

Veterinary Institute in Pulawy. Preliminary examinations indicated that by the serological method five times more positive reactions were obtained than by means of haematological procedure currently accepted in the country. In the herds affected with leukosis the cows with a leukotic blood picture exhibited antibodies against BLV in 90—100 per cent. However, the haematologically negative animals of these herds had specific antibodies only in 50 per cent. The

appearance of antibodies against BLV in heifers occurred five times less frequently than in adult cows. It was also found that the precipitation lines in gel appeared earlier and they were more distinct in the test with sera of young animals. In addition, a number of examinations was carried out with the antigen p24. Positive reactions occurred three times less frequently than those with the antigen gp.

ZYGMUNT CYGAN, JAN BUCZEK, JANUSZ WIERCIŃSKI, IRENA BARCZ, BOGUMIŁ ROKOSZ

Beztlenowce niesporulujące w zakażeniach jamy ustnej i racic cieląt

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin
Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
Centralne Laboratorium Aparaturowe AR, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin

Beztlenowce niesporulujące (bn) stanowią ważny, chociaż ciągle za mało poznany i stąd niedoceniany czynnik etiologiczny endogennych zakażeń różnych gatunków zwierząt, w tym także cieląt (19, 23, 31, 33). Wymienione bakterie wywołują między innymi dyfteroid (19) i zanokcicę cieląt (1, 7). Opisy właściwości tych beztlenowców, badanych zwykle dawniej przy użyciu klasycznych metod identyfikacyjnych, mogą budzić — z dzisiejszego punktu widzenia — szereg wątpliwości. W ostatnich bowiem latach dokonał się ogromny postęp w metodach diagnostyki bn. Opracowane zostały nowe zasady tzw. metabolicznej identyfikacji, uwzględniającej analizę składu lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) i kwasów dwukarboksylowych (DK). Metody te, przy badaniu zwierzęcych szczepów niesporulujących (bn), były stosowane tylko wyjątkowo przy zanokcicy bydła (7). Poza tym w dostępnym piśmiennictwie nie napotkano żadnych opisów bn, identyfikowanych w ten sposób, w przypadkach dyfteroidu cieląt.

Metody hodowli beztlenowców niesporulujących posiadają różną wartość praktyczną (29). Spośród zaproponowanych systemów namnażania bn zwykle są używane metody anerostatowe (2, 6) i pyrogallolowe (3, 28). Dotychczas jednak nie były one porównywane w aspekcie efektywności wyosabniania zwierzęcych szczepów bn.

Celem pracy było: a) zdiagnozowanie schorzenia cieląt z objawami zakażenia jamy ustnej i racic, b) określenie składu występujących beztlenowców niesporulujących oraz identyfikacja ich metodą metaboliczną, tj. z uwzględnieniem rodzaju wytwarzanych lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) i kwasów dwukarboksylowych (DK), c) określenie efektywności izolacyjnej metody anerostatowej i pyrogallolowej oraz poznanie składu, diagnozowanej w sposób rutynowy, mikroflory tlenowej.

Materiał i metody

Badane cielęta. Schorzenie wystąpiło w stadzie cieląt, w wieku 4—6 miesięcy i dawało objawy zakażeń sugerujących dyfteroid i zanokcicę. Do badań laboratoryjnych pobrano próbki tkanek ze zmian chorobowych w jamie ustnej i racicach od poddanych ubojowi 2 cieląt.

