

зываются неспецифические реакции не установили существенной разницы между о.т. и в.т. Реакции на в.т. с разницей толщины кожи выше 100% (по сравнению с о.т.) показывают на инфекцию туберкулезом. По мнению авторов в.т. может быть с успехом использована в диагностике туберкулеза крупного рогатого скота в качестве дополнительной диагностической пробы.

Łosieczka K. — Differentiation of non-specific tuberculin reaction in cattle by the use of diluted tuberculin and the repeated reaction. II. The diagnostic value of the repeated reaction.

Single tuberculinization evokes a transitory increased reactivity in infected cattle. This phenomenon does not occur in healthy animals or individuals with non-specific reaction. Sensibilization after single tuberculinization is local and affects the side of the neck to which the first dose of tuberculin was applied. The repeated reaction increases more swiftly and attains its peak up to 24 hrs. after the injection of tuberculin. The maximal repeated reactions were obtained when tuberculinization was repeated after 24 or 48 hrs., counting from the inspection of the previous investigations. On the 1, 4, 5, 6, and 7th days after inspection of single tuberculinization, symptoms of de-sensibilization were found in the infected cattle. Repeated reactions of infected with tuberculosis are more painful, doughy, extensive and averagely with greater thickening of folds of skin than after single tuberculinization. In cattle with non-specific reactions, no significant differences were found between the two reactions. Repeated reactions with a difference in thickness of skin folds of 100% than after single tuberculinization indicates tubercular infection. Repeated tuberculinization can be used as a supplementary test in the diagnosis of bovine tuberculosis.

Łosieczka K. — La différenciation des réactions tuberculiques non spécifiques chez les bovins après l'application de la tuberculine diluée et de la réaction répétée.

La tuberculisation unique cause chez les bovins infectés un état de réactivité accrue, passagère. Ce phénomène ne se produit pas chez les animaux sains et chez les animaux qui démontrent des réactions non spécifiques. La sensibilisation après une tuberculisation unique a un caractère local et concerne le côté du cou de l'animal, dans lequel la première dose de tuberculine était introduite. La réaction répétée se produit plus rapidement et atteint son maximum 24 heures après l'injection de la tuberculine. Les réactions maximales furent obtenues en

répétant la tuberculisation 24 ou 48 heures après le contrôle des réactions de l'investigation précédente. Au cours du 1, 4, 5, 6 et 7-e jour après le contrôle d'une tuberculisation unique on constata des symptômes de désensibilisation chez les animaux infectés par la tuberculose. Les réactions répétées des animaux infectés par le tbc sont plus douloureuses, de consistance pâteuse, plus étendues et ont en moyenne des plis cutanés plus épais qu'après une tuberculisation unique. Chez les animaux qui démontrent des réactions non spécifiques on ne constata pas de différence essentielle entre les deux réactions. Les réactions répétées, avec une différence des plis cutanés plus importante de 100% qu'après la tuberculisation unique sont suspects d'une infection par la tbc. La tuberculisation répétée peut être mise à profit comme épreuve complémentaire dans le diagnostic de la tbc des bovins.

Łosieczka K. — Differenzierung der unspezifischen Tuberkulinreaktionen bei Rindern in Anwendung des verdünnten Tuberkulins und der wiederholten Reaktion. II. Teil. Der diagnostische Wert der wiederholten Reaktion.

