

(myszy, szczury) z paszy, m. in. z kiszzonek. Jak stwierdził Müller (14) toksyna botulinowa może być wytwarzana przez *C. botulinum* w trupach małych zwierząt, które dostają się przypadkowo z zieloną do silosu. Toksyna z trupów może przenikać do kiszonki. Należy też zwrócić uwagę na zanieczyszczone ściekami zbiorniki wodne na pastwiskach, gdyż jak wykazali Kiupel i wsp. (13) mogą być one źródłem toksyny. Stwierdzenie botulizmu w krajach o podobnych warunkach klimatycznych do naszych pozwala przypuszczać, że i w Polsce mogą występować nierozpoznawane przypadki botulizmu bydła. W związku z tym w każdym przypadku wystąpienia u krów porażen podobnych do opisanych wskazane jest przeprowadzanie badań laboratoryjnych w kierunku botulizmu.

## Piśmiennictwo

1. Allison M. J., Moloy S. E., Matson R. R.: Appl. Env. Microbiol. 32, 685, 1976.

2. Almiejew Ch. Sz.: Mh. Vet.-Med. 23, 178, 1968.
3. Borgai U., Cohen A., Benado A.: Refuah vet. 30, 135, 1973.
4. Brenkink H. J., Wagenaar G., Wensing T., Notermans S., Poulos P. W.: Tijdschr. Diergeneesk. 103, 303, 1978.
5. Dalling T.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1650, 1963.
6. Davies A. B., Roberts T. A., Smart J. L., Bradshaw P. R.: Vet. Rec. 94, 412, 1974.
7. Doutré M. P., Chambon J.: Econ. Med. anim. 12, 117, 1971.
8. Fjølstad M., Klund T.: Nord. VetMed. 21, 609, 1969.
9. Glawisching E.: Wien. tierärztl. Mschr. 52, 784, 1965.
10. Gruys E., Binkhorst G. J., van der Berchen J., Meljers R., Haagsma J.: Tijdschr. Diergeneesk. 102, 983, 1977.
11. Haagsma J., Laak E. A., Ter Osinga A., Feenstra P.: Tijdschr. Diergeneesk. 102, 330, 1977.
12. Hâkioglu F.: Dt. tierärztl. Wschr. 64, 421, 1957.
13. Kiupel H., Seils G., Radtke A.: Mh. Vet.-Med. 34, 164, 1979.
14. Müller J.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1379, 1963.
15. Müller J.: Bull. Off. int. Epizoot. 67, 1473, 1967.
16. Pamucku A. M.: Zentbl. VetMed. 1, 707, 1954.
17. Prevot A. R., Sillioc R., Proutre J.: Annals Inst. Pasteur, 89, 513, 1955.
18. Prevot A. R., Sillioc R., Quntin M.: Bull. Acad. vet. Fr. 26, 73, 1953.
19. Smart J. L., Roberts T. A.: Vet. Rec. 101, 201, 1977.

Adres autora: dr Jan Dąbrowski, ul. Kołłątaja 40 m. 18, 24-100 Puławy.

ZYGMUNT CYGAN, IRENA BARCZ, TADEUSZ SIKORSKI

## Wpływ antygenów pełnych i ściany komórkowej beztlenowców *P. acnes* na rozwój nabłoniaka Guerin szczurów

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Niezwykła zdolność antygenów *P. acnes* (APA) do indukowania odporności przeciwko przeszczepialnym nowotworom zwierząt doświadczalnych stała się tematem wyjątkowo nasilonych ostatnio badań (1, 8, 12, 15, 16, 19, 26, 30, 31, 32). W pewnych warunkach — wywołanej przez APA immunostymulacji — stwierdzano wyraźną niewrażliwość zwierząt na przeszczepy allogeniczne i syngeniczne nowotworów (1, 18, 20). Niekiedy podanie APA zwierzętom dotkniętym nowotworem powodowało regresję pierwotnych guzów (12, 31, 36) i hamowanie wtórnych przerzutów (6, 28). Powyższe efekty immunizacyjne powstawały zwykle po podaniu antygenów pełnych (AP) *P. acnes* (1, 12, 18, 20). Natomiast brak jest bliższych danych co do stopnia aktywności — w tym zakresie — ściany komórkowej (SK) tych beztlenowców. Poza tym podkreślić należy, że właściwości przeciwnowotworowe APA były dotychczas badane tylko u szczepów izolowanych od człowieka (1, 6, 12, 36). Natomiast szczepy zwierzęce *P. acnes* pod tym względem nie zostały jeszcze sprawdzone.

