

# Ocena wrażliwości szczepów *Salmonella* sp. na lityczne działanie bakteriofaga O-1

ANDRZEJ HOSZOWSKI, DARIUSZ WASYL, MARIAN TRUSZCZYŃSKI

Zakład Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Hoszowski A., Wasyl D., Truszczyński M.

## Susceptibility for phage O-1 lysis in *Salmonella* spp. strains

### Summary

Phage O-1 lysis was tested in 889 *Salmonella* spp. strains, 116 of *E. coli*, 3 *Citrobacter freundii*, 3 *Klebsiella pneumoniae* and 2 *Proteus vulgaris* strains. Phage O-1 susceptibility was found in 98.1% *S. enterica* subspecies *enterica* strains as well as in 6% of *E. coli* isolates. All *S. enterica* subspecies *arizonae* and other types of *Enterobacteriaceae* genera proved to be resistant to lysis by O-1 bacteriophage.

Differences in phage O-1 susceptibility within *S. enterica* subspecies *enterica* isolates were recorded. Ninety per cent of strains belonging to O:3, 10 (E<sub>1</sub>) serogroup were sensitive to phage O-1 lysis. Members of other *Salmonella* groups showed sensitivity ranging from 97.4 to 100 per cent. In the case of rough strains this percentage was 92.3.

A salmonella identification kit on susceptibility to phage O-1 as well as on  $\beta$ -galactosidase (ONPG) and indol production was devised for routine identification of *Salmonella* organisms.

**Keywords:** *Salmonella*, bacteriophage O-1, identification.

W 1943 r. Felix i Callow wykazali powinowactwo bakteriofaga O-1 do bakterii z rodzaju *Salmonella*. Efektem jego działania na pałeczki *Salmonella* jest liza komórek bakteryjnych. W ciągu minionego półwiecza wielokrotnie badano wrażliwość pałeczek *Salmonella* na faga O-1, wykazując swoistość reakcji (6, 7, 9, 12). Oznaczanie tej cechy wykorzystywano do wstępnej identyfikacji salmonel. Opracowano również szereg zestawów diagnostycznych umożliwiających, obok oceny wrażliwości szczepów na faga O-1, jednocześnie określanie ich właściwości biochemicznych (5, 7).

Jak podaje Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (IX wydanie) 98% szczepów *Salmonella* należących do podrodzaju I, określanego obecnie jako *Salmonella enterica* podgatunek *enterica*, ulega lizie pod wpływem działania faga O-1.

Celem prezentowanych badań było: 1) określenie odsetka wrażliwych na faga O-1 szczepów *Salmonella* pochodzących z własnej kolekcji; 2) ocena wrażliwości na faga O-1 bakterii należących do innych niż *Salmonella* rodzajów rodziny *Enterobacteriaceae*; 3) próba opracowania testu do wstępnej identyfikacji pałeczek *Salmonella*, wykorzystującego ich wrażliwość na lityczne działanie faga O-1 oraz niektóre właściwości biochemiczne.

## Material i metody

### Uzyskiwanie faga O-1

Posługiwano się metodą opisaną przez Adamsa (1). Do 50 ml bulionu dodawano 1 ml 24-godzinnej hodowli bulionowej szczepu *Salmonella paratyphi* B 350, cechującego się wrażliwością na faga O-1. Hodowlę namnażano w 37°C z wytrząsaniem przez około 3 godziny. Następnie dodawano 1 ml preparatu faga O-1, inkubowano w 37°C przez 4 godziny i kolejne 18 godzin w 4°C. Hodowlę odwirowywano (3000 obr/min, 20 min.), a do supernatantu w celu zabicia pozostałych przy życiu salmonel, dodawano chloroform w stosunku 1:50. Mieszaninę wytrząsano przez 5 minut i pozostawiano na 24 godziny w 4°C. Po usunięciu chloroformu i potwierdzeniu jałowości supernatantu uzyskiwano gotowy do użycia preparat fagowy, wykorzystywany do badania wrażliwości bakterii na działanie faga O-1.