Eine einmalige Tuberkulinisation ruft bei infizierten Rindern den Zustand einer vorübergehenden, gesteigerten Reaktionsfähigkeit hervor. Diese Erscheinung wird vermisst bei gesunden Tieren und bei Individuen von unspezifischen Reaktionen. Die nach einer einmaligen Tuberkulinisation vorkommende Sensibilisation zeigt einen lokalen Charakter und betrifft diejenige Halsseite auf welcher die erste Tuberkulindosis eingeführt wurde. Wiederholte Reaktion wächst rascher und erreicht Fastigium bis 24 Stunden nach der Tuberkulininjektion. Maximale wiederholte Reaktionen wurden wahrgenommen bei Erneuerung der Tuberkulinisation, gerechnet in 24 oder 48 Stunden von der Kontrolle aus, der vorherigen Untersuchung. Am 1, 4, 5, 6 und 7 Tage nach der Kontrolle einer einmaligen Tuberkulinisation sind bei infizierten Tieren Erscheinungen einer Desensibilisation festgestellt worden. Wiederholte Reaktionen bei mit Tbc behafteten Rindern sind mehr schmerzhaft, teigig, ausgedehnt und durchschnittlich von grösseren Verdickungen der Hautfalten als nach einmaliger Tuberkulinisation. Bei Rindern von unspezifischen Reaktionen sind keine wesentlichen Differenzen zwischen beiden Reaktionen beobachtet worden. Wiederholte Reaktionem mit um 100% höherer Faltenverdickung der Haut als nach einmaliger Tuberkulinisation deuten auf eine tuberkulöse Infektion hin. Eine Wiederholung der Tuberkulinisation kann als ergänzende Probe in der Diagnostik der Rindertuberkulose ausgenützt werden.

JERZY ANTYCHOWICZ

Badania nad florą bakteryjną przewodów pokarmowych karpia w okresie ich zimowania

Zakład Chorób Ryb Instytutu Weterynaryjnego w Puławach
Kierownik: prof. dr B. Kocyłowski

Wypowiedzi badaczy na temat flory bakteryjnej przewodów pokarmowych ryb nie są jednolite, niejednokrotnie są one nawet sprzeczne. Margolis (11) i Snieszko (16) uważają, że ryby nie posiadają „normalnej” specyficznej flory bakteryjnej w przewodach pokarmowych. Pogląd swój motywują oni tym, że z przewodów pokarmowych ryb izolowane są bakterie występujące równocześnie w środo-

wisku wodnym, w którym ryby te przebywają. Natomiast przewody pokarmowe głodzonych ryb (pstrągów) są prawie jałowe (16) albo nie zawierają bakterii (11). Mattheis (13) na podstawie doświadczeń przeprowadzonych na pstrągach głodzonych przez okres 4,5 miesięcy stwierdził, że ich przewody pokarmowe nie są jałowe, chociaż dochodzi do znacznego zmniejszenia liczby gatunków bakteryjnych

oraz ogólnej ilości bakterii. *Franklin* (6) przeprowadził badanie flory bakteryjnej przewodów pokarmowych ryb *Notemigonus crysoleucas* z rodziny karpiowatych i wyosobnił bakterie także z przewodów pokarmowych ryb nie pobierających pokarmu.

W związku z brakiem prac dotyczących badania flory bakteryjnej przewodów pokarmowych ryb w Polsce, jak też wobec istniejących sprzeczności dotyczących obecności flory bakteryjnej u ryb nie pobierających pokarmu nasuwa się konieczność przeprowadzenia tego rodzaju badań. Według *Kocyłowskiego* (9) i *Schäperclausa* (13, 14) bramą wejścia drobnoustrojów w posocznicy chorób ryb jest przede wszystkim przewód pokarmowy. Równocześnie stwierdza się, że posocznica karpia (okres wylęgania) występuje najczęściej albo w zimochowie albo tuż po obsadzeniu stawów odrostowych. Badania własne, stanowiące wycinek poruszanego problemu, miały więc także na celu wykazanie, jakie rodzaje bakterii dominują w przewodzie pokarmowym karpia w okresie ich zimowania.

Materiał i metody

Do badań użyto 14 karpia (narybek i kroczi karpia), które pochodziły z pięciu gospodarstw stawowych (Jedlanka 2 sztuki, Kłudno 6, Sosnowica 3, Baranów 2, Zwierzyniec 1).

