

Komorowski A., Zahaczewski J. — **The enzymatic lipolytic activity of anaerobic bacteria.**

There was studied the activity of lipases of anaerobic bacteria isolated from fish meals. Tween-20, 40, 60 and 80 served as substrates. There was found a high activity of lipases against Tween-40 (split by all 12 strains), lower against Tween-60 (split by 4 strains)

and Tween-80 (split by 2 strains). The strains under study did not split Tween-20. Hydrolysis of the esters of fatty acids run relatively slowly, following an intensive multiplication of the bacteria. This fact, as well as, a lack of crystallization in a diffusion test with the extracts free of cells point to an intracellular character of lipases produced by the strains examined.

TERESA MACIAK

Określenie przynależności gatunkowej drobnoustrojów z rodzaju *Lactobacillus* i *Streptococcus* gr. D (*Enterococcus*) izolowanych z przewodu pokarmowego prosiąt

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Warszawie

Prawidłowe funkcjonowanie przewodu pokarmowego w dużej mierze zależy od stanu ilościowego i jakościowego flory bakteryjnej oraz odpowiedniego stosunku różnych grup drobnoustrojów względem siebie. Do stałych „mieszkańców” przewodu pokarmowego należą między innymi drobnoustroje z rodzaju *Lactobacillus* i *Streptococcus* gr. D (*Enterococcus*). W pracy niniejszej podjęto badania nad określeniem przynależności gatunkowej wspomnianych drobnoustrojów wyizolowanych z różnych miejsc przewodu pokarmowego zdrowych, dotychczas nie leczonych prosiąt.

Materiał i metody

Drobnoustroje z rodzaju *Lactobacillus* i *Streptococcus* gr. D (*Enterococcus*) izolowano od 8—10 tygodniowych prosiąt rasy wielkiej białej angielskiej. Zwierzęta pochodziły z jednego gospodarstwa; identyczne warunki żywieniowe były zachowane. Stan zdrowia prosiąt nie odbiegał od normy fizjologicznej.

Wyżej wymienione bakterie izolowano z treści poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego (żołądek, j. czcze, j. biodrowe, j. ślepe, okrężnica) zwierząt, bezpośrednio po uśpieniu ich eunarkonem, skrwawieniu i otworzeniu jamy brzusznej.

Drobnoustroje z rodz. *Lactobacillus* hodowano na podłożu selektywnym podanym przez Schaedler'a i Dubos'a (21) z dodatkiem 0,3 ml Tween-80/l podłoża a enterokoki na podłożu stanowiącym modyfikację podłoża Schaedler'a i Dubos'a oraz Słanetz'a (12).

Warunki hodowli:

Lactobacillus 37°C — 48—72 godz. tlenowo
Streptococcus gr. D 37°C — 48 godz. tlenowo

Identyfikację drobnoustrojów przeprowadzono w oparciu o uzyskany wzrost na w/w podłożach stałych, przesiewy na odpowiednie podłoża płynne, testy biochemiczne i preparaty mikroskopowe.

Próbowi biochemicznym mającym na celu ustalenie przynależności gatunkowej poddano 200 szczepów drobnoustrojów z rodz. *Lactobacillus* i 200 szczepów enterokoków.

Określanie gatunków przeprowadzono na podstawie właściwości fizjologicznych i biochemicznych. W przypadku szczepów *Lactobacillus* badano: zdolność wytwarzania katalazy, gazu w glukozie, wzrost w temp. 15°C i 45°C, rozkład eksuliny, fermentację węglowodanów — arabinozy, celobiozy, laktozy, mannitolu, rafinozy, salicyny, sacharozy, trehalozy, ksylozy, mannozy, maltozy, galaktozy, ramnozy, sorbitolu, inuliny, inositolu, adonitolu, dulcytolu (3, 10, 17, 19, 20, 25). Dla ustalenia gatunków enterokoków pomocnymi były następujące kryteria: wzrost w temp. 10°C i 45°C, wzrost przy pH=9,6, wzrost w 6,5% NaCl, wzrost w 40% żółci, wzrost przy stężeniu tellurynu potasowego 1/2500, oporność na ogrzewanie w temp. 60°C przez 30 min., hemoliza β, hydroliza skrobi, silna redukcja mleka lakmusowego, rozrzedzanie żelatyny, fermentacja węglowodanów — mannitolu, sacharozy, rafinozy, sorbitolu, arabinozy, laktozy (3, 8, 9, 25).

