

BIOCHEMICZNE WŁAŚCIWOŚCI GRONKOWCÓW IZOLOWANYCH Z KLINICZNYCH PRZYPADKÓW ZAPALENIA WYMIENIA

Stanisław Tarkiewicz

Katedra Położnictwa i Patologii Rozrodu Wydziału Weterynaryjnego WSR
w Lublinie

Kierownik: doc. dr Stanisław Tarkiewicz

Gronkowce są coraz częściej przyczyną ostrych lub podklinicznych przypadków zapalenia wymienia. Gronkowce spotyka się często w mleku pochodzącym z wymienia, w którym nie stwierdzono zmian zapalnych [1-3, 5, 6, 8, 11-13]. Stąd wyciąga się wniosek, że zasiedlenie gruczołu mlekowego gronkowcami nie zawsze prowadzi do podrażnienia lub stanu zapalnego wymienia. Przypuszcza się, że patogenność gronkowców dla gruczołu mlekowego jest wynikiem posiadania przez nie charakterystycznych cech. Za najważniejsze kryterium patogenności przyjmuje się zdolność gronkowców do wytwarzania koagulazy i hemolizyny. Również w tej sprawie istnieją różnice poglądów. Plastridge [10] uważa na podstawie własnych badań, że istnieje bezpośredni związek między obecnością gronkowców koagulazo-dodatnich i hemolizujących a stanem zapalnym gruczołu mlekowego, w którym występują. Według Wiidika [15] i Obigera [9] kryterium takie jest niewystarczające do uznania patogenności lub apatogenności gronkowców. Pogląd ich potwierdzają badania Klatta [7], Kästli [4], Kielweina [6] oraz Weighta i Aehnelta [14], którzy izolowali z zapalnie zmienionego wymienia gronkowce uznane dotąd za apatogenne. Również obecność gronkowców o cechach uznawanych dotąd za patogenne nie zawsze prowadzi do stanu zapalnego czy podrażnienia gruczołu mlekowego [6, 13].

Szerokie rozpowszechnienie gronkowców w przyrodzie jak również brak zadowalającego podziału systematycznego, utrudnia ich różnicowanie na szczepy chorobotwórcze i niechorobotwórcze. Celem podjętej pracy jest próba różnicowego badania biochemicznego gronkowców izolowanych z ostrych przypadków zapalenia wymienia.

MATERIAŁ I METODYKA

Zbadano 182 szczepy gronkowców izolowanych z wydzieliny zapalnie zmienionego gruczołu mlekowego, pochodzącej ze 182 ćwiartek wymienia. Wydzielinę pobierano zgodnie z zasadami aseptyki i przenoszono na agar z krwią. Po wstępnym rozpoznaniu polegającym na ocenie wzrostu kolonii oraz wyniku badania mikroskopowego preparatu barwionego metodą Grama, szczepy zakwalifikowane jako gronkowce przesiewano na pożywkę selektywną Chapmanna, z której następnie pobierano materiał do badań biochemicznych. W badaniach biochemicznych określano zdolność wytwarzania przez izolowane szczepy koagulazy wolnej, hemolizyny i żelatynazy oraz fermentacji mannitolu.

Zdolność wytwarzania koagulazy wolnej badano przy użyciu plazmy króliczej. Równolegle nastawiano 4 próbki z badanym szczepem, ze znanym szczepem koagulazo-dodatnim, ze znanym szczepem koagulazo-ujemnym oraz kontrolę. Wyniki odczytywano po 4, 12 i 24 godz.

Zdolność wytwarzania hemolizyny określano na podstawie wzrostu na agarze z 5% dodatkiem krwi baraniej. Zdolność wytwarzania żelatynazy badano na pożywce stałej. Badane szczepy inkubowano w temperaturze 37°C. Po inkubacji wzdłuż linii wzrostu rozprowadzano przy pomocy wacika odpowiednio przygotowany roztwór HgCl₂ i oceniano wynik. Zdolność wytwarzania mannitolu badano w warunkach beztlenowych na pożywce płynnej w temperaturze 37°C. Oceny wyników dokonywano po 24 i 48 godz. Jako wskaźnika używano błękitu bromotymolowego.