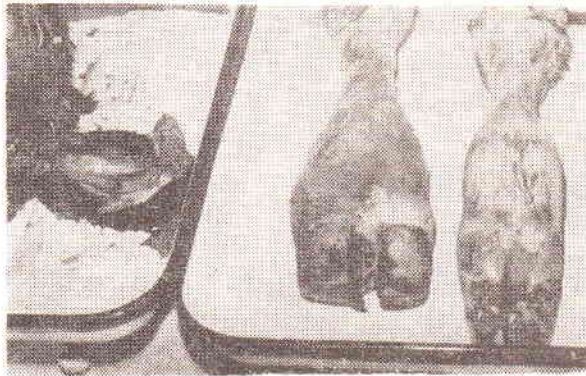
Hodowla i izolacja. Z pobranych próbek dokonywano wysiewów na podłoże agarowe z dodatkiem 10% surowicy końskiej oraz na pożywkę VL z 5 mcg/ml witaminy K, 5 mg/ml heminy i 5% hemolizatu krwi owczej. Posiane podłoża inkubowano w 37°C przez okres 4—5 dni metodą anerostatową, wcześniej opisaną w pracach własnych (6, 7), oraz metodą pyrogallolową według Pestiego (28). Wycięte wraz z agarem podejrzane kolonie namnażano w półpłynnym podłożu Wrzóska w modyfikacji Cygana i wsp. (5).

Identyfikacja. Metabolizm wszystkich wyosobnionych szczepów bn badano przez określenie rodzaju lotnych kwasów tłuszczowych (LKT), a z kwasów dwukarboksylowych (DK) — kwasu bursztynowego z zastosowaniem, jako metody identyfikacyjnej — chromatografii gazowej według Ottensteina i Bartleya (27). Przy badaniu LKT dodawano 20 µl 10% eterowego roztworu kwasu heptanowego (C7 — standard wewnętrzny) do 2 ml hodowli na podłożu Beerensa (czas inkubacji w anerostacie 7 dni). Następnie 1 µl tej mieszaniny wstrzykiwano do kolumny chromatografu gazowego Perkin Elmera F 30 (USA). W celu zidentyfikowania kwasu bursztynowego (poszukiwany w badanej hodowli po wprowadzeniu dodatku kwasu laurynowego C12 — jako standardu wewnętrznego) stosowano estryfikację z użyciem 14% BF₃ w propanolu według Daenensa i Laruelle (8). Uzyskane estry wysalano wodnym, nasyconym roztworem NaCl i próbkę w objętości 1 µl, pobraną z górnej warstwy estrowej, wprowadzano do kolumny chromatograficznej SCOT (aparatu Perkin-Elmera F 30, USA). Wyniki oznaczeń wliczano przy pomocy programowanego integratora Perkin-Elmera M-1 (USA). W dalszej fazie diagnostycznej sprawdzano aktywność fermentacyjną, beztlenowych szczepów, w stosunku do niektórych cukrów i alkoholi oraz działania proteolityczne wobec mleka, żelatyny i ściętej surowicy. Natomiast tlenowce identyfikowano w sposób rutynowy wykorzystując podłoża różnicujące (Kliglera, SS itp.).

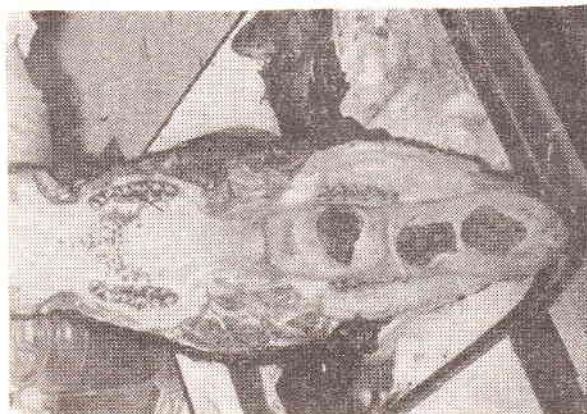
Właściwości chorobotwórcze. Patogenność wszystkich szczepów bn określano na zakażonych dootrzewnowo białych myszach (dawka 48-godzinnej hodowli



