. 1, z której wynika, że spośród 13 szczepów wirulencję wykazało tylko 5 szczepów należących do serotypu 3. Szczepy były zjadliwe dla myszy, dawały pozytywną autoaglutynację, a ich wzrost na magnesium-oxalate agar w temp. 37°C był zahamowany. Natomiast wszystkie szczepy należące do serotypu 9 i trzy szczepy należące do serotypu 3, okazały się niezjadliwe.

Występowanie wirulentnych pałeczek *Y. enterocolitica* u świń zostało opisane przez szereg autorów (1, 4, 27). Doyle i wsp. (4) wyosobnili z gardła świń wirulentne szczepy serotyp 8, który jest najbardziej rozpowszechniony w zakażeniach u ludzi w Stanach Zjednoczonych. Stengel (27) w swoich badaniach stwierdził, że szczepy wyizolowane z migdałków świń, nie

Tab. 1. Ocena wirulencji szczepów *Y. enterocolitica* izolowanych z migdałków świń

Numery szczepów	Sero-typ	Wzrost na magnesium-oxalate agar		Auto-aglutynacja	Patogenność dla myszy
		26°C	37°C		
1	9	+	+	—	0/4
2	9	+	+	—	0/4
3	3	+	—	+	4/4
4	3	+	—	+	4/4
5	3	+	—	+	4/4
6	9	+	+	—	0/4
7	9	+	+	—	0/4
8	9	+	+	—	0/4
9	3	+	—	+	4/4
10	3	+	+	—	0/4
11	3	+	—	+	4/4
12	3	+	+	+	0/4
13	3	+	+	—	0/4

różniły się w testach na patogenność od szczepów ludzkich. Według danych piśmiennictwa (4, 11) istnieje silna korelacja między szczepami izolowanymi od ludzi i zwierząt a ich wirulencją dla myszy, autoaglutynacją i zahamowaniem wzrostu w 37°C na magnesium-oxalate agar. Trudno jednak sądzić, że szczepy *Y. enterocolitica* izolowane od zwierząt wykazujące powyższe cechy są zjadliwe dla ludzi. Dotychczas nie wyjaśniono bowiem, czy identyczność szczepów wyosobnionych od ludzi i świń jest wynikiem szczególnej zależności epidemiologicznej.

W badanych materiałach od świń stwierdzono wirulentne szczepy *Y. enterocolitica* należące do serotypu 3. Podkreślić należy, że serotyp 3 jest dominującym typem serologicznym u ludzi w naszym kraju. Uzyskane wyniki sugerują, że świnie są naturalnym rezerwua-rem *Y. enterocolitica* i mogą stanowić potencjalne źródło zakażenia dla człowieka i różnych gatunków zwierząt.

Piśmiennictwo

- Brewer R. A., Corbel M. J.: J. Hyg., Camb. 90, 425, 1983.
- Buchanan R. E., Gibbons N. E.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams and Wilkins Company/Baltimore 1975.
- Cattéau H., Krembel C., Wauters G.: Recl. Méd. vét. 159, 89, 1983.
- Doyle M. P., Hugdahl M. B., Taylor S. L.: Appl. Environ. Microbiol. 42, 661, 1981.
- Fukushima H., Ito Y., Saito K., Tsubokura M., Otsuki K.: Appl. Environ. Microbiol. 38, 1009, 1979.
- Fukushima H., Nakamura R., Iitsuka S., Tsubokura M., Otsuki K., Kawaoaka Y.: J. clin. Microbiol. 19, 616, 1984.
- Fukushima H., Nakamura R., Ito Y., Saito K.: Vet. Microbiol. 6, 469, 1983.
- Fukushima H., Saito K., Tsubokura M., Otsuki K.: Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. E 179, 235, 1984.
- Fukushima H., Saito K., Tsubokura M., Otsuki K., Kawaoaka Y.: Vet. Microbiol. 9, 139, 1984.
- Fukushima H., Tsubokura M., Otsuki K., Kawaoaka Y.: Curr. Microbiol. 11, 149, 1984.
- Gemski P., Lazere J. R., Casey T.: Infect. Immun. 27, 692, 1989.
- Hanna M. O., Smith G. C., Hall L. C., Vanderzant C., Childers A. B.: J. Food Protect. 43, 23, 1980.
- Harmon M. C., Swaminathan B., Forrest J. C.: J. appl. Bact. 56, 421, 1984.
- Hawari A. D., Amtsberg G., Kirpal G.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 91, 404, 1981.
- Herrlinger J. D., Schwarze E.-W., Wuth H.-H.: Infektionen Kinderkrankheiten Notfälle 22, 63, 1981.
- Hunter D., Hugnes S., Fox E.: Vet. Rec. 112, 332, 1983.

