

ZYGMUNT CYGAN, TADEUSZ JASTRZEBSKI

Serologiczna identyfikacja laseczek *Clostridium*.

I. Przydatność odczynu precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym

Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr T. JASTRZEBSKIZakład Higieny Weterynaryjnej w Lublinie
Kierownik: dr T. DĄBROWSKI

Podstawową metodą identyfikacji gatunkowej *Clostridium* jest analiza toksyn przy pomocy seroneutralizacji. Jednak metoda ta posiada ograniczoną przydatność, gdyż nie może być stosowana w stosunku do szczepów, które nie produkują lub zatraciły zdolność wytwarzania toksyn. Również labilne i niestale właściwości morfologiczne, hodowlane i biochemiczne nie mogą stanowić same przez się dostatecznie pewnych podstaw w identyfikacji *Clostridium*. W związku z tym zagadnienie użyteczności metod serologicznych jest ciągle aktualne. Rozpatrywane są przy tym takie metody, jak precypitacja w stosunku do antygenów pozakomórkowych (5, 11, 13, 23, 25, 32, 36, 40) i antygenów zarodnikowych (23, 31, 35), odczyn aglutynacji (9, 16, 20, 21, 29), hemaglutynacji (7, 8, 19) i immunofluorescencji (1, 2, 3, 4, 6, 14, 27, 28, 39). Metoda identyfikacji różnych gatunków *Clostridium*, przy pomocy precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym zdaje się posiadać specjalne zalety, nie została jednak doprowadzona do stopnia umożliwiającego zastosowanie w praktyce. Odczyn można przeprowadzić w stosunku do antygenów poza komórkowych (głównie tzw. „egzotoksyn”) lub komórkowych. Odczyn z antygenami poza komórkowymi był zapoczątkowany przez Bjorklunda i Berengo (5) oraz Ellnera i Greena (11). Ci ostatni opracowali nawet cały schemat identyfikacji gatunkowej *Clostridium* tą metodą (12). Schemat ten jest jednak bardzo skomplikowany, pracochłonny, a co najgorsze wg samych autorów mało pewny. W kraju metodą tę z użyciem surowic antytoksycznych produkcji „Biomed” próbowali stosować w odniesieniu zresztą tylko do 3 gatunków Zahaczewski i Komorowski (40). Wyniki ocenili jako pozytywne.

Odczyn precypitacji dyfuzyjnej z antygenami komórkowymi wg dostępnego piśmiennictwa nie był dotychczas stosowany. Jednak, biorąc pod uwagę wyniki badań aglutynacyjnych z użyciem form wegetatywnych (15, 16, 17, 26, 30) lub zarodnikowych (20, 23, 29, 30, 38) rokuje on uzyskanie bardziej pomyślnych wyników, niż badanie antygenów poza komórkowych. Meisel i wsp. (20, 21, 22, 23, 24) w swych wnikliwych badaniach wykonanych metodą aglutynacji przy pomocy surowic anty zarodnikowych i odnośnych antygenów wykazali wysoką specyficzność i powtarzalność uzyskanych wyników. Ujemną stroną metod operujących antygenami zarodnikowymi była konieczność uzyskania obfitego zarodnikowania, a potem pracochłonnego uwalniania za-

rodników z komórek wegetatywnych, co w badaniach rutynowych stwarza szereg dodatkowych trudności.

Metody aglutynacji z użyciem form wegetatywnych typu „HO” lub „O”, formolizowanych i ogrzewanych są technicznie biorąc dużo łatwiejsze. Były one z powodzeniem stosowane w praktyce laboratoryjnej np. przy odróżnianiu nietoksycznych szczepów *Cl. botulinum* od szczepów *Cl. sporogenes* (17) lub *Cl. bifermentans* od *Cl. sordelli* (26) względnie przy odróżnianiu gatunków rodzaju *Bacillus* (30). Lepsze wyniki dawało przy tym użycie antygenów ogrzewanych. Wg Meisla (18) przy identyfikacji np. *Cl. perfringens* antygeny białkowe w ogóle mają b. ograniczoną przydatność. W związku z powyższym we własnych badaniach prowadzonych metodą precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym, postanowiono wykorzystać surowice przeciw antygenom komórkowym ogrzewanym. Próby z użyciem surowic antytoksycznych (pko antygenom poza komórkowym) wprowadzono jedynie w celach porównawczych.

