

12. Mac Kendrick A. G.: Bull. Health Org. League Nations 9, 31, 1940.
13. Murphy F. A., Bauer S. P., Harrison A. K., Winn W. C.: Lab. Invest. 28, 361, 1973.
14. Murphy F. A., Bauer S. P.: Intervirology 3, 256, 1974.
15. Murphy F. A.: Arch. Virology 54, 279, 1977.
16. Nicollić M.: Z. Tropenmed. Parasit. 3, 283, 1952.
17. Nicollić M.: Arch. Hyg. Bakt. 136, 80, 1952.
18. Serokowa D.: Współczesne kryteria biologicznej oceny szczepów szczepionkowych wirusa wścieklizny. Praca habilit. PZH, Warszawa 1975.
19. Sikes R. K., Cleary W. T., Koprowski H., Wiktor T. J., Kaplan M. M.: Bull. WHO 45, 1, 1971.
20. Stryszak A.: Wlad. wet. 16, 365, 1937.
21. Stryszak A., Oyrzanowska J.: Przegl. epid. 86, 440, 1979.
22. Veeraraghavan N.: An. Rep. Pasteur Institute. Coonor, India 1970.
23. Veeraraghavan N.: An. Rep. 1969—70 Pasteur Institute, Coonor, India, 1971.
24. Webster L.: Rabies, Macmillan Comp., New York, 1944.
25. Wiktor T. J.: J. Inf. Dis. Supl. 260A, 133, 1976.
26. Zienetz K.: Mémoire sur la question des vaccinations préventives antirabique de Mr Pasteur. Literature, E. Wende 1894.

Adres autora: prof. dr Abdon Stryszak, Pl. Konstytucji 6 m. 1, 00-550 Warszawa.

ZYGMUNT CYGAN, JANUSZ WIERCIŃSKI, BOLESŁAW RUBAJ, IRENA BARCZ

Właściwości maczugowców *C. pyogenes* i *P. acnes* oraz ich występowanie w infekcjach racic owiec

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie
Z Centralnego Laboratorium Aparaturowego AR w Lublinie
Z Zakładu Anatomii Patologicznej Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Materiał i metody

Procesy zapalne racic owiec (tzw. „kulawki”) — na tle beztlenowców (*B. nodosus* i *F. necrophorum*) — przebiegają zwykle z udziałem tlenowców z rodzaju *Corynebacterium* (17, 30, 34, 43, 44). Spośród tlenowej mikroflory najczęściej wykazywane są maczugowce *C. pyogenes* (4, 21, 35). Dotychczas jednak nie zostały bliżej poznane właściwości fizjologiczne tych bakterii, a zwłaszcza ich potencjalna zdolność chorobotwórcza, jeszcze nie oceniona według kryteriów przyjętych dla beztlenowców *B. nodosus* tj. metodą badania aktywności proteolitycznej zarazka wobec elastyny, fibrynogenu i kazeiny (17, 42). Fragmentaryczne przy tym są informacje o występowaniu bakterii *C. pyogenes* w skórze zdrowych i dotkniętych „kulawką” owiec. Jednocześnie zwraca uwagę całkowity brak danych co do rozpowszechnienia — w podobnym przypadku — tzw. „maczugowców” beztlenowych tj. pałeczek zaliczanych obecnie do rodzaju *Propionibacterium* (7, 14, 20). U człowieka współtworzą one ekosystem regulujący liczbę drobnoustrojów w skórze, stanowiąc w niej dominującą mikroflorę beztlenową (23, 24, 41). Co więcej, beztlenowcom *P. acnes* przypisuje się niekiedy odpowiedzialność za destrukcję włókien elastycznych tej tkanki (13). Zatem niewykluczone, że również w „kulawce” odgrywa jakąś rolę.

W związku z powyższym jako cel niniejszych badań własnych przyjęto:

— przebadanie w kierunku tlenowych i beztlenowych „maczugowców” próbek skóry i rogu racicowego, pochodzących od owiec z „kulawką” i bez objawów tego schorzenia;

— przeprowadzenie rodzajowej i gatunkowej identyfikacji wyosobnionych szczepów oraz charakterystyki ich podstawowych właściwości morfologiczno-biochemicznych, a częściowo także antygenowych;

— określenie aktywności proteolitycznej „maczugowców” wobec elastyny, fibrynogenu i kazeiny, a także właściwości chorobotwórczych dla myszy.

Badane próbki. Użyto chorobowo zmienione wycinki rogu i sąsiadującej z nim skóry od 5 owiec chorych z 2 różnych owczarni. U 3 owiec (B1, B2, B3) zmiany chorobowe przypominały martwicowe zapalenie opuszki tzw. „IBN” („Infective Bulbar Necrosis”), podczas gdy u 2 owiec (Z1 i Z2) schorzenie przebiegało jako martwicowe zapalenie skóry w szparze międzyracicowej tj. „OID” („Ovine Interdigitalis Disease”). Poza tym zbadano wycinki rogu i skóry od 5 owiec klinicznie zdrowych (K1, K2, K3, K4, K5). Pobrane próbki przewożono do laboratorium w anaerostatach z zawartością 90% H₂ i 10% CO₂.

