

gi na kontrowersyjność niektórych z nich — jest niezmiernie trudne. Wynika to ze względu na posługiwanie się przez poszczególnych autorów nader różnymi metodami. Zresztą niepowodzenia na polu serologii gruźlicy wynikają z kilku przyczyn. Za *Kwapińskim* (13) możemy je ująć następująco: 1. brak całkowicie oczyszczonego i wysoce czynnego antygeny, 2. powszechność (przede wszystkim u ludzi) zakażenia naturalnego lub powstałego w następstwie szczepień. Powyższe tłumaczy przynajmniej częściowo istnienie tzw. „nieswoistych odczynów serologicznych”. 3. Areaktywność serologiczna w ciężkich stanach choroby gruźliczej lub u osobników młodocianych niedojrzałość tkanki mezenchymalnej. 4. Brak krążących przeciwciał, obecność hamujących substancji, występowanie niekompletnych przeciwciał, adsorpcja przeciwciał na leukocytach, neutralizacja *in vivo*, wreszcie nieodpowiednia czułość samego odczynu.

Widząc w takim świetle tak czule próby jak OHA i OHL trzeba pamiętać o braku standaryzacji odczynu. Nie nawołuję tu jednak do ujednolicenia metod, gdyż na to przyjdzie czas później, na razie należy dalej prowadzić badania. Na oba odczyny składa się tak wiele elementów jak również obfitość zabiegów manualnych, że niemal nigdy nie ma się idealnej pewności co do identycznego powtórzenia próby. Zilustrujemy to tylko na trzech przykładach: 1. Zagadnienie modelowania krwinek: różne owce są dawcami różnych krwinek; czy zawsze ten sam enzym (np. trypsyna) działa — nawet w tym samym czasie — jednakowo modelując na krwinki pochodzące szczególnie od różnych dawców; czy zawsze są odsłaniane te same receptory na powierzchni krwinek? 2. Zagadnienie komplementu: wydaje się niekiedy, że OHL jest jak gdyby „za czu-

ły”, zachowuje się labilnie nawet w znanych i od dawna wypróbowanych metodach. 3. Zagadnienie mian fizjologicznych: jakie miano należy uważać jeszcze za fizjologiczne? Sami twórcy odczynu uważali miano 1:8 za dodatnie, wyniki innych badań są zainteresowanym dobrze znane; jednakże porównanie danych jest niemożliwe z uwagi na ogromne różnice w stosowanych metodach. Sprawa ta jest o tyle ważna, że chociażby ostatnio *Schwartz* (22) udowodnił możliwość występowania mian pod wpływem doświadczalnych zakażeń różnymi drobnoustrojami. Takie i inne wątpliwości stale towarzyszą w badaniach nad hemaglutynacją i hemolizą. Zachodzi więc pytanie: czy odczyn uważany przez niektórych (13, 39) za bardziej czuły od alergicznego i najbardziej swoisty z odczynów używanych do rozpoznawania gruźlicy u zwierząt przeżył się i podzielił los podobnych mu prób serologicznych? Oczywiście tylko przyszłość może dać odpowiedź na to zagadnienie. W chwili obecnej odpowiedzieć możemy tylko chyba twierdząco na pytanie postawione już na tych łamach co do poziomu naszych osiągnięć i kierunku badań. Odpowiedź dotyczy zakresu doświadczeń nad omawianymi odczynami, na tle określonego dorobku weterynarii w świecie.

Garść tych uwag niech będzie raczej zachętą aniżeli utrudnieniem w podejmowaniu dalszych badań, które oby zostały uwieńczone pomyślnymi wynikami. Zadania stojące w tej mierze są bowiem trudne do urzeczywistnienia, ale przyświeca im chociażby tylko jeden cel wysokiej miary: rozpoznanie choroby gruźliczej w próbówce.

Piśmiennictwo zawierające 46 pozycji znajduje się u autora.

Adres autora: Doc. dr Jerzy Lipanowicz, Wrocław, ul. Łukasiewicza 12 m 6.

EDWARD LACHOWSKI, STANISŁAW KRZYŻANOWSKI, KRYSTYNA WAWRZKIEWICZOWA

Próby odróżniania laseczki wąglika od laseczek rzekomo-wąglikowych przy pomocy precypitacji w żelu*)

Z Katedry Mikrobiologii Wydziału Wet. WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr TADEUSZ JASTRZĘBSKI

Wąglik w Polsce nie odgrywa obecnie większej roli. Niemniej jednak statystyki Ministerstwa Rolnictwa wykazują stale istnienie zakaźnych zagród: np. w r. 1960 — 31, w 1961 — 26, w 1962 — 11, a Klinika Chorób Zakaźnych AM w Lublinie notuje co najmniej przypadki wąglika u ludzi.

Jak z tego wynika dalsze badania ułatwiające rozpoznanie i zwalczanie tej zoonozy są nadal aktualne. Specjalnie ważne jest m. in. odróżnienie laseczek wąglikowych od podobnych do nich innych tlenowych laseczek zarodnikujących wyosobnionych niejednokrotnie z materiałów podejrzanych o wąglik. Przede

wszystkim chodzi tu o *Bacillus subtilis* i *Bacillus megaterium*, które niekiedy w postaci M wytwarzają otoczki zbudowane ze spolimeryzowanego kwasu glutaminowego (*Stableforth* 1959, *Pesti* 1958). Otoczki laseczek wąglika i w.w. laseczek saprofitycznych wykazują poza tym podobne reakcje serologiczne, mają prawie identyczną budowę chemiczną i barwią się metachromatycznie barwnikami zawierającymi azur.