Materiał i metody

Surowice — a) Surowice antybakteryjne pko antygenom ciepłostalym „O” wzorcowych szczepów *Cl. botulinum* A, B, C, D i F oraz *Cl. septicum*, *Cl. tetani*, *Cl. oedematiens* A i D, *Cl. sordelli*, *Cl. fesseri*, *Cl. bifermentans* i *Cl. sporogenes* — przygotowywano we własnym zakresie na królikach wg metody Batty i Walkera (1, 3); b) surowice antytoksyczne — pko *Cl. botulinum* A, B, E i F oraz *Cl. perfringens* A, *Cl. oedematiens* A, *Cl. septicum* i *Cl. histolyticum* — otrzymano z WSSE. Surowicę pko *Cl. botulinum* C uzyskano z „Biowet” — Michałowka.

Antygeny — Przygotowywano z młodych 18 godz. hodowli szczepów wyrosłych w podłożu Wrzoska. Komórki bakteryjne odwirowywano, przemywano wodą destylowaną i zawieszano w wodzie destylowanej w 1/15 objętości wyjściowej, po czym rozbijano przez 50-krotne naprzemienne zamrożenie w alkoholu etylowym z suchym CO₂ i odmrożenie w łaźni wodnej o temp. 30°C. Uzyskane antygeny pochodziły z 73 szczepów: *Cl. sporogenes* (6 szczepów), *Cl. oedematiens* A, B, C, D (10), *Cl. septicum* (5), *Cl. sordelli* (3), *Cl. histolyticum* (5), *Cl. fesseri* (2), *Cl. perfringens* A, C, D, (3), *Cl. botulinum* — 27 szczepów w tym A (7), B (9), C (2), D (1), E (5) i F (3). Wszystkie szczepy otrzymane z PZH w Warszawie lub z National Collection of Type Cultures w Anglii.

Żel agarowy — Posługiwano się metodą dyfuzji podwójnej wg Ouchterlony (33). Do sporządzenia żelu używano 1,2% agar Difco-Bacto, rozpuszczony w roztworze fizjologicznym NaCl o pH=7,2 z dodatkiem mertiolatu 1:8 00. Odstęp między basenami z surowicą i antygenem wynosił ok. 7 mm. Odczyn przeprowadzono w temp. 20° C w ciągu 5—7 dni.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań przeprowadzonych z surowicami antytoksycznymi uzyskanymi z krajowych wytwórni surowic „Biomed” i „Biowet” w stosunku do antygenów pełnych, nieogrzewanych, rozbitych drogą mrożenia podaje tab. 1. Wynika z niej, że użyte surowice lecznicze („Biomed” i „Biowet”) w warunkach doświadczenia nie nadają się do identyfikacji gatunkowej szczepów *Clostridium* metodą precypitacji w żelu agarowym. Jedyny wyjątek stanowi surowica pko *Cl. perfringens* A reagująca poza szczepami homologicznymi jedynie z jednym z dwóch badanych szczepów *Cl. botulinum* A. Dla oceny ewentualnej użyteczności diagnostycznej tej surowicy potrzebne jest jednak powtórzenie badań w stosunku do większej ilości szczepów *Cl. perfringens* i *Cl. botulinum* A. Przydatność diagnostyczną pozostałych surowic dyskwalifikują b. liczne odczyny międzygatunkowe, niedostateczna ilość antygeny gatunkowego u niektórych szczepów oraz zróżnicowanie antygenów w obrębie poszczególnych gatunków. Wyniki te są zgodne z rezultatami badań Ellnera i Greena (11), którzy stosując surowice antytoksyczne wykazywali również b. liczne odczyny międzygatunkowe. Linie precypitacyjne były b. liczne i trudne do zanalizowana. Z dokumentacji ich badań wynika, że rozpoznanie gatunku *Clostridium* jedynie w oparciu o ilość i układ linii precypitacyjnych w tym układzie jest często niemożliwe. Ilość linii precypitacyjnych jest niestała i zależy od szeregu czynników np. wieku hodowli (34) oraz miana surowic (5). Zastosowanie w schemacie zaproponowanym przez Ellnera i Greena (12) surowic adsorbowanych różnymi antygenami podnosi wprawdzie specyficzność odczynów, ale jednocześnie komplikowało technicznie ich wykonanie i zmniejszało użyteczność.

