

ZYGUNT CYGAN, KRYSYNA WAWRZKIEWICZ

Clostridia w przyrannych obrzękach gazowych zwierząt domowych

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Lublinie
Kierownik: dr TADEUSZ D BROWSKIKatedra Mikrobiologii Wvdz. Wet. WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr TADEUSZ JASTRZĘBSKI

Doniesienia na temat etiologii przyrannych obrzęków gazowych u zwierząt są na ogół bardzo nieliczne. Za przyczyn  schorzenia najczęściej uważany jest *Clostridium perfringens*. Ostatnio Thomson i wsp. (1958) izolowali *Cl. perfringens* w przypadku zgorzeli gazowej powstajej u psa na następnie podskórnej iniekcji, a Radan i wsp. (1950) wyosabniali *Cl. perfringens* i *Cl. tertium* od 4—16 tygodniowych kurcząt z uszkodzeniami skóry. Z innych zarazków często jest wymieniany także *Cl. septicum*. Frazier i wsp. (1964) opisali w Anglii przypadki zgorzeli gazowej wywołanej przez *Cl. septicum* u pisk t pochodzących z 20 róznych stad. Czynniki m usposabiającymi w tym przypadku były urazy skóry powstałe w wyniku kannibalizmu lub przy próbach lotu. Obrzęk gazowy u świń wywołany przez *Cl. septicum* i *Cl. chauvoei* opisali Sterne i Edwards (1955). Ten ostatni zarazek bywa niekiedy przyczyn  przyrannych obrzęków gazowych przeważnie u owiec i bydła Sterne i Thomson (1963) oraz Dalling (1963). Thomson (1960) podaje, że *Cl. oedematiens* sam, lub w po czeniu z *Cl. septicum* i z *Cl. chauvoei* może być przyczyn  porodowej zgorzeli owiec i gazowego obrzęku przyrannego u koni. Rafyi (1960) stwierdzi  *Cl. oedematiens* typu A jako przyczyn  zgorzeli gazowej u koni, bydła i świń. Zarazek ten był obserwowany m.in. w przypadkach zgorzeli gazowej g wy tzw. „big head” u baranów (Rafyi 1960).

W polskiej medycynie weterynaryjnej nie ma doniesień dotyczących zagadnienia zgorzeli gazowych u zwierząt domowych, pomimo że w us gowej, rutynowej praktyce laboratoryjnej przypadki beztlenowych zgorzeli gazowych są spotykane.

W niniejszej pracy podano próby analizy bakteriologicznej takich przypadków, oraz ocen  podk z diagnostycznych w celu szybkiej identyfikacji odnośnych zarazków.

Materiał i metody

1. Rodzaj i pochodzenie materiału.

Materiał stanowiły chorobowo zmienione wycinki mi sni bydła, koni i świń, u których stwierdzono klinicznie obrzęk gazowy. Og em analizie bakteriologicznej poddano próbki z 17 przypadków obrzęku gazowego.

2. Metody izolacji.

Otrzymany materiał wysiewano na podk ze Zeisslera (10% krwi baraniej, 1% glikozy) i inkubowano w warunkach tlenowych i beztlenowych, oraz na podk ze  pynne Brewera (0,1% tioglikolanu sodu). Po wystąpieniu wzrostu na podk zu Brewera dokonywano przesiewu na podk ze Zeisslera. Kolonie r zni ce si  morfologicznie wyrosłe na podk zu Zeisslera zarówno w bezpośrednim wysiewie jak i po namnożeniu w podk zu Brewera, przesiewano na podk ze Wrzosek-Tarozzi (bulion wątrobowy, 0,5% glikozy). Uzyskane hodowle kontrolowano ponownie na podk zu Zeisslera inkubowanym w warunkach tlenowych i beztlenowych. Otrzymane czyste szczepy poddawano identyfikacji.

3. Metody identyfikacji.

a — drobnoustroje tlenowe identyfikowano rutynowo w oparciu o w ciwo ci morfologiczne, hodowlane i biochemiczne.

b — identyfikacj  gatunkową drobnoustrojów beztlenowych przeprowadzano określając morfologi  zarazka (sposób barwienia, wygląd zarodników, obecno  otoczki i ruchu) oraz morfologi  kolonii na podk zu Zeisslera (kształt kolonii i rodzaj hemolizy).