Ryby odłowione zostały z zimochodów w okresie od 14 stycznia do 18 lutego 1966 r. Narybek i kroczi karpia wykazywały dobry stan zdrowotny. Przewody pokarmowe tych ryb zawierały jedynie niewielkie ilości śluzu, bez śladów pokarmu.

Sposób pobierania materiału do posiewów był następujący: po jałowym otwarciu jamy ciała i wyosobnieniu przewodu pokarmowego przepłukiwano go jałowym roztworem fizjologicznym w ilości 5 ml.

Spluczynę pobierano do jałowej probówki. Następnie robiono kolejne rozcieńczenia (1:100, 1:1.000, 1:10.000, 1:100.000, 1:1.000.000). Z każdego rozcieńczenia wysiewano po 0,5 ml na trzy płytki podłoża FBAG (wyciąg mięsny 5 g, pepton 5 g, agar 20 g, H₂O dest. 1000 ml wg *Badenzien* (1)). Kolonie liczono na płycie, a następnie określano orientacyjną liczbę bakterii w 1 ml spluczyny. Z posiewów od każdej ryby wybierano te typy kolonii, które występowały najliczniej i przesiewano na bulion zwykły.

Wzrost bakterii obserwowano na podłożach stałych, a mianowicie PAG (pepton 1 g, K₂HPO₄ 0,1 g, FeSO₄·7H₂O 0,001 g, agar 20 g, H₂O dest. 1000 ml wg *Badenzien* (1)), FBAG, Mac Conkey'a z laktozą, Mac Conkey'a z mannitolem. Szczepy przechowywano na słupkowym agarze sojowym.

Jako szczepy wzorcowe użyto dwa szczepy *Aeromonas liquefaciens* U-41 i 108 (z Eastern Fish Disease Laboratory U.S. Department of the Interior Leetown, West Virginia). Oprócz tego równoległe badania przeprowadzono z 5 szczepami *Aeromonas* wyosobnionymi z narządów wewnętrznych (wątrobotrzustek i nerek) karpia chorych z objawami ostrej formy posocznicy. Inkubację hodowli bakteryjnych przeprowadzono w temperaturze 30°C.

Właściwości morfologiczne i biochemiczne szczepów badano następującymi metodami: barwienie metodą Grama, barwienie rząsek metodą Roda wg *Burzyńskiej* (4), badanie ruchu w agarze półpłynnym oraz w agarze z żelatyną (żelatyna Difco 30 g, agar Difco 1 g, pożywka z wyciągiem z mięśnia sercowego Oxoid 25 g, K₂HPO₄ 2 g, KNO₃ 2g, woda destylowana 1000 ml wg *Ball* i *Sellersa* (2)), rozkład glukozy w podłożu płynnym oraz stałym (pepton caseitone 2 g, NaCl 5 g, K₂HPO₄ 0,3 g, błękit bromotymolowy 0,03 g, glukozy 10 g wg *Hugh* i *Leifsona* (10)), reakcja Voges Proskauera w podłożu Clarka, reakcja na indol w bulionie z tryptofanem, wytwarzanie H₂S w bulionie peptonowym i w podłożu Kliglera, reakcja na wytwarzanie oksydazy cytochromowej metodą Cowacs'a wg *Klinge* (8), redukcja azotanów w bulionie z azotanem potasu i w podłożu wg *Ball* i *Sellersa* (2)), rozkład mocznika na podłożu Clarka, rozkład następujących cukrów w podłożu płynnym na wodzie peptonowej: glukoza,

Tab. 1. Właściwości biochemiczne szczepów bakteryjnych wyosobnionych z przewodów pokarmowych u karpia