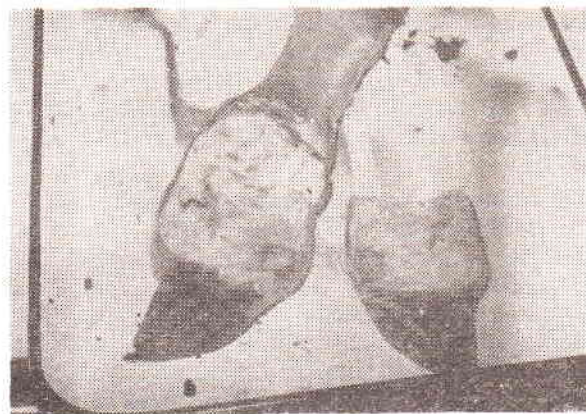
Ryc. 1. Objawy wypadnięcia języka i ślinotoku



Ryc. 3. Obrzęk racycy



Ryc. 2. Ogniska demarkacyjnej martwicy na języku



Ryc. 4. Ognisko zapalne nad koronką racycy

z podłoża półpłynnego — 0,5 ml). Czas obserwacji tych zwierząt wynosił 14 dni. Padłe myszy sekcjonowano w celu zbadania powstałych w narządach zmian chorobowych.

Wyniki i omówienie

Obserwowane schorzenia cieląt przebiegały jako zakażenia jamy ustnej i racycy. W przypadku zmian w jamie ustnej dochodziło do ślinotoku i wypadania języka (ryc. 1). Proces chorobowy, ograniczony przede wszystkim do górnej powierzchni języka, a częściowo także do podniebienia twardego, charakteryzowały duże ogniska demarkacyjnej martwicy o wymiarach na języku 3×6 cm (ryc. 2). Drażły one tkanki na głębokość 8—10 mm i na ogół były suche z niewielką, na dnie, zawartością ropy. U innych chorych cieląt występowały objawy kulawizny i silne obrzęki w obrębie zwykle jednej racycy (ryc. 3). W takich przypadkach ogniska zapalne lokalizowały się głównie pod koronką, w miejscu przejścia skóry w róg (ryc. 4).

W wyniku przeprowadzonych badań wyosobniono ogółem 6 szczepów beztlenowców niesporulujących, tj. 5 izolatów z jamy ustnej (JU1, JU2, JU3, JU4 i JU5) oraz 1 szczep z ra-

cicy (R1), a poza tym 2 szczepy hemolitycznych maczugowców tlenowych o cechach *C. pyogenes* (JU6 i R2). Bakterie beztlenowe na podstawie składu wytwarzanych kwasów tłuszczowych zakwalifikowano do rodzaju *Fusobacterium* i *Bacteroides* (tab. 1).

Głównym lotnym kwasem tłuszczowym (LKT) w hodowli bulionowej 2 szczepów beztlenowych pałeczek pochodzących z jamy ustnej (JU1 i JU2) i 1 szczepu wyosobnionego z racycy (R1), zdiagnozowanych jako *Fusobacterium*, był kwas masłowy (M) stwierdzony w koncentracji 14,78—41,18 mM/l hodowli. Z innych LKT występowały w mniejszej zawartości; kwas octowy (O) — (7,20—8,58 mM/l), propionowy (P) — (0,37—3,63 mM/l) i walerianowy (W) — (0,18—0,20 mM/l). Poza tym 1 z izolatów (JU1) dodatkowo wytwarzał śladowe ilości kwasu izowalerianowego (IW) — 0,10 mM oraz izomasłowego (IM) — 0,18 mM/l. Wszystkie szczepy wytwarzały kwas bursztynowy (B) — (1,24—1,95 mM/l).