Posiewy. Przy badaniu materiałów w kierunku beztlenowych „maczugowców”, posiewy przeprowadzano w specjalnie uszczelnionej kabinie, w atmosferze CO₂, uprzednio odtlenionej metodą Moore (27) tj. katalitycznym spalaniem O₂ w 350°C w kolumnie miedziowej. Próbkę posiewano na podłoże Zeisslera oraz na pożywkę o składzie: pepton „Proteose” 0,5%, ekstrakt drożdżowy Difco 0,5%, agar Difco 3%, chlorowodorek cysteiny 0,05% i trypsynowany wyciąg rogu 2%. Wyciąg rogowy przygotowywano według metody opisaną przez Marsha i Clausa (22). Natomiast badanie na obecność tlenowych maczugowców obejmowało wysiewy materiałów tylko na podłoże Zeisslera.

Inkubacja. Posiane podłoża w kierunku beztlenowców inkubowano w anaerostatach, przy wytworzonej próżni i następnym jej wypełnieniu mieszaniną 9:1 wodoru (przepuszczonego przez system płuczek zawierających 30% pyrogallolu w 10% KOH) oraz CO₂ (odtlenionego w kolumnie miedziowej) w obecności katalizatora palladowego, jak również roztworu błękitu metylenowego (wskaźnik środowiska) według Smitha i Holdemana (40). Wodór wytwarzano elektrolitycznie z 25% NaOH oraz metodą chemiczną podaną przez Brewera i Allgeiera (5). Czas inkubacji posiewów w 37°C w warunkach beztlenowych wynosił 4—5 dni, a w środowisku tlenowym 72 godziny.

Izolacja. Wszystkie czynności związane z wyosobnieniem beztlenowych „maczugowców” wykonywano w specjalnej kabinie, przy ciągłym przepływie odtlenionego CO₂. Wycięte wraz z agarem kolonie przenoszono do namnażających podłoży Wrzoska w modyfikacji Cygana i wsp. (11). Natomiast izolację tlenowych maczugowców przeprowadzano z podłoża Zeisslera na bulion z dodatkiem 10% surowicy końskiej.

Identyfikacja. Badano kierunek metabolizmu wszystkich wyosobnionych szczepów przez określenie składu wytwarzanych lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) w podłożu Beerensa i wsp. (3) z zastosowaniem

ekstrakcji zgodnie z Charlesem i Barrettem (8) oraz metody chromatografii gazowej według Ottensteina i Bartleya (29), opisanej w poprzedniej pracy Cygana i wsp. (12). Poza tym sprawdzano morfologię komórek i kolonii, właściwości fermentacyjne wobec cukrów i alkoholi, wytwarzanie indolu i H_2S , a także rozpuszczanie 15% żelatyny, ściętej surowicy końskiej (80°C — 1 godz.) oraz mleka. W przypadku tlenowych maczugowców badano również wpływ heminy (L. Light and Co. LTD, Anglia) i dodatku 10% surowicy końskiej na wzrost tych bakterii (dawka heminy 1 mg/ml podłoża agarowego).

Właściwości proteolityczne. Trawienie elastyny badano metodą podaną przez Murphy (28) i stosowaną przez Stewarta (42) oraz Dicka i wsp. (13). Koncentracja elastyny (Koch — Light Lab., Anglia) związanej z czerwienią Kongo w zmodyfikowanym podłożu TAS (15% surowicy końskiej i 1 mg/ml heminy) według Skermana (39) wynosiła 0,3%. Rozpuszczanie fibrynogeny i kazeiny sprawdzano metodą opisaną przez Stewarta (modyfikacją było zastąpienie kazeiny dodatkiem 15% mleka do podłoża TAS). Pożywki zasiewano dużą dawką hodowli półpłynnej stosując linijny posiew. Czas inkubacji w 37°C wahał się od 2 do 14 dni.

Właściwości antygenowe. Badania przeprowadzono przy pomocy odczynu precypitacji w żelu agarowym według Ouchterlony'ego z użyciem wyprodukowanych we własnym zakresie króliczych surowic odpornościowych przeciwko ogrzanym antygenom (80°C — 20 min.) bakterii tlenowych (szczep TB1) oraz beztlenowych (szczep BB1). Przy uodpornianiu królików, przygotowywaniu antygenów i wykonywaniu odczynu stosowano metodę przedstawioną w pracy Cygana i Jastrzębskiego (10).

