

JACEK KRÓLIŃSKI, DANUTA DZIERŻANOWSKA

Wstępne obserwacje nad występowaniem serologicznych typów szczepów *Pseudomonas aeruginosa* w nasieniu i w wypluczynach z napletka buhajów

Z Kliniki Położniczej Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt
Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu
Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Biostruktury AM w Białymstoku

Pałeczka ropy błękitnej — *Pseudomonas aeruginosa* — to drobnoustrój względnie chorobotwórczy, stosunkowo często występujący w glebie, wodzie i w organizmach żywych. Szerokie rozpowszechnienie tego zarazka w przyrodzie jest możliwe dzięki daleko idącemu przystosowaniu do niekorzystnych dla niego warunków bytowania. W wyniku obniżenia sił obronnych organizmu na skutek toczącego się pierwotnie procesu chorobowego, niektóre szczepy tych drobnoustrojów mogą wtórnie wniknąć przebieg wielu schorzeń u ludzi i zwierząt, wywołując procesy ropne, zapalenie dróg moczowych, opon mózgowych, ucha środkowego, płuc, przewodów pokarmowych, wymienia, narządu rodowego i układu płciowego samców (5, 12, 13, 15). Znane są przypadki zejść śmiertelnych, będących następstwem schorzeń o przebiegu posocznicy, wywołanych przez *Pseudomonas aeruginosa* (9). Zakażenia wnikające przez omawiane bakterie z dużym trudem dają się opanować z uwagi na wytworzenie się szczepów opornych na powszechnie stosowane w praktyce antybiotyki. Okazuje się, że wśród pałeczek ropy błękitnej izolowanych w naszym kraju, znajdują się już szczepy odporne na nowe antybiotyki aminoglikozydowe tj. gentamycynę (22% szczepów), sisomycynę (10% szczepów), tobramycynę i amikacynę — 4% szczepów (3). Poza gentamycynę i sporadycznie tobramycynę inne antybiotyki aminoglikozydowe nie były jeszcze w Polsce stosowane.

Z patogennością *Pseudomonas aeruginosa* wiązane takie substancje jak barwniki, enzymy proteolityczne, zewnątrzkomórkowe składniki śluzu, toksyny zewnątrzkomórkowe i tylko w niewielkim stopniu endotoksyny (4). Dotychczas nie wyjaśniono ostatecznie wszystkich spraw związanych z toksycznością tych zarazków.

W ostatnich latach zaznacza się wzrost roli omawianych bakterii w patologii człowieka i zwierząt, a także w przechowalnicztwie żywności. Z obserwacji własnych i innych autorów wynika, że stosunkowo duży odsetek prób nasienia oraz wypluczyn z worka napletkowego buhajów zanieczyszczonych jest pałeczkami ropy błękitnej (1, 8, 10, 17).

W dostępnym piśmiennictwie krajowym nie znaleźliśmy wzmianek o badaniach nad serotypami *Pseudomonas aeruginosa* wyizolowanymi

z materiału zwierzęcego. Również niewielu autorów zagranicznych zajmowało się tym zagadnieniem (14, 16, 18). Wśród nich Hubrig (7) zidentyfikował nowy typ serologiczny (h) w nasieniu buhajów. Wymienione względy skłoniły nas do podjęcia wstępnych badań, mających na celu określenie typów serologicznych *Pseudomonas aeruginosa* oraz częstotliwość ich występowania w nasieniu i wypluczynach z worka napletkowego buhajów.

Materiał i metody

Do badań użyto 60 szczepów *Pseudomonas aeruginosa* wyizolowanych z 21 prób nasienia i 39 prób wypluczyn z worka napletkowego uzyskanych od 60 reprodaktorów. Buhaje w różnym wieku, rasy ncb i nczb zgrupowane były w dwóch Stacjach Hodowli i Unasienniania Zwierząt, dwóch Centralnych Wychowalniach oraz w punktach kopolacyjnych zlokalizowanych na terenie Dolnego Śląska.

