

# PROFILAKTYKA I HIGIENA PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ

CZESŁAW KUREK, KRYSZYNA NIEMCZYK

## Fagotypia a niektóre właściwości enzymatyczne gronkowców izolowanych z wydzieliny zapalnej gruczołów mlekowych krów hodowli wielkostadnej

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk 5

Wprowadzenie fagów do typowania gronkowców usprawniło badania epidemiologiczne i epizootologiczne nad tą grupą drobnoustrojów, mimo że zawiodło stosowanie ich w lecznictwie (7).

Piśmiennictwo krajowe dotyczące fagotypii gronkowców bydłych jest nader skromne. Badania Podhajskiej (9) wykazały przydatność fagów bydłych do określania gronkowców izolowanych od zwierząt i artykułów spożywczych. Straś (11) natomiast potwierdziła wcześniejsze spostrzeżenia dotyczące aktywności faga 42D wobec gronkowców izolowanych z gruczołów mlekowych krów oraz innych jak 102, 107, 42C, 42E (2, 5, 6, 9).

Gronkowce izolowane z gruczołów mlekowych krów posiadają różnicowane właściwości biologiczne, a niektóre z nich mogą je upodabniać do gronkowców pochodzenia ludzkiego (12, 14). Ponieważ nie wszystkie fagi Międzynarodowego Podstawowego Zestawu (MPZ) posiadają wybiórcze właściwości lizogeniczne wobec gronkowców bydłych, Davidson (3) zaproponował do ich fagotypii Tymczasowy Zestaw (TZ), składający się z 17 wyselekcjonowanych fagów o większej i określonej selektywności.

Celem pracy była fagotypia porównawcza szczepów gronkowcowych wytwarzających koagulazę, przy zastosowaniu MPZ, TZ, fagów dodatkowych i zwierzęcych. Oceniono również niektóre właściwości enzymatyczne gronkowców w odniesieniu do fagów zwierzęcych i faga 42D i 42 E.

### Materiał i metody

Badaniom poddano łącznie 492 szczepy gronkowców wytwarzających koagulazę, izolowanych z wydzieliny zapalnej gruczołów mlekowych krów pochodzących z 25 obór hodowli wielkostadnej woj. gdańskiego. Fagotypię szczepów przeprowadzono w oparciu o metodę opisaną przez Blair i Williamsa (1), stosując 26 fagów MPZ (29, 52, 52A, 79, 80, 81, 3A, 3C, 55, 71, 6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85, 89, 94, 95, 96, 187), 13 fagów dodatkowych (7, 3B, D<sub>11</sub>, HK<sub>2</sub>, 47A, 82, 86, 87, 90, 92, 93, 42D, 676) oraz 8 fagów zwierzęcych (78, 102, 107, 1363, S<sub>1</sub>, S<sub>6</sub>, AC<sub>1</sub>, N<sub>13</sub>). TZ wg Davidsona zawierał 16 zamiast 17 fagów (S<sub>6</sub>, S<sub>1</sub>, 78, 1363, 107, 102, 42D, 77, 75, 53, 6, 3A, 84, AC<sub>1</sub>, 52A, 29).

Wszystkie fagi otrzymano z Zakładu Mikrobiologii AM w Gdańsku, a badania wykonano w Oddziale Higieny Mleka i Chorób Wymienia Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku-Oliwie. Oznaczenie przeprowadzano w RTD (routine test dilution \*) i 1000×RTD. Podstawą określenia wzoru fagowego dla badanego szczepu było wytworzenie lizy w postaci co najmniej 50 lysinek.

Wytwarzanie fibrylizyny przez gronkowce oznaczono wg metodyki opisanej przez Devriessa i Van De Kerckhove'a (4), zaś nukleazę, hemolizynę beta oraz koagulazę wg metodyki stosowanej w PZH (10).