W związku z tym, zagadnienie różnicowania laseczki wąglika od laseczek wągliko-podobnych stało się ostatnio tematem wielu prac (*Chu* 1950 — właściwości morfologiczne; *Mc Cloy* 1951 — biochemia i wrażliwość na bakteriofagi; *Mc Gaughey* i *Chu* 1948 — test lecytynazowy; *Jensen* i *Kleemeyer* 1953 — test „sznura pereł” na pożywcze z penicyliną itp.).

*) Praca wyróżniona na zjeździe Studenckich Kół Naukowych w Poznaniu dn. 4–5.V.1961 r. nagrodą I stopnia i zakwalifikowana do druku.

Załączona tabela podaje opracowane na podstawie literatury zestawienie niektórych ważniejszych właściwości *Bacillus anthracis*, oraz trzech laseczek wągliko-podobnych.

test" — próbę, która ma odróżnić laseczki wąglika od wąglikopodobnych przez hodowlę ich na pożywkach z odpowiednio dobranymi stężeniami penicyliny.

Kolesow i Graczeu (1955) starają się polepszyć dia-

Tab. 1. Niektóre właściwości morfologiczne i fizjologiczne szczepów *B. anthracis* oraz *B. cereus*, *B. subtilis* i *B. megaterium*

Rodzaj bakterii	<i>B. anthracis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. megaterium</i>
1	2	3	4	5
Sposób kiełkowania	biegunowo	równikowo (centralnie)	biegunowo	biegunowo wyjątkowo równikowo
Ruch do czasu zarodnikowania	—	+	+	+
Zdolność tworzenia otoczek w ustroju zwierzęcym	+	—	—	—
Wzrost na bulionie				
błonka	—	+	—	+
zmętn.	—	—	+	+
osad	+	—	+	+
Rozpuszczanie żelatyny	+	+	+	+
Test „sznura pereł”	+	—	—	—
Właściwości hemoliz.	— i +	—	+	—
Próba Voges-Proskauera	—	+	+	—
Redukcja prontosiłu	3 dni	+	2 dni	—
Próba na lecytynazę	+	—	+	—
Hydroliza skrobi	+	+	+	+
Rozkład węglowodanów				
arabinoza	—	+	—	+
ksyloza	+	+	—	+
glikoza	+	+	+	+
sacharoza	+	+	+	+
laktoza	—	+	+	+
salicyna	+	+	—	+
mannitol	—	+	—	+
glicerol	+	—	+	+

Legenda:

+ = występuje
 ± = ślady
 — = nie występuje
 + i — = u części szczepów występuje, u części nie występuje

(+) = u niektórych szczepów wyjątkowo występuje
 (—) = u niektórych szczepów wyjątkowo nie występuje
 × = niektóre szczepy awirulentne tracą zdolność tworzenia otoczek
 ×× = wg Pest'ego świeżo wyosobnione szczepy należą do postaci M i wytwarzają otoczkę na wszystkich podłożach.

Jak z powyższej tabeli wynika, opisane gatunki (a zwłaszcza *B. anthracis* i *B. cereus*) są do siebie na ogół podobne, chociaż pewnymi cechami, a zwłaszcza zjadliwością dla zwierząt różnią się od siebie.

W związku z tym Smith, Gordon i Clark (1946, 1952), wychodząc z założenia, że cecha zjadliwości laseczki wąglikowej jest cechą zmienną, stanęli na stanowisku, że *B. anthracis* jest tylko wariantem *B. cereus*.

Podają oni w swej pracy, podkreślając „ściśle pokrewieństwo istniejące pomiędzy *B. cereus* i *B. anthracis*”, że przebadali 14 szczepów oznaczonych jako *B. anthracis* (w tym 2 zjadliwe) i stwierdzili, że „żadna ze zbadanych cech nie różniła hodowli *B. anthracis* od *B. cereus*”.

Poglądy Smitha nie zostały przyjęte przez innych badaczy, gdyż prace kontrolne Pest'ego (1958) dały wyniki odmienne, ale zwrócili uwagę na potrzebę dalszych badań nad bakteriami rodzaju *Bacillus* i metodami ich różnicowania.

I tak Jensen i Kleemeyer (1953), którzy podają, że na 43 przebadane szczepy laseczek wągliko-podobnych aż 19 dawało dodatnią termoprecypitację z surowicą przeciwwąglikową, opracowują tzw. „Perlschnurr-

gnostykę wąglika przez otrzymanie bardziej swoistej przeciwwąglikowej surowicy precypitacyjnej.

Michajłow, Rożnow i Tamarin (1960) usiłują odróżnić laseczkę wąglika od laseczek wągliko-podobnych przy pomocy specjalnej metody barwienia otoczek.

Badania własne

Celem pracy było zbadanie możliwości odróżniania *B. anthracis* od *B. cereus*, *B. subtilis* i *B. megaterium*, przy pomocy żelprecypitacji drogą wykazania różnic w ich budowie antygenowej.