WYNIKI

Na 182 badane szczepy gronkowców, które izolowano z zapalnie zmienionego gruczołu mlekowego krów, 72 szczepy wytwarzały koagulazę, a 110 było koagulazo-ujemnych. 165 szczepów było mannitolo-do-

Tabela 1

Właściwości biochemiczne izolowanych szczepów gronkowców koagulazo-dodatnich i koagulazo-ujemnych

Szczepy gronkowców	Razem	Rozszczepiające i wytwarzające						Nie rozszczepiające i nie wytwarzające	
		mannitol żelatyna- za	mannitol żelatyna- naza	mannitol hemoli- zyna	manni- tol	hemo- lizyna	żelatynaza hemoli- zyna	mannitol żelatynaza hemolizyna	
Koagulazo- -dodatnie	72	39	13	16	3	1	—	—	
Koagulazo- -ujemne	110	41	25	17	11	7	2	7	

datnich, 136 szczepów produkowało żelatynazę, a 116 szczepów wytwarzało hemolizynę β (pojedyncze hemolizynę α). Tylko 39 szczepów gronkowców izolowanych z ostrych przypadków zapalenia wymienia było jednocześnie koagulazo- i mannitolo-dodatnich, produkowało żelatynazę i hemolizynę. Stan zapalny wymienia wywołało też 7 szczepów gronkowców, które nie wytwarzały koagulazy, żelatynazy ani hemolizyny i nie fermentowały mannitolu. Szczegółowe dane dotyczące właściwości biochemicznych poszczególnych szczepów przedstawia tabela 1, właściwości koagulazo-dodatnie i koagulazo-ujemne szczepów wytwarzających i nie wytwarzających hemolizyny opisano w tabeli 2, natomiast właściwości koagulazo-dodatnie i koagulazo-ujemne szczepów rozszczepiających i nie rozszczepiających mannitol przedstawia tabela 3.

Tabela 2

Właściwości koagulazo-dodatnie i koagulazo-ujemne izolowanych gronkowców wytwarzających i nie wytwarzających hemolizyny

Szczepy gronkowców	Razem	Koagulazo	
		dodatnie	ujemne
Wytwarzające hemolizyny	123	56	67
Nie wytwarzające hemolizyny	59	16	43

Tabela 3

Właściwości koagulazo-dodatnie i koagulazo-ujemne izolowanych gronkowców rozszczepiających i nie rozszczepiających mannitol

Szczepy gronkowców	Razem	Koagulazo	
		dodatnie	ujemne
Rozszczepiające mannitol	165	71	94
Nie rozszczepiające mannitol	17	1	16

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Najczęściej notowaną cechą biochemiczną szczepów izolowanych z klinicznych przypadków ostrego zapalenia wymienia była zdolność do rozszczepiania mannitolu (165 szczepów), w dalszej kolejności produkowania żelatynazy (136 szczepów) i hemolizyny (116 szczepów). Stosunkowo najrzadszą cechą była zdolność do wytwarzania koagulazy (72

szczepy). Badania nasze nie potwierdzają istniejących dotąd poglądów wskazujących na istnienie bezpośredniego związku między obecnością gronkowców koagulazo-dodatnich i hemolizujących a stanem zapalnym gruczołu mlekowego, w którym występują. Nasze obserwacje są zgodne z doniesieniami Wiidika [15], Klatta [7], Kästli [4], Kielweina [6], Obigera [9], Weighta i Aehnelta [14], którzy izolowali z zapalnie zmienionego gruczołu mlekowego gronkowce uznawane dotąd za apatogenne. Szczególnie dobitnym tego wyrazem w wykonanych przez nas badaniach jest fakt izolowania z zapalnie zmienionego gruczołu mlekowego 7 szczepów gronkowców koagulazo- i mannitolo-ujemnych, nie wytwarzających żelatyny ani hemolizyny.

WNIOSKI

1. Zdolność wytwarzania przez gronkowce koagulazy nie jest wystarczającym kryterium patogenności dla gruczołu mlekowego. Gronkowce koagulazo-ujemne znacznie częściej są przyczyną stanu zapalnego wymienia.

2. Zdolność rozszczepiania mannitolu jest cechą najczęściej występującą wśród gronkowców izolowanych z klinicznie zmienionego gruczołu mlekowego.