Prócz tego na podk zu Willis Hobbs badano obecno  lecytynazy (zmętnienie), lipazy („perłowa warstwa”) oraz rozkładanie laktozy. W ciwo ci biochemiczne określano w stosunku do następujących w g wodan w: laktoza, glikoza, sacharoza, maltoza, skrobia, dekstryna, ksyloza, lewuloza; alkoholi: mannitol, glicerol; glikozydów: salicyna, amygdalina, eskulina. W ciwo ci proteolityczne badano w 10% żelatynie i w ściętej, s pkowej surowicy końskiej. Zdolno  wytwarzania si rkowodoru obserwowano na podk zu Hibera (mazga mózgowa z dodatkiem 1% siarczuanu żelazowego) i Wilson-Blaira w modyfikacji Thompsona. Ponadto badano zdolno  redukcji azotanów, wytwarzania indolu i skatolu wg Spray oraz przeprowadzano pr b  MR i VP. Określano również zachowanie się badanych szczepów na mleku lakmusowym i mleku przygotowanym wg Kalinina (z żelazem i si rczynem sodu). Z wytwarzanych przez badane szczepy toksyn określano: lecytynazę, kollagenazę i hialuronidaz , tj. g wne czynniki odpowiedzialne za patogenno  szczepów obrzęków gazowych. Lecytynaz  określano *in vitro* na podk zach: McClunga (bez czerwieni i laktozy) i Hayward (20% surowicy ludzkiej) oraz przy pomocy odczynu Van Heiningena, jak również *in vivo* na świnkach morskich zakażonych domi sniowo. Jednocześnie na podk zach McClunga i Hayward przeprowadzano hamowanie działania lecytynazy przez surowic  antytoksyczn  przeciwko *Cl. perfringens* typu A. Kollagenaz  oznaczano *in vitro* wg metody Nageotte-Gouyon (cyt. wg Meisla 1955), oraz *in vivo* na świnkach morskich, zakażanych domi sniowo. Hialuronidaz  badano *in vivo* na królikach-albinosach metod   r dkorn  wg Meisla. Patogenno  szczepów sprawdzano na świnkach morskich zakażanych domi sniowo dawk  0,5 ml 24-godzinnej hodowli badanych drobnoustrojów.

Wyniki i omówienie

Og em przebadano bakteriologicznie 17 próbek zgorzeli nowo-zmienionych mi sni, pochodzących od 11 sztuk bydła, 4 szt. koni i 2 szt.  wi . Jak wynika z tabeli 1 stwierdzana w omawianych przypadkach obrzęków gazowych flora bakteryjna była r norodna i obejmowała zawsze zarówno drobnoustroje beztlenowe, jak i tlenowe. Najczęściej spotykanymi zesp ami bakterii tlenowych i beztlenowych były: *Cl. perfringens* i *E. coli*, oraz *Cl. perfringens* i ziarniaki. Spośród drobnoustrojów beztlenowych, najczęściej stwierdzano *Cl. perfringens*, niekiedy *Cl. perfringens* i *Cl. sporogenes*, lub *Cl. perfringens* i *Cl. septicum*. Pokrywa to się z wynikami badań innych autorów. Smith (1949) poda , że w badanych przez niego przypadkach zgorzeli gazowej u ludzi, najczęściej spotykanymi zesp ami były laseczki z rodzaju *Clostridium* i ziarniaki, ewentualnie rózne gatunki *Clostridium*. Również McLennan (1943), oraz Smith i George (1946) opisali częste występowanie u ludzi w zgorzeli gazowej zesp  w bakterii beztlenowych złożonych z 2—3 gatunków *Clostridium*. Najczęściej izolowanymi drobnoustrojami patogennymi były przy tym *Clostridium perfringens* i *Cl. oedematiens*, rzadziej *Cl.*

Tab. 4. Wyniki badania bakteriologicznego tkanki mięśniowej z przypadków przyrannych obrzęków gazowych zwierząt.