Materiał i metodyka

Szczepy: Przebadano następujące szczepy laseczek: *Bacillus cereus* nr 1010, *Bacillus subtilis* nr 834, *Bacillus megaterium* nr 493 otrzymane z kolekcji szczepów PZH w Warszawie, oraz *Bacillus anthracis* nr 1, szczep pełnozjadliwy, pochodzący ze zbiorów muzealnych Katedry Mikrobiologii Wydz. Wet. w Lublinie.

Surowice: Do badań używano surowicy precypitującej anty-wąglikowej, produkcji Zakładów w

Dessau (Ascoli-Dessau), oraz surowic króliczych otrzymanych przez hyperimmunizację zwierząt metodą Dédiego. Szczepionkę do uodporniania królików przygotowano z trzykrotnie wirowanej i przemywanej płynem fizjologicznym spleczyny agarowej bakterii, o końcowej gęstości ok. 900 milionów bakt./1 ml wg skali Mc Farlanda. Tak przygotowaną zawiesinę bakteryjną zabijano przez dodatek 0,3% formaliny, a po sprawdzeniu jej na jałowość i nieszkodliwość używano do immunizacji.

Przed rozpoczęciem uodporniania badano krew królików na obecność w niej normalnych przeciwciał w stosunku do *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. subtilis* i *B. megaterium* metodą precypitacji.

Każdym szczepem uodporniano 2 króliki wagi ok. 3 kg. Stosowano iniekcje dożylnie w dwóch seriach oddzielonych od siebie tygodniową przerwą. Każda seria obejmowała 6 codziennych iniekcji po 2 ml szczepionki. W tydzień po ostatniej iniekcji przeprowadzono próbny upust krwi i z surowicą wykonano precypitację próbkową, stosując jako antygeny wyciągi przygotowane wg metody Lancefield. Otrzymane wyniki wskazywały na obecność przeciwciał odpornościowych w wysokim mianie u królików uodpornianych szczepem *B. cereus*, oraz niewielką ilość przeciwciał u jednego królika uodpornianego szczepem *B. anthracis*. Pozostałe surowice królicze nie wykazywały obecności homologicznych przeciwciał odpornościowych. W związku z powyższym, królikom uodpornianym poprzednio szczepem *B. megaterium* i *B. subtilis* wstrzyknięto dodatkowo dożylnie 3-krotnie zawiesinę żywych zarazków o gęstości ok. 2 mld/ml. Królikom uodpornianym zabita szczepionką *B. anthracis* podano dożylnie wakcyne II Pasteur'a (jednemu królikowi w ilości 0,4 ml, a drugiemu 1 ml hodowli bulionowej). Wszystkie króliki zachorowały, a szczepione *B. megaterium* — padły; przyczyną zejścia było prawdopodobnie zaszczepienie naczyń krwionośnych grudkami niedostatecznie rozbitych bakterii.

W krwi zwierząt, które przechorowały nie stwierdzono ani po upływie jednego tygodnia, ani po trzech tygodniach homologicznych przeciwciał odpornościowych. Do dalszych badań dysponowano więc jedynie króliczą surowicą precypitującą antyszczep *B. cereus* i niewielką ilością surowicy precypitującej antyszczep *B. anthracis*.

Antygeny

Jako materiał antygenowy służyły:

- wyciągi przygotowane wg metody Lancefield ze spleczyn agarowych,
- wyciągi przygotowane wg metody Fullera ze spleczyn agarowych,
- przesącze zawiesiny bakteryjnej ze spleczyn agarowych o gęstości ok. 900 mln bakt/ml zabitych w 121° (w autoklawie),
- pełne hodowle bulionowe przetrzymywane przez trzy dni w temp. 37°, a następnie w temp. pokojowej.

Podłoże do precypitacji w żelu

Jako podłoże do precypitacji żelowej służył agar-agar oczyszczony przy pomocy bentonitu (minerał

zawierający bardzo drobne cząstki ułatwiające adsorbację) zawierający 1% NaCl i konserwowany merthiolatem w stężeniu 1:10 000.

Tak przygotowane podłoże wylewano na płyty szklane na grubość 2 mm. Po zastygnięciu wycinano baseny tak, aby odległość basenu centralnego zawierającego surowicę, od basenów peryferycznych, wypełnionych badanymi antygenami, wynosiła 5 mm. Aby uniknąć przecieku, dna basenów powlekano cienką błonką agaru. Po napełnieniu basenów, płytki wstawiano do wilgotnej komory i przetrzymywano je w temp. 25°, oglądając codziennie. Za miarodajny wynik przyjmowano odczyt po 3 dniach, gdy nastąpiło już maksymalne rozwiniecie się prążków precypitacyjnych.

Wyniki

We wstępnych badaniach wykonano precypitację próbkową używając trzy rodzaje surowic precypitacyjnych, oraz antygeny z badanych szczepów laseczek przygotowane w podany wyżej sposób. Otrzymane wyniki zebrano w tab. 2.