Beztlenowce zakwalifikowane do rodzaju *Bacteroides* (szczepy JU3, JU4 i JU5) wytwarzały, w najwyższym stężeniu, kwas octowy (10,02—13,50 mM/l) i propionowy (0,81—5,18 mM/l). Natomiast zawartość kwasu masłowego nie przekraczała, u badanych szczepów, koncentracji 2,29 mM/l (szczep JU3). Dalszą

Tab. 1. Skład kwasów tłuszczowych w bulionowej hodowli wyosobnionych szczepów

Szczepy	Zawartość w mM/l							Identyfikacja rodzaju bakterii
	Octowy	Propionowy	Izomasłowy	Masłowy	Izowalerianowy	Walerianowy	Bursztynowy	
JU1	7,20	2,52	0,18	36,52	0,10	0,20	1,95	<i>Fusobacterium</i>
JU2	7,98	0,37	—	14,78	—	0,18	1,24	<i>Fusobacterium</i>
JU3	10,02	0,81	0,79	2,29	0,31	0,41	2,13	<i>Bacteroides</i>
JU4	13,50	5,18	0,83	1,67	0,71	0,31	4,88	<i>Bacteroides</i>
JU5	13,44	2,81	0,85	1,48	0,41	0,51	0,89	<i>Bacteroides</i>
R1	8,58	3,63	—	41,18	—	0,20	1,45	<i>Fusobacterium</i>

cechą charakteryzującą beztlenowce tej grupy była obecność sporej ilości izokwasów, tj. kwasu izomasłowego (0,79—0,85 mM/l) i izowalerianowego (0,31—0,71 mM/l). Z kwasów dwukarbonsowych wykazano kwas bursztynowy w wysokiej koncentracji w przypadku izolatu JU4 (4,88 mM/l), a także w znacznym jeszcze stężeniu u szczepów JU3 i JU5 (0,85—2,13 mM/l).

Właściwości biochemiczne szczepów z rodzaju *Fusobacterium* (JU1, JU2 i R1) stanowiły podstawę do sklasyfikowania 2 szczepów wyosobnionych z jamy ustnej (JU1 i JU2) oraz 1 szczepu pochodzącego z racic (R1) jako *Fusobacterium necrophorum* (indol, koagulacja mleka oraz fermentowanie glukozy, maltozy i mannozy oraz laktozy+, ale trawienie ściętej surowicy oraz fermentowanie sorbitolu i trehalozy —). Szczep JU1 i R1 dodatkowo rozbudowywały także arabinozę i mannit.

Wrzecionowce *F. necrophorum*, pod względem morfologicznym, przedstawiały długie, nitkowate komórki Gram-ujemne (szczepy JU1 i JU2 — ryc. 5), względnie formy polimorficzne (szczep R1 — ryc. 6). Na agarze surowicznym wszystkie szczepy tworzyły kolonie 2—3 mm (przy 5-dniowej inkubacji w 37°C), wypukłe, na obwodzie płaskie, częściowo przypominające „sadszone jajo” (ryc. 7).

W grupie 3 izolatów, o profilu metabolicznym typowym dla beztlenowców *Bacteroides*, spośród 2 szczepów indolujemnych (JU3 i JU5), szczep JU3 posiadał cechy odpowiadające pałeczkom *B. fragilis* ss. *fragilis* (glukoza, maltoza, laktoza, mannoza, salicyna i koagulacja mleka+, ale sorbitol, sacharoza, arabinoza, trehaloza i aktywność proteolityczna względem ściętej surowicy i żelatyny—), a 2 szczep (JU5) przypominał *B. ruminicola* (sacharoza, mannit, laktoza, maltoza, mannoza, glukoza+, ale koagulacja mleka, rozpuszczanie ściętej surowicy i żelatyny, jak również fermentacja salicyny, sorbitolu i trehalozy—). Natomiast 3 szczep indolotwórczy (JU4) był zbliżony do *B. putridinis* (fermentowanie glukozy i salicyny oraz koagulacja mleka i rozpuszczanie żelatyny+, ale rozkładanie sorbitolu, arabinozy, sacharozy, laktozy, maltozy, mannozy i trehalozy—). Cechy morfologiczne komórek bakteryjnych i kolonii wszystkich 3 szczepów (JU3, JU4 i JU5),

Ryc. 5. Wygląd komórek szczepu JU1 *F. necrophorum*Ryc. 6. Wygląd komórek szczepu R1 *F. necrophorum*Ryc. 7. Wygląd kolonii szczepu JU1 *F. necrophorum*

bez względu na ich przynależność gatunkową, były mało charakterystyczne (słabo barwiące się, krótkie i „wyblakłe” pałeczki oraz małe kolonie, wypukłe i okrągłe o równym brzegu).

