

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, TERESA KOCIK, MARIAN KRYSZKOWSKI

Przynależność grupowa krajowych szczepów paciorkowców wyisobnionych z materiału zwierzęcego, a ich właściwości fizjologiczne*)

Zakład Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach
Kierownik: prof. dr M. TRUSZCZYŃSKI

Zakład Technologiczno-Badawczy, Puławskich Zakładów
Przemysłu Bioweterynaryjnego
Kierownik: dr S. MAJDAN

Z weterynaryjnego punktu widzenia szczególnie znaczenie posiadają paciorkowce grup B, C, D, E i N wg Lancefield (8, 12, 13). Szczepy grupy B stanowią ważny czynnik etiologiczny zapalenia wymienia u bydła. Grupa C paciorkowców obejmuje 4 gatunki: *Str. zooepidemicus*, *Str. equi*, *Str. equisimilis* i *Str. dysgalactiae*. Trzy pierwsze gatunki wywołują, zwłaszcza u młodych zwierząt ogólne zakażenie krwi oraz ropnie, natomiast *Str. dysgalactiae* jest czynnikiem etiologicznym *mastitis* u krów. Paciorkowce grupy D, *Str. faecalis*, *Str. faecium*, *Str. bovis* i *Str. equinus*, mają znaczenie w higienie produktów zwierzęcych. Grupa E zawiera gatunek *Str. uberis*, który powoduje zapalenie wymienia oraz szczepy wywołujące zmiany ropne u świń. Do gr. N należy *Str. lactis* i *Str. cremoris*. Występują one w mleku, produktach mlecznych i mają znaczenie w przemyśle mleczarskim. Dokładniejsze dane na temat wymienionych paciorkowców podano uprzednio (8, 12, 13).

W indetyfikacji paciorkowców obok określenia przynależności do grupy serologicznej wg Lancefield pewne znaczenie mają właściwości fizjologiczne (13). W tym zakresie obserwuje się jednakże stosunkowo dużą zmienność. W związku z tym w podjętych badaniach własnych chodziło o określenie w jakim stopniu typowe dla danej grupy wg Lancefield właściwości fizjologiczne paciorkowców izolowanych w kraju pokrywają się z występowaniem w danym szczepie antygeny grupowo-swoistego. Celem ich było również sprawdzenie wartości diagnostycznej surowic wyprodukowanych w Puławskich Zakładach Przemysłu Bioweterynaryjnego.

Materiał i metody

Użyte zostały króliki rasy mieszanej o ciężarze ciała około 3 kg. Uodporniono je w liczbie po 4 sztuki szczepami należącymi do grup: B — szczep B 4; C — szczep C 13; D — szczep D 17; E — szczep E 20; N — szczep N 26. Szczepy te pochodziły z Ośrodka Kolekcji Drobnoustrojów Zakładu Mikrobiologii IWet w Puławach. W uodpornianiu królików posłużono się metodą stosowaną w Pracowni Ziarenkowców PZH w Warszawie. Swoistość i miano przeciwciał sprawdzano za pomocą sporządzonych wg metody Lancefield (4) wyciągów kwaśnych z paciorkowców. Szczepy w tym celu użyte (B 4, 71168, 80567, 760561, 100567, 90964, 61267, D 17, D 5230158, D 3, 4051065, C 13, CK 64, 264, 28, 32, 406, E 20, E 3, E 7, E 4, M 136, N 26, N 130, 2800168) uzyskano w PZH w Warszawie i IWet

w Puławach. Każdą surowicę sprawdzono z wyciągami 25 wymienionych właśnie szczepów, w tym z przynajmniej 4 szczepami grupy homologicznej w stosunku do surowicy badanej, oraz ze szczepami czterech pozostałych grup podanych uprzednio. Analogiczne próby wykonano posługując się wymienionymi wyciągami kwaśnymi wg Lancefield (4) ze standardowymi surowicami anty-B, -C, -D, -E i -N produkcji CSRS — Ustaw ser a Očtovacích Latek.