W związku z powyższym celem niniejszej pracy było przebadanie aktywności antygenów pełnych i ściany komórkowej zwierzęcego szczepu („IB 18”) *P. acnes* wobec nabłoniaka (*epithelioma* — Eph) Guerin szczurów.

### Materiał i metody

Zwierzęta. Badania przeprowadzono na szczurach Wistar/Bog, samicach w wieku 4 miesięcy (Hodowla Zwierząt Doświadczalnych w Przeźmirowie k/Poznań).

Pochodzenie nowotworu. Przeszczepialny nabłoniak (Eph) uzyskany przez Guerin i Guerin (11) ze spontanicznego gruczolaka macicy szczura i od tego czasu pasażowany wyłącznie na szczurach — otrzymano od dr J. Bogajewskiego (Hodowla Zwierząt Doświadczalnych w Przeźmirowie k/Poznań).

Przeszczepianie nowotworu. Pobrany od szczura wycinek guza przenoszono do połączonych płynów odżywczych Hanksa i Parkera (stosunek 1:1) z dodatkiem 5% surowicy cielęcej. Z kolei zbitą tkankę rozdrabniano i dodawano 0,125% trypsyny (WSS Lublin). Czas trawienia — na mieszadle magnetycznym — w temp. 20°C wynosił 5 godzin. Odwirowany osad zawieszano w roztworze płynów Hanksa — Parkera i przy pomocy komory Thoma obliczano liczbę komórek nowotworowych. Ich żywotność sprawdzano przez zabarwienie 1% błękitem trypanu. Szczury zakażano podskórnie dawką 10<sup>4</sup> komórek („Dosis Infectiva” — DI<sub>100</sub>) w objętości 1 ml. Po zaobserwowaniu rozrostu nowotworowego przeprowadzano co 2 dni pomiary — suwakiem — najdłuższej średnicy rosnącego guza.

Szczep bakteryjny. W badaniach użyto szczep *P. acnes* („IB18”) wyosobniony ze zmian nekrotyczno-ropnych w wątrobie gęsi. Został on wyselekcjonowany w ZHW w Lublinie — z grupy 12 innych szczepów *P. acnes* — jako najaktywniejszy immunostymulator.

Antygeny immunostymulacyjne. Namnożone w ciągu 3—5 dni, w podłożu Wrzodka z dodatkiem 0,5% surowicy końskiej, beztlenowce *P. acnes* (szczep „IB18”) wirowano w ciągu 45 minut przy 3000 obr. na min, a uzyskany osad, po zawieszeniu w 0,85% NaCl z 0,4% formaliny, przetrzymywano w 37°C przez 18 godzin. Następnie komórki bakteryjne ponownie odwirowywano i suszono w 37°C. Wysuszony osad tych bakterii stanowił tzw. anigen pełny (AP), przetrzymywany do dalszych badań w 4°C. Poza tym z osadu bakteryjnego uzyskiwano ścianę komórkową (SK) metodą Riveros-Moreno i wsp. (26). W tym celu sporządzano homogenną zawiesinę komórek bakteryjnych w 0,1 M buforze Tris — HCl, rozbijanych ultradźwiękami w aparacie MSI. Płyn nadosadowy, od-

dzielony przy 3000 obr./min. od nie rozbitych bakterii, poddawano wirowaniu przy 16 000 obr./min. w 4°C. Przepłukany w buforze Tris — HCl osad zawieszano w 2% SDS (Koch — Light Lab., Anglia), wirowano i stosując dawki enzymów 200 µg/ml trawiono w 37°C kolejno trypsyną (Merck E., RFN), dezoksyrybonukleazą (Fluka-Buch, Szwajcaria) i rybonukleazą (Abbott Lab., USA). Preparat SK, po przemyciu w buforze Tris — HCl i H<sub>2</sub>O redest., liofilizowano.