17. Kalliomäki J. L., Leino R.: Acta Med. Scand. 205, 521, 1979.
18. Kapperund G.: Acta path. microbiol. scand. Sect. B. 89, 29, 1981.
19. McSpooran K. D., Hansen L. M., Saunders B. W., Damsteegt A.: NZ vet. J. 32, 33, 1984.
20. Leemann R.: Zbl. Vet. Med. B. 26, 214, 1979.
21. Nørlyng P.: Dansk Vet.-idsskrift 65, 421, 1982.
22. Quarto M., Armenise E., Barbuti S.: L'Igiene Mod. 25, 163, 1981.
23. Quarto M., Attimonelli D., Armenise E.: L'Igiene Mod. 73, 223, 1982.
24. Schiemann D. A., Fleming C. A.: Can. J. Microbiol. 27, 1326, 1981.
25. Schoon H.-A., Murmann W., Woicke J., Rosenbruch M., Amsberg G.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 90, 341, 1983.
26. Staroniewicz Z.: Medycyna Wet. 42, 97, 1986.
27. Stengel G.: Tachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin 1983.
28. Weber A., Lembke C.: Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 250, 72, 1981.
29. Weber A., Knapp W.: Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 250, 78, 1981.
30. Zaremba M. L.: Pol. Tyg. lek. 34, 1849, 1979.
31. Zaremba M., Grala-Katuzna A.: Medycyna Wet. 37, 281, 1981.
32. Zaremba M., Kacprzak-Wiatr A., Grala-Katuzna A., Ku-basik J.: Przegl. Pedr. 13, 67, 1983.
33. Yu E. S., She J. M., Cazi Z. Q., Chen E., Zhang B. Y., Zhu M. F.: Chines J. Vet. Med. 9, 5, 1983.

Adres autora: dr Zdzisław Staroniewicz, ul. Sopocka 21 m. 6, 50-344 Wrocław

Староневич З. — Изоляция вирулентных штаммов *Yersinia enterocolitica* из миндалин свиней

Глоточные миндалины от 154 убойных свиней исследовались на наличие *Y. enterocolitica*. Изолиро-

вано 13 штаммов, из которых 9 закалифицировано к серотипу 3, а 5 штаммов к серотипу 9. Изолированные штаммы исследовались на вирулентность. Применено 3 критерия для оценки вирулентности: автоагглютинация, патогенность для мышей и заторможение роста на *magnesium-oxalate agar* в 37°C. Полученные результаты внушают, что свиньи являются натуральным резервуаром вирулентных штаммов *Y. enterocolitica* и могут являться потенциальным источником инфекции для других животных и человека.

Staroniewicz Z. — Isolation of virulent strains of *Yersinia enterocolitica* from the tonsils of pigs

Pharyngeal tonsils of 154 slaughtered pigs were tested for the presence of *Yersinia enterocolitica*. Thirteen strains were isolated of which eight were identified as serotype 3 and five as serotype 9. Virulence of the isolated strains was tested by autoagglutination, pathogenicity for mice and the growth inhibition on *magnesium-oxalate agar* at 37°C. Five strains of serotype 3 appeared to be virulent. The results suggest that pigs are a natural source of virulent strains of *Y. enterocolitica* and may constitute a potential source of infection for other animals and man.