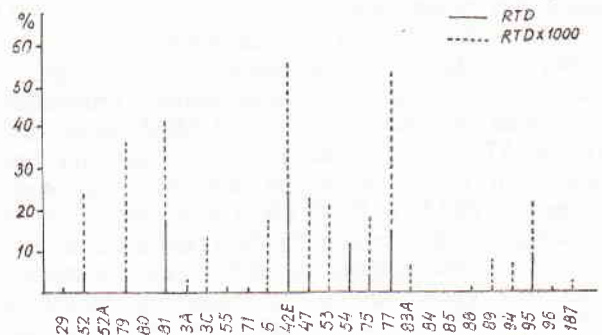
### Wyniki i omówienie

Wszystkie oznaczenia porównawcze oraz enzymatyczne wykonano na 372 szczepach gronkowców, wyłączając z dalszych badań 120 szczepów nie podlegających lizie żadnym z 47 zastosowanych fagów.

Ryc. 1 obrazuje wyniki fagotypii 372 szczepów gronkowcowych przy zastosowaniu MPZ. Stwierdzono, że znaczącą aktywność lizogeniczną wykazywały tylko fagi 81 (18,5%), 42E (25,1%) oraz 77 (14,8%). Odpowiednie odsetki dla tych samych fagów w 1000×RTD wynosiły 42,2%, 53,1% i 52,3%.

Ryc. 2 przedstawia właściwości lizogeniczne 13 fagów zestawu dodatkowego i 8 fagów zestawu zwierzęcego. Wykazano bardzo silnie

\*) — najwyższe rozcieńczenie faga powodujące całkowitą lizę gronkowców.



Ryc. 1. Fagotypia 372 szczepów gronkowców koagulazo-dodatnych wyizolowanych z gruczołów mlekowych krów wg Międzynarodowego Podstawowego Zestawu

zaznaczoną bakteriolizę gronkowców przy zastosowaniu faga 42D (96,3%) oraz w nieco mniejszym stopniu aktywność lityczną fagów D<sub>11</sub> (27,3%) i 82 (17,2%). Odpowiednie wartości przy zastosowaniu 1000 × RTD wynosiły 97,9%, 66,2% i 48,3%. W grupie 8 fagów zestawu zwierzęcego uzyskano lizogenię 74,2%, 72,3% i 65,5 dla fagów 102, 107 i 1363, przy nieznacznie wyższych odsetkach 1000 × RTD wynoszących kolejno 75,2%, 75,6% i 66,5%. W grupie tej fag AC<sub>1</sub> wywoływał lizę badanych szczepów tylko w 12,1% i 38,5% przy 1000 × RTD. Zbliżone wartości uzyskano dla fagów 1363, 107, 102, 42D, AC<sub>1</sub>, 77 i 75 w przebiegu fagotypii przy zastosowaniu TZ, co obrazuje ryc. 3. Inne fagi należące do zestawu zwierzęcego S<sub>6</sub>, S<sub>1</sub>, 78, 53, 52A zaznaczyły swą aktywność lityczną w nieznacznym stopniu tylko w 1000 × RTD, natomiast fagi 84 i 29 były areaktywne.