Z tabeli tej wynika, że nasze surowice królicze precypitowały wyłącznie z antygenami homologicznymi, natomiast surowica Ascoli Dessau dawała dodatnią reakcję precypitacyjną również z wyciągami heterologicznych szczepów laseczek. Tego rodzaju wynik świadczy o obecności pewnych wspólnych frakcji antygenowych w badanych szczepach bakteryjnych i o trudnościach, jakie w praktyce diagnostycznej może nasuwać zwykła metoda precypitacyjna.

Dla wyjaśnienia możliwości usunięcia tych trudności wykonano badania metodą precypitacji w żelu. Badania objęły 3 grupy doświadczonych w zależności od rodzaju użytej surowicy odpornościowej.

a) Surowica królicza precypitująca anty *B. cereus*.

W stosunku do w/w surowicy przebadano wyciągi antygenowe *B. anthracis*, *B. subtilis*, *B. megaterium* i *B. cereus*. Wyniki pokryły się z otrzymanymi przy precypitacji próbkowej. We wszystkich przypadkach precypitacja wystąpiła tylko w układzie homologicznym tj. surowica anty *B. cereus* i antygen *B. cereus*. W przypadku wyciągów węglowodanowych przygotowanych wg metody Lancefield, Fullera i zawiesiny bakteryjnej grzanej w temperaturze 120° ilość linii precypitacyjnych wynosiła 2—3; w antygenie bulionowym niegrzanym wy-

Tab. 2. Wyniki precypitacji próbkowej badanych szczepów laseczek z surowicami króliczymi i z surowicą Ascoli (Dessau).

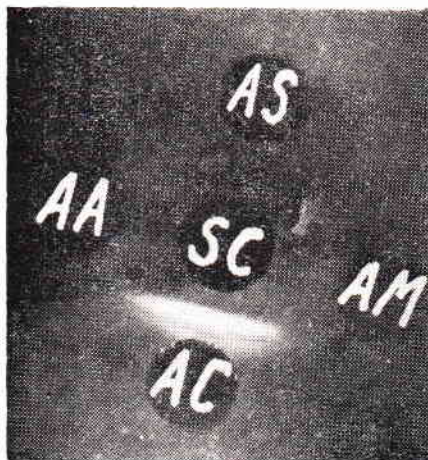
Surowice	A n t y g e n y											
	wg Lancefield				wg Fullera				wyciąg z bakt.			
	A	S	C	M	A	S	C	M	A	S	C	M
Ascoli (Dessau)	+++	++	+	++	+++	+	±	++	+++	—	—	—
anty <i>B. cereus</i> (królicza)	—	—	+++	—	—	—	++	—	—	—	+++	—
anty <i>B. anthracis</i> (królicza)	+	—	—	+	+	—	—	—	+	—	—	—

Legenda:

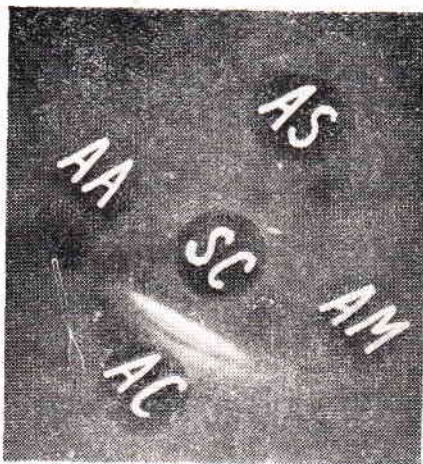
A = *B. anthracis*, S = *B. subtilis*, C = *B. cereus*, M = *B. megaterium*.

stał tylko 1 prążek precypitacyjny (fot. 1, 2 i 3).

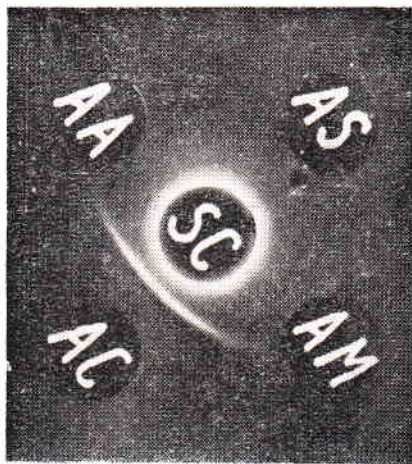
Obraz prążków precypitacyjnych uzyskanych z króliczą surowicą precypitującą anty *B. cereus*.



Fot. 1. Antygeny w postaci wyciągów węglowodanowych wg met. Lancefield.



Fot. 2. Antygeny w postaci zawiesiny bakteryjnej grzanej w temp. 120°.



Fot. 3. Antygeny w postaci pełnych hodowli bulionowych.

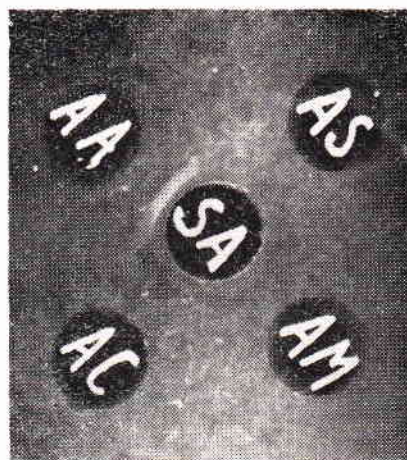
SC = surowica pko *B. cereus* (królicza)
 AC = antygen *B. cereus*
 AA = „ *B. anthracis*
 AM = „ *B. megaterium*
 AS = „ *B. subtilis*

b) Surowica królicza precypitująca anty *B. anthracis*.