Wyniki przydatności diagnostycznej surowic przeciwbakteryjnych uzyskanych drogą immunizacji antygenami ogrzewanymi przedstawia tab. 2. Wynika z niej, że surowice pko antygenom somatycznym „O” — ogrzewanym dają znacznie mniejszą ilość reakcji międzygatunkowych i stwarzają lepsze możliwości różnicowania gatunków. Wyniki osiągnięte przedstawiają się w sposób następujący:

1. Surowice pko *Cl. botulinum*. Grupa ta okazała się serologicznie odrębna od surowic pko innym gatunkom *Clostridium*. Jedynie surowice anty *Cl. botulinum* C i D dały jednostronną słabą reakcję z *Cl. oedematiens* D. Szczepy *Cl. botulinum* typów C i D wykazywały pokrewieństwa antygenowe jedynie pomiędzy sobą. Wynik ten potwierdza powszechną opinię o podobieństwie antygenowym tych 2 typów (39). Szczepy *Cl. botulinum* E wystąpiły jako grupa zupełnie oddzielna, nie wykazująca żadnych związków antygenowych ani w obrębie gatunku ani rodzaju. Zgodnie jest z wcześniejszymi obserwacjami Dolmanna i Changa (10), Meisela i wsp. (25) oraz Walkera i Batty (39), którzy na podstawie aglutynacji zarodników, aglutynacji form wegetatywnych, a częściowo i na podstawie precypitacji antygeny poza komórkowego wykazali odrębność typu E. Odnośnie *Cl. botulinum* F, to poza antygenami homologicznymi co do typu, w naszych doświadczeniach reagował on tylko z niektórymi szczepami tegoż gatunku typu B. Uzyskany wynik jest sprzeczny z rezultatami badań Walkera i Batty (39), którzy stwierdzili pokrewieństwa antygenowe z *Cl. botulinum* A. Różnice te mogły być spowodowane użyciem przez powyższych autorów do produkcji surowicy pko *Cl. botulinum* A szczepu o bogatszej strukturze antygenowej. Reasumując stwierdzono, że dla zidentyfikowania gatunku *Cl. botulinum* u wszystkich 27 przebadanych szczepów trzeba by użyć spośród

Tab. 1. Odczyn Ouchterlony surowic antytoksycznych produkcji przemysłowej z antygenami bakteryjnymi (otrzymanymi drogą wielokrotnego zamrażania płukanych laseczek).

Surowice pko:	Antygeny																	
	<i>Cl. botulinum</i>						<i>Cl. septicum</i>	<i>Cl. tetani</i>	<i>Cl. oedematiens</i>				<i>Cl. sordelli</i>	<i>Cl. bifermentans</i>	<i>Cl. fesceri</i>	<i>Cl. sporogenes</i>	<i>Cl. perfringens</i> A C D	<i>Cl. histolyticum</i>
	A	B	C	D	E	F			A	B	C	D						
<i>Cl. botulinum</i> A	6/7	9/9	1/1	nb	0/2	0/1	0/3	1/4	0/2	0/1	0/1	0/1	0/3	2/3	0/2	2/2	1/3	0/3
B	3/6	6/9	1/1	0/1	0/3	1/1	0/3	2/4	0/1	0/1	0/1	1/1	0/3	2/3	0/2	3/3	1/3	3/3
C	1/5	6/8	2/2	0/1	1/5	0/3	0/3	1/4	2/2	0/1	0/1	1/1	0/3	2/3	0/2	2/3	0/3	0/3
E	0/6	1/9	0/2	0/1	1/4	0/3	0/3	1/4	1/2	0/1	0/1	1/1	1/3	1/3	0/2	0/3	1/3	0/2
F	1/6	2/7	0/2	0/1	0/3	3/3	0/3	1/4	0/2	0/1	0/1	0/1	0/3	2/3	0/1	3/3	0/3	1/3
<i>Cl. septicum</i>	1/2	2/2	1/2	0/1	1/2	0/2	1/6	2/6	2/7	0/1	0/1	0/1	0/3	2/5	0/2	4/6	2/3	0/5
<i>Cl. oedematiens</i> A	0/2	0/2	1/1	0/1	0/2	0/2	1/6	2/6	7/7	1/1	0/1	1/1	0/3	2/5	nb	3/5	3/3	0/5
<i>Cl. perfringens</i> A	1/2	0/2	0/1	0/1	0/2	0/2	0/6	0/6	0/7	0/1	0/1	0/1	0/3	0/5	0/2	0/6	3/3	0/5
<i>Cl. histolyticum</i>	0/2	2/2	1/2	1/1	1/2	0/2	2/6	1/6	1/7	0/1	0/1	1/1	2/3	2/5	0/2	4/6	1/3	4/6