Lp.	Pochodzenie materiału		Ilość wyizolow. szczepów		Gatunek wyizolowanych drobnoustrojów	
	gatunek zwierzęcia	powiat	tlenowych	beztlenowych	tlenowych	beztlenowych
1.	jałówka	Hrubieszów	1	3	<i>E. coli</i> γ hem.	<i>Cl. perfringens</i> <i>Cl. septicum</i> <i>Cl. sporogenes</i>
2.	krowa	Sandomierz	2	1	<i>E. coli</i> γ hem. <i>Proteus</i>	<i>Cl. septicum</i>
3.	jałówka	Lublin	3	1	<i>E. coli</i> , paciork. gronkowce γ hem.	<i>Cl. perfringens</i>
4.	świnia	Tomaszów Lub.	3	2	<i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> ziarniaki	<i>Cl. perfringens</i> <i>Cl. septicum</i>
5.	krowa	Janów Lub.	1	1	<i>Corynebact.</i> <i>pyogenes</i>	<i>Cl. perfringens</i>
6.	krowa	Biała Podl.	2	2	<i>E. coli</i> β hem. <i>Pseudomonas</i>	<i>Cl. perfringens</i> <i>Cl. sporogenes</i>
7.	krowa	Krasnystaw	2	2	<i>Proteus</i> paciorkowce	<i>Cl. perfringens</i> <i>Cl. sporogenes</i>
8.	krowa	Jędrzejów	1	1	paciorkowiec β hem.	<i>Cl. septicum</i>
9.	koń	Tomaszów Lub.	1	1	paciorkowiec β hem.	<i>Cl. perfringens</i>
10.	jałówka	Hrubieszów	1	1	<i>E. coli</i> .	<i>Cl. perfringens</i>
11.	koń	Tomaszów Lub.	1	2	paciorkowiec β hem.	<i>Cl. perfringens</i> <i>Cl. sporogenes</i>
12.	koń	Janów Lub.	2	1	paciorkowiec gronkowiec β hem.	<i>Cl. perfringens</i>
13.	buhaj	Tomaszów Lub.	2	1	ziarniaki <i>Proteus</i>	<i>Cl. perfringens</i>
14.	koń	Janów Lub.	1	2	gronkowiec α hem.	<i>Cl. perfringens</i> <i>Cl. nieokreślony</i>
15.	świnia	Tomaszów Lub.	1	1	<i>E. coli</i>	<i>Cl. perfringens</i>
16.	krowa	Jędrzejów	1	1	<i>E. coli</i>	<i>Cl. perfringens</i>
17.	świnia	Opole Lub.	—	1	—	<i>Cl. perfringens</i>

septicum. W przypadkach zgorzeli gazowej u ludzi na Sycylii i we Włoszech izolowano bardzo często obok powyższych gatunków patogennych, niechorobotwórcze *Cl. sporogenes* i *Cl. bifermentans*. Obserwacje te pokrywają się w pewnym stopniu z wynikami uzyskanymi w naszych badaniach.

Z 17 przypadków zgorzeli gazowej ogółem wyizolowano 24 szczepy bakterii beztlenowych. Przeważającą większość (62,5%) stanowił *Cl.*

perfringens. Dość często stwierdzany był również *Cl. septicum* (16,6%) i *Cl. sporogenes* (16,6%). Jednego szczepu nie zidentyfikowano.

Właściwości biochemiczne wyosobnionych szczepów bakterii beztlenowych zebrano w tabeli 2. Właściwości biochemiczne badanych szczepów były na ogół stałe i charakterystyczne dla poszczególnych gatunków, za wyjątkiem jednego szczepu *Cl. septicum*, który rozkładał sacharozę. Pozostałe właściwości tego szczepu

