

SYSTEMATYKA RODZAJU *PASTEURELLA*
ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM GATUNKU
PASTEURELLA MULTOCIDA

MARIAN DECOWSKI

Zakład Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach
Kierownik Doc. dr M. Decowski

Według Hudsona drobnoustroje należące do rodzaju *Pasteurella*, a mianowicie *P. pestis*, *P. multocida*, *P. haemolytica*, *P. Pseudotuberculosis* przedstawiają się jako małe tlenowe drobnoustroje Gram ujemne w kształcie pałeczek lub ziarenkopaleczek (cocobacilli), które w pewnych okolicznościach barwią się dwubiegunowo. Pasterele posiadają tendencję do polimorfizmu oraz zdolność tworzenia wielocukrowych nitek w podłożach zawierających węglowodany. Są nieruchliwe z wyjątkiem *P. pseudotuberculosis*; tworzenie otoczek jest cechą zmienną. Różnią się bardzo właściwościami hodowlanymi; wszystkie wytwarzają kwas w podłożu z glikozą; żelatyny i surowicy nie rozrzedzają. Kryteria do rozpoznawania poszczególnych gatunków *Pasteurella* są następujące:

Tabela 1
Cechy biologiczne poszczególnych gatunków *Pasteurella*

Gatunek	Podłoże wg McConkey'a	Wytwarzanie indolu	H ₂ S	Fermentacja maltozy	Ruch
<i>P. pestis</i>	+	—	—	+	—
<i>P. multocida</i>	—	+	+	—	—
<i>P. haemolytica</i>	—	—	+	+	—
<i>P. pseudotuberculosis</i>	+	—	+	+	+

Przedmiotem niniejszego referatu będzie wyłącznie gatunek *P. multocida*.

P. multocida (syn *P. septica* *Bacillus bipolaris plurisepticus*).

Gatunek ten obejmuje drobnoustroje chorobotwórcze dla myszy, dające się łatwo wyosobnić z przypadków pastereloz bydła, świń, królików, drobiu, gęsi oraz innych ssaków i ptaków. Niczym nie usprawie-

dliwione dawne nazwy szczepów w zależności od zwierzęcia, z którego zostały wyosobnione np. *P. bovisseptica*, *P. suisseptica* itp. zostały zaniechane.

P. multocida rośnie na zwykłym agarze w postaci okrągłych, gładkich, przeświecających kolonii. Wzrost zostaje silnie spotęgowany przez dodatek 10% surowicy końskiej. Posiewy z młodej 6-godzinnej hodowli dają wzrost o jednolitym zmętnieniu, które utrzymuje się nawet po 1-tygodniowym przetrzymywaniu w cieplarni. Stare szczepy dają pylisty osad po 48 godz. hodowania, a spotykane są warianty, które dają wzrost w postaci grudek. *P. m.* rośnie dobrze na podłożach sporządzonych na trawionych peptonach. Nie posiada właściwości hemolitycznych, podłoże z krwią w bardzo obfitych posiewach zaciemnia. Nie rozkłada żelatyny i ściętego białka, nie rośnie na podłożu wg McConkey'a. Wytwarza indol i H_2S na podłożach z cystyną, redukuje azotany.

P. m. rozkłada szereg cukrów i alkoholi bez wytwarzania gazu. Ważną rolę pomocniczą wśród nich przy określeniu grup *P. multocida* odgrywają arabinoza, ksyloza, dulcytol i sorbitol.

Dysocjacja: Opublikowano wiele prac na temat zmienności kolonii. Dotychczas odróżniano typy a) śluzowe, b) gładkie-fluoryzujące (tęczowe), c) gładkie-pośrednie nie fluoryzujące, d) ziarniste, niebieskie nie otoczkujące i e) szorstkie. Carter (1957a) stosując test z akryflawiną i test odbitego światła przypuszcza, że dysocjacja przebiega w kierunku zmian postaci kolonii: śluzowej (M) w gładką, (S) gładka w (S^R). Postać S^R zachowuje swą zjadliwość w stosunku do myszek jak również i niektóre cechy morfologiczne postaci S, jednak zawiera antygen R powodujący samoaglutynację.

Elberg i Cheng-Lee Ho (1950) dochodzą do wniosku, że istnieje słabe powiązanie między zjadliwością a morfologicznymi lub hodowlanymi cechami zarazka, jednak przypuszczają, że formy fluoryzujące (tęczowe) są najbardziej zjadliwe.

Otoczki. Liczne prace wskazują, że zjadliwość zarazka związana jest z obecnością otoczki i że jej utrata powoduje zanik zjadliwości. Według Priestley'a (1936) zawiesiny zjadliwych hodowli ogrzane dłużej niż w ciągu 30 min przy $56^\circ C$ charakteryzują się gorszymi właściwościami uodporniającymi wskutek zniszczenia otoczki.