Legenda:

licznik — ilość szczepów dających odczyn dodatni
mianownik — ilość szczepów zbadanych
nb — nie badano

Tab. 2. Odczyn Ouchterlony surowic antybakteryjnych „O” produkcji własnej z antygenami bakteryjnymi (otrzymanymi drogą wielokrotnego zamrażania płukanych laseczek).

Surowice pko:	Antygeny																	
	<i>Cl. botulinum</i>						<i>Cl. septicum</i>	<i>Cl. tetani</i>	<i>Cl. oedematiens</i>				<i>Cl. sordelli</i>	<i>Cl. bifermentans</i>	<i>Cl. feseri</i>	<i>Cl. sporogenes</i>	<i>Cl. perfringens A C D</i>	<i>Cl. histolyticum</i>
	A	B	C	D	E	F			A	B	C	D						
<i>Cl. botulinum</i> A	4/5	5/9	0/2	0/1	2/4	0/3	0/3	0/3	0/2	0/1	0/1	0/1	0/2	0/3	0/2	0/3	0/3	0/3
B	0/1	2/4	0/1	0/1	0/2	0/1	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
C	0/6	0/7	1/2	0/1	0/5	0/3	0/3	0/3	0/2	0/1	0/1	1/1	0/2	0/3	0/2	0/3	0/3	0/3
D	0/6	0/7	1/2	0/1	0/4	0/3	0/3	0/4	0/2	0/1	0/1	1/1	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/3
E	0/6	0/7	0/2	0/1	4/4	0/2	0/3	0/4	0/2	0/1	0/1	0/1	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/3
F	0/6	2/8	0/2	0/1	0/3	3/3	0/3	0/4	0/2	0/1	0/1	0/1	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/3
<i>Cl. septicum</i>	0/2	0/2	0/2	0/1	0/2	0/2	6/6	1/6	0/7	0/1	0/1	0/1	0/3	0/5	0/2	0/6	0/3	0/5
<i>Cl. tetani</i>	0/2	0/2	0/2	0/1	0/2	0/2	0/6	5/6	0/7	0/1	0/1	0/1	0/3	0/5	0/2	0/4	0/3	0/5
<i>Cl. oedematiens</i> A	0/2	0/2	2/2	1/1	1/2	0/2	0/6	1/6	6/6	0/1	0/1	1/1	0/3	0/5	0/2	0/6	0/3	0/5
D	0/2	0/2	0/2	0/1	0/2	0/2	0/6	0/6	1/7	0/1	0/1	1/1	0/3	0/5	0/2	0/6	0/3	0/5
<i>Cl. sordelli</i>	0/2	0/2	0/2	0/1	0/2	0/2	0/6	0/6	1/7	0/1	0/1	0/1	3/3	3/5	0/2	0/6	0/3	0/5
<i>Cl. bifermentans</i>	0/2	0/2	0/2	0/1	2/2	0/2	0/6	1/6	0/7	0/1	0/1	0/1	0/3	2/5	0/2	2/6	0/3	3/5
<i>Cl. feseri</i>	0/2	0/2	0/2	0/1	0/2	0/2	5/6	0/6	0/7	0/1	0/1	0/1	0/3	0/5	2/2	0/6	0/3	0/5
<i>Cl. sporogenes</i>	1/2	1/2	0/2	0/1	0/2	0/2	0/6	1/6	0/7	0/1	0/1	0/1	0/3	0/5	0/2	2/5	0/3	0/5

