

TADEUSZ MERESTA, LUDWIK MERESTA *

Wrażliwość *Bacillus larvae* na ekstrakt propolisu w badaniach in vitro

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin
* Instytut Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Material i metody

Badania inwentaryzacyjne przeprowadzone w latach siedemdziesiątych przez kilka Zakładów Higieny Weterynaryjnej w Polsce wykazały, że zgnilec złośliwy pszczoł jest w dalszym ciągu znaczącym problemem epizootycznym pszczelnictwa w naszym kraju. Mendelewska (10), wykazała zgnilec w 60—70%, Zahaczewska (15) w 67,7%, Czarnowski 63,8—89,3%, a Michalski i Kudela 28—45,3% spośród wszystkich nadesłanych prób do badań rozpoznawczych. Zwalczenie zaś tej jednostki chorobowej w wyniku wprowadzenia do leczenia sulfonamidów (5, 6, 7) i uzyskania istotnego postępu w tym zakresie wciąż napotyka na trudności. Już w 1967 roku Furowicz i Zahaczewska (2), określając wrażliwość 50 szczepów *Bac. larvae* na wybrane antybiotyki, stwierdzili jeden szczep całkowicie odporny na działanie terramycyny. Gouchner (2), w tym czasie również podawał o pojawieniu się szczepów *Bac. larvae* terramycynoopornych.

Od początku lat siedemdziesiątych zaobserwowano nawroty tej choroby po leczeniu solą sodową sulfatiazolu (3, 14). Gliński i Rzedzicki (3) oraz Olszewski (13) donosili o zwiększeniu się liczby szczepów *Bac. larvae* opornych na preparaty sulfamidowe. Dalsze badania Glińskiego i Rzedzickiego (3) oraz Glińskiego i wsp. (4) wykazały, że mieszanina trimetoprimu i sulfametoksazolu w stosunku 1:5 daje dobre rezultaty leczenia zgnilca w przypadkach niepowodzenia stosowania Polisulfamidu.

W latach 1962—1965 Lindenfelser (8), przeprowadzając badania laboratoryjne aktywności przeciwbakteryjnej 15 prób propolisu zebranego w różnych rejonach USA wobec 39 szczepów różnych gatunków bakterii wykazał też wrażliwość *Bac. larvae* na propolis. Autor podał ogólnie, iż wrażliwość ta występowała przy wartościach MIC (minimal inhibition concentration), jak i MBC (minimal bactericidal concentration) $< 100 \mu\text{g}$ na ml podłoża. Podjęte przez tegoż autora (9) próby leczenia zgnilca złośliwego czerwia przy pomocy ekstraktu propolisu nie dały jednakże zadowalających wyników. Zagadnienie to wydaje się w dalszym ciągu otwartym i skłania do dalszych badań i poszukiwania preparatów do dalszego udoskonalania metod zwalczania tej jednostki chorobowej.

Celem pracy było przedstawienie działania ekstraktu propolisu na szczepy *Bac. larvae* wyizolowane z przypadków terenowych ognisk zgnilca złośliwego z rejonu południowo-zachodniej Polski.

Do badań wykorzystano 8 szczepów *Bacillus larvae* (nr 10, 52, 54, 64, 69, 79, 80, 82) pochodzących z ZHW w Katowicach, 2 szczepy (W I i W II) z Akademii Rolniczej we Wrocławiu oraz 1 szczep (a 12) wyizolowany w USA w stanie Minnesota. Użyty do badań ekstrakt propolisu uzyskano techniką podaną w pracy poprzedniej (11). Posiadał on wartość MIC=80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ podłoża, a wartość MBC wobec wzorcowego szczepu gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus* 209 P) wynosiła 160 $\mu\text{g}/\text{ml}$ podłoża. Wrażliwość szczepów *Bacillus larvae* na ekstrakt propolisu przeprowadzono techniką podaną w pracy poprzedniej (11). Do badań tych użyto podłoża do hodowli *Bacillus larvae* według własnej modyfikacji, o następującym składzie: a) podłoże płynne — NaCl 4,0 g, pepton bakteriol. 5,0 g, ekstrakt drożdżowy 10,0 g, woda destylowana 1000,0 ml, pH podłoża 6,8; b) podłoże stałe — NaCl 4,0 g, Bacto casitone 4,0 g, ekstrakt drożdżowy 10,0 g, agar-agar 15,0 g, woda destylowana 1000,0 ml, pH podłoża 6,8.

