

ad b) Wylane na płytkę podłoże ma ograniczoną (stałą) pojemność metaboliczną, w związku z czym wraz z rosnącą gęstością wysiewu (D) maleje średnia objętość kolonii (V) w takim stopniu, że:

$$D \cdot V \cong \text{constans}$$

Powoduje to, że w miarę malejących odległości kolonie wgłębne (a tych jest znakomita większość) karłowacieją bez tendencji do zlewania się. Nawet stykające się ze sobą kolonie wgłębne zachowują wyraźną odrębność budowy przestrzennej.

ad c) Jeśli nawet w badanym produkcie trafiają się odmiany antagonistyczne, to ich wzajemne oddziaływanie hamujące musi się w tych warunkach uwidocznić znacznie wyraźniej niż w posiewie, w którym (wskutek rozcieńczenia w stałym podłożu) rosną między nimi odległości, a maleje dyfuzja i stężenie substancji hamujących. Tak więc w warunkach nawet gęstego posiewu mają one potencjalnie większe szanse rozwoju w mikrokolonie, niż w naturalnych warunkach ekologicznych badanego produktu.

Szczegółowe rozwijanie i eksperymentalne poparcie tych tez wykracza poza ramy niniejszego artykułu.

Wieloletnie doświadczenia i liczne badania porównawcze potwierdziły walory opisywanej metody, która dokładnością i precyzją nie ustępuje metodom ilościowym uznanym za klasyczne i wzorcowe.

Wyniki tych badań przedstawione zostaną w następnej publikacji.

Adres autora: dr Celestyn Szczucki, Łódź, ul. Inżynierska 1/3.

Щуцки Ц. — Новый „бумажный” метод микробиологических количественных исследований мяса и мясных продуктов.

Разработан и проверен в практике собственный скорый метод микробиологических исследований. Метод состоит в количественном изъятии образцов мясного сока при помощи стандартных бумажных фильтров, и в гомогенизации их прямо в разжиженной агаровой среде при помощи вращающегося магнитного поля. Описан способ приготовления фильтров, осуществления посевов и подсчета колоний на густо засеянных чашках.

Szczucki C. — The new paper method of microbiological quantitative investigations of meat and meat products.

The author describes the quick routine method worked out by himself and tested in practice. It lies in quantitative collecting of meat juice with the help of standard filter papers and their homogenization just on a liquidized agar medium with the use of rotating magnetic field.

The way of preparing filters, making inoculations and counting richly inoculated dishes is also described.

Szczucki C. — Neue Fließpapier mikrobiologische Methode zu quantitativen Untersuchungen von Fleisch und Fleischprodukte.

Verfasser beschreibt eine von selbst ausgearbeitete und praktisch geprüfte rasche rutinierte Methode. Dieselbe besteht in quantitativer Entnahme vom Fleischsaft mittels standardisierter Fließpapierdränröhrchen und derer unmittelbarer Homogenisierung auf flüssiger Agarunterlage mit Hilfe eines rotierenden magnetischen Feldes. Es wird die Art der Vorbereitung von Dränröhrchen, Ausführung der Aussaat und Zählung der dicht ausgesäten Schalen angegeben.

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

TADEUSZ JASTRZĘBSKI, ZYGMUNT CYGAN, JULIAN NOWAK

Badania nad metodami wyosabniania *Clostridium*.

I. Ocena przydatności inhibitorów w podłożach wybiórczych

Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynarii WSR
w Lublinie

Kierownik: prof. dr T. JASTRZĘBSKI

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej
w Lublinie

Kierownik: dr T. DĄBROWSKI

Beztlenowe warunki hodowli nie eliminują dostatecznie rozwoju towarzyszącej beztlenowcom flory tlenowcowej. W związku z tym, zastosowanie podłoży wybiórczych często jest warunkiem wyosabniania *Clostridi*. Dotychczas stosowano takie inhibitory jak azydek sodu, fiolet krystaliczny, kwas sorbinowy oraz antybiotyki. Azydek sodu działający jako inhibitor oksydazy cytochromowej, zastosowany został do podłoży wybiórczych dla beztlenowców przez Johanssona (10), potem Prévot i Thouvenot (18), Forget i Fredette (6) oraz Szynekiewicz (23) w dawkach 100—500

mcg/ml w stałych oraz 2000 mcg/ml w podłożach płynnych. Jednak badania przeprowadzone przez Mossela i wsp. (15) oraz Gibbs i Freame (8) ustaliły zbyt małą selektywność azydku sodu.