**P o d ł o ż a .** Szczepy namnażano w bulionie o składzie: bulion odżywczy 15 g, NaCl 8,5 g, H<sub>2</sub>O dest. 1000 ml oraz na podłożu stałym uzyskanym poprzez dodanie do 1000 ml bulionu 15 g agaru Difco. Pożywki, po ustaleniu pH na poziomie 7,2-7,4, sterylizowano w 121°C przez 15 minut.

**S z c z e p y b a k t e r y j n e .** Ocenie wrażliwości na lityczne działanie bakteriofaga O-1 poddano 889 szczepów *Salmonella* izolowanych od zwierząt, z pasz i produktów spożywczych. Spośród nich 884 należało do gatunku *S. enterica* podgatunku *enterica*, a pozostałe 5 do *S. enterica*

podgatunku *arizonae*. Badaniami objęto również 116 szczepów *Escherichia coli*, 3 szczepy *Citrobacter freundii*, 3 szczepy *Klebsiella pneumoniae* oraz 2 szczepy *Proteus vulgaris*.

Ocena wrażliwości bakterii na faga O-1. Badany szczep namnażano przez 2 godziny w temperaturze 37°C w 4 ml bulionu. Uzyskaną hodowlę wylewano na płytkę o średnicy 50 mm z podłożem agarowym, rozprowadzano po całej powierzchni, a nadmiar usuwano. Płytkę z uchylonym wieczkiem pozostawiano w komorze laminarnej do czasu wyschnięcia powierzchni (około 20 minut). Następnie na powierzchnię agaru наносzono, za pomocą ezy o średnicy 3 mm, preparat bakteriofagowy. Wyniki odczytywano po inkubacji płytek w 37°C przez 18-24 godz. Za wynik dodatni przyjmowano lizę typu CL (confluent lysis), charakteryzującą się całkowitym przejściem w miejscu naniesienia preparatu fagowego, lub typu SCL (semi-confluent lysis), cechującą się prawie całkowitą lizą w miejscu założenia faga. W przypadku szczepów *Salmonella* opornych na działanie faga, lub wykazujących wtórny wzrost w obszarze lizy, jak też szczepów *E. coli*

wrażliwych na preparat faga O-1, badanie powtarzano w odniesieniu do 3 pojedynczych kolonii danego szczepu.

#### Test diagnostyczny

**Podłoża.** Do namnażania szczepów wykorzystywano bulion, którego skład podano wcześniej. Posiewów dokonywano na podłożu agarowe, również opisane poprzednio, zmodyfikowane poprzez dodanie tryptofanu w ilości 3 g na 1000 ml podłoża.

**Próby biochemiczne.** Wykrywanie  $\beta$ -galaktozydazy (ONPG). Do tego celu wykorzystywano krążki bibułowe o średnicy 6 mm przygotowane we własnym zakresie z bibuły Whatman No. 3. Po sterylizacji w kuchence mikrofalowej nasączano je 10  $\mu$ l roztworu ONPG przygotowanego zgodnie z procedurą podaną przez Ewinga (4), lecz o dwukrotnie zwiększonej koncentracji orto-nitro-fenyl- $\beta$ -D-galaktopiranozydu (160 mg/20 ml buforu). Krążki suszono w 37°C przez 18 godzin i przechowywano szczelnie zamknięte w temperaturze około 4°C.

**Wykrywanie indolu.** Wykorzystywano do tego paski bibułowe o wymiarach 0,5 cm  $\times$  3 cm, które po wyłowieniu w kuchence mikrofalowej zanurzano w świeżo

Tab. 1. Wrażliwość bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* na lityczne działanie faga O-1