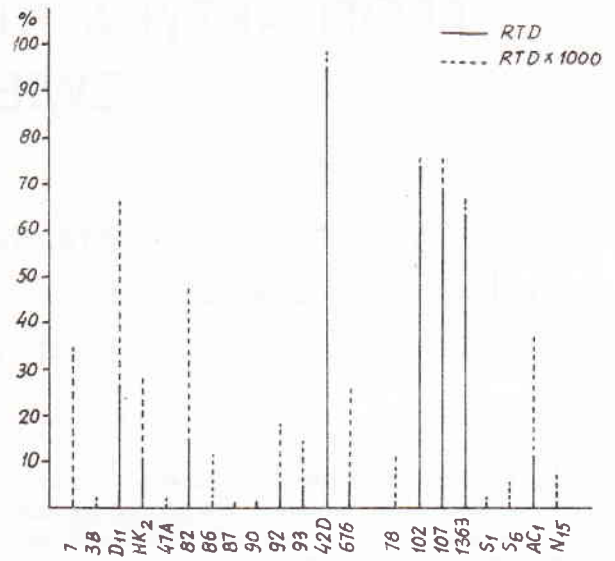
Ryc. 4a i 4b przedstawiają stosunki liczbowe i procentowe zachodzącej korelacji lizogenicznej wobec gronkowców w RTD i w 1000 × RTD dla fagów TZ. Oznacza to, że określone liczby badanych szczepów podlegały lizie przez te same fagi. Analogiczne dane dla 13 fagów MPZ ilustrują ryc. 5a i 5b. Z rycin tych wynika występująca współzależność pomiędzy fagami zwierzęcymi 1363, 107, 102 i fagiem 42D w RTD, znacznie poszerzona w 1000 × RTD o fagi S<sub>6</sub>, S<sub>1</sub> i 78. Tak jednolitego obrazu zachodzących współzależności brak w odniesieniu do fagów należących do MPZ.

Właściwości enzymatyczne 372 szczepów gronkowcowych w odniesieniu do ich wrażliwości lizogenicznej wobec fagów zestawu zwierzęcego, 42D i 42E — przedstawia tab. 1. Stwierdzono, że jedynie 12 szczepów wytwarzało fibrylizynę nie produkując nukleazy i ulegając lizie wobec fagów 42D i AC<sub>1</sub>.

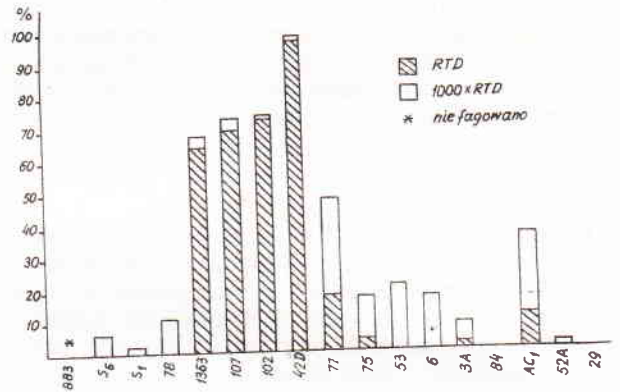
Zastosowanie fagów w badaniach nad fagotypią gronkowców bydłowych jest utrudnione z braku ich uszeregowania taksonomicznego. W zestawach fagowych do badań gronkowców pochodzenia ludzkiego istnieją zdefiniowane podziały w obrębie MPZ obejmujące grupę I, II, III i IV z fagiem 42D. W związku z powyższym fagi MPZ w niniejszej pracy ujęto bez zróżnicowania grupowego, a fag 42D włączono do zestawu dodatkowego.

Wyniki fagotypii przedstawione na ryc. 1 zdają się potwierdzać wzmiankowe trudności, ponieważ fagi 52 i 81 grupy I MPZ, oraz 42E, 47, 54, 77 grupy III MPZ — wywoływały lizę badanych gronkowców na poziomie nie wyższym jak 25,1% w RTD i 53,1% w 1000 × RTD.

Bardziej aktywne były fagi zestawu dodatkowego, a szczególnie fag 42D, który wywoływał lizę gronkowców na poziomie 96,3% w RTD i 97,9% w 1000 × RTD. Nieznaczna różnica zachodząca między tymi wartościami zdaje się wskazywać na dużą swoistość odczynu (ryc. 2). Straś stwierdziła aktywność tego fa-