Tab. 2. Właściwości biochemiczne wyisobnionych szczepów z rodzaju *Clostridium*

Gatunek drobnoustroju i nr szczepu	laktaza	glikoliza	sacharoliza	maloliza	mannit	salicyna	Mleko	indol	skatol	MR	arolana	żelatyna	surawica Löfflera
<i>Cl. perfringens</i> 1-15	+	+	+	+	-	-	ścięcie i kurczenie	-	-	+	+	+	+
<i>Cl. septicum</i> 18-19	+	+	+	+	-	+	ścięcie	-	-	+	+	+	+
<i>Cl. sporogenes</i> 20-23	-	+	-	+	-	-	ścięcie i trawienie	-	+	-	-	+	+
<i>J. nne</i> 24	+	+	+	+	+	+	ścięcie opóźnione	+	-	+	+	-	-

Objasnienia: + = reakcja dodatnia, - = reakcja ujemna,
 * = jeden szczep (nr 11) dawał reakcję dodatnią.

były typowe dla *Cl. septicum*. W celu uzupełnienia rutynowych prób biochemicznych, w toku dalszej pracy przeprowadzono charakterystykę wyisobnionych szczepów, w oparciu o zachowanie się ich na specjalnych podłożach diagnostycznych. Prócz tego starano się wykazać przydatność poszczególnych podłoży diagnostycznych dla szybkiej identyfikacji drobnoustrojów obrzęku gazowego. Otrzymane wyniki zestawiono w tabeli 3.

Tab. 3. Porównanie wyizolowanych szczepów *Clostridium* i szczepów wzorcowych na podłożach diagnostycznych.

Gatunek drobnoustroju i nr szczepu		Rozkład lecytyny (zmętnienie) na podłożach:						Czernienie podłoż:				
		McClung	McClung + surow. anty- laktyczna prze- ciw. Cl perf typ A	Willis i Hoobs			Hayward	Wilson Blair	Hibler	Kalinin		
				rozkład lecytyny	ferment. laktozy	perłowa warstwa				czernienie	ścięcie roz- puszczalne	kurczenie skrzepu
Cl perfringens 1-15		+++	—	+++	+	—	+	+	—	+	+++ —	+++
Cl septicum 16-19		—	nie badano	—	+	—	—	+	—	+	+++ —	—
Cl sporogenes 20-23		+	+	+	—	+	+	+	+++	+	+ +++	—
J. nne 24		—	nie badano	—	+	—	—	+	+	+	+ —	—
szcypy wzorcowe	Cl perfringens	+++	—	+++	+	—	+	+	—	+	+++ —	+++
	Cl septicum	—	nie badano	—	+	—	—	+	—	+	+++ —	—
	Cl sporogenes (nr 120)	+	+	+	—	+	+	+	+++	+	+ +++	—
	Cl oedematis typ A (nr 206)	+++	+++	+++	—	+	+	+	—	+	+++ —	—
	Cl bifermentans (nr 149)	+++	—	+++	—	—	+	+	+++	+	+ +++	—
	Cl botulinum typ B	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+ +++	—

Objasnienia: +++ = reakcja silnie dodatnia, + = reakcja dodatnia, — = reakcja ujemna.

Obecność lecytynazy na omawianych podłożach diagnostycznych jest łatwo wykrywalna w związku z pojawieniem się charakterystycznego zmętnienia dookoła kolonii. Stopień nasilenia reakcji był jednak wyraźniejszy na podłożach stosujących owolecytnę jajową. Podłoże Hayward z surowicą ludzką jako źródło lecytyny, dawało w przeprowadzanych badaniach zmętnienie słabsze. Ponadto na podłożu tym nie stwierdzano „perłowej warstwy”, świadczącej o obecności lipazy. Stosunkowo najwięcej danych diagnostycznych dostarczało podłoże owolecytonowe wg Willis i Hobbs. Na podłożu tym obserwowano jednocześnie efekt działania lecytynazy i lipazy oraz fermentację laktozy. Prócz tego można było na nim odróżnić szczepy posiadające lecytynazy