Przy pomocy wyprodukowanych surowic własnych zbadano również metodą precypitacji próbówkowej 250 szczepów paciorkowcowych. Wśród badanych szczepów było: 15 wyisobnionych z mleka krów chorych na *mastitis*, uzyskanych z Zakładu Higieny Zwierząt Instytutu Wet. w Bydgoszczy; 160 wyizolowanych z mleka krów chorych na *mastitis* z ZHW Gdańsk — Oliwa; 39 wyisobnionych z konserw mięsnych przez Weterynaryjny Inspektorat Sanitarny w Krakowie oraz 18 z Zakładu Higieny Produktów Zwierzęcych IWet. Puławy. Dodatkowo zbadano 10 szczepów paciorkowców pochodzących z Zakładu Mikrobiologii IWet oraz 8 szczepów grupy N, pochodzących z Zakładu Czystych Kultur Mleczarskich w Olsztynie. Obok badań serologicznych przy użyciu precypitacji próbówkowej u wszystkich szczepów badano: przeżywalność w 60°C; wzrost na podłożu o pH 9,6; wzrost na podłożu zawierającym 6,5% NaCl, 45% żółci, 10% żółci, wzrost 10°C i 45°C. Określono również zdolność redukcji 0,1% błękitu metylenowego oraz ustalono rodzaj hemolizy na agarze z krwią barania. Wykonano też próbę CAMP (5).

Omówienie wyników

W wyniku uodporniania królików uzyskano precypitujące surowice grupowo-swoiste B, C i D. Nie udało się natomiast uzyskać surowic grupowo-swoistych E i N o wystarczającym stężeniu przeciwciał precypitujących. Powyższy wynik zgodny jest z obserwacjami innych autorów (6), którzy również napotkali trudności w uzyskaniu grupowo-swoistych surowic precypitujących anty-E.

Niemożność wytworzenia surowicy anty-N jest trudna do wyjaśnienia. Być może jednak, iż użyty do uodporniania szczep był mało immunogenny i należałoby użyć innych szczepów należących do grupy N.

W tab. 1 przedstawiono wyniki doświadczeń, w których surowice grupowo-swoiste anty B, C, D badano z wyciągami kwaśnymi szczepów grupy homologicznej i grup heterologicznych.

Jak wynika z tab. 1 uzyskane surowice wykazały dużego stopnia swoistość, nie stwierdzono bowiem odczynów krzyżowych z wyciągami kwaśnymi szczepów należących do grup heterologicznych.

W kolejnych próbach zbadano wyciągi kwaśne 250 szczepów paciorkowców za pomocą surowic grupowo-swoistych B, C, D. Wszystkie wymienione szczepy określano też przy uży-

* Opublikowany w nr 8-1972 tekst wymienionej pracy uległ, z przyczyn technicznych, poważnemu skróceniu. Z tych względów pracę publikujemy po raz wtóry in extenso.

Tab. 1. Wynik krzyżowej precypitacji wg Lancefield przy pomocy surowic grupowo-swoistych

| Wyciągi bakteryjne *) | Surowice grupowo-swoiste | | |
|-----------------------|--------------------------|------|------|
| | B | C | D |
| Grupa B | | | |
| B4 | ++++ | — | — |
| 71168 | ++++ | — | — |
| 80567 | ++++ | — | — |
| 100567 | ++++ | — | — |
| 7670561 | ++++ | — | — |
| 90964 | ++++ | — | — |
| 61267 | ++++ | — | — |
| Grupa C | | | |
| C 13 | — | ++++ | — |
| CK 64 | — | ++++ | — |
| 264 | — | ++++ | — |
| 28 | — | ++++ | — |
| 406 | — | ++++ | — |
| Grupa D | | | |
| D 17 | — | — | +++ |
| 5230158 | — | — | ++ |
| D 3 | — | — | ++++ |
| 4051065 | — | — | + |
| Grupa E | | | |
| E 20 | — | — | — |
| E 3 | — | — | — |
| E 7 | — | — | — |
| E 4 | — | — | — |
| Grupa N | | | |
| N 136 | — | — | — |
| N 26 | — | — | — |
| N 130 | — | — | — |
| 2800168 | — | — | — |

*) Sporządzono wg Lancefield (4).

z trzech grup wg Lancefield. Tab. 2 zawiera zestawienie wyników tych badań z uwzględnieniem stopnia zgodności wyniku uzyskanego badaniem serologicznym i w oparciu o właściwości fizjologiczne.

Jak wynika z tab. 2 znaczna liczba szczepów zaliczonych do grupy B, C lub D na podstawie odczynu precypitacji wg Lancefield wykazywała też typowe dla danej grupy serologiczne zachowanie w odczynie CAMP i próbach fizjologicznych. Na podkreślenie zasługuje jednakże stwierdzenie 38 szczepów zaliczonych na podstawie precypitacji do grupy B wg Lancefield, które zachowały się też typowo w pozostałych użytych testach z wyjątkiem próby CAMP. Tworzyły one bowiem na podłożu CAMP strefę hemolizy beta, co jest charakterystyczne dla paciorkowców grupy B, jednakże były eskulino-dodatnie, co jest niezgodne z kryteriami taksonomicznymi przyjętymi dla tej grupy. Analogiczne obserwacje odnośnie występowania tego rodzaju szczepów poczynili uprzednio Wilson i Slavin (15), Murphy i wsp. (7) oraz Kowalczyk (3).