Właściwości chorobotwórcze, przy dootrzewnowym zakażeniu myszy, wykazywały 3 szczepy *F. necrophorum* (JU1, JU2 i R1), a poza tym 1 szczep *B. fragilis* ss. *fragilis* (JU3) oraz obydwa tlenowce *C. pyogenes*. Powodowały one na 2—7 dzień śmierć zakażonych zwierząt. Sekcyjnie u padłych myszy stwierdzono procesy zapalne otrzewnej, ogniska nekrotyczno-ropne w wątrobie, a niekiedy także w śledzionie. Pozostałe 2 izolaty, tj. *B. putridinis* (JU4) oraz *B. ruminicola* (JU5) — w warunkach doświadczenia — okazały się niechorobotwórcze.

Efektywność metod hodowlanych, użytych przy izolacji beztlenowców niesporulujących (bn), przedstawia tab. 2. Wynika z niej, że częstotliwość wyosabniania bn była wyższa przy zastosowaniu metody anerostatowej (wyosobnienie 4 spośród 6 szczepów — 67%) niż pyrogalolowej (2 szczepy — 33%). Na uwagę przy tym zasługuje fakt, że wszystkie 3 izolaty beztlenowców *Fusobacterium necrophorum* (JU1, JU2 i R1) zostały uzyskane wyłącznie metodą anerostatową.

Tab. 2. Efektywność stosowanych metod przy izolacji beztlenowców niesporulujących

Metoda izolacji	Wyosobnione szczepy		Ogółem bn liczba (%)
	<i>Bacteroides</i>	<i>Fusobacterium</i>	
Anerostatowa	JU4	JU1, JU2,	4 (66,6)
Pyrogalolowa	JU3, JU5	R1	2 (33,3)

Betzlenowce niesporulujące (bn) są odpowiedzialne za ostre i przewlekłe zakażenia cieląt, dające objawy tzw. nekrobacilozy, którą charakteryzują zmiany dyfterytyczne na błonach śluzowych, zgorzelinowe w skórze oraz ogniska nekrotyczno-ropne w narządach wewnętrznych (22, 23, 31, 33). Zależnie od lokalizacji tych zmian wyróżnia się różne postacie tego schorzenia, a mianowicie jamy ustnej (forma Gallo — 13), krtani (difteroid Dammenna — cyt. 31), wątroby (zespół Jensena i wsp. — 18), płuc i śledziony (typ Davida i Pedrixa — 9), pochwy (forma Jonesa — 20), wymienia (odmiana Simona i McCoya — 32), jelit (postać Dacka i wsp. — 10), racic (postać Flinta i Jensena — 12) oraz mózgu (typ Prchala — 30). W takich przypadkach izoluje się zawsze wrzecionowce *Fusobacterium necrophorum*, niekiedy w asocjacji z różnymi beztlenowcami i tlenowcami. Według Simona i Stovella (33) beztlenowiec ten może występować jako czynnik pierwotny (nekrobaciloza jamy ustnej) lub wtórny (nekrobaciloza jelit). Często też schorzenie posiada cechy syndromu chorobowego, jak np. w nekrobacilozie wątroby, płuc i racic (19, 22).

