Praca oryginalna *Original paper*

Adhezja i tworzenie biofilmu przez różne biotypy Yersinia enterocolitica

BARBARA KOT, ANTONI JAKUBCZAK, MONIKA DOMIŃSKA, MARCIN KOBYŁKO

Zakład Mikrobiologii Instytutu Biologii, Akademia Podlaska, ul. Prusa 12, 08-110 Siedlce

Kot B., Jakubczak A., Domińska M., Kobyłko M.

Adhesion and biofilm formation by different Yersinia enterocolitica biogroups

Summary

The aim of the study was to determine the adhesion ability and biofilm formation on the surface of a urinary catheter (siliconised latex) by Y. enterocolitica strains representing different biogroups while taking into account their origin. The method used was based on the estimation of the degree of reduction of TTC substrate to insoluble red formazan, carried out by metabolically active microorganisms. Among Y. enterocolitica strains isolated from humans, 38.3% revealed adhesion, 28.3% of which were highly adhesive. In case of strains from pigs, 68.4% adhered to the examined biomaterial. A high degree of adhesion was demonstrated by 31.6% of the strains. A biofilm was observed in 32 strains (53.3%) isolated from humans and in 40 strains (70.1%) isolated from pigs. A high degree of TTC reduction was shown by 18.32% of human strains and 26.3% of pig strains. The percentage of Y. enterocolitica strains which had adhesion and biofilm formation ability was higher in the case of strains from pigs. The percentage of biogroup 4 strains forming a biofilm was higher in comparison with the percentage of adhering strains, while the percentage of biogroup 2 and 1A strains was similar regarding these two abilities.

Keywords: Yersinia enterocolitica, biogrouping, adhesion, biofilm

Pałeczki *Yersinia enterocolitica* są drobnoustrojami charakteryzującymi się znacznym zróżnicowaniem właściwości biochemicznych. Gatunek ten obejmuje szczepy chorobotwórcze dla ludzi i zwierząt, a także szczepy uznawane za niepatogenne (1). Drobnoustrój ten może powodować ostre zapalenie żołądka i jelit, ale może też wywoływać zmiany pozajelitowe, m.in. zapalenie gardła, stawów, szpiku i kości, mięśnia sercowego, opon mózgowych, rumień guzowaty czy też ropne zapalenie skóry (11). Czynniki zjadliwości pałeczek *Y. enterocolitica* są kodowane chromosomalnie i plazmidowo (2). Ze względu na znaczne rozpowszechnienie pałeczek *Y. enterocolitica* w środowisku naturalnym, a także w żywności zarówno pochodzenia zwierzęcego, jak i roślinnego istnieje potrzeba odróżniania szczepów chorobotwórczych dla ludzi i zwierząt od szczepów środowiskowych (4, 7). Istnieje wiele prac dotyczących wykorzystania metod biologii molekularnej i hodowli tkankowej do określania wirulencji pałeczek *Y. enterocolitica* (10, 14, 15, 17, 28). Jednak w codziennej praktyce laboratoryjnej stosowane są zwykle proste metody, polegające na ocenie właściwości biochemicznych, które także pozwalają na wykrywanie potencjalnie patogennych szczepów *Y. enterocolitica* (23). Zróżnicowane właściwości biochemiczne pałeczek *Y. enterocolitica* były podstawą do utworzenia sześciu biotypów, tj. 1A, 1B, 2, 3, 4 i 5 (27), z których 1B, 2, 3 i 4 uznawane są za chorobotwórcze dla ludzi (2). Jedną z cech również wskazującą na potencjalną chorobotwórczość drobnoustrojów jest zdolność adhezji i tworzenia biofilmu bakteryjnego, które odgrywają znaczną rolę w patogenezie wielu przewlekłych zakażeń (25, 26). Efekt terapeutyczny stosowanych biomateriałów nie powinien powodować ostrej lub przewlekłej odpowiedzi zapalnej gospodarza. Pomimo że biomateriały spełniają podstawowe wymogi zgodności biologicznej, infekcje towarzyszące ich stosowaniu stanowią częstą i poważną przyczynę komplikacji.

