

WŁAŚCIWOŚCI BIOCHEMICZNE I TOKSYCZNE DROBNOUSTROJÓW
WARUNKOWO CHOROBOTWÓRCZYCH WYOSOBNIONYCH Z NASIENIA BUHAJÓW

Wiesław Nowakowski, Antoni Furowicz

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Katowicach

Stefan Wierzbowski

Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasienniania Zwierząt

Instytutu Zootechniki w Balicach k. Krakowa

Założeniem przedstawionej pracy są badania biochemiczne gronkowców (*Staphylococcus* sp.), pałeczek ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*) oraz pałeczek okrężnicy (*Escherichia coli*) wyosobnionych z nasienia buhajów.

MATERIAŁ I METODY

Z nasienia mrożonego buhajów użytkowanych w stacjach hodowli i unasienniania zwierząt wyosobniono 100 szczepów *Pseudomonas aeruginosa*, 69 szczepów *Staphylococcus* sp. oraz 32 szczepy *Escherichia coli*.

Badania biochemiczne szczepów *Pseudomonas aeruginosa* obejmowały wykonanie następujących testów: fermentacja - glukozy, sacharozy, fruktozy, eskuliny, maltozy, laktozy, inuliny, galaktozy, mannitolu, sorbitolu, dulcytolu; wytwarzanie - hemolizyn, nukleazy, fosfatazy, lecytynazy, ureazy, żelatynazy,

siarkowodoru, oksydazy cytochromowej, pyocyjaniny; dekarboksylacja lizyny; dezaminacja fenyloalaniny; hydroliza argininy, Tweenu 20, redukcja azotanów.

Badania biochemiczne szczepów *Staphylococcus* sp. obejmowały wykonanie testów na beztlenową fermentację glukozy i mannitolu; wytwarzanie - koagulazy, clumping factora, fibrynolizyny, hemolizyn alfa, beta, delta oraz na oporność na novobiocynę. Ponadto określono aktywność proteolityczną szczepów *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Staphylococcus* sp. za pomocą metody Arvidsona. Badania biochemiczne szczepów *Escherichia coli* obejmowały wykonanie testów na: siarkowódór, ruch, indol, ureazę, laktozę, mannitol, glukozę, dezaminację fenyloalaniny, redukcję azotanów, oksydazę cytochromową, hemolizyny.

WYNIKI I OMÓWIENIE

W wyniku przeprowadzonych badań biochemicznych szczepów *Pseudomonas aeruginosa* stwierdzono, że posiadają one szereg bardzo charakterystycznych właściwości. Szczepy te z cukrów rozkładały jedynie glukozę (94,0%) i galaktozę (87,1%) oraz w 30,0% glukozę w warunkach beztlenowych. Zdecydowana większość badanych szczepów wykazała znaczną aktywność enzymatyczną. Prawie wszystkie szczepy powodowały redukcję azotanów (95,5%) i dekarboksylację argininy (97,0%). Wszystkie szczepy hydrolizowały Tween 20, wytwarzały żelatynazę oraz oksydazę cytochromową, 72,3% szczepów wytwarzało lecytynazę, 40,6% fosfatazę oraz 13,8% ureazę. Natomiast ani jeden szczep nie wytwarzał siarkowodoru oraz nie powodował dekarboksylacji lizyny

i dezaminacji fenyloalaniny. Aż 96,0% szczepów rozkładało włóknik, zaś 35,6% z nich powodowało koagulację plazmy. Większość szczepów (94,0%) wykazywało aktywność hemolityczną wobec krwinek: królika, barana i krowy w różnych kombinacjach. Wszystkie szczepy wykazywały obecność proteaz w metodzie agarowej Arvidsona, przy czym średnice stref rozkładu białka wahały się od 0,5 do 3,5 mm, co odpowiada aktywnościom większym od 2 jednostek międzynarodowych na ml.

Klasyfikacja badanych bakterii z rodzaju *Staphylococcus* doprowadziła do wyodrębnienia szczepów należących do trzech gatunków: 3 szczepy z gatunku *Staphylococcus aureus*, 44 z gatunku *Staphylococcus epidermidis* i 22 szczepy z gatunku *Staphylococcus saprophyticus*. Znaczny odsetek szczepów wszystkich trzech gatunków wykazał w badaniach biochemicznych aktywność toksyczną. Pod względem produkcji proteaz rozkładających substrat kazeinowy najczęściej aktywne były szczepy *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus saprophyticus*. Podobnie przedstawiała się produkcja stafylokinazy, którą produkowała połowa szczepów *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus saprophyticus*. Wszystkie szczepy *Staphylococcus aureus* i znacznie mniejsze liczby szczepów pozostałych gatunków produkowały różne hemolizyny.