Ejakulatory pobierano za pomocą sztucznej pochwy według ogólnie przyjętych zasad, zaś wypluczyny z worka napletkowego uzyskiwano przy użyciu metalowych kateterów zakończonych gruszką gumową. Do wypluczyn używano płynu diagnostycznego, w skład którego wchodził bulion mięsny, pepton, NaCl oraz NaOH. Materiał diagnostyczny (ejakulatory i wypluczyny) wysiewano na podłoża stałe (agar wzbogacony dodatkiem 5% odwiłkniętej krwi baraniej) i inkubowano w temperaturze 37°C w ciągu 48 godzin. Pałeczki *Pseudomonas aeruginosa* identyfikowano na podstawie wyglądu wyrosniętych kolonii, ich zabarwienia, właściwości hemolizujących, charakterystycznego zapachu oraz mikroskopowego badania preparatów zabarwionych metodą Grama. Do czasu serologicznego oznaczenia wyizolowane i oczyszczone szczepy przetrzymywano w temperaturze 4°C po czym, po ponownym przesianiu i 24 godzinnej inkubacji, przesyłano do typowania. Uzyskane szczepy typowano serologicznie według schematu podanego przez Habsa (6). Do oznaczeń techniką aglutynacji szkiełkowej stosowano zawiesiny żywych komórek bakteryjnych. Surowice anty O uzyskiwano drogą immunizacji królików według schematu zaproponowanego przez Mikkelsona (11).

Wyniki i omówienie

Doświadczenia wykazały (tab. 1), że w nasieniu i wypluczynach z worka napletkowego zdrowych buhajów dominowały szczepy *Pseudomonas aeruginosa* należące do serotypów 2/5 (33,3% prób), 6 (21,6% prób) i 3 (20% prób), zaś pozostałe serotypy 3/6, 4 i 9 były mniej licznie reprezentowane (5—10% prób). W ejakulatach występowały tylko dwa serotypy: 6 (57,1% prób) oraz 2/5 (42,8% prób). Spośród sześciu serotypów występujących w materiale z napletka najczęściej obserwowano serotyp 3 (30,6% prób)

Tab. 1. Wyniki typowania serologicznego wyizolowanych szczepów *Pseudomonas aeruginosa*

Buhaje	Pochodzenie szczepów	Ilość wyizolowanych szczepów	Stwierdzone serotypy											
			2/5		3		3/6		4		6		9	
			ilość prób	%	ilość prób	%	ilość prób	%	ilość prób	%	ilość prób	%	ilość prób	%
Inseminacyjne	nasienie wypluczyny	16	5	31,2	—	—	—	—	—	—	11	68,7	—	—
		10	5	50,0	1	10,0	3	30,0	—	—	1	10,0	—	—
Aukcyjne	nasienie wypluczyny	4	3	75,0	—	—	—	—	—	—	1	25,0	—	—
		19	4	21,0	10	52,6	3	15,7	2	10,5	—	—	—	—
Kopulacyjne	nasienie wypluczyny	1	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		10	2	20,0	1	10,0	—	—	4	40,0	—	—	3	30,0

i 2/5 (28% prób), rzadziej natomiast serotyp 3/6 (po 15,3% prób) oraz serotyp 9 (7,8 prób).

Zastanawiająca wydaje się obecność w ejakulatach jedynie dwóch serotypów przy równoczesnym stwierdzeniu sześciu w wypluczynach. Ponieważ istnieje ogólne przekonanie, że napletek jest głównym siedliskiem mikroflory zanieczyszczającej nasienie należałoby sądzić, że w ejakulatach występować powinny identyczne serotypy bakterii co w napletku. Jeżeli tak nie jest to, najprawdopodobniej materiał z worka napletkowego został wtórnie zanieczyszczony pałeczkami *Pseudomonas aeruginosa* pochodzącymi ze środowiska zewnętrznego tzn. z okrywki włosowej buhaja, kurzu itp. Otrzymane wyniki wydają się świadczyć o łatwiejszym rozprzestrzenianiu jednego serotypu zarazka w dużych skupiskach buhajów. Na obecnym etapie doświadczalnym wyciąganie właściwych wniosków uważać należy za przedwczesne z uwagi na niewielką liczbę przeprowadzonych badań.