Rodzaj		Liczba badanych szczepów	Szczepy wrażliwe na faga O-1	
			liczba	odsetek
<i>Salmonella enterica</i> podgatunek <i>enterica</i>	grupa O:4 (B)	117 (100%)	114	97,4
	grupa O:7 (C <sub>1</sub> )	204 (100%)	201	98,5
	grupa O:8 (C <sub>2-3</sub> )	14 (100%)	14	100
	grupa O:9 (D <sub>1</sub> )	453 (100%)	448	98,9
	grupa O:3, 10 (E <sub>1</sub> )	20 (100%)	18	90,0
	grupa O:1, 3, 19 (E <sub>4</sub> )	18 (100%)	18	100
	inne*	6 (100%)	6	100
	razem	832 (100%)	819	98,4
	<i>Salmonella</i> „R”	52 (100%)	48	92,3
razem	884 (100%)	867	98,1	
<i>Salmonella enterica</i> podgatunek <i>arizona</i>		5	0	
<i>Escherichia coli</i>		116 (100%)	7	6,0
<i>Citrobacter freundii</i>		3	0	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		3	0	
<i>Proteus vulgaris</i>		2	0	

Objaśnienie: \* *S. ser. Cubana* (O:13), *S. ser. Worthington*, (O:13), *S. ser. Minnesota* (O:21) oraz 3 szczepy należące do serotypów nie występujących dotychczas w Polsce, przesłane w celu potwierdzenia do Międzynarodowego Ośrodka Salmonella w Paryżu (Instytut Pasteura).

przygotowanym odczynnikiem Kovacs (4). Suszono je w 42°C i przechowywano w szczelnym zamknięciu bez dostępu światła w temperaturze około 4°C.

Wykonanie testu. Badany szczep bakteryjny oraz preparat bakteriofagowy przygotowywano zgodnie z metodyką podaną wcześniej. Przed inkubacją na wewnętrznej stronie wieczka płytki Petriego umieszczano pasek bibułowy nasączony odczynnikiem Kovacs. Po około 18 godzinach inkubacji na powierzchnię agaru nakładano krążek ONPG, inkubowano przez kolejne 3 godziny, po czym odczytywano i interpretowano wyniki. Dodatni wynik testu z bakteriofagiem O-1 wyrażał się brakiem wzrostu jednowarstwowej hodowli bakteryjnej w miejscu naniesienia preparatu fagowego. Za wynik dodatni testu ONPG przyjmowano zmianę barwy krążka bibułowego na kolor żółty. O zdolności szczepów do wytwarzania indolu wskazywała zmiana barwy paska bibułowego na fioletową o różnej intensywności. Za wyniki ujemne testów bibułowych przyjmowano brak zmiany barwy krążka lub paska.

### Wyniki i omówienie

Wyniki oznaczania wrażliwości szczepów *Salmonella* na lityczne działanie faga O-1 przedstawiono w tab. 1. Wrażliwość na faga O-1 stwierdzono u 98,1% izolatów z gatunku *S. enterica* podgatunku *enterica*. Żaden z 5 badanych szczepów należących do gatunku *S. enterica* podgatunku *arizonae* nie ulegał lizie pod wpływem działania preparatu bakteriofagowego. Wszystkie szczepy *Salmonella* w obrębie grup O:8 (C<sub>2</sub> i C<sub>3</sub>), O:1, 3, 19 (E<sub>4</sub>) oraz tych określonych jako „inne” wykazywały pełną wrażliwość na faga O-1. Najniższą wrażliwość stwierdzono wśród szczepów z grupy O:3, 10 (E<sub>1</sub>) oraz określonych jako szorstkie (*Salmonella* „R”), gdyż wykryto ją, odpowiednio, u 90% i 92,3% izolatów. W przypadku pozostałych badanych serotypów *Salmonella* wrażliwość na faga O-1 wykazano u 97,4%-98,9% szczepów.

Wrażliwość na faga O-1 odnotowano wśród 6% badanych izolatów *E. coli*. Szczepy *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* oraz *Proteus vulgaris* wykazywały oporność na jego działanie.