Bain (1953) — 10 twierdził, że świeżo wyosobnione szczepy *P. multocida* na podstawie charakteru ich otoczek można podzielić na dwie grupy. Grupa pierwsza cechująca się szerokimi otoczkami zachowuje się tak, jak podaje Priestley, druga zaś posiadająca również szerokie otoczki traci je dopiero po 5- do 20-minutowym ogrzewaniu we wrzącej wodzie. Otoczki te pod działaniem hialuronidazy znikają, składają się za tym z kwasu hialuronowego, stanowiącego rusztowania,

w którym mieszczą się węglowodany. Obserwacje te zostały potwierdzone przez Cartera (1958). W dalszych swych pracach Bain (1954) stwierdził w świeżo wyosobnionych szczepach typu I (Roberts) obecność wąskiej otoczki zawierającej antygen podobny wg niego do antygeny Vi. Po kilku pasażach na podłożach szczepy takie tracą swą zjadliwość w stosunku do bydła lecz zachowują ją w pełni w stosunku do królików i myszy, przy czym otoczki zanikają a zarazek staje się zlepilny. Otoczki wąskie nie zawierają kwasu hialuronowego. Z otoczek wąskich Bain wyosobnił złożoną frakcję białkową podobną do frakcji uzyskanej z *P. pestis* (1955). Uważa on, że wąsko-otoczkowe szczepy stanowią odrębny biotyp.

Podział na grupy. Podziału *P. multocida* na grupy dokonano na podstawie odczynów fizjologicznych, serologicznych i immunologicznych. Z odczynów serologicznych stosowano odczyn aglutynacji z monowalentnymi surowicami. Jednak odczyn aglutynacyjny częstokroć nie jest miarodajny, gdyż szczepy otoczkujące w odczynie tym nie reagują, nie otoczkujące zaś zawieszone w fizjologicznym roztworze soli ulegają samoaglutynacji mimo, że wiele z nich wykazuje wysoką zjadliwość w stosunku do myszy, a pod względem morfologicznym wykazują cechy charakterystyczne dla postaci gładkich (Carter — 1958 b).

Z tych względów do klasyfikacji *P. multocida* stosowano również odczyn precypitacji, odczyn pęcznienia otoczek oraz odczyn hemaglutynacji z zastosowaniem wielocukrów otoczkowych jako antygeny. Te odczyny dotyczą jedynie otoczkujących drobnoustrojów.

Khalifa (1934) zbadał 49 szczepów pochodzących z ssaków i ptaków i pod względem fizjologicznym podzielił je na 3 grupy o następującej charakterystyce.

Tabela 2

Charakterystyka biologiczna grup *P. multocida* wg Khalifa

Szczepy	Chorobotwórczość dla drobiu	Fermentowanie			Pochodzenie
		mannit	arabinoza	ksyloza	
grupa A	+	+	+	—	indyki, kaczki, kury
grupa B	—	—	—	+	bydło, konie, bawoły, osły
grupa C	—	+	—	+	C ₁ -świnie C ₂ -króliki

Serologiczne typy A B C różniły się między sobą.

Rosenbusch i Merchant (1939) badali szczepy *P. multocida* i *P. haemolytica*. Podzielili je na 4 grupy, z których grupa IV odpo-

wiałała *P. haemolytica*. Ogólna charakterystyka pierwszych trzech grup jest następująca:

Tabela 3

Charakterystyka biologiczna grup *P. multocida* wg Rosenbuscha i Merchanta (1939)

Szczepy	Fermentowanie			Odczyny serologiczne surowica przeciw grupie			Odpowiada grupie wg Khalifa
	arbi- noza	dulcy- tol	ksy- loza	I	II	III	
Grupa I	+	+	—	+++	+ ¹⁾	—	A
„ II	—	—	+	+ ³⁾	+++	+ ²⁾	C
„ III	+	+	+	+ ¹⁾	—	+++	

+ odczyn fermentacyjny dodatni
 „ serologiczny słabo dodatni
 +++ „ „ silnie dodatni
 — „ ujemny

1) niektóre szczepy

2) niektóre szczepy wyosobnione z konia

3) niektóre szczepy wyosobnione z bydła, owiec, świń.