Z przeglądu skąpego piśmiennictwa na temat ilości i częstotliwości występowania serologicznych typów pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* pochodzenia zwierzęcego wynika, że najczęściej izolowano serotypy 3, 6 i 2/5 (16, 18). Podobne wyniki uzyskano w doświadczeniach własnych. Badania wykonane przez Dzierżanowską (2, 3) na szczepach *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych od ludzi chorych, nosicieli oraz wyosobnionych ze środowiska szpitalnego wykazały w przeważającej ilości prób obecność szczepów należących do serotypów 6, 4 i 2/5. Autorka stwierdziła dodatnią korelację między częstotnością izolowania serotypu 4 z materiału pochodzenia ludzkiego i zwierzęcego. Najprawdopodobnie fakt ten pozostaje w związku z rolniczym charakterem regionu, na terenie którego były prowadzone badania. Dotychczas brak jest informacji na temat związku pomiędzy budową serologiczną a zjadliwością pałeczki ropy błękitnej. Wiadomo natomiast, że zjadliwość tych szczepów zarazków wiąże się głównie ze zdolnością do wytwarzania toksyn lub enzymów zewnątrzkomórkowych. Celem najbliższych badań autorów będzie określenie wpływu różnych serotypów *Ps. aeruginosa* na efekty zapłodnienia.

Piśmiennictwo

- Balaso N. G., Bytakov A. K., Jevčenko L. V.: Veterinaria, Moskwa 53, 83, 1977.
- Dzierżanowska D.: Pseudomonas News Letter 3, 29, 1978.
- Dzierżanowska D.: Pol. Tyg. lek. 33, 929, 1978.
- Dzierżanowska D.: Post. Mikrobiol. 17, 81, 1978.
- Getty S. M., Ellis D. J.: J. Am. vet. med. Ass. 151, 1688, 1967.
- Habs J.: Z. Hyg. Infekt. Kr. 144, 218, 1957.
- Hubrig Th.: Proc. IV th intern. Congr. anim. Reprod. Hague 511, 1691.
- Korpolińska M.: Medycyna Wet. 29, 475, 1973.
- Kozłowski S.: Medycyna Wet. 27, 234, 1971.
- Króliński J., Obuchowska-Duś B.: Medycyna Wet. 31, 3, 1975.
- Mikkelsen O. S.: Acta path. microbiol. scand. 73, 373, 1968.
- Püschner J., Toepfer H.: Tierärztl. Umsch. 22, 611, 1967.
- Ramisz A., Damm A., Wójcikiewicz S., Stastk A.: Medycyna Wet. 23, 741, 1967.
- Sandvik O.: Acta path. microb. scand. 48, 56, 1960.
- Skurski A.: Bakteriologia weterynaryjna. Skrypt AR we Wrocławiu.
- Thörne H., Kyrkjebo A.: Acta vet. scand. 7, 289, 1966.
- Wierzbowski A., Schmuđ D.: Medycyna Wet. 32, 339, 1976.
- Wokatsch R.: Zentbl. Bakt. Parasitkde I. 192, 468, 1964.

Adres autora: dr Jacek Króliński, ul. Żmigrodzka 79/1, 51-130 Wrocław.

Крулиньский Я., Держановская Д. — Вступительные наблюдения по появлению серологических типов *Pseudomonas aeruginosa* в семени и вымывах из препуция быков.

Цель исследований, проведенных на 60 быках, состояла в определении частоты появления различных серотипов палочек *Pseudomonas aeruginosa* в эякулятах и вымывах из препуциального мешка быков. Полученные штаммы типизировали серологически по схеме, приведенной Хабсом. В семени обнаружены наличие серотипа 6 (57,1% проб) и 2/5 (42,8% проб). Среди 6 серотипов, появляющихся в материале из препуция, чаще всего наблюдали серотип 3 (30,6% проб) и 2/5 (28% проб), реже — серотип 3/6 и 4 (по 15,3% проб), а также серотип 9 (7,8% проб).

Króliński J., Dzierżanowska D. — Preliminary observations of the occurrence of serotypes of *Pseudomonas aeruginosa* in semen and prepuce rinsing of bulls.

The purpose of the studies was to determine the occurrence of various serotypes of *Pseudomonas aeruginosa* in ejaculates and rinsings from the prepuces of 60 bulls. The strains obtained were serologically classified according to the scheme given by Habs. In the semen the presence of serotype 6 (57.1% of assays) and 2/5 (42.8% of assays), more rarely serotype 3/6 and 4 (15.3% of assays each) and serotype 9 (7.8% of assays) was found. Of the six serotypes occurring in the material from the prepuce the most frequently observed were: serotype 3 (30.6% of assays) and 2/5 (28% of assays), more rarely serotype 3/6 and 4 (15.3% of assays each), and serotype 9 (7.8% of assays).