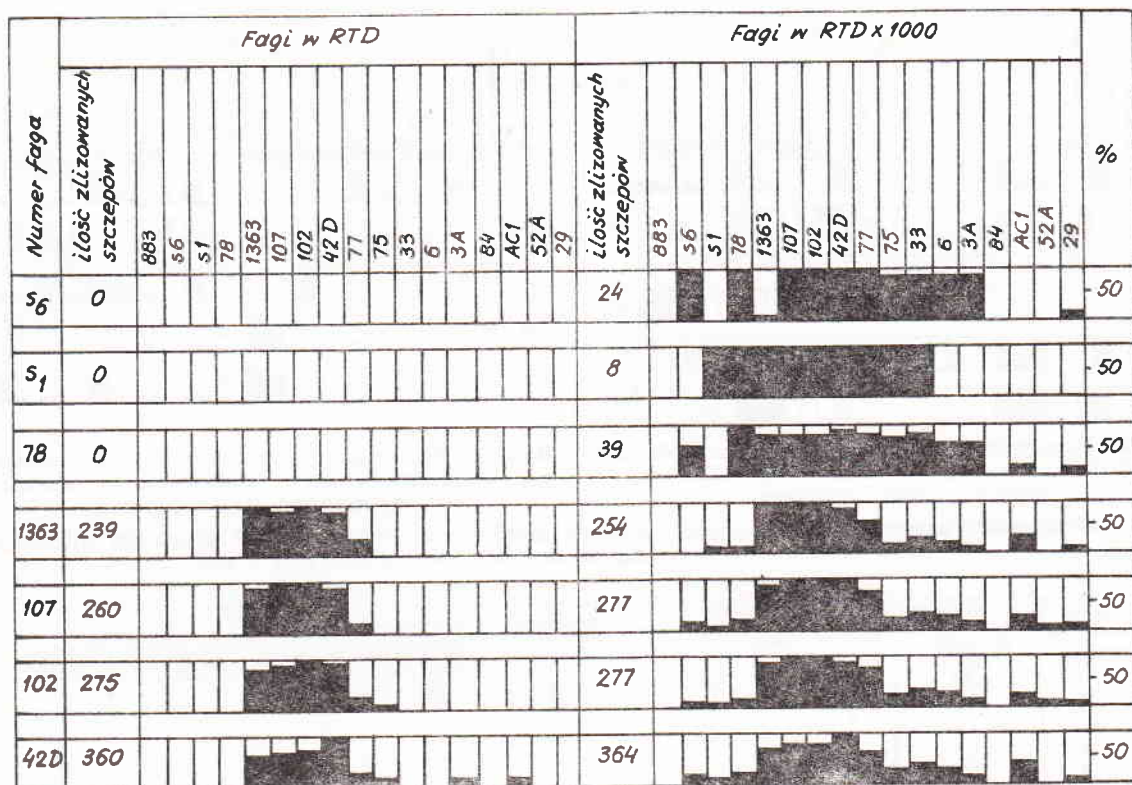
Ryc. 2. Fagotypia 372 szczepów gronkowców koagulazododatnich wyizolowanych z gruczołów mlekowych krów wg Zestawu Dodatkowego i Zwierzęcego



