

49. Pendland J. C., Boucias D. G.: Expl. Comp. Immunol. 9, 21, 1985.
50. Poinar G. O. jr., Hess R. T., Peterson J. J.: J. Nematol. 11, 110, 1979.
51. Poinar G. O. jr., Leutenegger R., Gotz P.: J. Ultrastruct. Res. 25, 239, 1968.
52. Poinar G. O. jr., Leutenegger R. J.: J. Ultrastruct. Res. 36, 149, 1971.
53. Powling R. F., Davidson W. J.: Comp. Biochem. Physiol. 45B, 669, 1973.
54. Qu X., Steiner H., Engström A., Bennich H., Boman H. G.: Eur. J. Biochem. 127, 219, 1982.
55. Ratcliffe N. A., Gagen S. J.: J. Invert. Path. 28, 373, 1976.
56. Ratcliffe N. A., Walters J. B.: J. Insect Physiol. 29, 407, 1983.
57. Ratnes S., Vinson S. B.: J. Insect Physiol. 29, 855, 1983.
58. Rheins L. A., Karp R. D.: J. Invert. Path. 40, 190, 1982.
59. Rheins L. A., Karp R. D., Butz A.: Dev. comp. Immunol. 4, 447, 1980.
60. Salt G.: Parasitology 53, 527, 1963.
61. Salt D. G.: The cellular defence reactions of insects. Cambridge Monogr. Exp. Biol. Cambridge Univ. Press 16, 118, 1970.
62. Shapiro M. J.: J. Invert. Path. 10, 230, 1968.
63. Smit A. R., Ratcliffe N. A.: J. Insect Physiol. 24, 511, 1978.
64. Söderhall K.: Dev. comp. Immunol. 6, 601, 1982.
65. Söderhall K., Hall L., Unestam T., Nyhlen L.: J. Invert. Path. 34, 285, 1979.
66. Steiner H., Hultmark D., Engstrom A., Bennich H., Boman H. G.: Nature, Lond. 292, 246, 1981.
67. Stephens J. M.: Can. J. Microbiol. 8, 491, 1962.
68. Stephens J. M.: Can. J. Microbiol. 8, 597, 1962.
69. Stephens J. M., Marshall J. H.: Can. J. Microbiol. 8, 719, 1962.
70. Stylen D., Peferoen M., De Loof A.: J. Insect Physiol. 28, 465, 1982.
71. Tauber O. E.: Ann. Ent. Sci. Amer. 83, 113, 1940.
72. Teshima T., Ueki Y., Nakai T., Shiba T., Kikuchi M.: Tetrahedron 42, 829, 1986.
73. Thomas I. G., Ratcliffe N. A.: Dev. comp. Immunol. 6, 643, 1982.
74. Qu X., Steiner H., Engstrom A., Bennich H., Boman H. G.: Europ. J. Biochem. 127, 219, 1982.
75. Vinson G. B.: J. Invert. Path. 18, 94, 1971.
76. Zachary D., Hoffmann D.: J. Insect Physiol. 30, 405, 1984.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Gliński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

KAZIMIERZ BUKOWSKI, ANTONI JAKUBCZAK*, JANUSZ TYBOROWSKI*

Właściwości fizjologiczne bakteriocynogennych i bakteriocynowrażliwych szczepów z rodzaju *Campylobacter**)

Zakład Mikrobiologii Instytutu Biologii Stosowanej Wyższej Szkoły Rolniczo-Pedagogicznej,
ul. Prusa 12, 08-110 Siedlce

* Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej, Nowogrodzka 160, 18-401 Łomża

Pierwszy gruntowny opis antagonizmu dwóch szczepów bakteryjnych na przykładzie *Escherichia coli* przedstawił belgijski badacz Gratia w 1925 r. (9). Autor wyizolował substancję inhibicyjną ze szczepu *Escherichia coli* i nazwał ją kolicyną. Działała ona również na inne szczepy tego samego gatunku (9, 10).