Przeprowadzone badania własne wykazały, że opisany przypadek schorzenia cieląt, ze zmianami wrzodziejaco-nekrotycznymi na języku oraz nekrotyczno-ropnymi w racicach przypominał odmianę nekrobacilozy jamy ustnej i racic. Sugestię tę potwierdziły też wyniki badań bakteriologicznych, dowodzące — w przypadku obu tych schorzeń — obecności beztlenowców *F. necrophorum*, tj. bakterii o uznanej aktywności nekrotycznej w oddziaływaniu na tkanki (14, 15, 23). Poza tym, przy nekrobacilozie jamy ustnej, na uwagę zasługuje wyosobnienie pałeczek *B. fragilis* ss. *fragilis*. Bez-tlenowiec ten wykazuje również działanie nekrotyczno-ropotwórcze (21, 26). Natomiast bez-tlenowce przypominające *B. ruminicola* i *B. putridinis* najprawdopodobniej posiadają znaczenie drugorzędne, jako składniki saprofitycznej mikroflory w jamie ustnej. Zespół tych beztlenowców uzupełniały tlenowce maczugowce *C. pyogenes*, które stwierdzono w opisywanych zakażeniach jamy ustnej i racic. Są one uważane za ważny czynnik chorobotwórczy, w powikłanych formach nekrobacilozy (5, 6, 22).

Przedyskutowania wymaga skład kwasów wykazany w hodowli szczepów bn. Spośród 3 izolatów zakwalifikowanych do rodzaju *Fusobacterium*, 2 szczepy tj. JU2 i R1 posiadały najczęściej spotykany typ metaboliczny, o formie M, P, O, B i W+, ale IM i IW— (4, 11, 34). Natomiast trzeci szczep tj. JU1 wytwarzał śladowe ilości 2 izokwasów IM i IW, na ogół rzadko występujących u wrzecionowców (11). Natomiast beztlenowce — zidentyfikowane jako *Bacteroides* — miały w swoim składzie metabolitów 7 kwasów tłuszczowych typowych dla tego rodzaju (4, 11).

Właściwości morfologiczno-biochemiczne izolatów *F. necrophorum* nie były jednolite. Szczepy JU1 i JU2 wytwarzały wyłącznie długie, nitkowate formy, a szczep R1 charakteryzowały komórki różnej długości. Zasługuje na podkreślenie duża aktywność fermentacyjna tych beztlenowców, przy znacznych odchyleniach u poszczególnych szczepów. Stałą właściwością wszystkich izolatów było wytwarzanie indolu oraz fermentowanie glukozy, maltozy, mannozy. Wynik ten całkowicie odpowiada danym według Prevot (31), ale nie potwierdza opinii Holdeman i Moora (17), którzy zakładają dla tego gatunku jedynie zdolność rozkładania glukozy i maltozy.

Właściwości szczepów *B. fragilis* ss. *fragilis*, *B. putridinis* i *B. ruminicola* nie odbiegały od cech przyjętych za typowe dla tych gatunków (4).

Wszystkie szczepy *F. necrophorum* oraz 1 spośród 3 izolatów *Bacteroides* sp. zostały wyosobnione metodą anerostatową, w atmosferze uwolnionej od tlenu mieszaniną H₂ i CO₂ (stosunek 9:1), przy obecności katalizatora pallado-

wego. Natomiast metoda pyrogallolowa zapewniła izolację jedynie szczepów *Bacteroides* sp. Uzyskany wynik może dowodzić większej wrażliwości wrzecionowców *F. necrophorum* niż pałeczek *Bacteroides* sp. na szkodliwe działanie tlenu. Zgodnie z hipotezą anerobiozy McCorda i wsp. (25) beztlenowce cechuje niska zawartość ponadtlenkowych dysmutaz (PTD), chroniących przed procesami utleniania. Nie były one w ogóle stwierdzone u szczepów *F. necrophorum* (16), podczas gdy tolerujące nawet kilkugodzinny wpływ O₂ pałeczki *B. fragilis*, wykazywały znaczną aktywność PTD (16, 24).