Immunizacja. Sposób podania szczurom AP i SK warunkował zamierzenie tej immunizacji, zakładającej uzyskanie efektu cytostazy w rozwoju guza Guerin. W tym celu podawano AP dootrzewnowo szczurom (I grupa — dwukrotne iniekcje w dawkach 7,5 mg i 2,5 mg w odstępie 4 tygodniowym) oraz podskórną (II grupa — jednokrotnie w dawce 5 mg), a SK tylko podskórną (III grupa — jednokrotnie 5 mg). Po 2 tygodniach od ostatniej iniekcji, wszystkim szczurom (grupy I, II i III), wprowadzano podskórną 2,5 mg AP lub SK wraz z dawką „challenge” komórek Eph. Poza tym, w próbie leczniczej wprowadzano szczurom Wistar/Bog antygeny AP i SK dwukrotnie tj. w 7 dniu rozwoju guza Eph o rozmiarach 12 mm (2,5 mg podskórną w bezpośrednie sąsiedztwo guza) oraz w 14 dniu (doguzowo w dawce 2,5 mg).

### Wyniki i omówienie

Działanie cytostatyczne antygenów *P. acnes* — pełnych AP i ściany komórkowej SK — na rozwój nabłoniaka (Eph) Guerin szczurów przedstawia tab. 1. Wynika z niej, że powyższe antygeny, w warunkach doświadczenia, stymulowały odporność przeciwnowotworową. Świadczy bowiem o tym wywołane opóźnienie w rozwoju procesu nowotworowego i wydłużona przeżywalność zakażonych szczurów (przy  $DI_{100} = 10^4$  komórek Eph). Okazało się przy tym, że spośród użytych preparatów wyższą aktywność posiadały antygeny SK (grupa III zwierząt) niż AP (grupa I i II). Czas pojawie-

— wynosił w grupie I — 1/4, II — 2/5, III — 3/5, a w kontrolnej grupie IV — 0/5.

Kolejne wyniki przeprowadzonej — przy pomocy antygenów APA — próby terapii rozwinętego już guza (średnica 12 mm w 7 dniu rozwoju Eph) przedstawia ryc. 1. Wynika z niej, że użyte antygeny AP i SK nie wywoływały w warunkach doświadczenia — recesji nabłoniaka Guerin. Średnica guza po leczeniu u zwierząt padłych wahała się w granicach 5—5,3 cm, a u szczurów nie leczonych osiągała tylko 4,7 cm. Co więcej, stosowana terapia skracała nawet czas życia szczurów (30 i 33 dni w przypadku stosowania SK i AP oraz 35,5 dnia w grupie kontrolnej).

Antygeny pełne (AP), pochodzące z izolowanych od człowieka beztlenowców *P. acnes*, działają inhibicyjnie na wzrost zarówno pierwotnych guzów nowotworowych, jak i wtórnych ich przerzutów (3, 6, 12, 19, 20, 28, 33, 36). Przeprowadzone badania własne, z użyciem po raz pierwszy zwierzęcego szczepu *P. acnes* („IB18”), dowiodły jego aktywności wobec syngenicznego nabłoniaka (Eph) Guerin. Uzyskany efekt cytostatyczny — na szczurach preimmunizowanych antygenem AP — polegał na znacznym przedłużeniu fazy latentnej w rozwoju guza, przy zwiększonej przeżywalności tych zwierząt. Opis powodowanych przez AP podobnych opóźnień w proliferacji różnych, doświadczalnych nowotworów zwierzęcych podali Woodruff i Boak (36), Fisher i wsp. (9), Jones i wsp. (13) oraz Suit i wsp. (33). Według Ando i wsp. (2) mechanizm powodowanej przez AP cytostazy procesu nowotworowego SCC („Squamous Cell Carcinoma”) polega na przed-

Tab. 1. Wpływ cytostatyczny antygenów *P. acnes* na rozwój nabłoniaka (Eph) szczurów