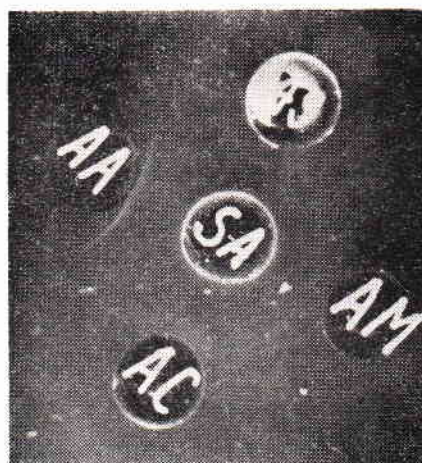
Badania prowadzono jak uprzednio, używając wyciągów antygenowych badanych szczepów laseczek.

Otrzymane wyniki były zgodne z wynikami uzyskanymi przy precypitacji próbówkowej; reakcja nastąpiła jedynie między surowicą a homologicznym antygenem. Badana surowica okazała się jednak znacznie słabsza aniżeli surowica anty *B. cereus*, w związku z tym uzyskane prążki precypitacyjne były słabe i mało wyraźne (fot. 4, 5 i 6).

Obraz prążków precypitacyjnych uzyskanych z króliczą surowicą precypitującą anty *B. anthracis*.



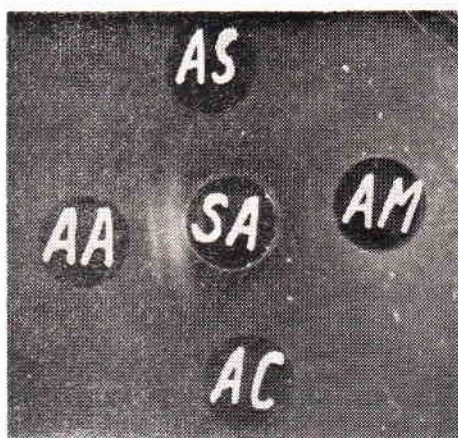
Fot. 4. Antygeny w postaci wyciągów węglowodanowych wg met. Lancefield.



Fot. 5. Antygeny w postaci zawiesiny bakteryjnej grzanej w temp. 120°.

c) Surowica precypitująca Ascoli — Dessau.

Otrzymane wyniki potwierdziły dane uzyskane przy precypitacji próbówkowej; surowica Ascoli reagowała z wyciągami węglowodanowymi wszystkich badanych szczepów laseczek utrzymanymi wg metody Lancefield i Fullera. Jednak obraz prążków precypitacyjnych był różny dla różnych szczepów. Stwierdzono wspólny prążek precypitacyjny o różnej jednak intensywności dla *B. megaterium*, *B. sub-*



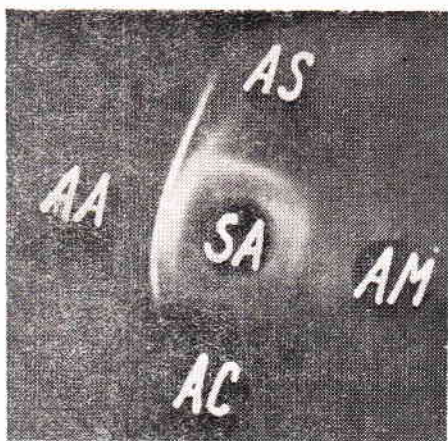
Fot. 6. Antygeny w postaci pełnych hodowli bulionowych.

SA = surowica pko *B. anthracis* (królicza)
 AC = antygen *B. cereus*
 AA = „ *B. anthracis*
 AM = „ *B. megaterium*
 AS = „ *B. subtilis*

tilis i *B. anthracis*, który należy uznać za grupowo swoisty. Poza tym jednak przy *B. anthracis* wystąpiły dwie dodatkowe, bardzo silne i odrębne strukturalnie linie precypitacyjne, odpowiadające prawdopodobnie swoistemu antygenowi laseczki węglik. Z pozostałych gatunków najbardziej odbiegał swym zachowaniem *B. cereus*; dał on tylko jedną i to dość słabo zaznaczoną, rozlaną linię strątu, różną od wyżej opisanych; można by ją więc również uważać za linię odpowiadającą swoistemu antygenowi *B. cereus* (fot. 7).

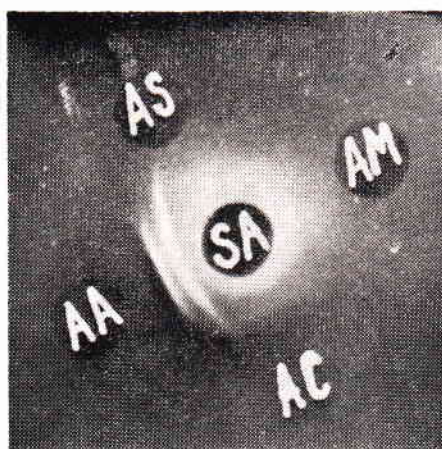
Antygeny w postaci zawiesin bakteryjnych grzanych w 120°, również antygeny w postaci niegrzanych, pełnych hodowli bulionowych dały bardzo wyraźne dwa lub trzy prążki precypitacyjne jedynie z *B. anthracis* (fot. 8 i 9).