3. Stan zapalny wymienia jest wywołany zarówno przez gronkowce wytwarzające, jak i nie wytwarzające hemolizyn.

4. Proces chorobowy gruczołu mlekowego może być wywołany również przez gronkowce nie posiadające żadnej z badanych cech, a mianowicie koagulazo- i mannitolo-ujemne, nie produkujące żelatyny ani hemolizyn.

PIŚMIENNICTWO

1. Berner H.: Über die Bedeutung der Mikrokokken in der Milchdrüse des Rindes. Vet. Med. Diss., Berlin 1958.
2. Evans A. C.: The bacteria of milk freshly drawn from normal Udders. J. exper. Med. 28, 74, 1916.
3. Jones F. S.: Studies on bovine mastitis. III. Infections of the udder with micrococci and other microorganism. J. exper. Med. 30, 721, 1918.
4. Kästli P.: Untersuchungen über den Euterkatarrh der Milchkühe. Schweiz. Arch. Tierheilkde 93, 364, 1951.
5. Kästli P.: Die Ursachen der Mastitis. Tierärztl. Umsch. 18, 10, 527, 1963.
6. Kielwein G.: Die Ermittlung euterpathogener Staphylokokkenmastitis. Zbl. Bakt. I. 78, 343, 1960.
7. Klatt C. H.: Untersuchungen über den Staphylokokkeneutherkatarrh des Rindes. Vet. Med. Diss. Liebefeld-Bern 1949.
8. Murphy J. M., Stuart O. M.: Teat canal length in the bovine and its relation to susceptibility to swab-induced infection with *Streptococcus agalactiae*. Cornell. Vet. 45, 112, 1955.

9. Obiger G.: Zur Frage der Milchhygienischen Bedeutung der Staphylokokken. Arch. Lebensmittelhyg. 11, 265, 1960.
10. Plastridge W. N., Anderson E. O., Weirether F. J.: Infectious bovine mastitis 8. The control of *Streptococcus agalactiae* mastitis by a segregation program base on periodic laboratory tests., storrs (Conn). Agr. Expt. Sta. Bull. 240, 1942, cyt. wg poz. 11.
11. Plastridge W. N.: Bovine mastitis. A reviev. J. Dairy Sci. 41, 1141, 1958.
12. Schalm O. W., Woods G. M.: Micrococcus pyogenes in bovine milk. II. Relationship of shedding characteristics to occurrence of clinical mastitis. Amer. J. vet. Res. 14, 534, 1953.
13. Tarkiewicz S.: Untersuchungen zu aus Euter klinisch gesunder Kühe isolierten Staphylokokken. Higiena Mleka i zwalczanie schorzeń gruczołu mlecznego. Symp. Międzynar. 5-7.IX. Bydgoskie Towarzystwo Nauk 207, 1968.
14. Weight U., Aehnelt D.: Ein Beitrag zur Bedeutung des Staphylokokkus pyog. var. albus als Mastitiserreger. Wien. tierärztl. Mschr. 52, 291, 1965.
15. Wiidik R. W.: Zur Bakteriologie der Staphylokokkenmastitis. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 67, 133, 1954.

S. Tarkiewicz

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТАФИЛОКОККОВ ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ МАСТИТА

Резюме

Изолировали 182 штамма стафилококков из секрета вымени с острым воспалительным процессом. Исследовали способность изолированных штаммов к выработыванию коагулаза, желатиназа и маннитола а также гематоксина. 72 штамма были коагулазо-положительными, а 110 штаммов коагулазо-отрицательными. Семь штаммов не производили коагулаза, желатиназа, маннитола и гематоксина. Исследования показали, что острые маститы вызываются как коагулазо-положительными так и коагулазо-отрицательными стафилококками, с разными биохимическими свойствами.

S. Tarkiewicz

BIOCHEMICAL PROPERTIES OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM CLINICAL CASES OF MASTITIS

Summary

182 strains of staphylococci have been isolated from the secretion of mammary gland with clinical symptoms of mastitis. The ability to produce coagulase and gelatinase, mannitol and hemotoxins was examined. Among the examined strains 72 were coagulase-positive and 110 coagulase-negative ones; 7 strains did not produce coagulase, hemotoxins, gelatinase and mannitol. The investigations showed that acute mastitis may be caused either by coagulase-positive or coagulase-negative staphylococci with different biochemical properties.