Tabela 2 przedstawia dane dotyczące oporności salmonel na lityczne działanie faga O-1 z uwzględnieniem serotypów *Salmonella*. Oporność na faga O-1 stwierdzono w przypadku 17 szczepów należących do gatunku *Salmonella enterica* podgatunku *enterica*. Należały one do serotypów: *typhimurium*, *agona*, *livingstone*, *tennessee*,

Tab. 2. Oporność na lityczne działanie faga O-1 wśród szczepów *Salmonella enterica* podgatunku *enterica* z uwzględnieniem serotypów

<i>Salmonella enterica</i> podgatunek <i>enterica</i>		Liczba szczepów		
grupa	serotyp	badanych	opornych na lizę (%)	
O:4 (B)	<i>typhimurium</i>	63	2 (3,2%)	
	<i>agona</i>	22	1 (4,6%)	
	<i>indiana</i>	8		
	<i>saint-paul</i>	6		
	<i>bredney</i>	4		
	<i>schwarzengrund</i>	4		
	<i>chester</i>	3		
	<i>derby</i>	3		
	<i>heidelberg</i>	2		
	<i>essen</i>	1		
	<i>kiambu</i>	1		
	O:7 (C <sub>1</sub> )	<i>mbandaka</i>	88	
		<i>infantis</i>	21	
<i>livingstone</i>		18	1 (5,6%)	
<i>braenderup</i>		17		
<i>tennessee</i>		13	1 (7,7%)	
<i>oranienburg</i>		10		
<i>isangi</i>		9		
<i>virchow</i>		5		
<i>mission</i>		4		
<i>cayar</i>		3	1	
<i>choleraesuis</i> var. <i>kunzendorf</i>		3		
<i>montevideo</i>		3		
<i>rissen</i>		3		
<i>thompson</i>		3		
<i>potsdam</i>		2		
<i>djugu</i>		1		
O:8 (C <sub>2-3</sub> )		<i>irumu</i>	1	
	<i>hadar</i>	9		
	<i>newport</i>	3		
O:9 (D <sub>1</sub> )	<i>tschiongwe</i>	2		
	<i>enteritidis</i>	444	4 (0,9%)	
	<i>pullorum-gallinarum</i>	8		
O:3, 10 (E <sub>1</sub> )	<i>dublin</i>	1	1	
	<i>newlands</i>	11	1 (9,1%)	
	<i>anatum</i>	5		
	<i>binza</i>	2		
	<i>london</i>	1	1	
O:1, 3, 19 (E <sub>4</sub> )	<i>orion</i>	1		
	<i>senftenberg</i>	18		
<i>Salmonella</i> „R”		52	4 (7,7%)	
inne*		6		
RAZEM		884	17 (1,9%)	

Objaśnienie: jak w tab. 1.

Tab. 3. Reakcje obserwowane w opracowanym zestawie do identyfikacji pałeczek *Salmonella*

Oceniane cechy	Badane szczepy			
	<i>Salmonella sp.</i>		<i>E. coli</i>	
Wrażliwość na faga O-1	+	-	+	-
Wytwarzane $\beta$ -galaktozydazy (ONPG)	-	-	+	+
Produkcja indolu	-	-	+	+
Liczba szczepów	80	10	3	60
Razem	90		63	

*cayar*, *enteritidis*, *dublin*, *newlands* oraz *london*. Cztery spośród niewrażliwych szczepów wykazywały szorstkość (*Salmonella* „R”). Najniższy odsetek szczepów opornych na faga O-1 odnotowano w przypadku *S. enteritidis* (4 szczepy – 0,9%). Nieco częściej rejestrowano oporność wśród szczepów *S. typhimurium*, *S. agona* i *S. livingstone*, gdyż wystąpiła ona, odpowiednio, u 3,2%, 4,6% i 5,6%, izolatów. W obrębie szczepów szorstkich, jak i *S. tennessee*, oporność wykryto u 7,7% szczepów. W przypadku *S. newlands* 1 z 11 zbadanych szczepów wykazywał oporność na faga O-1. Pojedyncze szczepy *S. dublin* i *S. london* oraz jeden z trzech izolatów należących do *S. cayar* również nie ulegały lizie pod wpływem używanego preparatu fagowego.

Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, świadczące o wysokiej specyficzności faga O-1 w odniesieniu do pałeczek *Salmonella*, podjęto próbę opracowania testu do szybkiej ich identyfikacji. Badaniu przygotowanym zestawem poddano 90 szczepów *Salmonella sp.* i 63 szczepy *E. coli*, charakteryzujące się różną wrażliwością na bakteriofaga.

Zaobserwowane wyniki przedstawia tab. 3. Z 90 testowanych szczepów *Salmonella* 80 było wrażliwych na faga O-1, 10 pozostałych wykazywało oporność. W przypadku wszystkich badanych szczepów *Salmonella* uzyskano ujemne wyniki w próbie ONPG i na indol. Testowane szczepy *E. coli* wytwarzały indol,  $\beta$ -galaktozydazę i, z wyjątkiem 3 izolatów, były odporne na lityczne właściwości bakteriofaga O-1.

Wrażliwość na lityczne działanie bakteriofaga O-1 wykazują szczepy należące do *Salmonella enterica* podgatunku *enterica*, *salamae* i *diarizonae* (5). Podgatunki *arizonae* i *houtanae* są odporne na jego działanie. Szczepy *Salmonella* należące do gatunku *S. bongori* najczęściej również nie wykazują wrażliwości na faga O-1. Jednak większość obecnie izolowanych salmoneli od zwierząt i ludzi w Polsce, jak i na świecie, zaliczana jest do *Salmonella enterica* podgatunek *enterica* (2, 13), uprzednio określanego jako *Salmonella* podrodzaj I (4). Tak więc brak wrażliwości na faga O-1 odnotowany w przypadku szczepów *S. enterica* podgatunku *arizonae* nie zmniejsza przydatności tej ce-

chy do identyfikacji szczepów podejrzanych o przynależność do rodzaju *Salmonella*. Niewrażliwe na faga O-1 salmonelle, należące do pozostałych podgatunków, wykrywane są w naszym kraju rzadko i stwierdza się je głównie u zwierząt zimnokrwistych i środowisku (4).

Prezentowane wyniki, wskazujące na dużą wrażliwość szczepów *Salmonella* izolowanych od zwierząt i z materiałów pochodnych (98,1% – tab. 1), znajdują potwierdzenie w świetle badań wykonanych przez innych. Dla ilustracji, według Welkos i wsp. (12) 98,2% badanych izolatów *Salmonella* cechowała wrażliwość na faga O-1. Fey i wsp. (5) wykazali, że 96,1% spośród blisko 23 tys. szczepów było wrażliwych na tego bakteriofaga. Niektórzy autorzy uważają, że wrażliwość salmoneli na faga O-1 jest niższa i wynosi od 70 do 80% (5). Może to jednak mieć związek z tym, że znaczna część badanych przez nich szczepów należała do grupy OE, której przedstawiciele, w porównaniu z innymi grupami schematu Kauffmanna-White'a, wykazują niższą wrażliwość na faga O-1 (5, 6, 7). W prezentowanych badaniach wrażliwość szczepów należących do grupy O:3, 10 (E<sub>1</sub>) była również nieco niższa i wyniosła 90% (tab. 1).

Z badań własnych wynika, że oporność na lityczne działanie faga O-1 wykazuje 1,9% salmoneli, a w przypadku izolatów *S. newlands* należących do grupy O:3, 10 (E<sub>1</sub>), odsetek ów jest wyższy i, jak to wcześniej podano, sięga 9,1% (tab. 2). Wydaje się, że jednym z czynników wywołujących oporność salmoneli na działanie tego faga może być obecność profagów w ich genoforach (8, 9). Należy również pamiętać, że większość badanych przez nas szczepów izolowano z przypadków klinicznych salmonelozy zwierząt lub z produktów spożywczych. Przepuszczalnie, stosowane podczas leczenia zwierząt substancje antybakteryjne, jak też procesy technologiczne, jakim poddawana jest żywność lub dodawane do niej środki chemiczne, mogą zmieniać właściwości powierzchniowe komórek bakteryjnych (11). W efekcie fag O-1 może tracić zdolność do wiązania się ze zmienionymi receptorami powierzchniowymi salmoneli i nie dochodzi do lizy komórki (1, 10). Zmiany w strukturze antygenów powierzchniowych są prawdopodobnie przyczyną częst-

szego występowania oporności na działanie faga O-1 wśród szorstkich szczepów *Salmonella* (7,7% – tab. 2) niż tych określanych jako gładkie (11).