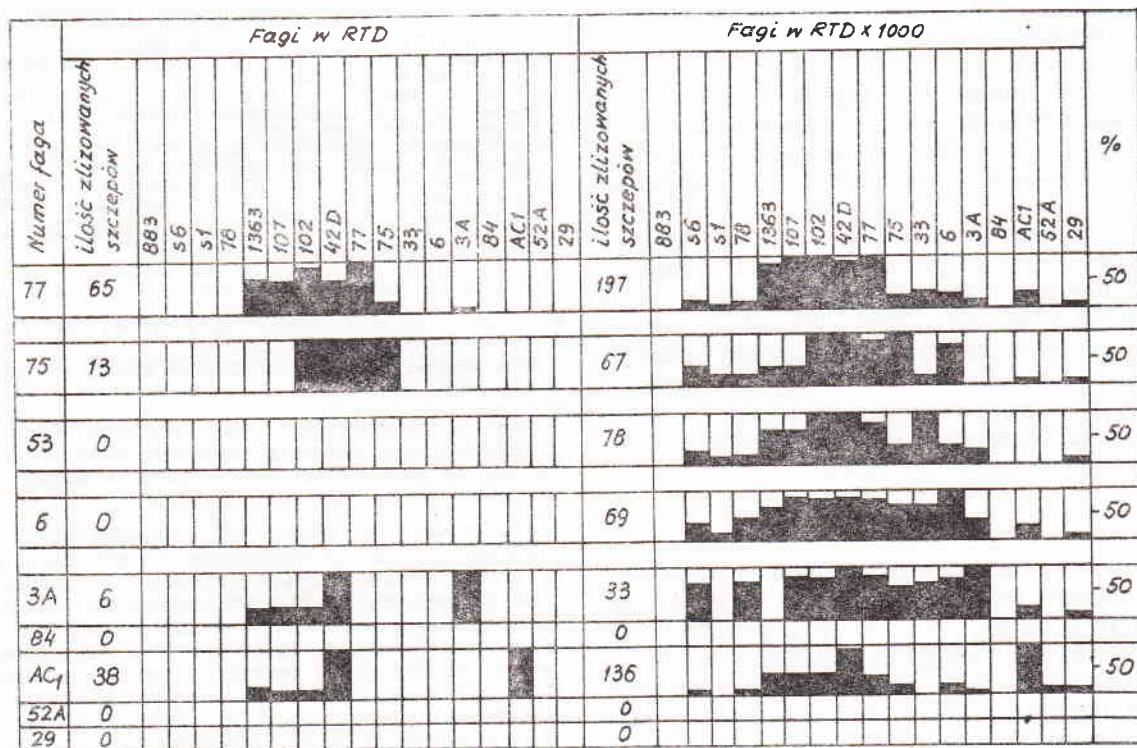
Ryc. 3. Fagotypia 372 szczepów gronkowców koagulazododatnich wyizolowanych z gruczołów mlekowych krów wg Tymczasowego Zestawu Davidsona

ga wobec gronkowców w innym rejonie kraju na poziomie 75,8% (11). Nie wszystkie fagi zestawu zwierzęcego zastosowane w TZ wywoływały lizę badanych gronkowców (ryc. 3). Zestaw ten, o niewątpliwiej wartości praktycznej, wymaga określonych modyfikacji zależnie od rejonów, z których pochodzą badane gronkowce. W warunkach krajowych należałoby do niego włączyć faga 42E, co sugeruje również Straś (11), a wyłączyć areaktywne fagi 29, 84 i 52. Analogiczne wnioski wysunęli w Republice Federalnej Niemiec Bonin i Blobel (2), wg których należy usunąć z TZ fagi 77, S<sub>6</sub> i 883, a włączyć 42E, 54, E193, 88A i 825. Najbardziej aktywny fag 42D w warunkach krajowych, zdaniem Thörne'a i Hallandera (13) jest w Szwecji nieprzydatny do fagotypii gronkowców bydłowych i należy go usunąć wraz z fagiem 42E.