Częstotliwość występowania poszczególnych gatunków gronkowców w badanych próbach nasienia pozwala przypuszczać, że tylko dwa z nich - *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus saprophyticus* mogą odgrywać poważniejszą rolę w bakteriologii nasienia.

Jest rzeczą bardzo interesującą, że nowo wyodrębniony gatunek gronkowców koagulazo-ujemnych *Staphylococcus saprophyticus* jest uważany za patogenny dla ludzkich dróg moczowych. W niniejszej pracy po raz pierwszy w literaturze opisano występowanie tego gatunku u zwierząt - też w drogach moczowopłciowych.

Badane szczepy gronkowcowe posiadały szereg aktywności związanych z patogennością tych zarazków. Na uwagę zasługuje ich zdolność do rozkładu białek, przedstawiona w tych badaniach w postaci rozbudowy kazeiny i włóknika.

Wielu autorów podkreśla duże znaczenie proteaz w penetracji zarazków w głąb tkanek i w niszczeniu komórek gospodarza. Jest sprawą otwartą, czy stwierdzona przez nas częsta aktywność fibrynolityczna była związana ze stafylokinazą czy też proteazą (ami) o podobnej swoistości substratowej. Niezależnie od sposobu rozkład włóknika jest niewątpliwie zdolnością bakterii wyraźnie szkodliwą dla makroorganizmu.

Toksyny o charakterze hemolitycznym były produkowane przez znaczny odsetek badanych gronkowców. Jest on zbliżony do częstości produkcji hemolizyn przez gronkowce koagulazo-ujemne, wyosobnione ze zmian chorobowych u człowieka. Ponieważ hemolizyny gronkowcowe, a w szczególności alfa i delta, działają uszkodzająco na większość komórek ssaków, można przypuszczać, że ich szkodliwy wpływ może rozciągać się na plemniki i inne komórki dróg rodnych.

Wśród badanych szczepów *Escherichia coli* zanotowano stosunkowo wysoki odsetek bakterii beta-hemolitycznych (33,4%), co wskazywać może na ich potencjalną chorobotwórczość, 9,3% szczepów wykazywało właściwości produkcji ureazy. Cecha ta

jest reprezentatywna tylko przez niektóre „chorobotwórcze” dla prósiąt serotypy *Escherichia coli*.

WNIOSKI

Badane szczepy *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* sp. i *Escherichia coli*, wyosobnione z nasienia buhajów, posiadają wiele aktywności biochemicznych i toksycznych, które mogą składać się na ich potencjalne właściwości chorobotwórcze. Należy zatem maksymalnie ograniczyć ich obecność w nasieniu.

W. Nowakowski, A. Furowicz, S. Wierzbowski

BIOCHEMICAL AND TOXIC PROPERTIES OF FACULTATIVELY PATHOGENIC BACTERIA ISOLATED FROM BULL SEMEN

S u m m a r y

Biochemical and toxic properties of 3 species of bacteria most often isolated from bull semen i.e.: *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa* and *E. coli* were examined. Most of *Staphylococcus* strains were found to be toxic, produced proteases and fibrolisin, 50% produced hemolisin and 37% fermented mannitol under anaerobic conditions. Ninety four per cent of *Pseudomonas* strains had fibrinolytic 94% hemolytic properties for red blood cells of rabbits, sheep and cattle; all of them showed protease activity. Among the strains of *E. coli* 33,3% had beta-hemolytic properties, which suggests their potential pathogenicity.

В.Новаковски, А.Фурович, С.Вежбовски

Биохимические и токсические свойства условно патогенных микроорганизмов изолированных из семени быка

Резюме

Исследовали биохимические и токсические свойства 3 видов микроорганизмов, которых наиболее часто изолировали из семени быков, в частности *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa* и *E.coli*. Большинство штаммов стафилококка характеризовалось токсическими свойствами, производили протеазы и фибролизинны, 50% производили гемолизины, а 37% ферментировало маннитол в аэробных условиях. 96% штаммов *Pseudomonas* обнаруживали фибринолитические свойства, 94% - гемолитические свойства для эритроцитов кролика, овцы и коровы; все они показывали протеазную активность. Среди штаммов *E.coli* 33,3% показывали свойства бета-гемолитические, что свидетельствует об их потенциальной патогенности.