Wyniki

Uzyskane wyniki zamieszczono w tab. 1 i 2. Badane szczepy *Lactobacillus* były katalazowo-ujemne. Mimo danych z literatury odnośnie

Tab. 1. Przynależność gatunkowa drobnoustrojów z rodzaju *Lactobacillus* wyizolowanych z treści przewodu pokarmowego prosiąt

Gatunek drobnoustroju	Ilość szczepów (%)
<i>L. acidophilus</i>	42
<i>L. plantarum</i>	22
<i>L. fermenti</i>	18
<i>L. brevis</i>	7
<i>L. casei v. casei</i>	7
Razem	100

do możliwości różnicowania poszczególnych gatunków drobnoustrojów z rodzaju *Lactobacillus* (6, 10, 19) i *Streptococcus* gr. D (1, 3, 13)

na podstawie charakteru wzrostu i wyglądu kolonii nie udało się poczynić podobnych obserwacji na zastosowanych w pracy podłożach stałych.

Tab. 2. Przynależność gatunkowa drobnoustrojów z rodzaju *Streptococcus* gr. D (*Enterococcus*) wyizolowanych z treści przewodu pokarmowego prosiąt

Gatunek drobnoustroju	Ilość szczepów (%)
<i>Str. faecium</i>	94
<i>Str. bovis</i>	6
Razem	100

W/w gatunki drobnoustrojów stwierdzano w treści wszystkich badanych odcinków przewodu pokarmowego prosiąt.

Omówienie wyników

Drobnoustroje z rodzaju *Lactobacillus* wchodzi w skład fizjologicznej flory jelitowej ssaków, ptaków i ryb. Najczęściej stwierdza się *L. acidophilus* lecz i inne gatunki *Lactobacillus* jak *L. fermenti*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. salivarius*, *L. buchneri* izolowano z przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt (11, 23, 24). Według Tarakanowa i Koleńki (23) przewaga pewnych gatunków *Lactobacillus* w żwaczku użytych przez autorów do doświadczenia buhajków zależała od składu karmy, którą skarmiono w/w zwierzęta doświadczalne.

Dominującym gatunkiem w przewodzie pokarmowym badanych przez autorkę prosiąt był również *L. acidophilus* (42% izolowanych szczepów), rzadziej stwierdzano *L. plantarum* (22%) oraz *L. fermenti* (18%), natomiast *L. brevis* i *L. casei v. casei* izolowano w jednakowym procencie (7%). Drobnoustroje te stwierdzano we wszystkich odcinkach przewodu pokarmowego.

Ujemny wynik próby na wytwarzanie katalazy przez szczepy *Lactobacillus* uzyskany w doświadczeniu zgodny jest z wynikami prac szeregu autorów (3, 10, 15). Natomiast wyniki badań Scheibnera (22) wskazują, że około 12,5% badanych szczepów *Lactobacillus* różnych gatunków w określonych warunkach wytwarza katalazę, ale na tworzenie jej ma wpływ podłoże, na którym hoduje się dany szczep. Podobnie Dacre i Sharpe (10) stwierdzili katalazę dodatnie szczepy w obrębie rodzaju *Lactobacillus* (*L. plantarum*).

Opinie autorów na temat występowania poszczególnych gatunków paciorkowców kałowych u różnych zwierząt i ludzi są podzielone. Według niektórych (2, 4, 7, 9, 16) dominującym typem w przewodzie pokarmowym świń jest *Str. faecium*; zdaniem innych (13, 18) — *Str. bovis*, choć *Str. faecium* izolowano też w porównywalnej liczbie (13). Dość często (4, 13) stwier-

dza się również *Str. liquefaciens*, nieco rzadziej natomiast *Str. faecalis*.