Na wyniki dotyczące wrażliwości salmoneli na faga O-1 ma wpływ jego koncentracja w używanym preparacie oraz stężenie agaru służącego do oceny jego właściwości litycznych. W przypadku wysokiej koncentracji cząstek faga w preparacie i przy niskim stężeniu agaru, prawie 100% salmonel ulega lizie. Wówczas jednak maleje specyficzność tej reakcji, a wiele innych bakterii rodziny *Enterobacteriaceae* ulega lizie pod wpływem faga O-1 (8, 12).

Zaobserwowano pewną zależność pomiędzy przynależnością serotypową badanych szczepów *Salmonella* a ich różną wrażliwością na faga O-1 (tab. 2). Znajduje to potwierdzenie w badaniach Gunnarsona i wsp. (7). Wrażliwość na bakteriofaga O-1 jest cechą swoistą dla salmoneli i tylko nieznaczny odsetek szczepów *E. coli* ulega lizie w wyniku jego działania (9, 12). Z prezentowanych danych wynika, że wrażliwość na faga O-1 stwierdzono u 6,0% badanych izolatów *E. coli* (tab. 1), co jest zgodne z danymi innych autorów (9, 12).

Próby opracowania testu do wstępnej identyfikacji pałeczek *Salmonella*, wykorzystującego właściwości faga O-1, podejmowano wielokrotnie. Güdel i wsp. (6) zastosowali dodatek fagów specyficznych dla grupy OE, w celu identyfikacji należących do niej szczepów *Salmonella*. Inni uzupełniali test próbami biochemicznymi umożliwiającymi wykrycie zdolności rozkładu mocznika (7) lub dekarboksylacji lizyny (5). Dodając faga O-1 do próbek kału, Crane i wsp. (3) śledzili jego namnażanie się za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Wzrost liczby fagów świadczył o obecności pałeczek *Salmonella* w badanych próbkach.

Biorąc pod uwagę specyficzność reakcji litycznej faga O-1, stwierdzoną w odniesieniu do pałeczek *Sal-*

*monella*, podjęto próbę opracowania zestawu umożliwiającego ich szybką identyfikację. W związku z tym, zmodyfikowano podłoże stałe tak, aby obok oceny wrażliwości badanych szczepów bakteryjnych na faga O-1, możliwe było również określenie ich zdolności do produkcji indolu i  $\beta$ -galaktozydazy. Test umożliwia identyfikację pałeczek *Salmonella* w ciągu 24 godzin. Biorąc pod uwagę fakt, iż ponad 98% szczepów *Salmonella*, klasyfikowanych jako *S. enterica* podgatunek *enterica* cechuje wrażliwość na faga O-1, jak i to, że 98,9% z nich nie jest zdolnych do produkcji indolu, a 99,4% z nich wypada ujemnie w teście na ONPG (4), efektywność opracowanego zestawu jest wystarczająca do wstępnej identyfikacji salmoneli.

Uzyskane rezultaty wskazują, że opracowany zestaw diagnostyczny, umożliwiając określenie wrażliwości badanych szczepów na faga O-1 oraz ich zdolność do wytwarzania indolu i  $\beta$ -galaktozydazy, może znaleźć zastosowanie w rutynowej identyfikacji pałeczek *Salmonella*.