Obraz prążków precypitacyjnych uzyskanych z surowicą precypitującą Ascoli.

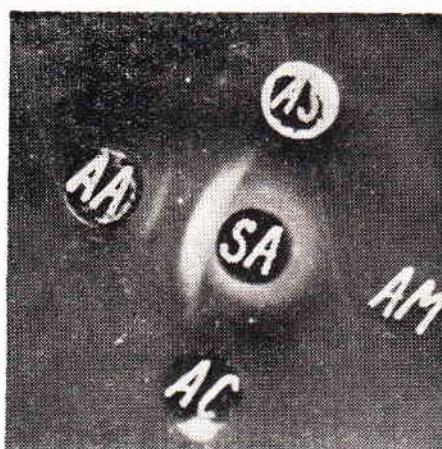


Fot. 7. Antygeny w postaci wyciągów węglowodanowych wg met. Lancefield.

Brak w tym przypadku prążków precypitacyjnych pomiędzy surowicą Ascoli a antygenami *B. megaterium*, *B. subtilis* i *B. cereus* należy prawdopodobnie tłumaczyć znacznym rozcieńczeniem antygenów w/w laseczek tj. występo-



Fot. 8. Antygeny w postaci zawiesiny bakteryjnej grzanej w temp. 120°.



Fot. 9. Antygeny w postaci pełnych hodowli bulionowych.

waniem ich w roztworze w mniejszych ilościach niż antygeny laseczek węglik.

Omówienie wyników

Metodą precypitacji probówkowej i w żelu agarowym stwierdzono, że surowice królicze anty *B. anthracis* i *B. cereus* reagowały tylko z antygenami homologicznych szczepów. Precypitacja krzyżowa pomiędzy surowicami i wyciągami antygenowymi *B. anthracis* i *B. cereus* wypadła negatywnie, co jeszcze raz wbrew poglądom Smitha, Gordona i Clarka (1946) dowodzi odrębności antygenowej tych gatunków bakteryjnych.

Dodatkowe spostrzeżenie, że króliki uodporniane szczepem *B. cereus* wytworzyły szybko i łatwo silne surowice precypitujące, natomiast króliki uodporniane w ten sam sposób szczepami *B. anthracis*, *B. subtilis* i *B. megaterium* dały surowicę słabą, lub nie zawierającą w ogóle precypityn, wydaje się również wskazywać na różnice budowy immuno-chemicznej między tymi szczepami. (O trudnościach uodporniania królików wakcyną Pasteur II podaje również Stöckl — 1954).

Przy użyciu surowicy pw-węglkowej Dessau specjalnie produkowanej do próby Ascoli i wy-

ciągow węglowodanowych z laseczki węgliku i badanych laseczek saprofitycznych, próbowkowa próba precypitacyjna wypadła wszędzie pozytywnie. Obserwacja ta dowodzi, że diagnostyczna próba precypitacyjna z surowicą Ascoli może wypadać pozytywnie również w przypadku, gdy materiał badany nie zawiera antygenu węglikowego, zawiera natomiast duże ilości laseczek saprofitycznych jak np. *B. subtilis* i *B. megaterium*. Zastosowanie do tych samych komponentów odczynu precypitacji w żelu potwierdziło wyniki precypitacji próbowkowej wskazujące na obecność w laseczce węgliku i w badanych laseczkach saprofitycznych antygenów węglowodanowych reagujących z surowicą Ascoli. Wykazało jednak obok istnienia wspólnego haptenu węglowodanowego dla *B. anthracis*, *B. megaterium* i *B. subtilis*, (co wskazywałoby na pewną bliskość serologiczną tych drobnoustrojów), obecność odrębnego antygenu u *B. cereus*. Rezultat ten potwierdza wyniki pracy Pestiego, który w oparciu o precypitację próbowkową z zastosowaniem swoistych surowic króliczych i końskich stwierdził odmienny skład antygenowy *B. anthracis* i *B. cereus*.

U *B. anthracis* wykazano oprócz wspólnego antygenu grupowego, obecność dwóch dodatkowych antygenów, z których jeden jest wyraźnie różny od antygenów laseczek saprofitycznych i może być uznany za swoisty dla laseczki węgliku.

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń wykazano, że precypitacja w żelu pozwala szybko i pewnie odróżnić laseczkę węgliku od badanych szczepów *B. subtilis*, *B. megaterium* i *B. cereus*, a także bez trudu określić *B. cereus*. Nie udało się natomiast tą metodą odróżnić *B. subtilis* od *B. megaterium*.