antygenowo pokrewne (lecycynaza *Cl. perfringens* i *Cl. bifermentans*). Czernienie podłoża badano używając pożywki Wilson-Blaira, Hiblera oraz Kalinina. Podłoże Wilson-Blaira zalecane przez Lyons i Owens (1942) dla szybkiej diagnostyki posiada ograniczoną wartość dla różnicowania *Clostridium*, gdyż wszystkie badane przez nas *Clostridia* powodowały zawsze czernienie tego podłoża. Pozwala ono jednak na odróżnienie laseczek z rodzaju *Clostridium* od innych drobnoustrojów (Pesti 1965). Podłoże Hiblera pozwalało na określenie stopnia intensywności czernienia. Najlepszym okazało się podłoże Kalinina, które nie tylko ulegało zczernieniu, lecz też umożliwia odróżnienie drobnoustrojów sacharolitycznych (ścięcie mleka) od proteolitycznych (trawienie mleka). Prócz tego zmiany barwne (czernienie podłoża) w podłożu Kalinina pojawiają się już po 3—4 godzinach, podczas gdy na podłożu Wilson-Blaira można je obserwować dopiero po

kilkunastu godzinach. Odróżnienie *Cl. perfringens* od innych laseczek sacharolitycznych jest możliwe przez porównanie występowania zmian w podłożu. Przydatność wszystkich w/w podłoży określano w stosunku do czystych kultur. W warunkach zakażeń wielogatunkowych, przydatność opisanych podłoży może być ograniczona. Właściwości toksynotwórcze wyizolowanych szczepów przedstawia tabela 4.

Przedstawione wyniki wykazują, że wszystkie zbadane szczepy *Cl. perfringens* produkowały duże ilości lecytynazy stwierdzanej m. in. odczynem LV jeszcze w rozcieńczeniu 1:40. Prócz tego wytwarzały one stale kollagenazę wykrywającą zarówno *in vivo* na świnkach morskich, jak i *in vitro* metodą wg Nageotte-Guoyona, oraz hemolizyny alfa i teta. Hemolizyny te

Tab. 4. Niektóre właściwości wyisobnionych szczepów rodzaju *Clostridium*.

Galunek drobnoustroju i nr szczepu	Badanie na:			
	lecytynazę	kollagenazę	hialuronidazę	hemolizyny
<i>Cl. perfringens</i> 1-15	++	++	nie badano	++
<i>Cl. septicum</i> 16-19	—	—	+	+
<i>Cl. sporogenes</i> 20-23	+	—	—	+
Jenne 24	—	—	—	—

Objasnienia: ++ = reakcja silnie dodatnia + = reakcja dodatnia
 ± = reakcja słabo dodatnia — = reakcja ujemna

określano *in vitro* na podłożu Zeisslera (charakterystyczne 2 zony hemolizy), oraz przy pomocy odczynu hemolitycznego wg Van Heizingena. Szczepy *Cl. septicum* wytwarzały hialuronidazę oraz nieduże ilości hemolizyn. Żaden z badanych szczepów nie produkował lecytynazy i kollagenazy. Szczepy *Cl. sporogenes* cechowała produkcja niewielkich ilości lecytynazy oraz hemolizyn. Zachowania się wyizolowanych szczepów bakterii beztlenowych na zakażonych domięśniowo świnkach morskich, podaje tabela 5. Wynika z niej, że zba-

Tab. 5. Zachowanie się wyizolowanych szczepów bakterii beztlenowych na św. morskich

Galunek drobnoustroju i nr szczepu	Chorobotwórczość dla św. m. szczepionymi		Wygląd mięśni			Preparat odciskowy z wątroby i m.		
	obrzęk gazowy	śmierć po godz.	barwa	konsystencja	wysięk	ułożenie komórek	zarodniki	siatka
<i>Cl. perfringens</i> 1-15	+	12-24	brązowa	kleista	obfity, obciążony tłuszczem	wyłączenie pojedyncze i łańcuszki	—	+
<i>Cl. septicum</i> 16-19	+	12-36	razowa	bez zmian	skąpy, brązowy, mustawo	wyłączenie formy nitkowate	(+)	—
<i>Cl. sporogenes</i> 20-23	nie chorobotwórcze							
Jenne 24	+	—	nie chorobotwórczy					