Legenda:

licznik — ilość szczepów dających odczyn dodatni
mianownik — ilość szczepów zbadanych
nb — nie badano

własnych surowic aż 5 różnych, a mianowicie pko *Cl. botulinum* A-nr 365, B-nr 7273, C-nr 8264, (lub D-nr 8265), E-nr 341 i F-nr 10281.

2. Surowica pko *Cl. tetani* wskazuje na dużą jednorodność i odrębność tego gatunku (nie daje reakcji międzygatunkowych). Wprawdzie 1 szczep (*Cl. tetani* nr 690) nie reaguje z surowicą przyjętą za prototypową, ale szczep ten budzi pewne wątpliwości co do swej przynależności gatunkowej, gdyż zachowuje się niewłaściwie również w stosunku do surowicy *Cl. septicum*. Wyniki badań własnych zasadniczo różnią się od rezultatów Mandii (16), który badając metodą aglutynacji antygeny ciepłostale *Cl. tetani* stwierdził odczyny międzygatunkowe (w mianie 4 razy niższym) z *Cl. sporogenes*, *Cl. paratetanicum* i z *Cl. histolyticum*. Powyższe różnice wiążą się prawdopodobnie z użyciem odmiennych metod diagnostycznych.

3. Surowica pko *Cl. septicum*. Użyte szczepy w odczynie precypitacji okazały się antygenowo jednolite. Nie wykluczone jednak, że przypadkowo należały one wyjątkowo do jednej grupy aglutynacyjnej Maussa (29). Reakcji krzyżowych z innymi gatunkami nie stwierdzono nawet w stosunku do *Cl. feseri*.

4. Surowice pko *Cl. oedematiens* A i D. Szczepy *Cl. oedematiens* A wydają się być antygenowo jednorodne (6/6). Surowice odnośnie dawały jednak dodatnie odczyny również z sacharolityczną grupą *Cl. botulinum* (tj. z typami C, D, E).

5. Surowice pko *Cl. sordelli* i pko *Cl. bifermentans*. Stwierdzono, że surowica anty *Cl. sordelli* dawała odczyn, poza antygenami homologicznymi, tylko z *Cl. bifermentans* i wy-

jątkowo z *Cl. oedematiens* A (1/7). Natomiast surowica pko *Cl. bifermentans* reagowała tylko z 2 na 5 szczepów tego gatunku i dawała przy tym cały szereg odczynów międzygatunkowych (z *Cl. tetani* 1/6, *Cl. sporogenes* 2/6, *Cl. histolyticum* 3/5, i *Cl. botulinum* E 2/2). W przebadanym przypadku nie reagowała w ogóle z *Cl. sordelli* zgodnie z wcześniejszymi obserwacjami Tardieux i Nissmana (37).

6. Surowica pko *Cl. feseri*. Nie wykazuje reakcji międzygatunkowych za wyjątkiem *Cl. septicum*, z którym daje częste reakcje jednostronne (5/6).

7. Surowica pko *Cl. sporogenes* wykazuje duże różnice antygenowe w obrębie gatunku. Podobne rezultaty wykazał Mandia (15) posługując się aglutynacją. Stwierdzono pewne powinowactwo z *Cl. botulinum* A i B. Reasumując wyniki badań własnych można stwierdzić, że odczyn Ouchterlony z użyciem surowic pko ogrzewanym antygenom komórkowym pozwala na różnicowanie szeregu gatunków *Clostridium*. Konieczne są jednak dalsze badania nad doбором szczepów o strukturze antygenowej zapewniającej obejmowanie wszystkich szczepów homologicznego gatunku. Odczyn ten z zastosowaniem antygenów „HO” i surowic antytoksycznych „Biomed” i „Biowet” w warunkach doświadczenia nie nadaje się do celów diagnostycznych.