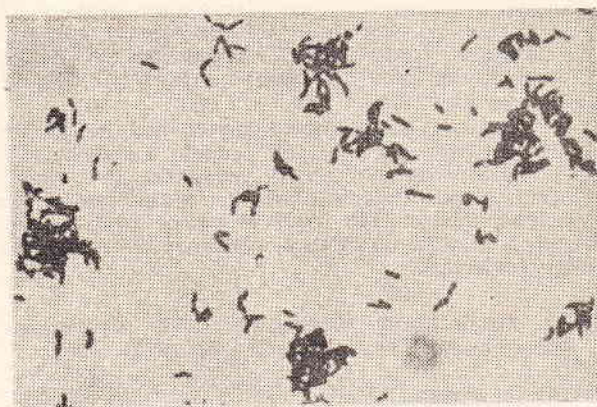
Właściwości chorobotwórcze. Patogenność szczepów oceniano na myszach zakażanych dootrzewnowo dawką 0,5 ml hodowli 48 godzinnej z półpłynnego podłoża Wrzoska (czas obserwacji — 2 tygodnie). W przypadku przeżycia tych zwierząt — usypiano je, a następnie przeprowadzano badanie makroskopowe powstałych zmian chorobowych.

Wyniki i omówienie

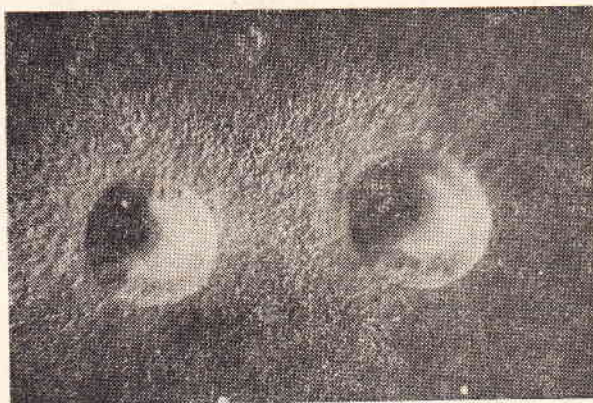
Z próbek pochodzących od owiec z „kulawką” wyosobniono szczepy bakterii przypominających „maczugowce” tlenowe (TB1, TB2, TB3, TZ1 i TZ2) i beztlenowe (BB1, BB2, BB3, BZ1, BZ2). Podkreślić należy, że w materiałach pobranych od zwierząt zdrowych stwierdzano tylko drobnoustroje beztlenowe (BK1, BK2, BK3, BK4, BK5).

Grupę 5 szczepów tj. TB1, TB2, TB3, TZ1 i TZ2 reprezentowały pałeczki w zasadzie tlenowe, chociaż lepiej rosnące, zwłaszcza w pierwszych pasażach, w mikroaerofilnych warunkach hodowli. Produkowały one tylko kwas octowy jako jedyny LKT. Stwierdzone w poszczególnych kulturach koncentracje tego kwasu przedstawiały się następująco: TB1 — 12,1 mM/l, TB2 — 5,56, TB3 — 4,22, TZ1 — 1,87 oraz TZ2 — 1,68 mM/l. Powyższym profilem metabolicznym wszystkie szczepy odpowiadały maczugowcom z rodzaju *Corynebacterium*.

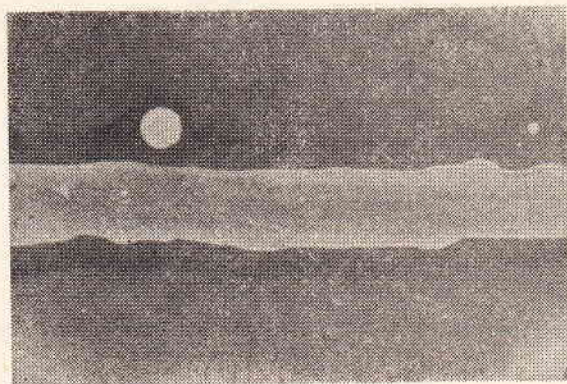
Pod względem morfologicznym były to gramodatnie pałeczki, niekiedy o zgrubiałych końcach (ryc. 1). Na agarze Zeisslera wyrastały kolonie przypominające „sadszone jajo”, średnicy <1 mm (przy 48 godz. inkubacji) z hemolizą beta (ryc. 2). Wprowadzenie do podłoża agarowego 10% surowicy końskiej umożliwiała wzrost jedynie 3 izolatów (TB1, TB3, TZ2), podczas gdy dodatek heminy (1 mg/ml) lub 10% krwi owczej stymulował rozwój wszystkich szczepów.



Ryc. 1. Właściwości morfologiczne pałeczek *C. pyogenes* (szczep TB1)



Ryc. 2. Morfologia kolonii szczepu TB1



Ryc. 3. Efekt proteolizy wywołanej przez szczep TB1

Wyosobnione maczugowce fermentowały glukozę, maltozę i skrobię, a także rozpuszczały żelatynę, ściętą surowicę oraz peptonizowały mleko (TB3 rozbudowywał dodatkowo laktozę). Natomiast nie były aktywne wobec sacharozy, sorbitolu i trehalozy, a ponadto nie wytwarzały katalazy i indolu. Powyższe właściwości zbliżyły omawiane szczepy do tworzących „małe kolonie” pałeczek *C. pyogenes* S („Small colony”).