Objasnienia: — = wynik ujemny + = wynik dodatni
 (+) = przeważnie wynik dodatni ± = wynik słabo dodatni

dane szczepy *Cl. perfringens* posiadały bardzo silne właściwości chorobotwórcze dla świnek morskich. Wprowadzenie domięśniowo 0,5 ml 24 godzinnej hodowli z podłoża Wrzosek-Tarozzi powodowało śmierć zwierząt w ciągu 12—24 godz. Zależność pomiędzy zdolnością wytwarzania przez szczepy *Cl. perfringens* lecytynazy i hialuronidazy, a wirulencją ich dla świnek morskich podkreśla praca Evansa (1945). Podobnie wszystkie wyisobnione szczepy *Cl. septicum* okazały się silnie chorobotwórcze dla świnek morskich (śmierć w ciągu 12—36 godz.). Zmiany anatomiczne mięśni w przypadkach działania toksyn *Cl. perfringens* różniły się zasadniczo od zmian wywołanych przez szczepy *Cl. septicum*. Różnice te dotyczyły przede wszystkim barwy mięśni, ich konsystencji, jak również charakteru i ilości wysięku. Znaczne różnice obserwowano też na preparatach odciskowych wykonanych z wątroby padłych świnek. Wszystkie szczepy *Cl. septicum* na preparatach tych występowały w postaci długich, charakterystycznych (często nie mieszczących się w polu widzenia) nici, przeważnie z zarodnikami. Maisel (1951) oraz Wilson-Topley (1957) uważają tego rodzaju obraz za cechę charakterys-

tyczną. Szczepy te nigdy nie posiadały otoczek. Natomiast szczepy *Cl. perfringens* w preparatach odciskowych z wątroby świnki morskiej występowały wyłącznie w postaci pojedynczych komórek, otoczkowych, bez zarodników.

Wnioski

1. Stwierdzono, że tkanka mięśniowa z przypadków zgorzeli gazowej zwierząt wykazuje obecność drobnoustrojów beztlenowych jak i tlenowych.

2. Najczęściej spotykanymi zespołami bakterii były: *Cl. perfringens* i *E. coli*, oraz *Cl. perfringens* i ziarniaki.

3. Spośród drobnoustrojów beztlenowych spotykano głównie *Cl. perfringens* (62,5%) rzadziej *Cl. septicum* (10,6%) i *Cl. sporogenes* (16,6%).

4. Wyisobnione szczepy *Cl. perfringens* i *Cl. septicum* okazały się bardzo zjadliwe dla świnek morskich (śmierć w ciągu 12—36 godz.), *Cl. sporogenes* natomiast były niezjadliwe.

5. Z badanych podłoż diagnostycznych umożliwiających szybką, orientacyjną identyfikację drobnoustrojów obrzęku gazowego, największą wartość wydaje się posiadać podłoże Willis-Hibbs, umożliwiające jednoczesne wykazanie efektu działania lecytynazy, lipazy i fermentacji laktozy.

6. Podłoże Kalinina wykazujące z jednej strony w krótkim czasie (5—4 godzin) czernienie podłoża, z drugiej zaś zachowanie się drobnoustroju na mleku, okazało się wygodniejsze w przypadku badania czystych kultur od podłoża Wilson-Blaira.