Little i Lyon (1943) badali 30 szczepów pod względem pokrewieństwa serologicznego stosując aglutynację płytową. Wyróżnili 3 typy, z których typ I i II odpowiadały typom I i II Rosenbuscha i Merchanta. Szczepy te pochodziły z różnych ssaków i ptaków. Nie stwierdzono związku pomiędzy właściwościami serologicznymi a gatunkami zwierząt z których szczepy wyosobniono. Swoistość tych grup potwierdzili odczynami immunologicznymi Carter i Byrne (1953). Na podstawie odczynów precypitacyjnych z antygenami wyosobnionymi z otoczek i odczynu pęcznienia otoczek wykryli 3 serologiczne grupy. Carter (1955) stosując odczyn hemaglutynacji stwierdził istnienie 4 grup wykazując ich identyczność z klasyfikacją Roberta. Okazało się, że:

grupa A	odpowiada	grupie II	Roberta
„ B	„	„ I	„
„ C	„	„ III	„
„ D	„	„ IV	„

Nie udało się jednak wytypować 72 szczepów z ogólnej liczby 122. W innej swej pracy Carter (1957) stwierdził wśród 197 szczepów, że typy A i B występują najczęściej u bydła z tym, że typ B stwierdza się w krajach tropikalnych, typ A w krajach o umiarkowanym klimacie. Typ A również dominuje w pastereozie drobiu. U świń występuje głównie typ A i D; Carter proponuje stosować je do szczepionki

przeciw wtórnej pasterelozie świń. Przeciwno pasocznicy krwiotocznej bydła należy stosować typ A lub B w zależności od położenia geograficznego.

Typ C występuje u kotów i psów; cechuje się szybkim traceniem otoczki, co powoduje samoaglutynację, a tym samym utrudnia identyfikację. Typ D występuje sporadycznie u wielu gatunków zwierząt.

Według dotychczasowego stanu wiedzy badania immunobiologiczne przedstawiają najpewniejszą metodę do ustalenia grup i klasyfikowania szczepów *P. multocida*.

Roberts (1947) zbadał 20 różnych zjadliwych szczepów pochodzących z różnych krajów i opierając się na odczynach krzyżowo-ochronnych podzielił te szczepy na 4 grupy. Surowice odpornościowe z królika przeciwko szczepom typu I chroniły myszki tylko przeciwko temu typowi. Surowice odpornościowe przeciwko typom II, III i IV zapewniły pełną odporność przeciwko własnym typom i słabą odporność przeciwko pozostałym 2 typom. Szczepy pochodziły z różnych ssaków i ptaków.

Tabela 4

Aktywność biochemiczna szczepów *P. multocida* wg Cartera

Szczepy (grupa)	Fermentowanie			Pochodzenie szczepów (w nawiasach liczba szczepów)
	arbinioza	ksyloza	dulcytol	
I	—	+	×	Indie — bydło (3) Hiszpania — świnie (2)
II	+	— (przeważnie)	×	W. Brytania } Francja } — ptactwo Holandia } Włochy — bydło (11) Hiszpania } Dania } — świnie Ameryka — bydło (1)
III	—	+	×	W. Brytania — bydło (1) Ameryka — jeleń (1)
IV	+	±	+	W. Brytania — bydło (1) Indie — ptak (1)

(× nie podano)

Hudson (1954) zbadał w podobny sposób 58 szczepów, które podzielił na 5 grup, z których cztery były identyczne z grupami Roberta. Typ I Roberta stwierdził tylko w szczepach pochodzących z bydła i bawołów ze Wschodu (Indie, Taiwan, Kenia) brak ich natomiast w Anglii. Fakt ten stwierdził również Bain (1954). Dodatkowy V typ Hudsona wyosobniony został z płuc świni.

Schneider (1948) na podstawie badania aktywności biochemicznej a szczególnie na podstawie właściwości fermentowania arabinozy, ksylozy i sorbitolu rozróżnił 8 poszczególnych grup, z których tylko 3 pierwsze zasługują na uwagę. Udowodnił serologiczną odrębność grupy III, gdyż hyperimmunizacja wszystkimi pozostałymi typami nie powoduje wytworzenia się przeciwciał dla grupy III. Szczepy grupy III pochodziły z Transylwanii i wyosobnione były z bydła, świń, jagniąt i bawołów.

Analizując powyższe dane można stwierdzić istniejącą odrębność serologiczną, a szczególnie immunobiologiczną szczepów *P. multocida*, która do pewnego stopnia jest zależna od warunków geograficznych. Szczegółowa budowa antygenowa nie została jednak jeszcze dostatecznie poznana, a jej wyświetlenie zależne będzie od możliwości wydzielania lub zbadania poszczególnych frakcji wielocukrowych. Próby tego rodzaju analizy wykonał Carter (1957) posługując się precypitacją żelową. Stosował on substancje z otoczek jako antygen. Stwierdził, że substancja ta charakteryzuje się budową kompleksową, zawiera kwas hialuronowy i posiada silne właściwości antygenowe. Nieco światła na to zagadnienie rzuca praca Yaw i Kakavas'a (1957), którzy stwierdzili, że nieoczyszczone preparaty wielocukrowe otoczkowych typu I *Pasteurella multocida* posiadają silne właściwości antygenowe, chronią kurczęta i myszki, somatyczny zaś lub wewnątrzkomórkowy antygen tego szczepu chroni tylko kurczęta.