Na szczególne podkreślenie zasługuje aktywność proteolityczna tlenowych maczugowców w stosunku do elastyny (wyraźne upłynnienie w okresie 10–14 dni), kazeiny mleka (efekt proteolizy widoczny już po 2–3 dniach) oraz fibrynogeny (trawienie w 4–6 dniu). Liście tych substratów towarzyszył efekt „klarowania” podłoża, co w przypadku pożywki z kazeiną mleka ilustruje ryc. 3.

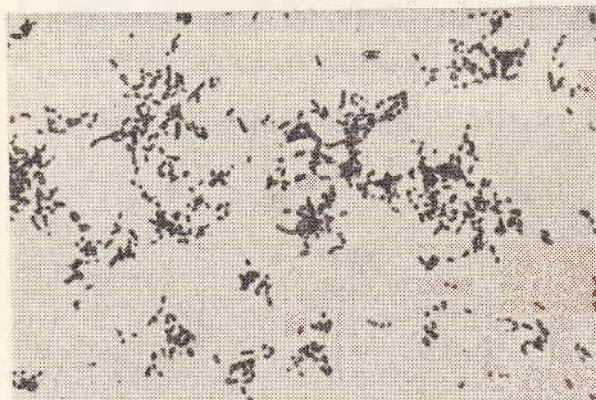
Badane odczynem żelprecypitacyjnym szczepy *C. pyogenes* nie przedstawiały jednolitej grupy bakterii. Tylko antygeny TB1, TB2 i TZ2 w układzie z surowicą TB1 wytwarzały po 2 linie wspólne (pozostałe dawały ujemny wynik reakcji).

Spśród 5 szczepów sprawdzonych pod względem właściwości chorobotwórczych, jedynie 2 z nich (TB1 i TB3) działało letalnie (śmierć myszy na 3–4 dzień). Patogenność pozostałych 3 izolatów ograniczała się do wywoływania drobnych ropni w wątrobie oraz włóknikowych nalotów na torebce wątroby i śledziony (bez śmierci zwierząt).

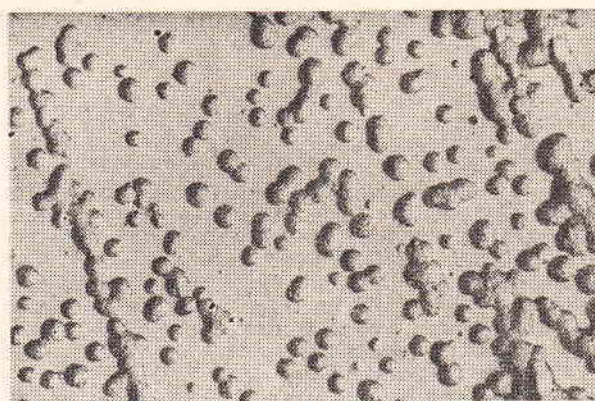
Tab. 1. Lotne kwasy tłuszczowe (LKT) wytwarzane przez szczepy beztlenowych „maczugowców”

Badane szczepy	Rodzaj LKT i koncentracja (w mM/l hodowli)					
	octowy	propionowy	izomastowy	mastowy	izowalerianowy	walerianowy
BB1	7,12	28,20	1,70	0,31	0,49	0,36
BB2	4,14	13,20	0,59	0,76	0,82	0,77
BB3	6,89	27,10	0,42	0,44	1,06	0,86
BZ1	10,20	30,50	0,32	0,45	0,49	0,49
BZ2	18,90	83,30	0,50	0,34	1,58	0,56
BK1	5,11	14,16	0,53	0,37	0,91	0,47
BK2	15,12	32,27	0,54	0,46	1,13	0,79
BK3	6,43	15,73	0,87	0,53	0,64	0,41
BK4	4,78	11,84	1,13	0,44	0,82	0,50
BK5	9,63	13,27	0,59	0,58	0,63	0,72

Zupełnie odmienną partię drobnoustrojów stanowiły szczepy wyizolowanych beztlenowych „maczugowców”. Z tabeli 1 wynika, że głównym metabolitem tych bakterii był kwas propionowy (koncentracja 11,84–83,3 mM/l hodowli). Pozostałe lotne kwasy tłuszczowe (LKT), z wyjątkiem kwasu octowego, występowały w stężeniu nie przekraczającym najczęściej 1 mM/l. Na tej podstawie wszystkie szczepy zaliczono do rodzaju *Propionibacterium* (główny LKT — kwas propionowy).