Celem prezentowanych badań było określenie zdolności adhezji do powierzchni biomateriału i tworzenia biofilmu przez szczepy *Y. enterocolitica* reprezentujące różne biotypy z uwzględnieniem źródła izolacji.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 124 szczepach *Y. enterocolitica*, z których 63 wyosobniono od ludzi z objawami zakażenia przewodu pokarmowego oraz 61 wyizolowano od świń. Metodę izolacji szczepów opisano wcześniej (12). Przynależność badanych szczepów *Y. enterocolitica* do biogrup określono wg schematu Wautersa i wsp. (tab. 1) (27). Wykrywanie lipazy wykonano na podłożu agarowym zawierającym w 1000 ml pożywki: Bacto Pepton – 10 g, NaCl

– 5 g, $CaCl_2$ – 0,1 g oraz 0,1% Tween 80. Wokół wzrostu szczepów wytwarzających lipazę obserwowano strefę zmętnienia pożywki (precypitat nierozpuszczalnych w wodzie kwasów tłuszczowych). Zdolność do hydrolizy eskuliny określano na podłożu z cytrynianem żelazowym; za wynik dodatni uznawano zmianę barwy pożywki na kolor brunatno-czarny. Zdolność do fermentacji salicyny, ksylozy i trehalozy określono na podłożu podstawowym do badania cukrów z odczynnikiem Andrade. Wytwarzanie pyrazynamidazy oceniono, stosując podłoże TSA z 0,1% pyrozynamidem, na którym inkubowano badane szczepy przez 48 godzin w 25°C. Po tym na wzrost nanoszono świeżo przygotowany 1% roztwór siarczanu żelazawo-amonowego. Za wynik dodatni uznawano wystąpienie w ciągu 15 min. brązowo-różowego zabarwienia.

Określenie adhezji *Y. enterocolitica* do powierzchni biomateriału. Fragmenty cewnika urologicznego Foleya o długości 10 mm (silikonowany lateks) umieszczano w szalkach Petriego i nanoszono po 2 ml zawiesiny komórek *Y. enterocolitica* o gęstości 10^8/ml. Po 2 godz. inkubacji w temperaturze 37°C fragmenty cewnika płukano PBS (zbuforowany fosforanami fizjologiczny roztwór NaCl, pH 7,2) i przenoszono do nowych szalek zawierających po 5 ml podłoża TSB. Do każdej z szalek dodawano po 1 kropli 1% wodnego roztworu TTC (chlorek 2,3,5-trójfenylotetrazoliowy, Sigma). Po 24 godz. inkubacji w temperaturze 37°C oceniono obecność czerwonego formazanu, powstającego w redukcji TTC prowadzonej przez żywe drobnoustroje.

Ocena powstawania biofilmu *in vitro*. Próbki biomateriału umieszczano w szalkach Petriego zawierających hodowle badanych pałeczek *Y. enterocolitica* (5 ml o gęstości 10^5 komórek/ml w podłożu TSB). Próbki inkubowano 72 godz., wymieniając podłoże TSB co 24 godz. Po tym próbki płukano PBS i umieszczano w nowym podłożu TSB, a następnie dodawano 1% TTC. Po 24 godz. inkubacji w temperaturze 37°C oceniano powstanie czerwonego formazanu w wyniku redukcji TTC. Stopień redukcji TTC w biofilmie oceniono wg następującej skali: + lekkie punktowe zaróżowienie powierzchni biomateriału, ++ zaczerwienienie powierzchni i wnętrza biomateriału, +++ zaczerwienienie całego biomateriału i czerwona barwa podłoża.