Wyniki i omówienie

We wstępnej fazie pracy zbadano przydatność płynnego i stałego podłoża wg modyfikacji własnej dla optymalnego namnażania *Bac. larvae*. Badania te wykazały pełną przydatność zastosowanych podłoży do hodowli omawianego drobnoustroju.

Parokrotnie powtarzane próby z 11 szczepami *Bacillus larvae* wykazały jednocześnie, że wszystkie użyte w doświadczeniu szczepy były wrażliwe na użyty ekstrakt propolisu. Wrażliwość wszystkich 11 szczepów wynosiła MIC=90 $\mu\text{g}/\text{ml}$ podłoża, a MBC=110 $\mu\text{g}/\text{ml}$ podłoża. Wyniki te wskazują, że dla zahamowania wzrostu *Bacillus larvae* potrzeba było tylko o 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ podłoża więcej ekstraktu propolisu niż dla zahamowania wzrostu *Staphylococcus aureus*. Natomiast działanie bakteriobójcze *Bacillus larvae* uzyskiwano przy stężeniu 110 $\mu\text{g}/\text{ml}$ podłoża ekstraktu propolisu, a więc o 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ mniej niż w przypadku wzorcowego szczepu gronkowca złocistego. *Bacillus larvae* odznaczał się więc większą wrażliwością na działanie ekstraktu propolisu niż gronkowiec złocisty. Uzyskane wyniki badań zachęcają do podjęcia prób terenowych, mających na celu zastosowanie ekstraktu propolisu do leczenia zgnilca u pszczoł.

Piśmiennictwo

1. Czarnowski A.: *Medycyna Wet.* 30, 332, 1974.
2. Furowicz A., Zahaczewska M.: *Medycyna Wet.* 23, 81, 1967.
3. Gliński Z., Rzedzicki J.: *Pol. Arch. wet.* 20, 7, 1977.
4. Gliński Z., Chmielewski M., Misiak B., Duda M.: *Medycyna wet.* 39, 224, 1983.
5. Hesseman L., Hidders R. F.: *Mo. Agr. exp. Bull.* 482, 16, 1944.

6. Kostecki R., Wawrzkiwicz K., Gliński Z.: Mat. XX Międzyn. Kongr. Apimondia, Bukareszt 1965.
7. Kostecki R.: Biul. Inf. Inst. Wet. Puławy 5, 23, 1965.
8. Lindenfelser L. A.: Am. Bee J. 107, 90, 1967.
9. Lindenfelser L. A.: J. invertebrate Path. 12, 129, 1968.
10. Mendelewska J.: Medycyna wet. 29, 43, 1970.
11. Meresta L., Meresta T.: Bull. vet. Inst. Puławy 24, 21, 1980.
12. Michałski L., Kudela Z.: Medycyna wet. 36, 461, 1980.
13. Olszewski A.: Pszczelarstwo 24, 9, 1973.
14. Wilson W. T., Elliot J. R., Hitchcock J. D.: Am. Bee J. 111, 430, 1971.
15. Zahaczewska M.: Życie wet. 48, 107, 1973.

Adres autora: mgr inż. Tadeusz Meresta, ul. Słowicza 2/4, 20-336 Lublin

Mereste T., Meresta J. — **Чувствительность *Bacillus larvae* к экстракту прополиса в исследованиях in vitro**

Провели исследования чувствительности 11 штаммов *Bacillus larvae* к экстракту прополиса in vitro.

Показали чувствительность этих микроорганизмов к экстракту прополиса в концентрации MIC=90 µg/ml и MBC=110 µg/ml субстрата. Примененный экстракт прополиса, тестируемый относительно стандартного штамма *Staphylococcus aureus* 209 P, обладал величиной MIC=80 µg/ml, MBC=160 µg/ml субстрата.