Piśmiennictwo

1. Dalling T.: Bull. Off. int. Epiz. 59, 1583, (1963).
2. Haynigen W. E. Van: J. Biocn. 35, 1246, (1941).
3. Hayward I. N.: J. Path. Bact. 55, 265, (1943).
4. Evans D. G.: J. Path. Bact. 57, 75, (1945).
5. Frazier M. N., Parizek W. J., Carner E.: Avian Dis. 8, 269, (1964).
6. Kalinin A. M.: Sbornik naucz. rabot. Inst. Kirowa (1944) cyt. wg Meisla Postęp. Hig. Med. dośw. VII, 260, (1963).
7. Lyons C., Owens C. R.: J. Bact. 43, 685, (1942).
8. McClung L. S., Taabe R.: J. Bact. 53, 139, (1947).
9. McLennan J. D.: Lancet II, 63, 94, 123, (1943).
10. Meisel H.: Mikrobiologia lekarska, VII, 39, (1951).
11. Meisel H.: Mikrobiologia lekarska, VII, 148, (1951).
12. Meisel H., Albrycht H.: Med. dośw. i mikrob. VII, 27, (1925).
13. Pesti L.: Acta Vet. Hung. VX, 447, (1965).
14. Radan M., Rautenstein-Arasi N.: Nature 166, 422, (1950).
15. Rafji A.: Off. Int. Epiz. 54, 148, (1960).
16. Smith L. D., George R. L.: J. act. 51, 271, (1946).
17. Smith L. D.: Bact. Rev. 13, 233, (1949).
18. Spray R. S.: J. Bact. 32, 135, (1936).
19. Sterne M., Edwards J. B.: Vet Rec. 67, 314, (1955).
20. Sterne M., Thomson A.: Bull. Off. int. Epiz. 59, 1487, (1963).
21. Thomson A.: Office Int. Epiz. LIV, 171, (1960).
22. Thompson L.: Amer. J. Clin. Path. Techn. Suppl. 3, 173, (1939).
23. Thompson J. K., Basson Ch.: J. S. Afr. vet. med. Ass. 29, 75, (1958).
24. Topley and Wilson: s principles of bacteriology and immunity 4ed. Baltimore 1957.
25. Willis A. T., Hobbs G.: J. Patm. Bact. 75, 299, (1958).

Adres autora: Zygmunt Cygan, Lublin, ul. Męczenników Majdanka 42 a. Wojewódzki Zakład Higieny Wet.

Цыган З., Вавжкевич К. — *Clostridia*, в ранних газовых отеках сельскохозяйственных животных. Исследовали 17 проб болезненно измененных мышц от 11 голов крупного рогатого скота, 4 лошадей и 2 свиней больных клинически устано-

вленным злокачественным отеком. Во всех случаях изолировали смешанные культуры разных бактерий, аэробов и анаэробов. Изолированные анаэробы относились к видам: *Cl. perfringens* — 15 штаммов (62,5%), *Cl. septicum* — 4 штаммы (16,6%), *Cl. sporogenes* — 4 штаммы (16,6%), и не-установленного вида — 1 штамм.

Из диагностических сред позволяющих на скорую, предварительную идентификацию возбудителей злокачественного отека, самой лучшей является по мнению авторов среда Willis и Hobbs, так как она учитывает наличие лецитиназы, липазы и ферментации лактозы. Эти данные позволяют дифференцировать *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. sporogenes* и *Cl. botulinum*. Большие выгоды дает также среда Калинина, на которой видно почернение, свертывание и разжижение. Установили, что среда Wilson-Blair не позволяет на идентификацию вида исследуемого штамма, а только ориентирует о его родовой принадлежности.

Cygan Z., Wawrzkiwicz K. — *Clostridia in gaseous oedematous injuries in domestic animals.*

17 samples of pathologically changed muscles were taken from 11 cows, 4 horses and 2 pigs with cli-

nically diagnosed gaseous gangrene. In all cases groups of aerobic and anaerobic bacteria were isolated. Among the anaerobic bacteria, 24 strains of *Clostridium* were isolated, including 15 strains of *Cl. perfringens* (62,5%), 4 strains of *Cl. septicum* (16,6%), 4 strains of *Cl. sporogenes* (16,6%), and 1 strain of *Clostridium* unidentified as to species.

Of the diagnostic media suitable for a quick identification of microbes in gaseous oedema, the most valuable were found to be the media of Willis and Hobbs, making it possible simultaneously to show the effect of lecithinase, presence of lipase, and fermentation of lactose. The above data enabled the authors to distinguish *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. sporogenes*, and *Cl. botulinum*. Kalinin's medium is also important, as it shows, in addition to blackening of the medium, simultaneously the action of the microbes on milk (curdling, digestion). It was found that Wilson-Blair medium does not enable the identification of species of the strain under investigation, and only gives an approximation of its genus.