Wyniki

W grupie 124 szczepów *Y. enterocolitica* 88 zaliczono do biotypu 4 (tab. 2). Szczepy te fermentowały trehalozę, nie wytwarzały tryptofanazy, lipazy, pyrazynamidazy, nie fermentowały ksylozy, salicyny i nie hydrolizowały eskuliny. Wytwarzały acetoinę w teście Voges-Proskauera w temp. 25°C, natomiast nie wytwarzały jej w 37°C. Szczepy tej biogrupy stanowiły 80,95% wśród badanych szczepów pochodzących od ludzi, natomiast w grupie szczepów pochodzących od świń odsetek szczepów biogrupy 4 wynosił 60,65%. Drugą grupą były szczepy należące do biotypu 2, które fermentowały ksylozę i trehalozę oraz wytwarzały acetoinę w 25°C. Pozostałe testowane reakcje były ujemne. W przypadku szczepów pochodzących od ludzi uzyskano tylko 1 taki szczep, natomiast 13 (21,3%) pochodziło od świń. Szczepy, które wykazywały wszystkie reakcje dodatnie umieszczono w biogrupie 1A; w przypadku szczepów pochodzących od ludzi stanowiły 12,7%, a wśród izolowanych od świń 11,5%. Na podstawie ocenianych cech biochemicznych 7 szczepów nie udało się włączyć do znanych biotypów (tab. 2).

Jedną z cech drobnoustrojów ułatwiających kolonizację makroorganizmu, a następnie zakażenie jest zdolność przylegania do komórek makroorganizmu. W przedstawionych badaniach zastosowano silikonowany cewnik urologiczny i oceniono stopień adhezji pałeczek *Y. enterocolitica* do tego biomateriału oraz zdolność tworzenia biofilmu. Zastosowano metodę opartą na ocenie stopnia redukcji substratu TTC do nierozpuszczalnego czerwonego formazanu, przeprowadzanej przez drobnoustroje aktywne metabolicznie. Stwierdzono wyraźne zróżnicowanie w intensywności czerwonego zabarwienia podłoża, co było podstawą do wyodrębnienia 3 stopni adhezji: niskiej, średniej i wysokiej. Wśród szczepów *Y. enterocolitica* wyosobnionych od ludzi 23 szczepy (38,3%) wykazywały adhezję, w tym 28,3% (17 szczepów) wykazywało wysoki stopień adhezji, natomiast 5% (3 szczepy) – średni i 5% (3 szczepy) – niski stopień adhezji. W przypadku szczepów wyosobnionych od świń 39 szczepów (68,4%) adherowało do badanego biomateriału. Wysoki stopień adhezji wykazywało 18 szczepów (31,6%), średni – 9 szczepów (15,8%), a niski 12 szczepów (21%). Wśród wszystkich testowanych szczepów biotypu 4, 42 szczepy (47,4%) adherowały do powierzchni silikonowanego cewnika, natomiast odsetek adherujących szczepów biotypu 2 wynosił 71,4% (10 szczepów). W przypadku szczepów biotypu 1A uznawanego za niepatogenny, tę cechę wykazywało 10 szczepów, tj. 66,6% (tab. 3).

Biofilm obserwowano w przypadku 32 szczepów (53,3%) wyosobnionych od ludzi i 40 szczepów (70,1%) izolowanych od świń (tab. 4). Oprócz czerwonego strątu widocznego na powierzchni biomateriału, spowodowanego wewnątrzkomórkową akumulacją formazanu przez komórki przylegających bakterii, obserwowano czerwone zabarwienie pożywki, co spowodowane było odłączaniem się komórek z powierzchni biofilmu i przechodzeniem do pożywki wzrostowej. Wysoki stopień redukcji TTC wykazywało 11 szczepów (18,32%) ludzkich i 15 szczepów (26,3%) pochodzących od świń. W porównaniu ze szczepami izolowanymi od świń (14 szczepów – 24,5%), grupa szczepów pochodzących od ludzi, która charakteryzowała się średnim stopniem redukcji TTC była liczniejsza i stanowiła 31,65% (19 szczepów); 2 szczepy (3,3%) pochodzące od ludzi i 11 szczepów (19,3%) wyosobnionych od świń wykazywało tę cechę w stopniu niskim. Odsetek szczepów *Y. enterocolitica* wyosobnionych od świń, które wykazywały zdolność adhezji i tworzenia biofilmu był wyższy w porównaniu ze szczepami pochodzącymi od ludzi.