Piśmiennictwo

1. Batty I., Walker P. D.: J. Path. Bact. 85, 517, 1963.
2. Batty I., Walker P. D.: Bull. Off. Inst. Epiz. 59, 1499, 1963.
3. Batty I., Walker P. D.: J. Path. Bact. 88, 327, 1964.
4. Batty I., Walker P. D.: J. Appl. Bact. 23, 112, 1965.
5. Björklund B., Berengo A.: Acta Path. Microb. Scand. 34, 79, 1954.

6. Bulatowa T. J., Kabanowa E. A.: Zurn. Epid. Immun. 31, 18, 1960.
7. Dafaalla E. N., Soltys M. A.: Brit. J. Exp. Path. 32, 510, 1951.
8. Dafaalla E. N., Soltys M. A.: Nature 172, 38, 1953.
9. Doak B. W., Lamanna C.: J. Bact. 55, 373, 1948.
10. Lolman C. E., Chang H.: Canad. J. Publ. Health 43, 38, 1952.
11. Ellner P. D., Green S. S.: J. Bact. 85, 1084, 1963.
12. Ellner P. D., Green S. S.: J. Bact. 86, 1098, 1963.
13. Elek S. D.: Brit. J. Exp. Path. 30, 485, 1949.
14. Hunter B. F., Rosen M. N.: Avian Disease 11, 345, 1967.
15. Mandia J. W., Bruner D. W.: J. Immunol. 67, 49, 1951.
16. Mandia J. W.: J. Immunol. 69, 497, 1951.
17. Mandia J. W.: J. Inf. Dis. 97, 66, 1955.
18. Meisel H.: Medycyna Dośw. Społ. 25, 89, 1946.
19. Meisel-Mikołajczyk F.: Med. Dośw. Mikrobiol. 5, 477, 1953.
20. Meisel H., Rymkiewicz D.: Med. Dośw. Mikrobiol. 9, 375, 1957.
21. Meisel H., Rymkiewicz D.: Bull. Acad. Polon. Sci. Cl. II. 6, 199, 1958.
22. Meisel H., Rymkiewicz D.: Med. Dośw. Mikrobiol. 11, 1, 1959.
23. Meisel H.: Bull. Off. Int. Epiz. 59, 1425, 1963.
24. Meisel H., Rymkiewicz D.: Bull. Acad. Polon. Sci. 5, 331, 1957.
25. Meisel i wsp.: Med. Dośw. Mikrobiol. 16, 193, 1964.
26. Meisel H., Świtalska A.: Med. Dośw. Mikrobiol. 18, 31, 1966.
27. Midura T. J. i wsp.: Public Health Reports 82, 275, 1967.
28. Midura T. J. i wsp.: Applied Microbiol. 16, 102, 1968.
29. Moussa R. S.: J. Path. Bact. 77, 343, 1959.
30. Norris J. R., Wolf J.: J. Appl. Bact. 24, 42, 1961.
31. Norris J. R.: J. Gen. Microbiol. 28, 393, 1962.
32. Oakley C. L., Fulthorpe A. J.: J. Path. Bact. 65, 49, 1953.
33. Ouchterlony O.: Acta Path. Microb. Scand. 26, 57, 1949.
34. Rafyi A. i wsp.: Rev. Immunol. 18, 391, 1954.
35. Rymkiewicz D.: cyt. wg poz. 23.
36. Rymkiewicz D., Albrycht H.: Med. Dośw. Mikrobiol. 17, 291, 1965.
37. Tardieux P., Nissman B.: Ann. Inst. Pasteur 82, 458, 1952.
38. Walker P. D.: J. Path. Bact. 85, 41, 1963.
39. Walker P. D., Batty I.: J. Appl. Bact. 27, 140, 1964.
40. Zahaczewski J., Komorowski A.: Med. Dośw. Mikrobiol. 20, 43, 1968.

Adres autora: prof. dr Tadeusz Jastrzębski, Lublin, ul. Akademicka 11.

Цыган З., Ястшембски Т. — Серологическая идентификация бактерий рода Clostridium. I. Эффективность реакции жельпреципитации.