Ryc. 4. Właściwości morfologiczne beztlenowców *P. acnes* (szczep BB1)



Ryc. 5. Morfologia kolonii szczepu BB1

„Maczugowce” *Propionibacterium* przedstawiały gramododatnie pałeczki, o nierównomiernie zabarwionej cytoplazmie, nadającej im wygląd form „ziarniakowatych” (ryc. 4). Na agarze surowiczym (z 10% surowicy końskiej) tworzyły one małe kolonie średnicy 0,5–0,8 mm, z drobnoziarnistą strukturą i równym brzegiem (ryc. 5). Wszystkie szczepy fermentowały glukozę, mannozę, maltozę i mannit, produkowały indol i H_2S , a poza tym rozpuszczały żelatynę oraz koagulowały mleko (bez peptonizacji). Natomiast żaden ze szczepów nie fermentował sacharozy i sorbitolu, nie hydrolizował eskuliny, a także nie upłynniał ściętej surowicy końskiej (75% surowicy w bulionie ogrzanym w 80°C przez 1 godzinę). Na tej podstawie wszystkie 10 szczepów (od owiec zdrowych i chorych) sklasyfikowano jako *P. acnes*.

Co się tyczy aktywności proteolitycznej to żaden ze szczepów nie powodował lizy elastyny, fibrynogenu i kazeiny mleka.

Pod względem antygenowym beztlenowce *P. acnes* zachowywały się jednolicie. Pełne, nie ogrzane antygeny komórkowe, w układzie z surowicą BB1, wytwarzały po 2 linie precypitacyjne, przy 1 linii dla antygenów ogrzanych (100°C — 1 godz.).

Próby dootrzewnowego zakażenia myszy — hodowlami beztlenowych „maczugowców” — prowadziły do powstawania nalotów włóknika na wątrobie i śledzionie oraz twardych ognisk martwiczych w tych narządach (brak działania letalnego).

Przeprowadzone badania dostarczyły dalszych dowodów potwierdzających pogląd, że maczugowce *C. pyogenes* występują często w infekcjach racic owiec (17, 21). Poza tym dowiodły one obecności dotychczas nie izolowanych beztlenowców *P. acnes*.

Właściwości szczepów *C. pyogenes* (wzrost stymulowany przez surowicę i heminę, hemoliza i aktywność proteolityczna+, indol —) były typowe dla tego gatunku bakterii (14, 17). Inne cechy tych drobnoustrojów, tj. wielkość kolonii < 1 mm, fermentowanie skrobi, rozpuszczanie żelatyny i nieprodukowanie katalazy odpowiadały cechom *C. pyogenes* S w terminologii Barksdale i wsp. (2) oraz McLeana i wsp. (25).

Wyosobnione bakterie aktywnością proteolityczną i tendencją do wzrostu w warunkach mikroaerofilnych były zbliżone do maczugowców *C. minutissimum*, opisanych po raz pierwszy przez Sarkany i wsp. (37, 38) przy zakażeniach skóry człowieka („erythrasma”), a później wykazanych przez Pepina i Littlejohn (31) w powierzchniowych infekcjach racic owiec („scald”). Odróżniały się one jednak od *C. minutissimum* właściwościami hemolitycznymi i brakiem katalazy. Poza tym szczepy *C. pyogenes* — wytwarzaniem kwasu octowego (jedyny LKT) oraz stymulacją wzrostu przez heminę — trochę przypominały badane przez Dunkelberga i McVeigha (15) oraz Dunkelberga i wsp. (16) pałeczki *Haemophilus vaginalis* („species incertae sedis” w terminologii autorów podręcznika „Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”), czy też *Corynebacterium vaginale* według propozycji Zinnemana i Turnera (47).

Pałeczki *C. pyogenes* wykazano u wszystkich 5 owiec z objawami „kulawki”. Potwierdzono zatem pogląd o dość powszechnym występowaniu maczugowców w tym schorzeniu (4, 17, 18, 21, 30, 43, 44). Na uwagę przy tym zasługuje

brak tych bakterii w próbkach skóry i rogu pochodzących od zwierząt zdrowych. Fakt ten w kontekście stwierdzonej aktywności elastolitycznej, fibrynolitycznej, a także w stosunku do kazeiny mleka wskazuje na ich rolę chorobotwórczą w infekcjach racic. Taki pogląd był już wyrażony w badaniach Parsonsona i wsp. (30) dotyczących etiopatogenezy „OID” oraz Robertsa i wsp. (35) w odniesieniu do „IBN”, jak również w pracy Egertona i wsp. (18) nad zankocia owiec. Jednak wtedy opinia ta nie była dostatecznie uzasadniona.