			23 szczepy <i>Aeromonas</i>	8 szczepów Flavobacterium	5 szczepów <i>Aeromonas</i> z karpia chorych na posocznicy	<i>Aeromonas liquefaciens</i> U-41, 108
1	Ruch	Agar półpłynny Podłoże Ball Sellers'a	+	—	+	+
			+	7+1—	+	+
2	Rozkład glikozy w warunkach beztlenowych	Podłoże Hugh Leifsona z parafiną Podłoże płynne w kloszu	+	—	+	+
			KG	—	KG	KG
3	Rozkład żelatyny	Podłoże z żelatyną Podłoże Ball Sellers'a	+	+	+	+
			+	+	+	+
4	Redukcja azotanów	Bulion z azotanem Podłoże Ball Sellers'a	+	7+1—	+	+
			+	7+1—	+	+
5	Wytwarzanie siarkowodoru	Podłoże z bulionem pept. Podłoże Kliglera	+	7+1—	+	+
			—	7+1—	—	—
6	Wytwarzanie oksydazy cytochromowej		+	+	+	+
7	Rozkład mocznika		—	—	—	—
8	MR		8+15—	—	4+1—	+
9	VP		21+ 2—	—	+	+

Objaśnienia:

+ = dodatni wynik,

— = ujemny wynik,

KG = wytwarzanie kwasu i gazu z glikozy.

maltoza, trehaloza, fruktoza, galaktoza, mannitol, sacharoza, laktoza, ramnoza, adonitol, dulcytol, inozytol.

Wyniki

Orientacyjne liczenie bakterii metodą Kocha wykazało, że ilość ich waha się w granicach od 10.000 do 1.000.000 bakterii w 1 ml spluczynny z przewodu pokarmowego ryb. Wszystkie badane bakterie były gram-ujemnymi drobnymi pałeczkami.

Na podstawie przeprowadzonych badań wyosobnione szczepy można było podzielić na dwie grupy. Szczepy grupy I w liczbie 23 na podłożu PAg, FBAg i Mac Conkey'a z laktozą tworzyły bezbarwne okrągłe, gładkie, wypukłe kolonie. Na agarze Mac Conkey'a z mannitolem bakterie te tworzyły kolonie o barwie jasnoróżowej, różowej, czerwonej, buraczkowej, fioletowej (jako następstwo rozkładu mannitolu w podłożu). Bakterie barwione metodą Roda wykazywały pojedynczą biegunowo umieszczoną rzęskę.

Szczepy grupy II w liczbie 8 na podłożu FBAg tworzyły kolonie o barwie żółtej; na podłożu PAg, na agarze Mac Conkey'a z mannitolem i na agarze Mac Conkey'a z laktozą kolonie były bezbarwne, płaskie, okrągłe i gładkie.

Właściwości biochemiczne obu tych grup przedstawione są w tablicy 1 i 2.

Tab. 2. Rozkładanie cukrów i alkoholi przez szczepy wyosobnione z karpia w okresie zimowania

		23 szczepy <i>Aeromonas</i>	7 szczepów <i>Flavobacterium</i>	5 szczepów <i>Aeromonas</i> z karpia chorych na posocznice	<i>Aeromonas liquef. U-41, 108</i>
1	Glikoza	+	—	+	+
2	Maltoza	+	—	+	+
3	Trehaloza	+	—	+	+
4	Fruktoza	+	—	+	+
5	Galaktoza	+	—	+	+
6	Sacharoza	22+1—	—	+	+
7	Laktoza	—	—	—	—
8	Ramnoza	—	—	—	—
9	Adonitol	—	—	—	—
10	Dulcytol	—	—	—	—
11	Inozytol	—	—	—	—

Objaśnienia:

+ = wynik dodatni,
— = wynik ujemny.

Omówienie

Z przeprowadzonych badań wynika, że bakterie grupy I (23 szczepy) należą do rodzaju *Aeromonas*. Świadczy o tym głównie pojedyncza, biegunowo umieszczona rzęska, dodatnia reakcja na oksydazę cytochromową, zdolność beztlenowego rozkładu glukozy oraz silne właściwości proteolityczne. 21 z 23 opisanych szcze-

pów wykazało dodatni odczyn Voges Proskauera. Według proponowanego przez Eddy (5) podziału szczepy te są bakteriami *Aeromonas liquefaciens*.