Fiolet krystaliczny (1,3—5 mcg/ml podłoża stałego) zaproponowany m.in. przez Maki i Pickarda (14), Blendena i Merilana (2), Szynekiewicz (22, 23) w doświadczeniach Gibbsa i Freame (7) okazał się mało przydatny. Mało aktywny jest wg Mossela i wsp. (15) oraz Gibbsa i Freame (8) również kwas sorbinowy, (stosowany przez Emarda i Vaughna (5),

Yorka i Vaughna (27) oraz Wetzlera i wsp. (24)).

Ostatnio coraz szerzej stosowane są w charakterze inhibitorów antybiotyki. Angelotti i wsp. (1) zastosowali dodatkowo w podłożu Wilson-Blaira w charakterze inhibitorów siarczan polimyksyny B (10 mcg/ml) oraz sulfadiazynę sodową (120 mcg/ml). Jednak użycie pożywki Wilson-Blaira jako podstawy do nowego podłoża, nie wydaje się słuszne, gdyż wg Put (19) niektóre szczepy proteolityczne *Clostridium* są hamowane przez wchodzący w skład podłoża Wilson-Blaira siarczan sodowy. Zahamowanie wzrostu laseczek rzekomowąglkowych uzyskał Willis (25) wprowadzając siarczan streptomycyny (1000 mcg/ml) do bulionu. W podłożach stałych antybiotyków ten nie był stosowany. Na specjalną uwagę zasługuje jako czynnik selektywny siarczan neomycyny, zalecany dotąd głównie dla izolacji szczepów z grupy *Cl. perfringens* (4, 9, 13, 20). Lowbury i Lilly (13) sądzą jednak, że już przy stężeniu neomycyny 100 mcg/ml może ona hamować część szczepów *Cl. perfringens* typów B, C, D i E, a zatem nadawać się tylko do wyosabniania szczepów typu A. Natomiast badania Willis'a i Hobbs (26) nie wykazały różnic we wrażliwości na neomycynę w stężeniu 250 mcg/ml u szczepów *Cl. perfringens* A, B, C, D i E. Wyniki ich doświadczeń, jak również Cygana (4) sugerują przydatność tego antybiotyku do wyosabniania także szczepów z innych gatunków *Clostridium*. Wybitnie pozytywnie oceniają neomycynę (250 mcg/ml w podłożu Zeisslera), w odniesieniu do *Cl. perfringens* Horodniceanu i Sasarmana (9).

Celem badań własnych, była ocena na większej ilości szczepów tlenowców i beztlenowców właściwości selektywnych różnych inhibitorów oraz określenie ich optymalnych stężeń w stałych i płynnych podłożach wybiórczych, przeznaczonych do wyosabniania *Clostridium*.

Materiał i metody

Podłoża: Użyto podłożo Zeisslera (3% agar odżywczy, 1% glikozy, 15% krwi owczej), bulion Wrzoska-Tarozzi (pH 8,0 — glikoza 1%) oraz bulion zwykły z 1% glikozy (pH 7,6). Roztwory inhibitorów przygotowywano w bulionie z glikozą.

Inhibitory. Przebadano: azydek sodu (E.-ch. Ząbkowice); fiolet krystaliczny („Bayer”); siarczan neomycyny i zasadę streptomycyny („POLFA”); siarczan polimyksyny B („Pfizer”); sól sodową sulfametazyny (Starogardzkie Z.F.) oraz sól sodową sulfatiazolu (Biowet, Gorzów).