Piśmiennictwo

1. Ascoli A.: Zbl. Bakt. 58, 63, (1911)
2. Chu H. P.: J. gen. Microbiol. XIII, 3, 4 (1950)
3. Jensen J., Kleemayer H.: Zbl. Bakt. 159, 494, (1952)
4. Kolesow S., Graczev W.: Wietierinaria 5, (1955)
5. Mc Cloy E. W.: J. Hyg. Camb., 49, 114, (1951) cyt. za Stableforth
6. Mc Gaughey C. A. i Chu H. P.: J. gen. Microbiol., 2, 334, (1948)
7. Michajłow J. B., Roźnow G. J., Tamarin A. L.: Żurnal mikrob. epidem. i immunobiol., 11, 10, (1960)
8. Pesti L.: Acta Veterinaria Hungaricae VIII, 151, (1958)
9. Smith N. R., Gordon R. E., Clark F. E.: U.S. Dept. of Agric. Miscellaneous publication, 559, (1946) cyt. za Stableforth
10. Smith N. R.: U. S. Dept. of Agric. Monograph., 16, (1952), cyt. za Stableforth
11. Stableforth A. W.: Infectious diseases of animals diseases due to bacteria, 1, 23, (1959)
12. Stöckl W.: Veterinärmedizin, 1, 330, (1954).

Adres autora: Edward Lachowski, Bydgoszcz, ul. Powstańców Wlkp. 658.

Ляховски Э., Кжижановски С., Вовжкевич К. ПОПЫТКИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ПАЛОЧКИ АНТРАКСА И ПСЕВДОАНТРАКСНЫХ ПАЛОЧЕК МЕТОДОМ ПРЕЦИПИТАЦИИ В ЖЕЛЕ.

На основании литературных данных и результатов собственных исследований авторы установили, что дифференцировка антраксной палочки и псевдоантраксных

палочек (*Bac. subtilis*, *megaterium*, *cereus*) часто очень затруднительна. В результате исследований выявлено, что признаваемая точной пробирочная классическая проба при использовании высоковалентной сыворотки по Ascoli (Dessau), а также углеводородных экстрактов (Lancefield, Fuller) дают в обоих случаях преципитационную полоску. Применение преципитационного метода в желе дает скорую и точную дифференцировку упомянутых микробов. Сверх того авторы согласны с Pestij (1958) в том, что взгляд Smith'a относительно иммунологического сродства *Bac. anthracis* и *Bac. cereus* является всецело неправильным. Авторы рекомендуют введение железой преципитации в диагностику антракса в качестве рутинного метода.

Lachowski E., Krzyżanowski S., Wawrzkievicz K.: Attempts to differentiate the Anthrax bacillus from the Pseudoanthrax bacilli by the use of gel precipitation.

The authors on the basis of the data in the literature and their own experiments show that the differentiation of the Anthrax bacillus from the Pseudo-anthrax bacilli (*Bac. subtilis*, *megaterium* and *cereus*) frequently causes great difficulties. From the studies presently conducted it results that the thermoprecipitation test, regarded as a reliable test in the classical performance that is in test tubes gives when the highlyvalent serum Ascoli (Dessau) is used and the carbohydrate extracts (Lancefield, Fuller) the precipitation precipitates not only with the extracts of the Anthrax bacillus but also with the extracts of bacilli *B. subtilis*, *B. megaterium* and *B. cereus*. Using, however, the precipitation in gel method it is possible to differentiate those microorganism in a quick and reliable way.

Additionally the authors state in accordance with Pesti (1958), that the opinion of Smith, concerning the immunological relationship of *B. anthracis* with *B. cereus* is totally incorrect.

The authors recommend the introduction of the precipitation in gel to diagnostics of anthrax as a routine method.

Lachowski E., Krzyżanowski S., Wawrzkievicz K. — Essai d'une différenciation du bacille d'anthrax et des *Bac. subtilis*, *megaterium* et *cereus* à l'aide de la précipitation en gel.

Les auteurs démontrent, en se fondant sur les données de la littérature et les expériences propres, que la distinction du bacille du charbon des *B. subtilis*, *megaterium* et *cereus* est souvent difficile. Les recherches effectuées ont démontré, que l'épreuve de thermoprécipitation dans l'exécution classique, c'est à dire dans les éprouvettes — estimée comme sûre, donne avec l'emploi du sérum Ascoli (Dessau) de haute valeur, ainsi qu'avec l'emploi d'extraits de glucides (Lancefield, Fuller) des précipités non seulement avec l'extrait du bacille d'anthrax mais aussi avec les extraits des *B. subtilis*, *B. megaterium* et *B. cereus*. Au contraire, en employant la méthode de la précipitation en gel, on peut discerner promptement et avec sûreté ces bacilles les uns des autres.

Supplémentairement les auteurs constatent, d'accord avec Pesti (1958) que l'avis de Smith concernant la parenté immunologique de *B. anthracis* avec *B. cereus* n'est pas juste.

Les auteurs proposent d'introduire la précipitation en gel dans la diagnose du charbon comme méthode de routine.

Lachowski E., Krzyżanowski S., Wawrzkievicz K. — Versuche zur Differenzierung des *Bac. anthracis* und der Pseudoanthraxbacillen mit der Gelpräzipitation.