Tab. 1. Schemat biotypowania *Y. enterocolitica* (27)

Test lub substrat	Biotyp					
	1A	1B	2	3	4	5
Lipaza	+	+	–	–	–	–
Salicyna (fermentacja)	+	–	–	–	–	–
Eskulina (hydroliza)	+/–	–	–	–	–	–
Ksyloza	+	+	+	+	–	v
Trehaloza	+	+	+	+	+	–
Indol	+	+	v	–	–	–
Voges-Proskauer (25°C)	+	+	+	+	+	+(+)
Pyrazynamidaza	+	–	–	–	–	–

Objaśnienia: + reakcja pozytywna; – reakcja negatywna; (+) reakcja pozytywna opóźniona; v – reakcja zmienna

Tab. 2. Wyniki określania biotypu szczepów pałeczek *Y. enterocolitica*

Pochodzenie szczepów	Liczba badanych szczepów	Liczba szczepów należących do biotypów:						
		1A	1B	2	3	4	5	NT
Ludzie	63	8	0	1	0	51	0	3
Świnie	61	7	0	13	0	37	0	4
Razem	124	15	0	14	0	88	0	7

Objaśnienie: NT – szczepy nie typujące się wg schematu Wautersa i wsp. (20)

Tab. 3. Ocena adhezji *Y. enterocolitica* do powierzchni biomateriału

Pochodzenie szczepów	Biotyp	Liczba szczepów ogółem	Liczba szczepów adherujących stopień adhezji			
			brak	niski	średni	wysoki
Ludzie	4	51	34	3	3	11
	2	1	0	0	0	1
	1A	8	3	0	0	5
Świnie	4	37	12	7	7	11
	2	13	4	3	1	5
	1A	7	2	2	1	2

Tab. 4. Ocena biofilmu *Y. enterocolitica* powstającego *in vitro* na powierzchni biomateriału

Pochodzenie szczepów	Biotyp	Liczba szczepów ogółem	Liczba szczepów tworzących biofilm stopień redukcji TTC			
			brak	+	++	+++
Ludzie	4	51	25	2	18	6
	2	1	0	0	0	1
	1A	8	3	0	1	4
Świnie	4	37	12	6	6	13
	2	13	3	3	5	2
	1A	7	2	2	3	0

Objaśnienie: stopień redukcji TTC w biofilmie: + lekkie punktowe zaróżowienie powierzchni biomateriału; ++ zaczerwienienie powierzchni i wnętrza biomateriału; +++ zaczerwienienie całego biomateriału i czerwona barwa podłoża

Omówienie wyników

Większość chorobotwórczych dla człowieka pałeczek *Y. enterocolitica* zaliczanych jest do biotypów: 1B, 2, 3 i 4. W Europie dominują pałeczki *Y. enterocolitica* należące do biotypu 4 oraz 2. Cechy uwzględniane w biotypowaniu, takie jak: brak zdolności hydrolizy eskuliny, fermentacji salicyny i wytwarzania pyrazynamidazy stanowią dobre kryterium oceny patogenności szczepu. Stąd określenie powyższych cech biochemicznych zostało włączone jako obowiązujące w toku mikrobiologicznych badań żywności w kierunku obecności pałeczek *Yersinia* (18). W badanej populacji szczepów uzyskano szczepy należące do biotypu 1A zarówno od klinicznie zdrowych świń, jak i od ludzi z zapaleniem jelit (enteritis). Szczepy biotypu 1A są powszechnie uważane za niepatogenne. Z sześciu biotypów, biotyp 1A jest najbardziej heterogenny i obejmuje różne serotypy. Szczepy te są szeroko rozpowszechnione w środowisku i u zdrowych zwierząt. Generalnie nie mają genotypowych i fenotypowych markerów związanych z wirulencją klasycznie inwazyjnych szczepów *Y. enterocolitica*. W krajach Europy Zachodniej, USA, Kanadzie, Afryce Południowej istotny udział w izolatach uzyskanych od pacjentów z zakażeniem przewodu pokarmowego mają jednak szczepy należące do tego biotypu. Objawy kliniczne powodowane przez szczepy biotypu 1A nie różnią się od objawów powodowanych przez klasycznie wirulentne biotypy, ale mechanizm wywoływania choroby nie jest dotychczas określony (9, 24).