Szczepy: Beztlenowce: *Cl. perfringens* A 497 i 267 B 270, C 234 i 367, D 210 i 368, E, 236; *Cl. oedematiens* A 292, 426, 483, 630, i 650; *Cl. septicum* 205, 631 i 632; *Cl. botulinum* A 1161, B 194 i 366, C Nerz, E 1105; *Cl. sordelli* 271, 536 i 567; *Cl. bifermentans* 149 i 420; *Cl. histolyticum* 119 i 646; *Cl. tetani* CN 655; *Cl. fesseri* 913 i *Cl. sporogenes* 477 (z PZH w Warszawie lub Katedry Mikrobiologii Wet. WSR w Lublinie). Tlenowce: *E. coli* O8, O71, O139 i 431, *Proteus* OX 19 i *Proteus* sp., *S. enteritidis* Gärtner i *S. gallinarum*, *Corynebact. equi*, *Aerobacter aerogenes*, *Bacillus megatherium*, *B. mycoides*, *B. circulans*, *B. subtilis* 833,

879 i 880, *B. cereus* 879, *Streptococcus faecalis*, *Str. pyogenes* i 3 *Streptococcus* sp., *Staphylococcus aureus* 209 P, *Staph. epidermidis*, *Pseudomonas pyocyaneum* i *Listeria monocytogenes* (z Katedry Mikrobiologii Wet. WSR w Lublinie).

Warunki beztlenowe uzyskiwano metodą Pestiego (17) w modyfikacji własnej (na 1 płytkę Petri 1,5—2,0 g pyrogalolu i 0,5—1,0 g węgla sodu). Czas inkubacji hodowli na podłożu Zeisslera dla tlenowców — 24 godz., dla beztlenowców — 48 godz. a w podłożach płynnych dla wszystkich — 24 godz. Za dowód działania inhibitora przyjęto: brak wzrostu, lub zmniejszoną ilość i wielkość kolonii w podłożu stałym oraz brak zmętnienia i gazu w podłożu płynnym.

Wyniki i omówienie

Pożywki stałe. Określono minimalnie stężenia inhibitorów hamujących rozwój bakterii tlenowych — HST (tab. 1) oraz maksymalne dopuszczalne stężenia nie zatrzymujące wzrostu *Clostridium* — DSC (tab. 2).

Tab 1 Minimalne stężenia inhibitorów powodujące zahamowanie wzrostu drobnoustrojów tlenowych (HST) w podłożu stałym

Gatunek drobnoustroju	Neomycyna w mcg/ml	Streptomycyna w mcg/ml	Polimyksyna B w mcg/ml	Sulfatiazol w mcg/ml	Sulfametazyna w mcg/ml	Azydek sodu w mcg/ml	Fiolet kryj. w mcg/ml
<i>E. coli</i> (4) *	< 52,5	< 50	< 12	300-5000	> 10000	> 250	> 25
<i>Aerobacter aerogenes</i> (4)	< 62,5	< 50	< 12	5000	> 10000	200	> 25
<i>Pseudomonas pyocyaneum</i> (1)	125	> 2000	< 12	> 100	> 10000	> 1000	12
<i>Proteus OX</i> (1)	< 62,5	< 50	> 500	2000	10000	< 50	> 25
<i>Proteus</i> sp (1)	< 62,5	< 50	> 500	1000	> 10000	200	> 25
<i>Salm. enteritidis</i> (4)	< 52,5	< 50	< 12	2000	> 10000	200	> 25
<i>Salm. gallinarum</i> (1)	< 62,5	< 50	< 12	> 10000	10000	1000	> 25
<i>Corynebacterium equi</i> (1)	< 62,5	< 50	48	< 100	200	< 50	2
<i>Listeria monocytogenes</i> (1)	< 62,5	< 50	< 12	< 100	< 100	< 50	< 1
<i>B. cereus</i> (1)	< 62,5	< 50	48	2000	> 10000	200	< 1
<i>B. subtilis</i> (3)	< 62,5	< 50	12-24	5000-10000	> 10000	100-1000	< 1
<i>B. circulans</i> (1)	< 62,5	< 50	100	> 10000	10000	200	< 1
<i>B. megatherium</i> (1)	< 62,5	50	100	10000	10000	200	2
<i>B. mycoides</i> (1)	< 62,5	1000	100	10000	> 10000	200	1,3
<i>Staphyl. aureus</i> (1)	< 62,5	< 50	100	5000	500	200	< 1
<i>Staphyl. epidermidis</i> (1)	62,5	< 50	> 500	> 10000	> 10000	1000	8
<i>Microc. lysodeikticus</i> (1)	< 62,5	< 50	48	500	> 10000	500	< 1
<i>Streptococcus pyogenes</i> (1)	< 62,5	< 50	100	> 10000	> 10000	> 1000	< 1
<i>Streptococcus faecalis</i> (1)	250	250	> 500	> 10000	> 10000	> 1000	12
<i>Streptococcus</i> sp (3)	< 62,5	< 50	12-48	100-5000	100-5000	100-1000	2-25