Grupa	Liczba szczurów w grupie	Rodzaj i dawka immunizacyjna antygeny (mg/szczura)	Dawka „challenge” komórek Eph (s.c. z antygenem)	Początek rozwoju Eph (w dniach)	Czas przeżycia szczurów padłych (w dniach)	Szczury przeżywające ponad 120 dni
I	4	AP (7,5=5 i 2,5 i.p.)	10 <sup>4</sup> (+2,5 mg AP)	21 (±2)	58 (±14)	1/4
II	5	AP (5,0 s.c.)	10 <sup>4</sup> (+2,5 mg AP)	18 (±7)	56 (±15)	2/5
III	5	SK (5,0 s.c.)	10 <sup>4</sup> (+2,5 mg SK)	26 (±1)	72 (±13)	3/5
IV (kontrola)	5	—	10 <sup>4</sup>	7 (±2)	35 (±14)	0/5

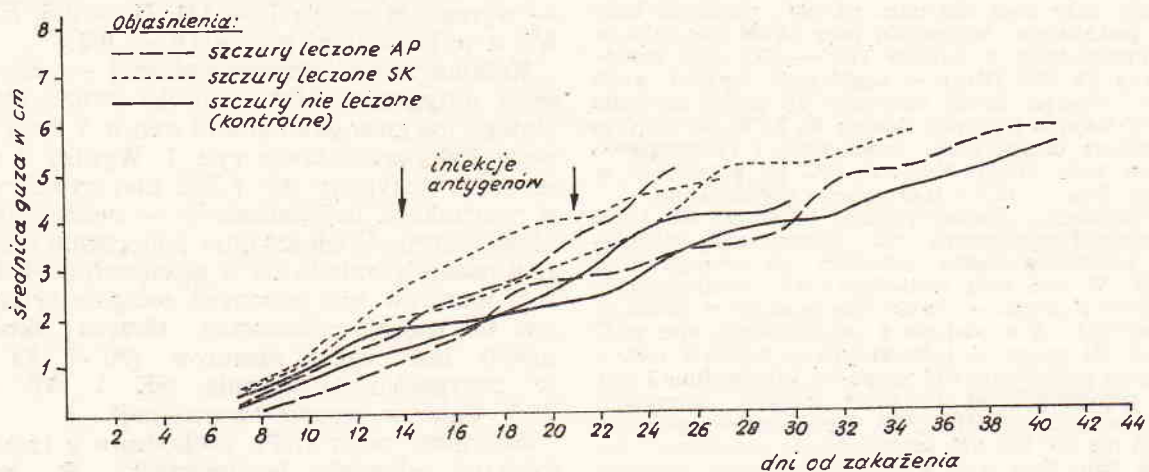
Objaśnienia: AP = antygen pełny; SK = ściana komórkowa; Licznik = liczba szczurów przeżywających; mianownik = liczba szczurów użytych w doświadczeniu.

nia się guza był średnio 2—4 krotnie dłuższy dla szczurów immunizowanych (początek proliferacji Eph w 18—26 dniu) niż kontrolnych (średnio w 7 dniu). W przypadku powstania niepełnej odporności poimmunizacyjnej stwierdzano 1,5—2-krotnie dłuższą przeżywalność zwierząt osiągającą 56—72 dni (w grupie kontrolnej przeciętnie 35 dni). Natomiast wskaźnik pełnej cytostazy komórek Eph, mierzony jako stosunek liczby szczurów zdrowych do padłych — w 120 dniowym okresie obserwacji

— wynosił w grupie I — 1/4, II — 2/5, III — 3/5, a w kontrolnej grupie IV — 0/5.

łuzeniu czasu generacji komórek T<sub>G</sub>, głównie w fazie G<sub>1</sub>, a częściowo także w stadium S cyklu komórkowego.

Ściana komórkowa (SK) szczepu „IB18”, poddana ocenie aktywności przeciwnowotworowej, wykazała zdolność do indukowania jeszcze silniejszej niż AP odporności na dawkę zakażającą komórek Eph. Wynik ten nie potwierdza danych Riveros — Moreno i wsp. (26), którzy wskazywali, że pomoc stymulacyjna SK stanowi zaledwie 10% aktywności antygeny pełne-



Ryc. 1. Próba terapii szczurów z Eph przy użyciu antygenów pełnych (AP) i ściany komórkowej (SK) zwierzęcego szczepu „IB18” beztlenowców *P. acnes*

go (AP). Podkreślić należy, że w obu przypadkach użyto syngeniczne przeszczepy nowotworów.