Do chwili obecnej poznano wiele różnych bakteriocyn: enterokokcyne, erwiniacyne, kolicynę, megacyne, kloakcyne, marcescynę, mikrokokcyne, pestycynę, piocyny, stafylokokcyny, vibriocyny (2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 15, 16, 23). Wiele doniesień dotyczy działania grokowców i ich stafylokokcyne na maczugowce błonicy, listerie i laseczki (12, 13). Spotkane są też doniesienia dotyczące wytwarzania bakteriocyn przez laseczki rodzaju *Clostridium*, a także pałeczki rodzaju *Yersinia* (15, 17, 21). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono natomiast prac dotyczących wytwarzania bakteriocyn przez bakterie rodzaju *Campylobacter*.

Bakteriocyny stanowią grupę związków o charakterze antybiotyku białkowego lub zbliżonego do białek. Są to specyficzne substancje, gdyż wykazują aktywność w stosunku do wąskiej grupy bakterii.

W ostatnich latach ukazały się liczne doniesienia traktujące o przydatności bakteriocyn do identyfikacji bakteryjnych szczepów, a także wykorzystaniu ich dla celów dociekań epidemiologicznych (5, 11, 17, 18, 19, 22). Obszerne piśmiennictwo dotyczy zwłaszcza typowania gatunków w obrębie rodziny *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* oraz rodzaju *Corynebacterium* i *Staphylococcus* (5, 11, 18, 19).

*) Praca wykonana w programie CPBP 04.02.

Oddzielnym problemem jest stworzenie *in vitro* warunków umożliwiających wytwarzanie bakteriocyn przez badane szczepy bakteryjne. W tym celu konieczne jest użycie odpowiednich podłoży bakteryjnych oraz stosowanie określonych warunków hodowli bakteryjnych np. szczepy bakteryjne z rodzaju *Yersinia* wytwarzają bakteriocyny na podłożu Müller-Hinton, natomiast pałeczki *Pseudomonas aeruginosa* na podłożu tryptone soya agar f-my Oxoid. Szczepy *Yersinia* produkują bakteriocyny w temperaturze 25°C, natomiast szczepy *Pseudomonas aeruginosa* w temperaturze 32°C.

Celem pracy jest stwierdzenie, czy w obrębie rodzaju *Campylobacter* występują szczepy bakteriocynogenne i bakteriocynowrażliwe oraz określenie ich właściwości fizjologicznych.

Materiały i metody

Szczepy. Do badań użyto 18 szczepów *Campylobacter sputorum subspecies sputorum*, 30 szczepów *Campylobacter sputorum subspecies bubulus*, 6 szczepów *Campylobacter sputorum subspecies mucosalis*, 1 szczep *Campylobacter fetus subspecies fetus*, 1 szczep *Campylobacter fetus subspecies veneralis*. Łączna liczba badanych szczepów wynosiła 56.

Podłoża. Do namnażania i przechowywania szczepów zastosowano podłoża tioglikolanowe, Bartletta (20) oraz EM (1). Właściwości biochemiczne określono testem API 20A. Do oceny wpływu barwników na badane szczepy użyto zieleni brylantowej, fioletu krystalicznego, fuksyny zasadowej i błękitu metyloвого rozpuszczonych w podłożu tioglikolanowym w stężeniu 0,1%. Do wykrywania bakteriocyn używano podłoża EM, agaru czekoladowego z dodatkiem 10% odwiłknionej krwi baraniej oraz podłoża Müller-Hinton. Posiewy inkubowano w anerostatach krajowych i f-my BioMerieux. Warunki potrzebne do hodowli mikroaerofili, do których należą bakterie z rodzaju

Campylobacter otrzymano posługując się zestawami Gas-box lub umieszczając w anerostacie próbkę zawierającą 800 mg kwasu cytrynowego i 800 mg węglanu sodu oraz warstwę ściśle ubitej waty, tuż przed zamknięciem anerostatu do próbki nalewano 8 ml wody destylowanej.