* cyfry w nawiasach oznaczają ilość zbadanych szczepów

Tab 2 Maksymalne stężenia inhibitorów dla *Clostridium* (DSC) w podłożu stałym

Gatunek drobnoustroju	Neomycyna w mcg/ml	Streptomycyna w mcg/ml	Polimyksyna B w mcg/ml	Sulfatiazol w mcg/ml	Sulfametazyna w mcg/ml	Azydek sodu w mcg/ml	Fiolet kryj. w mcg/ml
<i>Cl. perfringens</i> A-E (9) *	125-250	50	200	500-1000	500-1000	200	2-4
<i>Cl. oedematiens</i> A (5)	125	50	200	1000	1000	100-200	2
<i>Cl. septicum</i> (3)	125	50	100	100-200	100-200	100-200	2-4
<i>Cl. sordelli</i> (3)	125	25-50	48-100	100	100	100	2
<i>Cl. botulinum</i> A,B (3)	125	50-250	200	1000	1000	100	2
<i>Cl. fesseri</i> (1)	125	25		ni* badano		50	2
<i>Cl. bifermentans</i> (2)	250	50	500	1000	2000	500	2-4
<i>Cl. histolyticum</i> (2)	62,5-125	125	200	1000	1000	200	4
<i>Cl. sporogenes</i> (1)	62,5	50	100	2000	2000	100	1-2

* cyfry w nawiasach oznaczają ilość zbadanych szczepów

Najlepsze właściwości selektywne stwierdzono u neomycyny. W dawce 125 mcg/ml hamowała ona wzrost wszystkich bakterii tlenowych (prócz *Str. faecalis*, który wykazał zahamowanie dopiero przy 250 mcg/ml), nie zatrzymując jednocześnie wzrostu wszystkich zbadanych *Clostridium* oprócz jednego na dwa badane szczepy *Cl. histolyticum* i jednego *Cl. sporogenes*. Dawka 250 mcg/ml zalecana przez Willis'a i Hobbs (26) oraz Horodniceanu i Sasarmana (9) hamowała już wzrost dość dużej ilości szczepów *Clostridium* sp., a mianowicie 10 na 29 zbadanych (w tym *Cl. perfringens*

1/8 *Cl. septicum* 2/3 *Cl. oedematiens* 2/5 itd.). Nie potwierdzono spostrzeżeń Lowburego i Lilly (13) co do hamowania szczepów *Cl. perfringens* B, C, D i E przy stężeniu 100 mcg/ml.

Dla streptomycyny DSC dla większości szczepów wyniosły ok. 50 mcg/ml, a dla polimyksyny B ok. 200 mcg/ml. Niestety, dawki te nie hamowały wzrostu szeregu tlenowców z rodzajów *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Bacillus* i *Pseudomonas*. Z tego powodu przydatność tych inhibitorów jest znacznie mniejsza niż neomycyny. Ponadto użyteczność polimyksyny B dodatkowo ogranicza brak produkcji tego antybiotyku w kraju.