Rozważając korelację pomiędzy strukturą antygenów *P. acnes*, a ich działaniem przeciwnowotworowym, można przychylić się do opinii Adlami i Scotta (1), że o aktywności SK decyduje integralny kompleks peptydoglikanowy. Jednak nie wyklucza się wcale znaczenia komponenty lipidowej (KL). Bowiem KL, tworząca luźno związaną osłonkę w rodzaju „otoczki” („capsule like structure”), silnie stymuluje makrofagi (22, 27).

Wpływ cytostatyczny antygenów „IB18”, na przeszczepy Eph, występował przy dootrzewnowej i podskórnej drodze wprowadzenia APA. Przypuszczalnie zależał on od wzbudzenia odporności specyficznej i niespecyficznej. Wiadomo bowiem, że systemowe podanie APA uruchamia mechanizm, głównie niespecyficznej odporności (30), mediowanej przez cytotoksyczne makrofagi (10, 21). Natomiast podskórna iniekcja mieszaniny komórek guza i APA indukuje przede wszystkim odporność specyficzną (15, 16, 31). Zależy ona od aktywowanych limfocytów T (31, 35, 37). Według McBride i wsp. (17) limfocyty T są stymulowane — jako komórki efektorowe — także przy systemowej inokulacji APA.

Nieudane próby własne, przeprowadzonej terapii szczurów z Eph, pozostają w sprzeczności z wynikami autorów wskazujących na możliwość regresji antygenami APA różnych nowotworów (20, 33, 34). Co więcej w badaniach własnych stwierdzono krótszą przeżywalność zwierząt immunizowanych niż kontrolnych. Podobne obserwacje poczynili przy białaczce mysiej Berd i Mitchell (4). Tłumaczyć to można pewną szkodliwością antygenów *P. acnes* (7, 14, 23, 29) i stymulacją komórek immunosupresyjnych (5). Poza tym niewykluczone, że powyższe odchylenia wynikają z różnic w wielkości użytych w badaniach nowotworów. Suit i wsp. (34) przy pomocy APA osiągnęli regre-

sję 3—4 mm guzów. Natomiast badania własne były przeprowadzane na Eph o wymiarach 12 mm. Z doświadczeń Remacle—Bonnetta i wsp. (25) oraz Pike i Syndermana (24) wynika, że większe guzy wytwarzają aktywniejsze inhibitory odporności.

#### Wnioski

1. Działanie przeciwnowotworowe antygenów *P. acnes* (szczep zwierzęcy „IB18”) przedstawiało proces wyraźnej inhibicji dawki „challenge” ( $DI_{100}=10^4$  komórek) nabłoniaka (Eph) Guerin szczurów (bez wpływu na recesję ustalonych już guzów).

2. Powyższą aktywność wykazały zarówno antygeny pełne (AP) jak i ściany komórkowe (SK). Jednak działanie SK hamujące rozwój Eph było silniejsze niż AP.