Dodatkowo znaleziono 18 szczepów, które pod względem właściwości fizjologicznych odpowiadały grupie B, zaś w odczynie serologicznym z surowicą anti-B były ujemne. Stwierdzono też 2 szczepy, zachowujące się charakterystycznie dla grupy B w odczynie CAMP, a serologicznie i fizjologicznie nietypowo.

Wśród szczepów grupy C większość, bo 8 na 10 badanych, wykazywała obok antygeny grupowego typowe dla tej grupy właściwości fizjo-

Tab. 2. Stopień zgodności badań serologicznych wg Lancefield przy pomocy surowic grupowo-swoistych

| Grupa serologiczna | Zachowanie w próbie CAMP | Zachowanie w próbach fizjologicznych | Liczba szczepów | Ogólna liczba szczepów w grupie |
|--------------------|--------------------------|--------------------------------------|-----------------|---------------------------------|
| B | typowe dla gr. B | typowe dla gr. B | 51 | 90 |
| B | nietypowe dla gr. B | typowe dla gr. B | 38 | |
| B | typowe dla gr. B | nietypowe dla gr. B | 1 | |
| B | nietypowe dla gr. B | nietypowe dla gr. B | — | |
| C | typowe dla gr. C | typowe dla gr. C | 8 | 10 |
| C | nietypowe dla gr. C | typowe dla gr. C | 1 | |
| C | typowe dla gr. C | nietypowe dla gr. C | 1 | |
| C | nietypowe dla gr. C | nietypowe dla gr. C | — | |
| D | typowe dla gr. D | typowe dla gr. D | 17 | 18 |
| D | nietypowe dla gr. D | typowe dla gr. D | — | |
| D | typowe dla gr. D | nietypowe dla gr. D | — | |
| D | nietypowe dla gr. D | nietypowe dla gr. D | 1 | |

ciu testów fizjologicznych oraz próby CAMP. Wśród zbadanych szczepów było 66, których nie udało się sklasyfikować serologicznie za pomocą posiadanych surowic B, C i D ani zaliczyć jednoznacznie do jakiegokolwiek grupy przy użyciu prób fizjologicznych, w tym próby CAMP. Pozostałe szczepy zaliczono do jednej

logiczne oraz właściwe zachowanie się w próbie CAMP.

Na ogólną liczbę 49 szczepów zaliczonych do grupy D na podstawie wyników prób fizjologicznych stosunkowo mało, bo 17, dawało odczyn dodatni z surowicą grupową swoistą D. Wynik ten przemawia za poglądem, iż w przy-

Tab. 3. Stopień zgodności badań biochemicznych i fizjologicznych z próbą CAMP i badaniami serologicznymi wg Lancefield

| Grupa na podstawie badań fizjologicznych | Zachowanie w próbie CAMP | Zachowanie precypitacji wg Lancefield | Liczba szczepów | Ogólna liczba szczepów w grupie |
|--|--------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------|
| D | typowe dla gr. D | nietypowe dla gr. D | 46 | 49 |
| D | nietypowe dla gr. D | nietypowe dla gr. D | 3 | |

padku tej grupy paciorkowców własności fizjologiczne stanowią bardziej istotne kryterium klasyfikacyjne niż wykazanie obecności grupowo-swoistego antygeny D. Opierając się na właściwościach fizjologicznych jako zasadniczym kryterium taksonomicznym, w oparciu o które zaklasyfikowano do grupy D 49 szczepów paciorkowców, zbadano je następnie przy pomocy próby CAMP i odczynu precypitacji. Porównanie zgodności wyników tych doświadczeń podano w tab. 3.

Z tab. 3 wynika, iż w większości przypadków zachowanie się w próbie CAMP jest zgodne z wynikami prób fizjologicznych. Natomiast na 49 szczepów badanych u 46 nie stwierdzono obecności antygeny grupowo-swoistego D. U trzech pozostałych szczepów nie wykazano również tego antygeny, a dodatkowo zachowywały się one nietypowo dla grupy D w próbie CAMP.