Poważnym problemem wynikającym ze zdolności adhezyjnych drobnoustrojów są zakażenia pojawiające się u pacjentów hospitalizowanych, u których stosuje się materiały syntetyczne – biomateriały, z których wykonywane są takie przyrządy jak cewniki, dreny, protezy stawowe, kostne itp. (5, 19). Do zakażeń może dochodzić już w miejscu wprowadzenia biomateriału, a ostatecznie drogą układu krążenia (zakażenie endogenne). Rozwój zakażenia w miejscu zastosowania biomateriału zależy od intensywności i czasu przylegania drobnoustrojów do jego powierzchni (20). Komórki drobnoustrojów, które przylegają do siebie nawzajem i/lub do powierzchni stałych oraz są otoczone śluzem tworzą biofilm. W procesie powstawania biofilmu bakteryjnego wyróżnia się etapy: adhezji, tworzenia mikrokolonii oraz różnicowania się osiadłej populacji bakterii w populację biofilmu (25). Przyleganie patogennych szczepów *Y. enterocolitica* m.in. do kolagenu, który jest głównym składnikiem zewnątrzkomórkowej *matrix* skóry może pociągać za sobą indukowa-

nie zmian w postaci artretyzmu, rumienia guzowatego (*erythema nodosum*) oraz innych zmian skórnych i tkanki łącznej (6, 21). Właściwości adhezyjne badanych szczepów *Y. enterocolitica*, gdzie uwzględniono fenotypowe i genotypowe markery zjadliwości tych pałeczek, zostały ocenione wcześniej na podstawie ich zdolności przylegania do kolagenu typu I i skóry (16).

Przyłączanie się komórki bakteryjnej do powierzchni stałej zachodzi za pomocą oddziaływań fizycznych typu van der Waalsa, oddziaływań grawitacyjnych, elektrostatycznego ładunku powierzchni, a następnie oddziaływań chemicznych: powstanie wiązań hydrofobowych, wodorowych i jonowych (25). Wielu autorów podaje, że hydrofobowe właściwości różnych rodzajów, gatunków, a także poszczególnych szczepów związane są z wytwarzaniem niektórych typów adhezyn (22, 26). Właściwości hydrofobowe badanych szczepów *Y. enterocolitica* zostały określone wcześniej (13). Stwierdzono, że silne właściwości hydrofobowe ujawniały przede wszystkim szczepy *Y. enterocolitica* wyosobnione od chorych ludzi (75%), natomiast w przypadku pałeczek wyosobnionych od klinicznie zdrowych świń odsetek szczepów o silnych właściwościach hydrofobowych wynosił 30 (13). U badanych szczepów nie zaobserwowano wyraźnej zależności między właściwościami hydrofobowymi a zdolnością przylegania tych drobnoustrojów do badanego biomateriału.

Metody oparte na procesach redukcji związków tetrazoliowych z wytwarzaniem produktów barwnych, znajdują szerokie zastosowanie w badaniach mikrobiologicznych i immunologicznych (3, 8). Uzyskane wyniki z zastosowaniem metody opartej na procesie redukcji TTC wskazują, że metoda ta znajduje również zastosowanie przy wykrywaniu adherujących szczepów i biofilmu *Y. enterocolitica*.