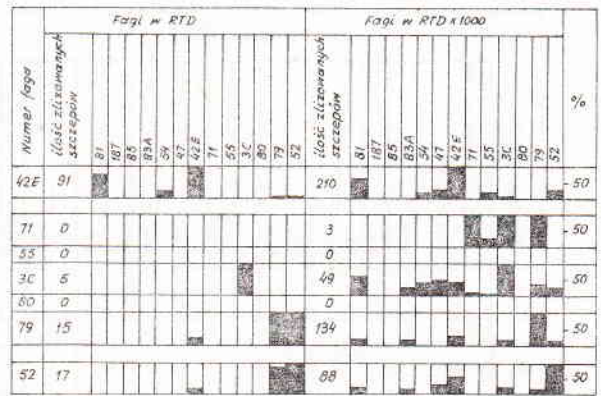
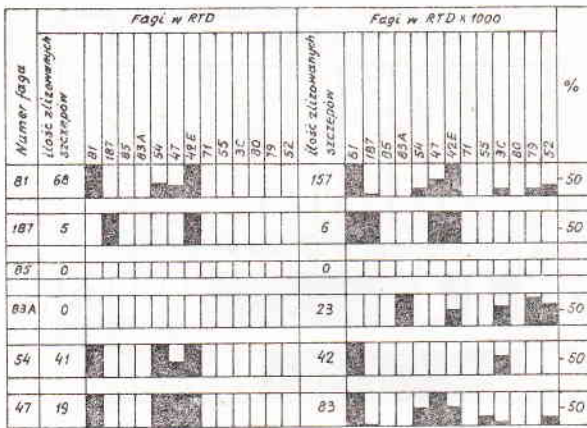
Na trafny dobór fagów w TZ zdają się wskazywać zachodzące współzależności lizogeniczne między fagami 1363, 107, 102, 42D w



Ryc. 4a. Fagotypia gronkowców koagulazo-dodatnich wg Tymczasowego Zestawu Davidsona a współzależności lizogeniczne



Ryc. 4b. Fagotypia gronkowców koagulazo-dodatnich wg Tymczasowego Zestawu Davidsona a współzależności lizogeniczne



Ryc. 5a. Fagotypia gronkowców koagulazo-dodatnich wg Międzynarodowego Podstawowego Zestawu a współzależności lizogeniczne

Ryc. 5b. Fagotypia gronkowców koagulazo-dodatnich wg Międzynarodowego Podstawowego Zestawu a współzależności lizogeniczne

Tab. 1. Właściwości enzymatyczne badanych szczepów gronkowców izolowanych z gruczołów mlekowych krów w odniesieniu do fagów zestawu zwierzęcego, 42D i 42E

Liczba szczepów	% w stosunku do typujących się szczepów	Koagulaza z plazmą		Hemoliza	Fibrynolizyna	Nukleaza	Fagi										
		kroliczą	bydlęcą				RTD				RTD x 1000						
							42D	102	107	1363	AC1	42E	42D	102	107	1363	AC1
299	80,4	+	+	+	-	±	289	254	241	218	38	82	293	254	246	92	194
7	1,9	+	+	+	-	±	5	6	6	6	4	6	6	6	6	4	6
39	10,5	+	+	±	-	±	39	3	1	3	-	3	39	3	3	37	3
5	1,3	+	+	±	-	±	4	4	4	4	-	4	4	4	4	-	1
4	1,1	+	+	-	-	-	4	4	4	4	-	2	4	4	4	-	-
4	1,1	+	+	-	-	±	4	4	4	4	-	2	4	4	4	-	-
2	0,5	+	+	±	-	-	2	-	-	-	-	2	2	2	2	2	-
12	3,2	±	+	±	+	-	12	-	-	-	12	-	12	-	-	12	8

RTD jak i w 1000 × RTD (ryc. 4a i 4b). Podobny zapis graficzny dla fagów MPZ wskazuje niski stopień tej współzależności, wzgl. jej brak (ryc. 5a, 5b).

Próbą zaszeregowania badanych szczepów w oparciu o uzyskane wyniki, są dane zawarte w tab. 1. Tylko 12 szczepów tj. 3,2% wytwarzało fibrynolizynę, której obecność mogłaby wskazywać na przynależność do gronkowców pochodzenia ludzkiego. Wyniki uzyskane z koagulazą i hemolizą beta, określone jako wątpliwe, przy zachodzącej lizogenii z fagiem 42D i AC<sub>1</sub> — dają podstawy, aby zaszeregować je do jednej z grup pośrednich wg kryteriów Meyera (8). Pozostałe szczepy w liczbie 96,8%, mimo częściowej tylko hemolizy wywołanej przez 46 szczepów i jej braku w 4 przypadkach, można zaliczyć do *subspecies bovinus*. Stanowi to znacznie wyższy odsetek szczepów zakwalifikowanych do gronkowców bydlęcych w porównaniu z wynikami uzyskanymi przez Straś (12), która określiła ich występowanie na poziomie 74,6%.