W celu określenia bakteriocynogenności wszystkich badane szczepy hodowano najpierw na podłożu EM w temperaturze 25, 39, 42°C. Następnie wysiewano je metodą lakun punktowo na agar czekoladowy (płytki Petriego o średnicy 10 cm.). Płytki inkubowano w temperaturze 25, 39, 42°C w ciągu 48 godzin. Następnie posiewy poddawano działaniu chloroformu przez 30 minut. Po wywietrzeniu płytek całość powierzchni pokrywano 10 ml podłoża Müller-Hintona wymieszanego z dwoma mililitrami zawiesiny badanego szczepu o gęstości $1,4 \times 10^6$ bakterii w 1 ml. Hodowlę prowadzono w temperaturze 25, 39, 42°C w ciągu 24 i 48 godzin. Po tym czasie dokonywano odczytów. Obecność stref zahamowania w miejscach odpowiednich posiewów punktowych tzw. lakun w granicach 2–5 mm świadczyła o wytwarzaniu bakteriocy-ny. Każde badanie powtarzano 3-krotnie. Powtarzalne wyniki badania bakteriocynogenności szczepów otrzymano wtedy, gdy wysiewu szczepów bakteriocynogennych na agar czekoladowy dokonywano z podłoża EM (1) po 48 godzinach inkubacji w temperaturze 39°C.

Tab. 1. Bakteriocynogenne, bakteriocynowrażliwe i bakteriocynooporne szczepy *Campylobacter*

Podgatunek	Liczba szczepów		
	bakterio- cynogenne	bakterio- cyno- wrażliwe	bakterio- cynooporne
<i>sputorum</i>	2	8	8
<i>bubulus</i>	—	—	39
<i>mucosalis</i>	—	—	6
<i>fetus</i>	—	—	1
<i>veneralis</i>	—	—	1
Razem	2	8	46

Tab. 2. Właściwości fizjologiczne bakteriocynogennych, bakteriocynowrażliwych i bakteriocynoopornych szczepów *Campylobacter*

Rodzaj próby	Szczepy		
	bakterio- cynogenne	bakterio- cynowrażliwe	bakterio- cynooporne
Mannitol	+	—	—
Mannozo	+	—	—
Trehaloza	—	+	—
Wzrost przy 0,1%			
— zieleni brylantowej	+	—	+
— fuksynie zasadowej	+	—	+
— fiolecie krystalicznym	—	—	—
— błękiecie metylowym	+	+	+

Objaśnienia: — nie fermentuje lub nie rośnie, + fermentuje lub rośnie.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki badania zjawiska bakteriocynogenności szczepów rodzaju *Campylobacter* oraz ich właściwości fizjologicznych zawarte są w tab. 1, 2.

Tabela 1 przedstawia wyniki oceny bakteriocynogenności badanych szczepów rodzaju *Campylobacter*. Z przedstawionych danych wynika, że wśród badanych szczepów *Campylobacter sputorum subspecies sputorum* stwierdzono 2 szczepy bakteriocynogenne, 8 szczepów bakteriocynowrażliwych i 8 szczepów bakteriocynoopornych. Pozostałe szczepy nie reagowały z bakteriocynogennymi, ani nie wytwarzały bakteriocy-ny. Przedstawione wyniki pozwalają sądzić, że szczepy *Campylobacter* wytwarzają bakteriocy-ny. Bakteriocy-ny te można by nazwać kamylocynami.

Tabela 2 ilustruje właściwości fizjologiczne bakteriocynogennych, bakteriocynowrażliwych i bakteriocynoopornych szczepów *Campylobacter*. Z tabeli 2 wynika, że szczepy bakteriocynogenne były odporne na zielen brylantową, fuksynę zasadową oraz błękit metylowy w stężeniu 0,1% wrażliwe natomiast na fiole krystaliczny w stężeniu 0,1%, fermentowały mannitol, mannozę, nie fermentowały trehalozę. Szczepy bakteriocynowrażliwe nie fermentowały mannitolu, mannozy, ale fermentowały trehalozę. Ponadto za wyjątkiem błękitu metylowego były wrażliwe na pozostałe barwniki w stężeniu 0,1%. Szczepy bakteriocynooporne nie fermentowały żadnego z węglowodanów, natomiast w stosunku do barwników zachowywały się analogicznie jak szczepy bakteriocynogenne.

Wnioski

1. Stwierdzono, że szczepy z rodzaju *Campylobacter* wytwarzają kamylocynę.

2. Do wykrywania kamylocyny przydatny jest agar czekoladowy, jeśli posiewy wykonuje się z 48 godzinnej hodowli szczepu na podłożu EM inkubowanej w temperaturze 39°C.