Prawdopodobnie w komórkach otoczkujących i nie otoczkujących zarazków znajduje się wspólny lub pokrewny antygen resztkowy, który jest więcej czynny u kurcząt niż u myszek. Uprzednio już Carter (1952) podał, że *P. multocida* posiada prócz typowo specyficznego antygeny otoczkowego również antygen somatyczny, wspólny dla wszystkich typów. Priestley (1936) widzi różnicę między somatycznymi antygenami *Pasteurella* wyosobnionymi z bydła i drobiu.

Doubly (1956) przypuszcza, że istnieje wielorodzajowość antygeny somatycznego i domniemanie swe opiera na zjawisku niezlepliwości wariantów posiadających typowo specyficzną otoczkę. Wysuwa on tezę, że we wszystkich typach *P. multocida* obok wspólnego antygeny somatycznego występują dodatkowo inne somatyczne antygeny różne dla różnych serotypów.

Zagadnienie zjadliwości gatunku *Pasteurella* dla zwierząt laboratoryjnych, użytkowych i dzikich w referacie tym celowo pominięto, gdyż wymagałoby to specjalnego opracowania. Należy zaznaczyć, że poglądy różnych badaczy na zagadnienie zjadliwości są zdecydowanie niejednolite.

LITERATURA

1. Carter G. R. (1952) — The type specific capsular antigen of *Pasteurella multocida*. *Canad. J. Med. Sci.*: 48—53.
2. Carter G. R. (1955) — Studies on *Pasteurella multocida*. I. A. hemagglutination test for the identification of serological types. *Am. J. Vet. Res.*, 16: 481—484.
3. Carter G. R. (1957a) — Studies on *Pasteurella multocida* II. Identification of antigenic characteristics and colonial variants. *AM. J. Vet. Res.* 18: 210—213.
4. Carter G. R. (1957b) — Studies on *Pasteurella multocida*. III, A serological survey of bovine and porcine strains from various parts of the world. *Am. J. Vet. Res.*, 18, 437—440.
5. Carter G. R. (1958a) — Some characteristics of type A strains of *Pasteurella multocida*. *Brit. Vet. J.*, 114: 356—357.
6. Carter G. R. (1958b) — Failure of the agglutination test to identify types of *Pasteurella multocida*. *Nature Lond.*, 181: 1138.
7. Doubly J. A. (1956) — Diverse antigenic character of *Pasteurella multocida*. *Bact. Proc.*: 98.
8. Hudson J. R. (1959) — Stableforth A. W. and Galloway I. A.: Infectious diseases of animals discases due to bacteria 2: 413—418.
9. Priestley F. W. (1936) — Some properties of the capsule of *Pasteurella septicum*. *Brit. J. Explt. Path.*, 17: 374—378.
10. Schneider L.: (1948) — Additional data to the etiology of pasteurellosis with special reference to different species of hosts.
11. Yaw K. E. and Kakavas J. C. (1957) — A comparison of the protection-inducing factors in chickens and mice of a type 1 strain of *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet, Res.*, 18,: 661—664.

Piśmiennictwo cytowane w tekście a nie uwzględnione w niniejszym wykazie wyszczególnione jest w: Diseases due to bacteria. Stableforth i Galloway, tom 2 str. 435—436.

Мариан Децовски (Пулавы)

СИСТЕМАТИКА РОДА *PASTEURELLA*

Резюме

На основании современной литературы описано в общих чертах морфологические и физиологические свойства палочки *Pasteurella multocida* и формы ее диссоциации. Более обширно рассмотрена характеристика оболочек, их выступание, значение, а также групповые классификации в зависимости от физиологических, серологических, иммуногенных свойств микроба. Подчеркнуто значение исследований оболочечных и соматических антигенов бактериальных клеток для окончательного определения числа выступающих групп или серотипов.

Marian Decowski (Puławy)

THE SYSTEMATIC OF THE GENUS *PASTEURELLA*

Summary

Basing upon the up-to-date literature the author has described in general an outline of the morphological and physiological characters of the *Pasteurella multocida* baccillus, as well as the forms of its dissociation. More widely there were taken into consideration the character of the capsules, the appearance and significance of them, as well as the group classifications according to the physiological and serological immunogenic characters of the baccillus. It was emphasized that the examination of the capsular antigens and of somatic bacterial cells is of importance to state finally the number of appearing groups or serotypes.