Chorobotwórcze dla myszy okazały się wszystkie szczepy *F. necrophorum*, jedyny izolat *B. fragilis* ss. *fragilis*, a poza tym tlenowce *C. pyogenes*. Obecnie uważa się, że patogenność *bn* warunkuje, w przypadku wrzecionowców *F. necrophorum*, wielocukier o właściwościach endotoksyny (14, 15) a u pałeczek *B. fragilis* (21, 26) wielocukrowa otoczka. Co się tyczy maczugowców *C. pyogenes*, to wytwarzają one aktywne proteazy, trawiące elastynę (6). Zatem wyniki badań własnych, aczkolwiek ograniczone niewielką liczbą diagnozowanych prób, mogą wskazywać, iż obie formy nekrobacjelozy cieląt, tj. odmiana ustna Galo (13) oraz racicowa forma Flinta i Jensena (12) posiadają etiologię determinowaną przez złożony zespół mikroflory beztlenowej i tlenowej.

Piśmiennictwo

- Berg J. N., Loan R. W.: Am. J. vet. Res. 36, 1115, 1975.
- Beerens H., Tahon-Castel M.: Infections humaines à bactéries anaérobies non toxigènes. Presses Acad. Europ. Bruxelles 1965.
- Blitner J.: Arch. roum. Path. exp. Microbiol. 34, 231, 1975.
- Buchanan R. E., Gibbons N. E.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore 1975.
- Cygan Z., Jastrzębski T., Galeza J., Pielecki M.: Pol. Arch. vet. 17, 237, 1974.
- Cygan Z., Wierciński J., Rubaj B., Barcz I.: Medycyna Wet. 37, 68, 1981.
- Cygan Z., Wierciński J., Szewczuk A., Paroszkiewicz M.: Medycyna Wet. 33, 720, 1977.
- Daenens P., Laruelle L. J.: J. As. off. analyt. Chem. 59, 613, 1976.
- David A., Perdrix J.: Bull. Soc. vet. Lyon 57, 217, 1956.
- Dack G., Dragsiedt L., Heins T.: J. Am. med. Ass. 106, 7, 1936.
- Deacon A. G., Duerden B. J., Holbrook W. P.: J. med. Microbiol. 11, 81, 1978.
- Flint J. C., Jensen R.: Am. J. vet. Res. 12, 5, 1951.
- Gallo P.: Rev. Zoot. 32, 31, 1939.
- Garcia M. M., Charlton K. M., McKay K. A.: Can. J. Microbiol. 23, 1465, 1977.
- Garcia M. M., Dorward W. J., Alexander D. C., Magwood S., McKay K. A.: Can. J. comp. Med. 38, 222, 1974.
- Gregory E. M., Moore W. E. C., Holdeman L. V.: Appl. Environ. Microbiol. 35, 988, 1978.
- Holdeman L. V., Moore W. E. C.: Man. Clin. Microbiol. 286, 1978.
- Jensen R., Flint J. C., Griner L. A.: Am. J. vet. Res. 125, 5, 1954.
- Jensen R., MacKey D. R.: Diseases of feedlot cattle. Lea and Febiger. Philadelphia 1971.
- Jones G. A.: J. Am. vet. med. Ass. 125, 287, 1954.
- Kasner D. L.: J. infect. Dis. 133, 79, 1976.
- Katitch R. V.: Les maladies des animaux domestiques causées par les microbes anaérobies. Vigot Frères, Paris 1965.
- Lanaworth B. F.: Bact. Rev. 41, 373, 1977.
- Loosche W. J.: Appl. Microbiol. 18, 723, 1969.
- McCord J. M., Keele B. B., Fridovich I.: Proc. natn. Acad. Sci. USA 68, 1024, 1971.
- Onderdoonk A. B., Kasper D. L.: J. infect. Dis. 136, 82, 1977.
- Ottenstein D. M., Bartley D. A.: J. Chromat. Sci. 9, 673, 1971.
- Pestil L.: Acta vet. hung. 15, 447, 1965.