Auf Grund der betreffenden Literatur sowie eigener Erfahrung berichten die Verfasser, dass die Differenzierung *Bac. anthracis* und der Pseudo-

anthraxbacillen (*B. subtilis*, *B. megaterium* und *B. cereus*) mit bedeutenden Schwierigkeiten verbunden ist. Aus den Untersuchungen geht hervor, dass die als sicher erachtete klassisch d. h. in Röhrchen ausgeführte Thermopräcipitationsprobe unter Verwendung eines hochwertigen Serums Ascoli (Dessau) sowie kohlenhydratiger Extrakte (Lancefield, Fuller) Präcipitationsniederschläge nicht bloss mit dem Extrakt der Milzbrandbacillen, doch auch mit den

Extrakten von *B. subtilis*, *B. megaterium* und *B. cereus* ergibt. Dagegen die Gelpräcipitation ermöglicht rasche und sichere Differenzierung dieser Bacillen. Zusätzlich stellen die Verfasser im Einklang mit Pesti (1958) fest, dass die Ansicht Smith was die immunobiologische Verwandtschaft *Bac. anthracis* und *Bac. cereus* anbelangt, gänzlich unrichtig ist und empfehlen zur Milzbranddiagnostik die Gelpräcipitation als eine rutinierte Methode.

ZDZISŁAW PRZYJAŁKOWSKI

Antybiotyki w walce z kokcydiozą drobiu

Z Zakładu Parazytologii PAN
Kierownik: prof. dr W. MICHAJŁOW

Ostatnio coraz częściej przeprowadza się próby walki z kokcydiozami zwierząt przy użyciu różnych antybiotyków. Jak wykazał Bell (1959) w wyniku swych doświadczeń, przeprowadzonych nad eksperymentalnie wywołaną kokcydiozą jelita ślepego kurcząt, zakażonych po 200 000 szt. oocyst *Eimeria tenella* (Railliet i Lucet, 1891) na osobnika, dobre wyniki lecznicze daje aureomycyna, chloramfenikol, erytromycyna, spiromycyna i terramycyna. Dziąbka i Kita (1962) z dobrym wynikiem stosowali terramycynę u kurcząt zakażonych kokcydiozą w naturalnych warunkach. Nawrocki (1961) w przeglądzie środków leczniczych mających zastosowanie w chorobach drobiu, w tym również kokcydiozy, wymienia: penicylinę, terramycynę i sigmamycynę.

W wyniku własnych badań, przeprowadzonych w latach 1961 i 1962 podjęto próby leczenia kokcydiozy kurcząt różnych ras drobiu stosując sigmamycynę (trójacetylo-oleandomycynę z tetracykliną)*.

Leczeniu poddano 1720 kurcząt, z tego rasy Leghorn 920, Sussex 460 sztuk i rasy Red Island 340 sztuk. Wszystkie kurczęta były w wieku do dwóch tygodni życia. Leczenie rozpoczęto w 3—5 dniu wybuchu choroby.

U chorych kurcząt wystąpiły następujące objawy kliniczne: siedzenie z opuszczonymi skrzydłami i przymkniętymi powiekami, brak

apetytu z jednocześnie wzmożonym pragnieniem, biegunka, przy czym kał był koloru białokrwistego lub krwistego. Na podstawie badania sekcijnego wielu padłych sztuk stwierdzono: rozdęcie jelit ślepych, ostry zapalny stan błony śluzowej jelit ślepych, która często była pokryta ogniskami krwotocznymi lub martwicowymi.

Przy pomocy dalszych badań laboratoryjnych, z treści jelit ślepych wyizolowano oocysty *Eimeria tenella*, zaś z kału chorych kurcząt dodatkowo jeszcze *Eimeria necatrix* (Johnson, 1930) i *E. maxima* (Tyzzer, 1929). Należy zaznaczyć, że w danym przypadku *E. tenella* była głównym czynnikiem etiologicznym. Gatunek ten wywołuje kokcydiozę jelita ślepego u kurcząt do dwóch tygodni życia, podczas gdy *E. necatrix* jest zasadniczo przyczyną kokcydiozy jelita cienkiego przede wszystkim u kurcząt starszych powyżej 6 tygodni życia. Trzecim patogennym gatunkiem występującym u kurcząt jest *E. maxima*, straty jednak wywoływane przez ten gatunek są stosunkowo niewielkie, a eksperymentalne zakażenie kur przeważnie nie powoduje poważniejszych objawów choroby.

Zmiany anatomopatologiczne wywołane przez *E. maxima* ograniczają się do jelit ślepych. Zawartość ich nie jest nigdy krwista, wykazuje jedynie zabarwienie na kolor pomarańczowy. Takie samo zabarwienie wykazują również oocysty.

* Sigmamycyn „Animal Formula-Soluble Powder”, każde 453,6 g zawiera 8,33 g oleandomycyny i 16,67 g tetracykliny. Firmie Pflizer uprzejmie dziękujemy za dostarczenie preparatu.

Tab. 1. Wyniki stosowania środków kokcydiostatycznych u kurcząt

L. p.	Zabiegi	Leghorny	Sussexy	Red Islandy
1	profilaktycznie	— — —	oxytetracyklina	furacocid
2	lecniczo pierwszy raz	sigmamycyna	oxytetracyklina	furacocid
3	efekt pierwszego leczenia	+	—	—
4	lecniczo drugi raz	— — —	sigmamycyna	furacocid
5	efekt drugiego leczenia	— — —	+	+

Legenda: — — — = nie stosowano, + = wynik dodatni, — = wynik ujemny.