Szczepy określone jako *P. acnes* (główny LKT kwas propionowy, indol, żelatyna, glukoza, sorbitol +, a maltoza, sacharoza i eskulina—) spełniały postulowane przez Cummins (9) oraz Saino i wsp. (36) kryteria identyfikacji tego gatunku. Jednak wspomnieć należy, że inni autorzy np. Brzin (6), Voss (45) oraz Pulverer i Ko (33) dopuszczają możliwość ujmowania w gatunku *P. acnes* także szczepów indolujemnych, a przy tym fermentujących maltozę i sacharozę (tzw. *P. acnes* II Vossa oraz *P. acnes* B, C i D Pulverera i Ko). Natomiast Johnson i Cummins (20) na podstawie oznaczonej sekwencji nukleotydów DNA uznali, że szczepy Vossa odpowiadają pałeczkom *P. granulorum*.

Co się tyczy występowania beztlenowców *P. acnes* — to zostały one stwierdzone we wszystkich próbkach pobranych od owiec chorych i zdrowych. Można więc przyjąć, że bakterie te są rozpowszechnione w skórze owiec, podobnie jak to wykazano u człowieka (23, 24, 41). Powyższe wyniki w zestawieniu z brakiem aktywności elastolitycznej u pałeczek *P. acnes*, nasuwają wątpliwości co do ich pierwotnej roli chorobotwórczej w „IBN” i „OID”. Należy jednak uwzględnić zdolność „maczugowców” *P. acnes* do stymulacji nacieków komórkowych (1, 19, 26, 32, 46), wtórnie uszkadzających włókna elastyczne skóry (13) które tworzą przecież również zrab tworzywa racicowego.

Przedstawione wyniki pochodzą ze wstępnych badań, zakładających w dalszych swoich etapach kompleksową ocenę roli różnych tlenowców i beztlenowców stwierdzonych w „kulawce” owiec.

Piśmiennictwo

- Adlam C., Scott M. T.: J. med. Microbiol. 6, 261, 1973.
- Barksdale W. L., Li K., Cummins C. S., Harris H.: J. gen. Microbiol. 16, 749, 1957.
- Beerens H., Schaffner Y., Guillaume J., Castel M. M.: Annls Inst. Pasteur, Lille 14, 5, 1963.
- Benito M.: Revue Med. vet. 37, 611, 1974.
- Brewer J. H., Allgeier D. L.: Science 147, 1033, 1965.
- Brzin B.: Acta path. microbiol. scand. 60, 599, 1964.
- Buchanan R. E., Gibbons N. E.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Baltimore 1975.
- Charles A. B., Barrett F. C.: J. med. Lab. Technol. 20, 266, 1963.
- Cummins C. S.: J. clin. Microbiol. 2, 104, 1975.
- Cygan Z., Jastrzębski T.: Medycyna Wet. 32, 451, 1976.
- Cygan Z., Jastrzębski T., Gałęza J., Pielecki M.: Pol. Arch. wet. 17, 237, 1974.
- Cygan Z., Wierciński J., Szweczek A., Paroszkiewicz M.: Medycyna Wet. 33, 720, 1977.
- Dick G. F., Ashe B. M., Rodgers E. G., Diercks R. C., Goltz R. W.: Acta Dermatovenereol. Stockholm 56, 279, 1976.
- Douglas H. C., Gunter S. E.: J. Bact. 52, 15, 1946.
- Dunkelberg W. E., McVeigh I.: Antomie v. Leeuwenhoek 35, 129, 1969.
- Dunkelberg W. E., Skaggs R., Kellogg D. S.: Appl. Microbiol. 19, 47, 1970.
- Egerton J. R., Parsonson I. M.: Aust. vet. J. 45, 345, 1969.
- Egerton J. R., Roberts D. S., Parsonson I. M.: J. comp. Path. 79, 207, 1969.
- Halpern B. N., Prevot A. R., Biozzi G., Stiffel C., Mouton D., Morard J. C., Bouthiller Y.: J. Reticuloendothel. Soc. 1, 77, 1964.
- Johnson J. L., Cummins C. S.: J. Bact. 109, 1047, 1972.
- Katitch R. V., Matitch G.: Bull. Soc. vet. Med. comp., Lyon 4, 189, 1977.
- Marsh H., Claus K. D.: Cornell Vet. 60, 309, 1970.
- McBride M. E., Duncan W. C., Knox J. M.: Appl. Environ. Microbiol. 33, 603, 1977.
- McGinley K. J., Webster G. F., Leyden J. J.: Appl. Environ. Microbiol. 35, 62, 1978.
- McLean P. D., Liebow A. A., Rosenberg A. A.: J. infect. Dis. 79, 69, 1946.
- Milas L., Hunter N., Withers H. R.: Cancer Res. 34, 613, 1974.
- Moore W. E. C.: Int. J. syst. Bact. 16, 173, 1966.
- Murphy R. A.: J. Dental. Res. 53, 832, 1974.
- Ottenstein D. M., Bartley D. A.: J. chromat. Sci. 9, 673, 1971.
- Parsonson J. M., Egerton J. R., Roberts D. S.: J. comp. Path. 77, 309, 1967.
- Peplin G. A., Littlejohn A. I.: Vet. Rec. 76, 507, 1964.
- Prevot A. R., Tran Van Phi J.: C. r. hebdom. Seanc. Acad. Sci. 258, 461, 1964.
- Pulverer G., Ko H. L.: Appl. Microbiol. 25, 222, 1973.
- Roberts D. S., Egerton J. R.: J. comp. Path. 79, 217, 1969.
- Roberts D. S., Graham N. P. H., Egerton J. R.: J. comp. Path. 78, 1, 1968.
- Saino Y., Eda J., Nagova T., Yoshimura Y., Yamaguchi M., Kobayashi F.: Jap. J. Microbiol. 20, 17, 1976.
- Sarkany I., Taplin D., Blank H.: Lancet 7250, 304, 1962.
- Sarkany I., Taplin D., Blank H., Miami M. D.: J. Am. med. Ass. 177, 130, 1961.
- Skerman T. M.: J. gen. Microbiol. 37, 107, 1975.
- Smith L. D., Holdeman L. V.: The Pathogenic Bacteria, C. Thomas, USA 1968.
- Somerville D. A., Murphy C. T.: J. invest. Derm. 60, 231, 1973.
- Stewart D. J.: Res. vet. Sci. 27, 99, 1979.
- Thomas J. H.: Aust. J. agric. Res. 13, 725, 1962.
- Thomas J. H.: Aust. vet. J. 38, 159, 1962.
- Voss J. G.: J. Bact. 101, 392, 1970.
- Wilkinson P. C., O'Neill G. J., Wapshaw K. G.: Immunology 24, 997, 1973.
- Zinnemann K., Turner G. C.: J. Path. Bact. 85, 213, 1963.