Meresta T., Meresta J.: — **Чувствительность *Bacillus larvae* to propolis**

The sensitivity to propolis of 11 *Bacillus larvae* isolates was examined on a solid medium using an extract of propolis of the MIC for *Staphylococcus aureus* 209P 80 µg/ml and the MBC value for the same bacterium 160 µg/ml. The value of MIC for *B. larvae* was 90 µg/ml, and that of MBC was 110 µg/ml.

PATOLOGIA I TERAPIA

CZESŁAW KUREK, KRYSZYNA MILKO, MAŁGORZATA BIAŁKOWSKA

Naturalne biologiczne substancje hamujące w mleku a wyniki diagnostyczne w próbie Szybkiego Testu Dyfuzyjnego

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

Wydzielina gruczołu mlekowego krowy może wykazywać aktywność bakteriobójczą i bakteriostatyczną wobec mikroflory mleka. Uwarunkowana jest ona stanem zdrowotnym wymienia, a stopień jej aktywności i czasokres działania uzależnione są od obrony komórkowej i humoralnej gruczołu mlekowego (5). Zalicza się do nich komórki somatyczne reprezentowane przez granulocyty obojętnochłonne, limfocyty, makrofagi oraz komponenty humoralne w postaci laktoperoksydazy, lizozymu, laktoferyny, komplementu, properdyny, aglutynin, precypityn i niektórych frakcji immunoglobulin (cyt. 3, 5). Substancje te odpowiedzialne są za zjawisko bakteriocydyi mleka.

Współczesna technologia przerobowa mleka oraz względy zdrowotne nie dopuszczają obecności w mleku pozostałości antybiotyków. Do ich wykrywania stosowany jest w próbkach mikrobiologicznych m.in. szczep *B. stearothermophilus* v. *calidolactis* C.953. Wzrost jego hamowany jest już w obecności 0,003 j.m. penicyliny/ml (9). W związku z tym używany jest jako wskaźnik testowy w próbach służących do wykrywania pozostałości antybiotyków w mleku. Z metod mikrobiologicznych wdrożonych w tym celu w kraju wymieniły należy Szybki Test Dyfuzyjny (STD) (6) oraz próbę w opracowaniu Zakładu Produkcji Biopreparatów Mleczarskich — Biolakta (2). Za granicą stosowane

są: Delvotest (1), BR — Test (4), Difco disc assay PMI agar i Disc assay (cyt. 7) oraz inne.

Celem badań było ustalenie częstości występowania naturalnych biologicznych substancji hamujących (nbsh) w wydzielinie gruczołów mlekowych krow oraz ich wpływ na wyniki fałszywie dodatnie w próbie STD. Określono również ich termostabilność oraz miano.

Material i metody

Do wykrywania nbsh zastosowano próbę STD ze szczepem testowym *B. stearothermophilus* v. *calidolactis* C.953 wg wymogu PN-77/A-86031 (2, 8). Badania wykonano z 1582 próbkami wydzieliny płatowej 405 krow wybranych losowo z łącznej liczby 748 zwierząt gospodarstw sektora uspołecznionego. Krowy były w różnym wieku, rasy ncb, o zróżnicowanej wydajności jednostkowej od 3200 do 3850 kg mleka. W okresie poprzedzającym badania krowy przez 4 tygodnie nie otrzymywały żadnych antybiotyków wprowadzanych dowymieniowo, domacicznie i domięśniowo. Niezależnie od prób z wydzieliną płatową, badano mleko zbiorcze poszczególnych stad. Próbkę wykazującą wyniki fałszywie dodatnie podgrzewano na łaźni wodnej do temperatury wrzenia, schładzano i badano powtórnie. Miano nbsh określano przez rozcieńczenia badanych próbek mlekiem wolnym od tych substancji. Z badań wyłączono wydzielinę gruczołową wykazującą w Terenowym Odczynie Komórkowym (TOK — CMT) reakcje silnie dodatnie (+++). Liczba próbek wykazujących w TOK odczyn słabo dodatnie (+) oraz dodatnie (++) wahała się w poszczególnych stadach od 12,5% do 18,5%.