Piśmiennictwo

1. *Bottone E. J.*: Yersinia enterocolitica: the charisma continues. J. Clin. Microbiol. Rev. 1997, 10, 257-276.
2. *Bottone E. J.*: Yersinia enterocolitica: overview and epidemiologic correlates. Microb. Infect. 1999, 1, 323-333.
3. *Burow A., Brzychcy M., Paziak-Domańska B.* i inni.: Przydatność mikrokolorymetrycznej metody redukcji XTT do oceny wewnątrzkomórkowego zabijania patogenów. Med. Dośw. Mikrobiol. 1995, 47, 203-212.
4. *Capita R., Alonso-Calleja C., Prieto M., Garcia-Fernandez M., Moreno B.*: Incidence and pathogenicity of Yersinia spp. isolates from poultry in Spain. Food Microbiol. 2002, 19, 295-301.
5. *Elliot T. S. J.*: Intravascular-devise infections. J. Med. Microbial. 1988, 27, 161-167.
6. *Emödy L., Heesemann J., Wolf-Watz H., Skurnik M., Kapperud G., O'Toole P., Wadström T.*: Binding to collagen by Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis; evidence for YopA – mediated and chromosomally encoded mechanisms. J. Bacteriol. 1989, 171, 6674-6679.
7. *Filetici E., Anastasio M. P., Pourshaban M., Fantasia M.*: Genotypic and phenotypic characteristics of Yersinia spp. isolates from food and man. Food Microbiol. 2000, 17, 261-267.
8. *Garn H., Krause H., Enzemann V.* i inn.: An improved MTT assay using the electroncoupling agent menadione. J. Immunol. Meth. 1994, 168, 253-256.
9. *Grant T., Bennet-Wood V., Robins-Browne R. M.*: Identification of virulence-associated characteristics in clinical isolates of Yersinia enterocolitica lacking classical virulence markers. Infect. Immun. 1998, 66, 1113-1120.
10. *Grant T., Bennett-Wood V., Robins-Browne R. M.*: Characterization of the interaction between Yersinia enterocolitica biotype 1A and phagocytes and epithelial cells in vitro. Infect. Immun. 1999, 67, 4367-4375.
11. *Hariharan H., Bryenton J.*: Isolation of Yersinia spp. from cases of diarrhea. Can. Vet. J. 1990, 11, 799-780.
12. *Kot B., Jakubczak A., Kosek A., Bukowski K., Bem I.*: Application of Yersinia enterocolitica bacteriocins for the rapid identification of Yersinia enterocolitica strains isolated from pigs and human. Adv. Agricult. Sci. 2000, 7, 29-34.
13. *Kot B., Oszajca A., Jakubczak A., Bukowski K., Woźniak-Kosek A.*: Ocena hydrofobowych właściwości szczepów Yersinia enterocolitica wyizolowanych od ludzi i trzody chlewnej. Med. Dośw. Mikrobiol. 2001, 53, 31-38.
14. *Kot B., Trafny E. A.*: The application of PCR to the identification of selected virulence markers of Yersinia genus. Pol. J. Vet. Sci. 2004, 7, 27-31.
15. *Kot B., Woźniak-Kosek A., Kawiak J., Bukowski K.*: Zastosowanie metody PCR do wykrywania plazmidowych markerów chorobotwórczości szczepów Yersinia enterocolitica izolowanych od ludzi i świń. Medycyna Wet. 2001, 57, 727-730.
16. *Kot B., Woźniak-Kosek A., Wolska K.*: Adhezja szczepów Yersinia enterocolitica izolowanych od ludzi i świń do folii kolagenowej i skóry. Medycyna Wet. 2002, 58, 985-988.
17. *Lee W. H., McGrath P. P., Carter P. H., Eide E. L.*: The ability of some Yersinia enterocolitica strains to invade HeLa cells. Can. J. Microbiol. 1997, 23, 1714-1722.
18. PN ISO 10273 Ogólne zasady wykrywania przypuszczalnie chorobotwórczych Yersinia enterocolitica.
19. *Reid G., Busscher H. J.*: Importance of surface properties in bacterial adhesion to biomaterials, with particular reference to the urinary tract. Intern. Biodeterioration Biodegradation 1992, 30, 105-122.
20. *Różalska B., Sadowska B., Więckowska M., Rudnicka W.*: Wykrywanie biofilmu bakteryjnego na biomateriałach medycznych. Med. Dośw. Mikrobiol. 1998, 50, 115-122.
21. *Schulze-Koops H., Burkhardt H., Heesemann J., Mark K., Emmrich F.*: Plasmid-encodet outer membrane protein YadA mediates specific binding of enteropathogenic Yersiniae to various types of collagen. Infect. Immun. 1992, 60, 2153-2159.
22. *Smyth C. J., Jonsson P., Olsson E., Soderlind O., Rosenberg J., Hjerten S., Wadstrom T.*: Difference in hydrophobic surface characteristics of porcine enteropathogenic Escherichia coli with or without K88 antigen as revealed by hydrophobic interaction chromatography. Infect. Immun. 1978, 22, 462-472.
23. *Szych J., Cieślik A.*: Charakterystyka szczepów z rodzaju Yersinia pochodzących z materiału klinicznego i innych źródeł. I. Wybrane właściwości biochemiczne. Med. Dośw. Mikrobiol. 1996, 48, 21-30.
24. *Tennant S. M., Grant T. H., Robins-Browne R. M.*: Pathogenicity of Yersinia enterocolitica biotype 1A. FEMS Immun. Med. Microbiol. 2003, 38, 127-137.
25. *Trafny E. A.*: Powstawanie biofilmu Pseudomonas aeruginosa i jego znaczenie w patogenezie zakażeń przewlekłych. Post. Mikrobiol. 2000, 39, 55-71.
26. *Tylewska S, Ławrynowicz J, Hryniewicz W.*: Mechanizm i biologiczne znaczenie adhezji bakteryjnej. Post. Mikrobiol. 1985, 24, 3-23.
27. *Wauters G., Kandolo K., Janssens M.*: Revised biogrouping scheme of Yersinia enterocolitica. Contrib. Microbiol. Immunol. 1987, 9, 14-21.
28. *Woźniak-Kosek A., Kot B., Jakubczak A., Grzybowski J.*: Zastosowanie metody PCR do identyfikacji markerów chorobotwórczości szczepów Yersinia enterocolitica izolowanych od ludzi i świń. Medycyna Wet. 2001, 57, 183-186.