#### Piśmiennictwo

1. Adlam C., Scott M. T.: J. med. Microbiol. 6, 261, 1973.
2. Ando K., Urano M., Koike S.: Cancer Res. 38, 1769, 1978.
3. Ando K., Urano M., Nesumi N., Koike S.: Cancer Res. 37, 3115, 1977.
4. Berd D. A., Mitchell M. S.: Cancer Res. 36, 4119, 1976.
5. Bomford R.: Int. J. Cancer 19, 673, 1977.
6. Castro J. E., Sadler T. E., Jones P. D. E.: Develop. Biol. Stand. 38, 277, 1978.
7. Chare M. J. E., Webster D. J. T., Baum M.: Develop. Biol. Stand. 38, 495, 1978.
8. Currie G. A., Bagshave K. D.: Br. med. J. 1, 541, 1970.
9. Fischer J. C., Grace V. R., Mannick J. A.: Cancer, Philad. 26, 1379, 1970.
10. Ghaffar A., Cullen R. T., Woodruff M. F. A.: Cancer, Philad. 31, 15, 1975.
11. Guerin M., Guerin P.: Bull. Cancer 23, 632, 1934.
12. Halpern B. N., Biozzi G., Stiffel C., Mouton D.: Nature, Lond. 212, 853, 1966.
13. Jones P. D. E., Sadler T. E., Castro J. E.: Develop. Biol. Stand. 38, 259, 1978.
14. Lampert I. A., Jones P. D. E., Sadler T. E., Castro J. E.: Br. J. Cancer 36, 15, 1977.
15. Likhite V. V.: Nature, Lond. 259, 397, 1976.
16. McBride W. H., Dawes J., Tuach S.: J. natn. Cancer Inst. 58, 437, 1976.
17. McBride W. H., Peters L. J., Mason K. A., Milas L.: Develop. Biol. Stand. 38, 253, 1978.
18. McIntosh I. H., Thyne G. S., Bejrati P., Greening W. P.: Lancet 9, 803, 1976.
19. Milas L., Hunter N., Withers H. R.: Cancer Res. 34, 613, 1974.
20. Millman I., Scott A. W., Halbherr T.: Cancer Res. 37, 4150, 1977.
21. Olivetto M., Bomford R.: Int. J. Cancer 13, 478, 1974.
22. Otu A. E., Russell R. J., White R. G.: Immunology 30, 935, 1977.
23. Palmer B. V., Walsch G., Smedley P., McIntosh I. H., Greening W. P.: Develop. Biol. Stand. 38, 529, 1978.
24. Pike M. C., Synderman R.: J. Immun. 117, 1243, 1976.

25. Remacle — Bonnet M. M., Pommier G. I., Kaplanski S., Rance R. J., Depledts R. C.: J. Immun. 117, 1145, 1976.  
 26. Riveros — Moreno V., Bomford B., Scott M. T.: J. natn. Cancer Inst. 60, 653, 1978.  
 27. Russell R. J., McInroy R. J., Wilkinson P. C., White R. G.: Immunology 30, 935, 1976.  
 28. Sadler T. E., Castro J. E.: Br. J. Surg. 63, 292, 1976.  
 29. Sadler T. E., Lampert I. A., Jones P. D. E., Castro J. E.: Develop. biol. Stand. 38, 421, 1978.  
 30. Scott M. T.: Develop. biol. Stand. 38, 273, 1978.  
 31. Scott M. T.: J. natn. Cancer Inst. 53, 861, 1974.  
 32. Scott M. T.: J. natn. Cancer Inst. 55, 65, 1975.  
 33. Suit H. D., Sedlacek R., Ehteler S.: Cancer Res. 37, 4233, 1977.  
 34. Suit H. D., Sedlacek R., Silobrcic V.: Cancer Res. 37, 3869, 1977.  
 35. Tuttle R. L., North R. J.: J. Reticuloendothelial Soc. 20, 197, 1976.  
 36. Woodruff M. F. A., Boak J. L.: Br. J. Cancer 20, 345, 1966.  
 37. Woodruff M. F. A., Boak J. L.: Br. J. Cancer 32, 34, 1975.

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

**Цыган З., Барч И., Сикорский Т. — Влияние полных антигенов и стенки клеток анаэробов P. acnes на развитие эпителиома Герена крыс.**

В проведенных исследованиях исследовали противоопухолевую активность полных антигенов (ПА) и стенки клеток (СК) животного штамма „IB18” P. acnes относительно эпителиома Герена крыс. Упомянутые антигены стимулировали отчетливую

противоопухолевую устойчивость, проявляющуюся в 2—4-кратном замедлении развития опухоли и в 1,5—2 раза дольшей переживаемости крыс при примененной дозе челленж (DI<sub>100</sub>=10<sup>4</sup> клеток Eph). Некоторые иммунизированные крысы выживали без болезненных симптомов весь 120-дневной период наблюдений.

Попытки терапии уже развитой опухоли (диаметр 12 мм на 7 день роста Eph) не уменьшились успехом. Сверх того применяемое лечение ускоряло развитие опухоли и сокращало время выживаемости крыс с Eph.