Исследовали методом жельпреципитации по Оухтерлону 73 штамма бактерий рода Clostridium. Применяли антитоксические сыворотки полученные из биофабрики и антибактериальные от кроликов гипер-

иммунизированных эмульсией убитых теплом бактерий отдельных штаммов-прототипов. Установили, что использованные полученные из биофабрики антитоксические сыворотки имеют многочисленные общие компоненты для многих видов Clostridium и потому для видовой дифференциации не годятся. Зато антибактериальные сыворотки направленные против теплоустойчивым антигенам могут быть с успехом применены для идентификации видов бактерий рода Clostridium. Особенно выгодным оказался этот метод при распознавании бактерий из группы Cl. botulinum. Позволял он отличить 27 исследованных штаммов Cl. botulinum A, B, C, D, E и F от других видов Clostridium и в значительной степени на идентификацию типов. Большую видовой однородность и своеобразие проявили виды Cl. tetani и Cl. septicum. Частично успешные результаты получили также с сыворотками против Cl. oedematiens, Cl. sordelli, Cl. bifermentans и Cl. fesceri.

Cygan Z., Jastrzębski T. — Serological identification of Clostridia. I. The usefulness of agar gel precipitation.

Seventy three strains of Clostridium genus were examined by means of agar gel precipitation technique acc. to Ouchterlony. The test was carried out with antitoxic commercial serums and with antibacterial serums produced in rabbits hyperimmunized with the suspension of the heated bacterial cells, derived from the individual prototypic strains. It was found that the antitoxic commercial sera cannot be applied to the serological identification of Clostridium species, because of many related components within Clostridium sp. Instead, the antibacterial sera against thermostable antigens might be used for the species identification of many species of Clostridia. This technique appeared to be especially very useful for identification of many species of Clostridium botulinum group. On the basis of the above method it was possible to differentiate 27 investigated strains of Clostridium botulinum A, B, C, D, E and F from other Clostridia, and even to classify them acc. to the types. Cl. tetani and Cl. septicum sp. revealed the strong similarity and distinct features. The positive results were also obtained to some extent with the sera against Cl. oedematiens, Cl. sordelli, Cl. bifermentans and Cl. fesceri.

JERZY KITA, ZBIGNIEW ANUSZ

Wrażliwość *Pasteurella multocida* na antybiotyki, sulfonamidy i związki furanowe

Katedra Epizootiologii Wydziału Weterynarii SGGW w Warszawie
Kierownik: prof. dr A. STRYSZAK

Badaniom nad wrażliwością *Pasteurella multocida* na sulfonamidy i antybiotyki *in vitro* poświęcono znacznie więcej uwagi niż badaniom *in vivo*. Większość prac ogranicza się jednak do badania jednego lub kilku antybiotyków łatwiej dostępnych. Shirlaw (9) w badaniach *in vitro* stwierdził, że te same szczepy pastereleli były hamowane przez penicylinę w rozcieńczeniu 100 mg/ml, przez siarczan dwuhydrostreptomycyny w rozcieńczeniu 100 j/ml, a z sulfonamidów zdecydowanie wzrost pastereleli ograniczał tylko sulfatiazol. Pozostałe sulfonamidy jak sulfomerazyna, sulfadiazyna i sulfametazyna działały słabiej. McNell i Hinshaw (7) uzyskali całkowite zahamowanie wzrostu

Pasteurella multocida na pożywce chlebowej po dodaniu streptomycyny w ilości 1 mcg/ml. Ci sami badacze otrzymali zadawalające wyniki, stosując streptomycynę przy doświadczalnie wywołanej pasterelezie indyków. Podanie ptakom 150 j. streptomycyny przed lub w chwili zakażenia zapobiegało wypadkom śmiertelnym.

O braku działania bacitracyny na pastereleli *in vitro* donoszą Geneidy (4) oraz Brygoo i Rajenison (3). Ci ostatni stwierdzili *in vitro* wrażliwość *Pasteurella pestis*, *P. pseudotuberculosis* i *P. multocida* na nitrofurantoinę, colimycynę i polimyxynę. Antybiogram poszczególnych serotypów zarazka nie wykazał różnic między nimi (4).