Adres autora: doc. dr hab. Zygmunt Cygan, ul. Żelazowej Wóli 6 m 13, 20-854 Lublin.

Цыган З., Верцинский Я., Рубай Б., Барч И. — Свойства коринебактерий *C. pyogenes* и *P. acnes* и их появление в инфекциях копыт овец.

Исследовали относительно аэробных и анаэробных коринебактерий вырезки кожи и копытного рога от 5 овец с симптомами пиосептицемии (заболевание типа „IBN” и „OID”), а также от 5 овец, совсем здоровых (животные происходили из 2 разных стад). Из упомянутых проб выделили 5 штаммов аэробных палочек (от всех больных овец) и 10 штаммов анаэробных палочек (от всех исследуемых овец). Аэробные коринебактерии (рост, стимулированный геминном и сывороткой, крахмал и гемолиз +, индол и каталаза —, размеры колонии ниже 1 мм) соответствовали чертам *C. pyogenes* S („Small colony”). Анаэробные же коринебактерии (пропионовая кислота как главный метаболит, глюкоза, сорбитол, желатин, индол +, а мальтоза, сахароза, эскулин —) обладали свойствами *P. acnes*. Дифференцированные в антигенном отношении штаммы *C. pyogenes* показывали (в противоположность *P. acnes*) сильную протеолитическую активность относительно эластина, фибриногена и казеина. В работе продискутирована роль этих бактерий в заболеваниях копыт овец.

Cygan Z., Wierciński J., Rubaj B., Barcz I. — Properties of *C. pyogenes* and *P. acnes*, and their presence in sheep hooves infections.

The samples of the skin and hoof of five sheeps with the signs of lameness (disease of IBN and OID types) and five from healthy ones have been examined towards aerobic and anaerobic „corynebacteria”. Five aerobic bacteria, i. e. from the all diseased animals were isolated and ten anaerobic bacterial cells from all

the animals under study. The properties of aerobic bacteria (growth enhanced by the addition of haemin and serum, storch and haemolysis =+, indole and catalase =—; diameter of the colonies below 1 mm) were like *C. pyogenes* S (small colony). In contrast anaerobic bacteria had the characteristics of *P. acnes*

(propionic acid as a basic metabolite, glucose, sorbitol, gelatine, indole =+; maltose, sucrose, esculine =—). The strains of *C. pyogenes* differed antigenically possessed strong proteolytic activity for elastin, fibrinogen and casein. The role of the bacteria in the diseases of sheep hooves were discussed.

MARIAN KRÓLAK, GRACJAN CHYLIŃSKI, ANDRZEJ STRYSZAK,
TADEUSZ NOWOSIELSKI, WOJCIECH MARCINIECKI

Badania nad występowaniem nieswoistych dla brucelozy aglutynin u bydła, świń i owiec. Model postępowania w badaniach rozpoznawczych

Z Pracowni Badania Brucelozy Instytutu Weterynarii w Gdańsku
Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku
Z Wojewódzkich Zakładów Weterynarii w Gdańsku i Elblągu

Na terenach urzędowo uznanych za wolne od brucelozy, po kilku latach od zaprzestania szczepień ochronnych bydła szczepionką S-19, powstał problem niskich, nieswoistych mian w odczynie aglutynacji. Miana te spotyka się u pojedynczych zwierząt w stadach bydła w badaniach okresowych na brucelozę (12). Zagadnienie to dotyczy także pojedynczych zwierząt w stadach świń i owiec.