Wnioski

1. Nie stwierdzono, aby gronkowce pochodzenia ludzkiego wywoływały stany zapalne gruczołów mlekowych krów w woj. gdańskim.
2. Gronkowce koagulazo-dodatnie wywołujące *mastitis* u krów należą głównie do *subspecies bovinus*, a w nieznacznym tylko procencie do grup pośrednich.
3. Praktyczną wartość w badaniach nad fagotypią gronkowców bydlęcych posiada Tym-

czasowy Zestaw wg Davidsona; w warunkach krajowych należy go uzupełnić fagiem 42E i usunąć fagi areaktywne 29, 84 i 52.

Piśmiennictwo

1. Blair J. E., Williams R. W. O.: Bull. Wild Hlth Org. 24, 771, 1961.
2. Bonin W., Blobel H.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I, 205, 398, 1967.
3. Davidson I.: Res. vet. Sci. 2, 396, 1961.
4. Devriese L. A., Van De Kerckhove A.: Antonie v. Leeuwenhoek 46, 457, 1980.
5. Frost J.: Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 48, 651, 1970.
6. Gedek W.: Die Staphylokokken Mastitis bei Haustieren. Gustav Fisher Verlag, 1972.
7. Lerondelle C., Poutrel B.: Anns Rech. vét. 11, 421, 1980.
8. Meyer W.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I, 201, 331, 1966.
9. Podhajska A.: Badania nad wrażliwością gronkowców pochodzenia ludzkiego na bakteriofagi typów bydlęcych. Praca dokt., Gdańsk 1968.
10. Pożywki bakteriologiczne. Wyd. Med. PZH, 1973, B. 10.
11. Straś B.: Medycyna Wet. 36, 207, 1980.
12. Straś B.: Medycyna Wet. 36, 281, 1980.
13. Thörne H., Hallander H. O.: Acta path. microbiol. scand. B. 78, 425, 1970.
14. Verge J., Goret P., Foubert L., Paraf A., Asso J.: Recl Méd. vét. 137, 527, 1960.

Adres autora: doc. dr hab. Czesław Kurek, ul. Batorego 37 C/34, 80-251 Gdańsk 6

Курек Ч., Немчик К. — Фаготипия и некоторые энзиматические свойства стафилококков, изолированных из воспалительного секрета молочных желез коров из крупностадных ферм

Выполнили фаготипию 492 штаммов коагулазо-положительных стафилококков, изолированных из воспалительного секрета коров 25 крупностадных коровников Гданьского воеводства. Применили 47 фагов и отметили, что 120 штаммов не подвергались фаголизу. Сравнительные и энзиматические исследования выполнили с 372 штаммами. Получили следующие проценты штаммов, подвергшихся фаголизу в RTD: Международный основной комплект 25,1%, дополнительная группа и Временный комплект по Дависону (ВК) 96,3% и животная группа 74,2%. Применение ВК ценно практически в фаготипии стафилококков, однако

в отечественных условиях нуждается в пополнении фагом 42E и удалении ареактивных фагом 29, 84 и 52. Среди 372 штаммов стафилококков причислили к subspecies bovinus 96,8%, а к одному из подгрупп по Мейеру 3,8%. Появление стафилококков человеческого происхождения не отмечено.