3. Bakteriocynogenne szczepy *Campylobacter sputorum subspecies sputorum* wykazują odmienne właściwości fizjologiczne w porównaniu z bakteriocynowrażliwymi szczepami tego samego gatunku.

Piśmiennictwo

- Balakrish Nair G., Chowdhury S. P., Das S., Pal S. C.: J. clin. Microbiol. 19, 298, 1964.
- Bradley D. E.: Bacteriol. Rev. 31, 230, 1967.
- Brubaker R. R., Surgalla M. J.: J. Bacteriol. 82, 940, 1961.
- Bugański R.: Charakterystyka gronkowców złośliwych wykazujących właściwości antagonistyczne. Praca dokt. AM Gdansk. 1972.
- Bukowska D., Serafińska D., Nasitowski W., Ziętkiewicz W.: Pol. Tyg. lek. 31, 1107, 1976.
- Bukowski K., Jakubczak A., Tyborowski J.: Mat. Nauk. XXI Zjazdu PTM, Olsztyn 1987, s. 137.
- Farkas-Hunsley H., Seyfried P. L.: Can. J. Microbiol. 9, 329, 1963.
- Farkas-Hunsley H., Seyfried P. L.: Can. J. Microbiol. 9, 339, 1963.
- Gratia A.: C. R. Soc. Biol. 93, 1040, 1925.
- Gratia A.: C. R. Soc. Biol. 140, 1053, 1946.
- Halliewell G., Sweet C.: J. Gen. Microbiol. 77, 363, 1973.

12. Hamon Y., Peron Y.: Annals Institut Pasteur 103, 876, 1962.
13. Hamon Y.: Annals Institut Pasteur, Suppl. 5, 18, 1964.
14. Holland I. B., Roberts C. F.: J. Gen. Microbiol. 31, 271, 1964.
15. Kuldip K. S., Bottone E. J., Pisano M. A.: J. clin. Microbiol. 17, 511, 1983.
16. Lachowicz T.: Med. Dośw. 11, 233, 1959.
17. Mahony D. E.: Appl. Microbiol. 28, 172, 1974.
18. Muszyński Z.: Exp. Med. Microbiol. 23, 301, 1971.
19. Pulverer G., Sieg J. F.: Zbl. Bakt. A. 222, 446, 1972.
20. Rostanowski K.: Choroba metwikowa bydła. PWRiL, Warszawa, 1981.
21. Schiemann D. A., Olson S. A.: Appl. env. Microbiol. 48, 539, 1984.
22. Serafińska D., Bukowska D., Ziętkiewicz W., Nasitowski W.: Pol. Tyg. lek. 31, 1873, 1976.
23. Tagg J. R., Dajani A. S., Wannamaker L. W.: J. Gen. Microbiol. 77, 363, 1973.

Adres autora: prof. dr hab. Kazimierz Bukowski, ul. Bieleńska 4 m. 79, 00-035 Warszawa

Буковский К., Якубчак А., Тыборовский Я. — Физиологические свойства бактериоциногенных и бактериоциночувствительных штаммов из рода *Campylobacter*

Цель работы состояла в установлении, образуют ли штаммы из рода *Campylobacter* бактериоцины, и определении физиологических свойств этих штаммов.

На основе проведенных исследований отметили, что штаммы *Campylobacter* образуют бактериоцины. Условием для показа присутствия бактериоцина является предвзятельное размножение штаммов на среде ЕМ в темп. 39°C. Бактериоциногенные штаммы оказались устойчивыми к бриллиантовой зелени, щелочному фуксину, метиловому синию в концент-

рации 0,1%, а чувствительными к кристаллическому фиолету в концентрации 0,1%, ферментировали маннитол, маннозу, не ферментировали трегалозу. Бактериоциночувствительные штаммы ферментировали только трегалозу и были чувствительны к применяемым красителям за исключением метилового синия. Бактериоциноустойчивые штаммы не ферментировали ни одного из углеводов, относительно же 4 примененных красителей вели себя аналогично как бактериоциногенные штаммы. Для бактериоцина, образуемого штаммами *Campylobacter*, предлагается название кампилоцин.