ALEKSANDER W. DEMIASZKIEWICZ

Przypadek świerzbu naskórnego u żubra *Bison bonasus* (L) w Puszczy Białowieskiej

Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN, ul. Pasteura 3, 00-976 Warszawa

Występowanie świerzbu u przeżuwaczy wolno żyjących jest rzadko rejestrowane. Schorzenie to wywoływane przez świerzbowce należące do rodzajów *Sarcoptes* i *Psoroptes* stwierdzono u losia, jelenia szlachetnego, sarny, kozicy i muflona (1, 9, 10, 16). Natomiast u żubrów żyjących w warunkach naturalnych parazytoza ta nie była dotychczas notowana. Skłoniło to do krótkiego przedstawienia zaobserwowanego przypadku.

Opis przypadku

W dniu 23 lutego 1988 r. w wyniku selekcji przeprowadzonej w stadzie żubrów przebywających na wolności w Ośrodku Hodowli Żubrów Białowieskiego Parku Narodowego odstrzelono cięłą płci męskiej w wieku 8 miesięcy z objawami wychudzenia i zmianami na skórze.

Podczas oględzin stwierdzono rozległe wykłysienia w okolicy klatki piersiowej, brzucha i tylnych kończyn. Skóra w obrębie wykłysień i w ich sąsiedztwie była zgrubiała, pofałdowana i pokryta popielanymi łuskami różnej grubości tworzącymi strupy. Wśród sierści na obwodzie ognisk obserwowano liczne łuski barwy żółto-brunatnej. Do badania laboratoryjnego pobrano fragmenty skóry z okolicy dolnej części brzucha, z miejsca o wyraźnej zaznaczonych zmianach chorobowych.

Wycinek skóry o powierzchni 0,5 cm² rozdrobniono nożyczkami na pasemka o szerokości około 1 mm, które następnie umieszczono w płytce Petriego o śred-

nicy 5 cm wypełnionej płynem fizjologicznym i wstawiono do ciepłarki o temperaturze 37° na okres 24 godzin. Po inkubacji usunięto fragmenty skóry, a pozostały płyn badano przy użyciu mikroskopu stereoskopowego. Na dnie płytki stwierdzono kilkadziesiąt dojrzałych pasożytów, ich nimf i larw. Cechy morfometryczne wyizolowanych świerzbowców wskazują, że są one przedstawicielami gatunku *Chorioptes bovis* (Hering, 1845).

Na terenie Polski u przeżuwaczy domowych wykazano dotychczas świerzb wywołwany przez pasożyty należące do rodzajów *Sarcoptes* i *Psoroptes* (3, 5, 11, 15). Kadulski (6, 7, 8) prowadząc badania nad pasożytami zewnętrznymi dzikich parzystokopytnych w Polsce nie stwierdził świerzbowców, jednak na podstawie pracy Dubinina (2) wysunął sugestię, że u żubrów mogą występować pasożyty z rodzaju *Psoroptes*. Dubinin (2) w Ogrodzie zoologicznym w Leningradzie obserwował przeniesienie się inwazji *Psoroptes* sp. z zarażonych antylop (*Gazella subgutturosa*) na bizona, żubrońską, jaką, wielbłąda i muflona.

Należy przypuszczać, że stwierdzona przeze mnie inwazja *Chorioptes bovis* została przeniesiona na żubry za pośrednictwem bydła domowego pochodzącego ze wsi śródlęśnych, wypasanego jeszcze niedawno na terenie biotopów puszczańskich.

Jak wykazały badania Sweatmana (12, 13, 14) świerzbowce *Chorioptes bovis* nie posiadają wąskiej specyficzności w stosunku do żywicieli. Wymieniony autor wykazał w eksperymencie, że gatunek ten daje się z powodzeniem hodować poza organizmem żywiciela na złuszczonej naskórku różnych gatunków zwierząt, a także uznał gatunki *Chorioptes ovis*, *Chorioptes equi* i *Chorioptes caprae* za młodsze synonimy *Ch. bovis*.