Pozostałe dwa szczepy wykazywały ujemny odczyn Voges-Proskauera i wg podziału Eddy (5) są bakteriami *Aeromonas formicans*.

Bakterie grupy II (8 szczepów) należą do rodzaju *Flavobacterium*. Wskazuje na to wytwarzanie żółtego barwnika oraz słaba aktywność biochemiczna, ujemny odczyn na indol, MR i VP, brak zdolności rozkładu glukozy i innych węglowodanów. Pod względem właściwości biochemicznych szczepy te odpowiadały zgodnie z wynikami Mattheisa (12) i na podstawie Bergey's Manual (3): *Flavobacterium diffusum* (6 szczepów), *Flavobacterium lutescens* (1 szczep) i *Flavobacterium harrisoni* (1 szczep).

Wnioski

1. Przewody pokarmowe karpia w okresie zimowania nie są jałowe.
2. W okresie zimowania flora bakteryjna przewodów pokarmowych karpia wykazuje małą liczbę gatunków bakteryjnych.
3. Szczepy rodzaju *Aeromonas* izolowane z przewodów pokarmowych karpia w okresie zimowania nie wykazywały różnic biochemicznych w stosunku do szczepów wyizolowanych z karpia chorych na ostrą formę posocznicy karpia.

Piśmiennictwo

1. Badenien H. D.: Limnologica 2, 9, 1964
2. Ball R. J., Sellers W.: Appl. Microbiol. 14, 670, 1966
3. Breed R. S., Murray E. G. D., Smith N. R.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Seventh. Edit., The Williams and Wilkins Co. USA, 1957.
4. Burzyńska H.: Roczniki PZH, XV, 171, 1964
5. Eddy B. P.: J. Appl. Bact., 23, 216, 1960
6. Franklin J.: Progr. Fish-Cult., 26, 160, 1964.
7. Hug R., Leifson E.: J. Bact., 66, 24, 1953.
8. Klinge K.: Arch. Hyg., 144, 263, 1960.
9. Kocytowski B.: Medycyna Wet., 9, 1, 146.
10. Margolis L.: J. Fish. Res. Bd. Canada, 10, 62, 1953.
11. Mattheis Th.: Z. f. Fischerei N. F., XII, 6/7, 561, 1964.
12. Mattheis Th.: Z. f. Fischerei N. F., 8/9, 537, 1964.
13. Schäperclaus W.: Z. f. Fischerei, XXXVII, 1, 1939.
14. Schäperclaus W.: Fischkrankheiten. Akademie-Verlag, Berlin, 1954.
15. Śniezko S. F.: Progr. Fisch. Cult., 19, 81, 1954.

Adres autora: Jerzy Antychowicz, Puławy, ul. Reymonta 9.

ABEL K., VOIGT A.: Znaczenie prątków gruźlicy w krwi świń rzeźnych w związku ze sporządzaniem kiszonek z krwią. (Die Bedeutung von Tuberkulosebakterien im Blut von Schlachtschweinen im Zusammenhang mit der Herstellung von Futterblutsilage). Mh. Vet. Med. 20, 961, 1965 (23).

Omówiono wartość krwi zwierząt rzeźnych, jako wysokobiałkowej karmy dla zwierząt. W oparciu o wyniki badań różnych autorów podano metody konserwacji krwi oraz przeżywalność drobnoustrojów chorobotwórczych w kwaśnych środowiskach. Salmonelle, włoskowce różocy i wirusy przysycy giną w świeżej krwi o obniżonym sztucznie pH do 4,0. Uzyskuje się również zabicie prątków gruźlicy w krwi konserwowanej, wykazującej to samo pH. Po obniżeniu pH krwi przy pomocy kwasu siarkowego do 1, 2 i umieszczeniu w temp. 37°C, prątki gruźlicy giną po 6 dniach.

L. Nowicki