- Phillips M. A., Sussman M.: Infection with nonsporing anaerobic bacteria. Clurhill Livingstone, Edinburgh—London—New York 1974.
- Prchal C. J.: J. Am. vet. med. Ass. 126, 79, 1956.
- Prenot A. R., Turpin A., Kaiser P.: Les Bactéries Anaérobies. Dunod, Paris 1967.
- Simon J., Mc Coy E.: J. Am. vet. med. Ass. 133, 165, 1958.
- Simon P. C., Storell P. L.: Vet. Bull. 39, 311, 1969.
- Werner H.: Med. Microbiol. Immun. 157, 299, 1972.

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

Цыган З., Бучек Я., Верцинский Я., Барч И., Рокосш Б. — Неспорулирующие анаэробы в инфекциях полости рта и копыт телят.

Исследовали относительно анаэробной и аэробной микрофлоры пробы материалов, взятые от 2 телят с некротически-гнойными изменениями ротовой полости или копыт. В общем изолировали 6 штаммов неспорулирующих анаэробов и 2 штамма *C. pyogenes*. На основе анализа вида образуемых жирных кислот и ферментационных свойств идентифицировали 3 изолята как *F. necrophorum* (2 штамма из ротовой полости и 1 штамм из копыта), а 3 дальнейших штамма причислили к роду *Bacteroides* (все из ротовой полости), причем 1 штамм напоминал *B. fragilis* ss. *fragilis*, 1 изolat — *B. putridinis* и 1 штамм — *B. ruminicola*.

Болезнетворные свойства для мышей показали все 3 штамма *F. necrophorum*, 1 штамм *B. fragilis* и 2 штамма *C. pyogenes*.

Все штаммы *F. necrophorum* и 1 штамм *B. putridinis* изолировали анеростатным методом (в атмосфере 90% H₂ и 10% CO₂), тогда как пирогалловым методом изолировали лишь анаэробы *Bacteroides*.

На основе полученных результатов авторы внушают, что заболевание телят с чертами некробациллеза (ротовая и ожная формы) обладает сложной бактериальной этиологией.

Cygan Z., Buczek J., Wierciński J., Barcz I., Rokosz B. — Asporogenic anaerobes in infections of the mouth and hoof of calves.

The samples were taken from two calves with the necrotic and purulent changes in the mouth and hoof and examined towards anaerobic and aerobic bacterial flora. Altogether 6 strains of asporogenic anaerobes were isolated and two strains of *C. pyogenes*. On the basis of the analysis of fat acids and fermentative properties, 3 strains were defined as *F. necrophorum* and 3 as *Bacteroides*, of which one might be *B. fragilis*, ss. *fragilis*, one *B. putridinis*, and one *B. ruminicola*. All three strains of *F. necrophorum*, one strain of *B. fragilis* and two strains of *C. pyogenes* were pathogenic for mice. All the strains of *F. necrophorum* and one strain of *B. putridinis* were isolated by means of anaerostat method (in the atmosphere of a 90% H₂ and 10% CO₂) while the method with the use of pirogallol afforded to isolate *Bacteroides* only. The authors suggest on the basis of findings that the disease of calves has a composed bacterial etiology.

VIRRING S., EINARSSON S.: Rozmieszczenie nasienia w układzie rozrodczym macior po kryciu. (Sperm distribution within the genital tract of naturally inseminated gilts). Nord. Vet. Med. 33, 145—149, 1981 (3).

Określono liczbę plemników w układzie rozrodczym macior poddanych uboiovi po 2, 6 i 12 godzinach po kryciu knurem. Nasienie zawierało 23 biliony plemników. Liczbę plemników oznaczano w macicy, przejściu macicy w jajowód oraz w czterech odcinkach jajowodu. Liczba plemników w macicy obniżała się statystycznie znacząco po 12 godzinach po kryciu. Nie obserwowano natomiast zależności między aktywnością jajników i ilością plemników w rogach macicy.

G.