ANTONI FUROWICZ

Serotypy *Escherichia coli* związane z chorobami prosiąt. II. Taksonomia serologiczna szczepów pałeczki okrężnicy, izolowanych na terenie woj. katowickiego z przypadków koli- enterotoksemii prosiąt

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Katowicach
Kierownik: prof. dr JERZY SZAFIŁSKI

Zagadnienie budowy antygenowej szczepów pałeczki okrężnicy łączonych z chorobami prosiąt zostało przedstawione w Polsce w kilku zaledwie publikacjach, z których jedynie praca *Truszczyńskiego* i współpr. ujmują ten problem szerzej.

Po raz pierwszy analizy serologicznej 69 szczepów hemolitycznych *E. coli*, wyosobnionych z narządów padłych prosiąt, dokonali w 1952 r. *Parnas, Kunicki* — *Goldfinger, Stępkowski* i współpr. (8, 9). Szczepu przebadano serologicznie przy pomocy surowic swoistych dla pierwszych 25 grup Kauffmanna i pierwszych grup Wramby'ego. Spośród 69 szczepów hemolitycznych udało się sklasyfikować tylko 13,19%, przy czym 6 szczepów należało do grup Kauffmanna (O grupy: 5, 6, 15, 20, 22), zaś 7 — do grup Wramby'ego (O grupy: 27, 33, 39). Tylko grupa 6 obejmowała dwa szczepy, a grupa 27 — 5 szczepów. Pozostałych szczepów nie udało się zaliczyć do żadnej z grup Kauffmanna i Wramby'ego. Ponadto autorzy stwierdzili, iż prawie wszystkie szczepy aglutynujące w surowicach wzorcowych posiadały ciepłochwijnny antygen powierzchniowy K, hamujący aglutynację somatyczną (9).

W 1965 r. *Truszczyński* i współpr. w szeroko zakrojonych pałeczki okrężnicy oznaczył serologicznie 23. Z tego jako OK 138 — 13 szczepów; OK 141 — 6 szczepów i OK 139 — 4 szczepy (3).

W 1965 r. *Truszczyński* i współpr. w szeroko zakrojonej pracy przedstawili wyniki analizy antygenowej szczepów *E. coli*, izolowanych od świń padłych na kolibakteriozę i chorobę obrzękową z terenu całej Polski (13, 14). Wśród szczepów pałeczki okrężnicy wyosobnianych z wypadków choroby obrzękowej stwierdzono najczęściej serotyp E4/O139 (30,5%), a następnie E68II/O141 (12,6%), G7/O8 (8,4%) i E65/O45

(1,1%). Z przypadków kolibakteriozy prosiąt najczęściej wyosobniano serotypy — E4/O139 (15,6%), G7/O8 (9,1%) i E68II (9%). Rzadziej natomiast stwierdzano szczepy E57/O139 (5,2%), E65/O45 (3,9%), G1253 (2,6%) i E145/O141 (1,3%).

Badania własne

W przeprowadzonej pracy, ze względu na niedostateczne dane kliniczne i sekcyjne, nie używano terminów „choroba obrzękowa” i „kolibakterioza”, zastępując je określeniem koli-enterotoksemia prosiąt.

Materiał i metodyka

Szczepy pałeczki okrężnicy

Do badań użyto 756 szczepów bakteryjnych izolowanych od prosiąt najczęściej w wieku 8—12 tygodni (rzadziej od osesków 1—7 dniowych), padłych na koli-enterotoksemię lub podejrzanych o zaburzenia jelitowe na tym tle (192 szczepy) oraz kału zwierząt badanych na nosicielstwo (564 szczepy), z terenu woj. katowickiego w okresie 1963—1964. Określano serologicznie zarówno drobnoustroje hemolityczne („*E. coli haemoliticus*”) jak i szczepy nie wykazujące tej właściwości.

Badania biochemiczne wykonano na szeregu izolacyjnym i dodatkowym szeregu różnicującym (wg 4,6). Przebieg testów uprawniających do rozpoznania pałeczek *E. coli* przedstawiono w tabeli I. Szczepy zakwalifikowane jako pałeczka okrężnicy posiewano na podłożu Dorseta, a następnie partiami przesiewano na agar z 5% krwi baraniej i określano serologicznie.