Adres autora: dr Barbara Kot, ul. Prusa 12, 08-110 Siedlce; e-mail: bkot@ap.siedlce.pl

---

BRÉARD E., SAILLEAU C., HAMBLIN C., GRAHAM S. D., GOURREAU J. M., ZIENTARA S.: Ognisko krwotocznej choroby zwierzyny płowej na wyspie Réunion. (Outbreak of epizootic haemorrhagic disease on the Island Réunion). Vet. Rec. 155, 422-423, 2004 (14)

Krwotoczna choroba zwierzyny płowej (EHD) jest zakaźną wirusową chorobą, powodującą duży odsetek padnięć u jeleni wirginijskich. Występuje ona endemicznie od 1985 r. w północnej Ameryce. Od stycznia do kwietnia 2003 r. wystąpiły zachorowania bydła na wyspie Réunion na EHD wśród objawów przypominających chorobę niebieskiego języka. Nie chorowały owce. U chorego bydła występowała gorączka (40°C), przekrwienie błon śluzowych, owrzodzenie śluzówki jamy gębowej, obfity wyciek z nosa i oczu, ślinotok, kulawizna. Zwierzęta padały w ciągu 9-10 dni, przy czym chorowało około 7% zwierząt. Kliniczne objawy wystąpiły u 235 sztuk. Rozpoznanie kliniczne EHD potwierdzono testem RT-PCR, stosując primery do amplifikacji regionu S7 i S10 wirusa choroby niebieskiego języka oraz regionu S7 i S10 wirusa EHD. Gen S10 wirusa EHD daje ekspresję 2 białek w zakażonej komórce.

G.