W pracy przedstawiono wyniki badań laboratoryjnych i obserwacji epizootycznych, których celem było:

1. określenie zakresu występowania nieswoistych reakcji aglutynacji w stadach bydła, świń i owiec,

2. opracowanie modelu postępowania w badaniach rozpoznawczych, który pozwoliłby zmniejszyć:

- a) straty ekonomiczne, wynikające z likwidacji zwierząt podejrzanych o brucelozę na podstawie wyników aglutynacji oraz z zastosowanych rygorów w zakresie obrotu zwierzętami,

- b) ryzyko wybuchu nowych ognisk brucelozy na terenach wolnych od tej zoonozy, poprzez pewniejsze wykrywanie zwierząt zakażonych brucelami.

Materiał i metody

Zwierzęta. Badaniami objęto stada bydła, świń i owiec w gospodarstwach uspołecznionych, położonych na terenie woj. gdańskiego i elbląskiego. Teren obu województw został urzędowo uznany za wolny od brucelozy w 1975 r. Wcześniej, w latach 1970—1971, odstąpiono na tym terenie od stosowania u bydła szczepionki S-19. Do badań wybierano zwierzęta, które w badaniach okresowych a brucelozę, a następnie w badaniach kontrolnych po upływie 21 dni, wykazywały wątpliwe lub dodatnie wyniki w OA oraz ujemne wyniki w OWD. Od tych zwierząt pobierano próbki krwi po raz trzeci, po 21 dniach od badania kontrolnego. W latach 1977—1979 zbadano łącznie 994 krowy, 134 świny i 176 owiec, 180 krów i 19 świń, u których stwierdzono dodatnie reakcje w OA i OME, skierowano do uboju jako podejrzane o brucelozę i wykonano badania bakteriologiczne.

Metody laboratoryjne. Badania serologiczne w kierunku brucelozy wykonano w odczynie aglutynacji (OA) według instrukcji nr 15 (8), w odczynie wiąża-

nia dopełniacza (OWD) według własnego projektu instrukcji nr 52 (10) oraz w odczynie z 2-merkaptopetanolom (OME) według techniki standardowej (20). Surowice bydła i świń zbadano także w odczynie antyglobulinowym (OAG), stosując standardową technikę opracowaną dla bydła (19). Owiec w OAG nie badano. Badania serologiczne w kierunku salmonelozy wykonano w odczynie aglutynacji próbówkowej, stosując antygen *S. typhimurium* i *S. enteritidis*, wytwarzany w Instytucie Weterynarii w Puławach. Badania bakteriologiczne i biologiczne na świnkach morskich wykonano według instrukcji nr 16 (8). Materiał do tych badań pobierano z narządów wewnętrznych, węzłów chłonnych (biodrowe, okołogardzielowe, nadwymieniowe), narządów rodnych oraz ze szpiku kości długich.

Wyniki i omówienie

Spośród 994 krów (tab. 1), które w badaniach kontrolnych wykazywały wątpliwy lub dodatni wynik w OA, tylko u 5,6% krów stwierdzono spadek miana do 12,5, co świadczy o dużej stabilności tych mian u badanego bydła. Wszystkie badane krowy były ujemne w OWD i nie posiadały w zasadzie aglutynin niekompletnych; tylko u 0,1% krów stwierdzono w OAG miano wyższe o 3^o rozcieńczenia od miana OA, zaś u 1,2% przewyższenie to wynosiło 2^o. Powyższe wyniki OAG oceniono odpowiednio jako dodatnie i wątpliwe (19). Nieliczne surowice bydlęce o mianie >25 zawierały aglutyniny kompletne częściowo w IgG, gdyż w OME nie uzyskano całkowitego zaniku aglutynacji; u 1,1% krów miano OME było równe mianu OA, zaś u 4,0% wystąpił częściowy zanik aglutynacji. Wyniki te uznano odpowiednio za dodatnie i wątpliwe (20).

Spośród 134 badanych świń (tab. 2), dodatnich lub wątpliwych w OA w badaniu kontrolnym, większość zwierząt utrzymywała ten wynik w badaniu wykonanym po 21 dniach. Tylko u 8,2% świń stwierdzono spadek miana OA do 12,5. Dodać jednak należy, że w przeciwieństwie do bydła, niskie miana OA u świń są mniej stabilne. U wielu świń z dodatnim wynikiem OA w badaniu pierwszym, brak było dodatnich reakcji w badaniu drugim, po upływie 21 dni. Zwie-