### Piśmiennictwo

1. Adams M. H.: Bacteriophages. Interscience Publishers, Inc., New York, 1959.
2. Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce, Rok 1996. Państwowy Zakład Higieny, Warszawa 1997.
3. Crane D. D., Martin L. D., Hirsch D. C.: J. Microbiol. Methods 2, 251, 1984.
4. Ewing W. H.: Identification of Enterobacteriaceae. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1986.
5. Fey H., Bürgi E., Margadant A., Boller E.: Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 240, 7, 1978.
6. Güdel K., Fey H.: Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 249, 220, 1981.
7. Gunnarsson A., Hurvell B., Thal E.: Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 237, 222, 1977.
8. Kallings L. O., Linberg A. A.: Acta path. microbiol. scand. 70, 455, 1967.
9. Kallings L. O.: Acta path. microbiol. scand. 70, 446, 1967.
10. Linberg A. A., Holme T.: J. Bact. 99, 513, 1969.
11. Linberg A. A.: J. Gen. Microb. 48, 225, 1967.
12. Welkos S., Schreiber M., Baer H.: Appl. Microbiol. 28, 618, 1974.
13. WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe, Sixth Report 1990-1992. FAO/WHO Collaborating Centre for Research and Training in Food Hygiene and Zoonoses, Berlin, 1995.

Adres autora: dr Andrzej Hoszowski, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

**VAN WUIJEKHWUISE L., BOSCH J., FRANKEN P., FRANKENA K., ELBERS A. R. W.: Charakterystyka epidemiologiczna infekcji wywołanych przez herpeswirus bydła 1 oparta o wynik badania mleka zbiorczego pochodzącego od wszystkich stad mlecznych krów w Danii. (Epidemiological characteristics of bovine herpesvirus 1 infections determined by bulk milk testing of all Dutch dairy herds).** Vet. Rec. 142, 181-184, 1998 (8)

Próbki mleka zbiorczego zebrane w listopadzie 1994 r. przebadano na obecność przeciwciał dla wirusa BHV-1 testem gB-ELISA. Osiemnaście stad było wolnych od zakażenia tym wirusem. Na fermach gdzie przebywały wyłącznie krowy mleczne 1,9 razy częściej uzyskiwano wyniki ujemne aniżeli w stadach gdzie oprócz bydła mlecznego były opasy i cielęta. Na fermach gdzie zagęszczenie krów było duże, na stado przypadło poniżej 1 km<sup>2</sup>, prawdopodobieństwo wystąpienia wyniku ujemnego lub słabo pozytywnego było 1,5 razy większe niżeli na fermach, na których na stado przypadła obszar ponad 1 km<sup>2</sup>.

G.

**ACOSTA B., REAL F., FERRER O., DENIZ S., POVEDA J. B.: Izolowanie *Mycobacterium kansasii* od tuberkulino pozytywnych kóz. (Isolation of *Mycobacterium kansasii* from a tuberculin-positive goat).** Vet. Rec. 142, 195-196, 1998 (8)

Często od kóz izoluje się *Mycobacterium bovis*, *M. avium* subsp. *avium*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis* i *M. tuberculosis*. Dotychczas *M. kansasii* izolowano od ludzi z przewlekłym schorzeniem płuc oraz od saren gdzie wywołuje zmiany gruźliczo podobne oraz od wielbłądów. Na Grand Canaria i Teneryfie poddano badaniom 28 kóz reagujących w odczynie tuberkulinowym na PPD *M. bovis*. Do izolacji prątków na podłożach Lovensteina-Jensena użyto węzły chłonne oraz patologicznie zmienione odcinki tkanek. Spośród 28 tuberkulino dodatnich kóz u 14 nie występowały żadne makroskopowe zmiany chorobowe, u 12 stwierdzono zserowacenia i zwapnienia w węzłach chłonnych, płucach i w wątrobie. W jednym przypadku występowały zmiany wysiękowe w węzłach chłonnych. Od 13 zwierząt ze zmianami patologicznymi wyosobniono *M. bovis*. Wolno rosnące fotochromogenne prątki wyhodowano ze śródpiersiowych węzłów chłonnych pozostałych kóz, które zidentyfikowano jako *M. kansasii*.

G.