Bukowski K., Jakubczak A., Tyborowski J. — Physiological characteristics of bacteriocine-producing and bacteriocine-sensitive strains of *Campylobacter* sp.

The purpose of the work was to assess whether *Campylobacter* strains produce bacteriocines and determine physiological properties of those strains. It was found that *Campylobacter* strains produce bacteriocines under appropriate conditions, i.e. the growth of those strains should be on EM media at 39°C. The strains proved to be resistant to brilliant green, alkaline fuchsin and methylene blue at a concentration of 0.1%, and sensitive to crystal violet (0.1%); they fermented mannitol and mannose but not trehalose. Bacteriocine-sensitive strains fermented only trehalose and were sensitive to dyes except methylene blue. Bacteriocine-resistant strains did not split any carbohydrate though in respect to dyes they behaved like other bacteriocine-producing strains. The authors suggest to designate bacteriocine produced by *Campylobacter* strains as campylocine.

BRONISŁAW KOZAKIEWICZ, IZABELLA MASZEWSKA

Ekstensywność inwazji *Cryptosporidium* sp. u cieląt z objawami biegunki w gospodarstwach wielko stadnych

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Grunwaldzka 250, 60-166 Poznań

Kokeydia z rodzaju *Cryptosporidium* (*Apicomplexa*; *Cryptosporidiidae*) są małymi (4—6 µm) pierwotniakami pasożytniczymi, które występują u różnych kręgowców, w tym również u człowieka, zwłaszcza u osób z zespołem nabytego upośledzenia odporności (AIDS), co wynika z badań wielu autorów (1, 3, 5, 6, 11, 14, 29, 30, 32, 33). Pierwszy opisał *Cryptosporidium* Tyzzer, który w 1907 r. stwierdził *C. muris* w żołądku myszy (35). Jednak dopiero w ostatnich latach w wielu ośrodkach naukowych na różnych kontynentach przystąpiono do intensywnych badań tej pasożytozy u ludzi i zwierząt.

Panciera i wsp. w 1971 r. po raz pierwszy stwierdzili *Cryptosporidium* sp. u bydła w Stanach Zjednoczonych Ameryki (21). Następnie Barker i wsp. w pracy opublikowanej w 1974 r. wykazali obecność *Cryptosporidium* sp. u bydła i owiec w Australii (4). W 1976 r. ukazała się publikacja Morina i wsp., którzy opisali inwazję *Cryptosporidium* sp. u cieląt w Kanadzie (19). Natomiast Pearson i wsp. w 1978 r. stwierdzili kryptosporydiozę u cieląt w Wielkiej Brytanii, a tym samym dopiero niedawno po raz pierwszy została opisana inwazja *Cryptosporidium* sp. u bydła w Europie (24).

W uzupełnieniu powyższych danych należy podać, że Nimé i wsp. w 1976 r. po raz pierwszy stwierdzili *Cryptosporidium* sp. u człowieka, a mianowicie u 3 1/2 letniego dziecka z objawami biegunki (20).

Zdumiewający jest fakt, że od odkrycia *Cryptosporidium* przez Tyzzer (35) — przez kilkadziesiąt lat inwazja tego pasożyta nie przyciągała uwagi, chociaż pasożytoza ta musiała od dawna stanowić istotny problem epizootologiczny i epidemiologiczny nie tylko w Europie, ale również na pozostałych kontynentach.

Badania wielu autorów wykazały, że inwazja *Cryptosporidium* sp. wywołuje u cieląt biegunki od łagodnej do bardzo ostrej, o wysokiej zachorowalności, a niskiej śmiertelności (12, 13, 15, 18, 22, 23, 30, 32, 33).

Celem pracy było określenie ekstensywności inwazji *Cryptosporidium* sp. u cieląt z objawami biegunki, które nadal stanowią istotny problem zarówno w aspekcie ekonomicznym, jak i epizootologicznym w gospodarstwach wielko stadnych.

Materiał i metody

Materiałem do badań były 483 cielęta rasy ncb, w różnym wieku i obu płci z objawami biegunki, stanowiące własność losowo wybranych 33 gospodarstw