**Cygan Z., Barcz I., Sikorski T. — The influence of whole antigens and cell walls of P. acnes on the development of Guerin epithelioma in rats.**

The whole antigens and the antigens of the cell wall of the animal strain IB-18 of P. acnes induced a significant immunity against epithelioma evidenced by 2-4 times delay of the development of the tumour and approx. double time survival following the exposition to 10<sup>4</sup> of epithelioma cells. Some of the rats survived without any clinical signs of the disease for 120 days. An attempt of treatment of the developed tumour (size 12 mm at day 7 of its growth) failed and besides the treatment promoted the development of tumours and shortened the rats time survival.

MARIAN ŚWIDERSKI, ANTONI JĘDRZEJOWSKI  
Gryfice

**Kolicynotypia pałeczek E. coli z kolibakterioz prosiąt**

Kolibakteriozy zwierząt z uwagi na częste występowanie, dość wysoki odsetek padnięć i zmniejszone przyrosty wagowe powodują duże straty gospodarcze (6, 7) i dlatego ciągle stanowią poważny problem w medycynie weterynaryjnej (3, 5, 6, 19). Furowicz i wsp. (6), Kaszubkiewicz i wsp. (9) oraz Truszczyński i wsp. (19) podają, że pałeczki okrężnicy są czynnikiem etiologicznym ponad 80% zakaźnych biegunek u prosiąt, cieląt, norek, ptactwa domowego i innych zwierząt hodowlanych. Dlatego dokładne poznanie chorobotwórczych szczepów E. coli nabiera szczególnego znaczenia.

Wobec ograniczonej możliwości różnicowania serologicznego szczepów E. coli wywołujących kolibakteriozy postanowiono przeprowadzić kolicynotypię i określić ich właściwości kolicynogenne.

**Materiał i metody**

Badania przeprowadzono na 428 enteropatogennych szczepach E. coli wyizolowanych z kału i materiału sekcyjnego prosiąt chorych lub padłych na kolibakteriozy w latach 1979—1980. Badaniami objęto 6 rejonów hodowlanych na terenie woj. szczecińskiego

Do kolicynotypii wytypowanych szczepów E. coli stosowano zestaw szczepów kolicynogennych kolekcji prof. Fredericq.

Szczep	Kolicyna
E. coli 32 T 19/V 75	— M
E. coli K 53	— E <sub>1</sub>
E. coli CA 42	— E <sub>2</sub>
E. coli 185 Mn/b 23	— E <sub>3</sub>
E. coli CA 53	— Ja
E. coli MR 2	— Jb
E. coli CA 46	— G

E. coli CA 58	—	H
Sh. Dispar P 15	—	Sn
E. coli K 49	—	K
E. coli 185 Nx II (S) a	—	X

W charakterze indykatorów kolicynogenii użyto szczepów E. coli K-12 Row i E. coli K-12 C-5. Wszystkie wymienione szczepy otrzymano od prof. Lachowicza z Instytutu Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Kolicynotypię i kolicynogę wykonano metodą agaru dwuwarstwowego na płytkach Petriego wg Fredericq (4). Szczepy kolicynogenne z 24 godz. hodowli bulionowej wkluwano na płytki z agarem odżywczym (po 6 na jedną płytkę). Po 48 godz. inkubacji wyrosłe makrokolonie zabijano parami chloroformu. Do 5 ml 0,7% agaru odżywczego dodawano 0,2 ml 12 godz. bulionowej hodowli badanego szczepu i rozprowadzano go na powierzchni płytki z makrokoloniami. Obecność stref zahamowania wzrostu odczytywano po 24 godz. inkubacji. Każdy szczep typowano 3-krotnie, przy czym uwzględniano jako dodatnie tylko te wyniki, które powtarzały się co najmniej 2 razy.

Przy każdym doświadczeniu kontrolowano szczepy standardowe względem szczepów indykatorowych E. coli K-12 Row i E. coli K-12 C-5. W okresie prowadzenia badań wszystkie szczepy zestawu prof. Fredericq były kolicynogenne.

**Wyniki i omówienie**

Większość (87,6%) badanych szczepów E. coli było wrażliwych na co najmniej dwie kolicyny zestawu Fredericq. Pozwoliło to wyróżnić w badanej kolekcji 428 szczepów 11 kolicynotypów (tab. 1). Najliczniejszy, obejmujący 16,8% badanych szczepów był kolicynotyp I, charakteryzujący się wrażliwością na kolicyny M, E<sub>1</sub>,