Zdaniem Mieth'a (13) występowanie poszczególnych gatunków enterokoków jest w większym stopniu związane z odżywianiem niż gatunkiem zwierzęcia. Żywnienie zdaje się mieć duży wpływ na obecność określonych gatunków enterokoków w treści przewodu pokarmowego (8, 14, 26).

Z zamieszczonych wyżej rezultatów badań wynika, że dominującym gatunkiem w przewodzie pokarmowym badanych prosiąt jest *Str. faecium* (94%); znacznie rzadziej stwierdzano natomiast *Str. bovis* (6%). Szczepy te izolowano ze wszystkich odcinków przewodu pokarmowego, przy czym występowały one równolegle obok siebie. Potwierdza to opinię Mieth'a (13, 14) o równoczesnym występowaniu obok siebie kilku gatunków enterokoków i o stwierdzeniu ich we wszystkich odcinkach przewodu pokarmowego.

Wnioski

1. W przewodzie pokarmowym zdrowych prosiąt stwierdzono:

a) z rodzaju *Lactobacillus* — *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. fermenti*, *L. brevis*, *L. casei v. casei*,

b) z rodzaju *Streptococcus* gr. D — *Str. faecium*, *Str. bovis*.

2. Wyizolowane szczepy występowały we wszystkich odcinkach przewodu pokarmowego.

Piśmiennictwo

- Barnes E. M.: J. gen. Microbiol. 14, 57, 1956.
- Barnes E. M., Ingram M.: cyt. za Mieth H.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 179, 456, 1960.
- Brubianka M., Pliszka A.: Mikrobiologiczne metody badania produktów żywnościowych, PZW, 1971.
- Buttiaur R.: Annls Inst. Pasteur, Paryż 94, 778, 1958.
- Dacre J. D., Sharpe M. E.: Nature 178, 700, 1956.
- Davis G. H. G., Bisset K. A., Hale C. M. F.: J. gen. Microbiol. 13, 68, 1955.
- Fewings B. G., Newland L. G. M., Briggs C. A. E.: J. appl. Bact. 20, 234, 1957.
- Jacobsen B.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 189, 261, 1963.
- Kafel S., Ayres J. C.: Medycyna Wet. 20, 668, 1964.
- Lerche M., Reuter G.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 185, 446, 1962.
- Lerche M., Reuter G.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 185, 446, 1962.
- Maciak T.: Medycyna Wet. 23, 643, 1972.
- Mieth H.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 179, 456, 1960.
- Mieth H.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 183, 68, 1961.
- Mitsuoka T., Segal T., Jamamoto S.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 195, 455, 1965.
- Moutoussis K., Papavassilion J., Samaraki V.: Acta Microbiol. Hell. 3, 231, 1958.
- Pech H., Müller H.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 185, 53, 1962.
- Raibaud P., Caulet M.: C. R. Acad. Sc. Paris, 244, 1921, 1957.
- Rogosa M., Wiseman R. F., Mitchell J. A., Disraeli M. N., Beaman A. J.: J. Bact. 65, 681, 1953.
- Rogosa M., Sharpe E.: J. Appl. Bact. 22, 329, 1959.
- Schaedler R. W., Dubos R., Castello R.: J. exp. Med. 122, 54, 1965.
- Scheibner G.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 185, 482, 1962.
- Tarakanow B. W., Kolenko E. J.: Wietierinaria, Moskwa, 42, 22, 1965.
- Werner H.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 193, 331, 1964.
- Wilson G. S., Miles A. A.: Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. London, Edward Arnold (Publishers) LTD 1957.
- Wilssens A., Buttiaur R.: Annals. Inst. Pasteur, Paryż 94, 332, 1958.

Adres autora: dr Teresa Maciak, 02-156 Warszawa, ul. Lechicka 21.