Kurek C., Niemczyk K. — *Some enzymatic properties of staphylococci isolated from the secretion products of the udder and the sensitivity of the bacteria to phages*

There were examined 492 strains of Staph. pyogenes, coagulase positive, isolated from secretata of cows from 25 cowsheds of large scale breeding in

the Gdańsk district. There were used 47 phages; it was found that 120 strains were resistant. Comparative examinations and enzymatic ones were performed with 372 strains. The following percentages of the strains underwent phagolysis in RTD: International Fundamental Set — 25.1%, additional group and Preliminary Set according to Davidson (TZ) — 96.3%, and animal group — 74.2%. The use of TZ is of great value in phage typing of staphylococci, however under our conditions it should be completed with phage 42E and deprived the phages 29, 84 and 52. Out of 372 strains of staphylococci 96.8% was included to subspecies bovinus and to one subgroup according to Meyer — 3.8%. The presence of staphylococci of human origin was not found.

EUGENIUSZ GRELA

## Zawartość cholesterolu w tkankach tuczników w zależności od warunków żywienia

Instytut Żywienia i Higieny Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin

Sterydy są substancjami endogennymi, które spośród lipidów najwcześniej pojawiają się w rozwoju ontogenetycznym zwierząt. Przemiany sterydów, głównie zaś cholesterolu, uzależnione są m.in. od warunków środowiskowych, a zwłaszcza od żywienia. W organizmie świń, cechujących się szczególnie intensywnym metabolizmem tłuszczowym, składniki pożywienia wywierają znaczący wpływ na zawartość tego sterydu w tkankach. Badania Berschauera i wsp. (1) oraz Hutagalunga i wsp. (3) wykazały zwiększenie zawartości cholesterolu w tkankach tuczników pod wpływem udziału tłuszczu w paszy. Zwiększenie poziomu białka w dawce prowadziło natomiast do zmniejszenia jego zawartości (3, 4).

Współczesne dążenia w żywieniu świń prowadzą do ograniczenia zawartości białka ogólnego strawnego, zastępowania poekstrakcyjnych śrut importowanych surowcami krajowymi, eliminowania komponentów pochodzenia

zwierzęcego oraz stosowania aminokwasów syntetycznych. Mogą one prowadzić do zmian w zawartości cholesterolu w surowicy krwi, wątrobie, mięśniach i tłuszczu zapasowym.

Celem badań było określenie zawartości cholesterolu ogólnego w tkankach tuczników żywionych paszą o zmniejszonej zawartości białka przy zróżnicowanej wartości energetycznej.

### Materiał i metody

Badania wykonano podczas realizacji dwu doświadczeń żywieniowych, dotyczących optymalizacji składu mieszanek paszowych dla świń rasy wbp (9). Do osiągnięcia masy ciała 70 kg wszystkie zwierzęta tj. loszki i wieprzki żywione były mieszanką PT-1 standard. Od 70 kg do końca tuczu, poziom białka i energii w mieszanekach dla tuczników był odpowiednio zróżnicowany według układu przedstawionego w tab. 1. Zawartość białka ogólnego strawnego zmniejszono w stosunku do norm (5) o 15% lub 25%. Wielkość dodatku L-lizyny do mieszanki o zmniejszonej zawartości białka pochodzenia wyłącznie roślinnego dostosowano do jej poziomu w grupie kontrolnej.

Tab. 1. Układ doświadczeń

Cechy	Grupy żywieniowe w doświadczeniu 1					
	I (kontr.)	II	III	IV	V	VI
Zawartość białka ogólnego strawnego	Z	Z	Z	zmniejszona o 25%		
Wartość energetyczna mieszanek	Z	zmniejszona o 15%	podwyższona o 15%	Z	zmniejszona o 15%	podwyższona o 15%
Rodzaj mieszanki	PT-2 stand.	D-1	D-2	D-3	D-4	D-5
Cechy	Grupy żywieniowe w doświadczeniu 2					
	I (kontrolna)		II	III		
Zawartość białka ogólnego strawnego	Z		zmniejszona o 15%			
Dodatek L-lizyny w g/kg mieszanki			1,80			
Rodzaj mieszanki	PT-2 standard		D-6		D-6	

Objaśnienie: Z — zawartość składnika paszy zgodna z Normami żywienia zwierząt (1974).