Wykazaną stosunkowo dużą niezgodność wyników precypitacji wg Lancefield i prób fizjologicznych można wytłumaczyć trudnością uzyskania dobrych surowic grupowo-swoistych D. Łączy się to z lokalizacją antygeny grupowego D między ścianą komórkową a cytoplazmą (1, 2, 10, 11, 13, 14), co zmniejsza immunogenność w porównaniu do innych grup paciorkowców, u których antygen grupowy zlokalizowany jest w wierzchniej warstwie komórki bakteryjnej. Jak stwierdzono też (9) do uzyskania większych ilości antygeny grupowo-swoistego D pomocne jest zagęszczenie ekstraktu kwaśnego wg Lancefield za pomocą wytrącenia alkoholem. Zabiegu tego nie stosowano w

badaniach własnych, dlatego szereg szczepów o słabiej wykształconym antygenie D mogło nie być wykrytych w oparciu o precypitacje wg Lancefield.

Reasumując wykazano, iż w odniesieniu do klasyfikacji szczepów grupy D wskazane jest wykonywanie równoczesne badań serologicznych oraz odczynu CAMP.

W przypadku grupy C wskazane jest przeprowadzanie głównie badań serologicznych, a o ile istnieją możliwości również określenie właściwości fizjologicznych. W przypadku grupy D przede wszystkim należy wykonać próby fizjologiczne i ewentualnie badania serologiczne, z uwzględnieniem jednakże zagęszczonych wyciągów antygenowych oraz surowic grupowo-swoistych o wysokim mianie przeciwciał precypitujących.

Piśmiennictwo

1. Elliot S. D.: J. exp. Med. 111, 621, 1960.
 2. Mijmans W.: J. gen. Microbiol. 28, 177, 1962.
 3. Kowalczyk S.: Medycyna Wet. 19, 468, 1963.
 4. Lancefield R. C.: J. exp. Med. 57, 571, 1933.
 5. Meyn A., Gedek W.: Ber. Münch. Tierärztl. Wschr. 75, 231, 1962.
 6. Moreira-Jacob M.: J. gen. Microbiol. 14, 263, 1956.
 7. Murphy J. M., Stuart O. M., Reed F. J.: Cornell Vet. 42, 133, 1952.
 8. Seelemann M.: Biologie der Streptokokken: Verlag Hans Carl, Nürnberg 1954.
 9. Shattock P. M. F.: J. gen. Microbiol. 3, 60, 1949.
 10. Shattock P. M. F., Smith D. G.: J. gen. Microbiol. 31, iv, 1963.
 11. Shockman G. D., Slade H. D.: J. gen. Microbiol. 37, 297, 1964.
 12. Stableforth A. W.: Streptococcal diseases. Diseases due to bacteria, vol. II, Butterfield Scientific Publisher, London, 1959.
 13. Truszczyński M.: Bakteriologia weterynaryjna, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 1969.
 14. Wicken A. J. i wsp.: J. gen. Microbiol. 31, 231, 1963.
 15. Wilson C. D., Slavian G.: J. Comp. Path. and Ther. 60, 230, 1950.
- Adres autora: prof. dr Marian Truszczyński, Puławy, Al. Partyzantów 57.

ANTONI SCHOLLENBERGER

Zjawiska immunologiczne w jelitach noworodków

Instytut Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynarii SGGW w Warszawie
Dyrektor: prof. dr J. MAZURCZAK

Jednym z częściej poruszanych problemów immunologicznych ostatnich lat są zjawiska odporności miejscowej błon śluzowych. Związane to jest z wyodrębnieniem, określeniem struktury i roli immunoglobulin klasy A (IgA) u niemal wszystkich gatunków zwierząt (20). Immunoglobuliny te udało się wykazać zarówno w surowicy, wydzielinach, jak i śluzie pokrywającym błony śluzowe. IgA znajdujące się w surowicy mają podobną wielkość cząsteczek i taką samą szybkość sedymentacji jak glo-

buliny IgG. Natomiast IgA obecne na powierzchniach błon śluzowych występują jako dimery pojedynczych molekuł i mają stałą sedymentacji 11S. Jedynie u psów wykazano w surowicy IgA w postaci dimerów (21). Istotną cechą różniącą IgA surowicy i śluzu jest posiadanie przez te ostatnie tzw. cząstek wydzielniczych (secretory pieces, oznaczanych w skrócie SP). Cząstki te mające charakter glikoprotein są wytwarzane przez komórki kubkowe i dołączane do molekuł białkowych w prze-