Najmniejszą aktywność selektywną wykazały sole sodowe sulfatiazolu i sulfametazy. DSC tych preparatów wynoszące dla większości gatunków *Clostridium* 1000 mcg/ml, nie hamowały wzrostu ok. 80% szczepów flory tlenowej. Dodatkową ich wadą jest duża aktywność w stosunku do szczepów *Cl. septicum* i *Cl. sordelli*.

Pozostałe czynniki selektywne tj. fiolet krystaliczny i azydek sodu nie hamowały wzrostu wielu tlenowców. Uzyskane wyniki potwierdzają obserwacje Blendena i Merilana (2) o dużej wrażliwości laseczek rzekomowąglikowych na fiolet krystaliczny oraz Snydera i Lichsteina (21), Lichsteina i Snydera (11), Packera (16), Lichsteina i Soule (12) oraz Brilla i Szynkiewicza (3) o silnym działaniu azydku sodu na pałeczki gramoujemne. Azydek sodu nie hamował wzrostu także wielu ziarniaków, co potwierdza dane Forget i Fredette (6) oraz innych. Dla większości szczepów DSC azydku wyniosło 100–200 mcg/ml, a fioletu 2–4 mcg/ml.

Podłoża płynne. Uzyskane minimalne stężenia hamujące rozwój bakterii tlenowych — (HST) podaje tab. 3, a maksymalne dopuszczalne stężenia nie zatrzymujące wzrostu *Clostridium* (DSC) tab. 4.

Wynika z nich, że spośród zbadanych inhibitorów, najbardziej skuteczne okazały się neomycyna i fiolet krystaliczny. Wysokość HST neomycyny dla zbadanych szczepów tlenowców wyniosła poniżej 125 mcg/ml, za wyjątkiem *Str. faecalis* i *Staph. epidermidis* nie hamowanych nawet w obecności 500 mcg/ml. Fiolet krystaliczny okazał się dobrym inhibitorem wzrostu wszystkich szczepów *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* oraz częściowo pałeczek gramoujemnych i *Staphylococcus*. Na uwagę zasługuje stwierdzenie dużej oporności szczepów *Clostridium*. DSC fioletu dla wszystkich szczepów *Clostridium*, za wyjątkiem *Cl. botulinum* C wyniosło 25 mcg/ml. W świetle tych danych, stężenie 4 mcg/ml proponowane przez Blendena i Merilana (2) dla fioletu wydają się zbyt niskie.

Wartość azydku sodu, jak wynika z tab. 4, ogranicza dużą rozpiętość DSC tego preparatu

Tab 3 Minimalne dopuszczalne stężenia inhibitorów potrzebne dla całkowitego zahamowania wzrostu drobnoustrojów tlenowych (HST) w podłożu płynnym

Gatunek drobnoustroju	Neomycyna w mcg/ml	Streptomycyna w mcg/ml	Polimyksyna w mcg/ml	Azydek sodu w mcg/ml	Fiolet kryształ w mcg/ml
<i>E. coli</i> (4) *	< 125	125–2000	100–1000	500–2000	20–25
<i>Aerobacter aerogenes</i> (1)	< 125	250	> 1000	< 200	> 25
<i>Pseudomonas pyocyanum</i> (1)	< 125	> 2000	> 1000	1000	16
<i>Proteus OX₁₉</i> (1)	< 125	125	> 1000	> 2000	25
<i>Proteus sp</i> (1)	< 125	125	> 1000	> 2000	> 25
<i>Salmonella enteritidis</i> (1)	< 125	1000	> 1000	500	25
<i>Salmonella gallinarum</i> (1)	< 125	> 2000	> 1000	< 200	25
<i>Corynebacterium equi</i> (1)	< 125	< 62,5	> 1000	500	< 4
<i>Listeria monocytogenes</i> (1)	< 125	< 3125	> 1000	< 200	< 4
<i>B. cereus</i> (1)	< 125	> 2000	> 1000	500	< 4
<i>B. subtilis</i> (3)	< 125	125–2000	> 1000	500–1000	< 4
<i>B. circulans</i> (1)	< 125	> 2000	> 1000	500	< 4
<i>B. megatherium</i> (1)	< 125	< 62,5	250	< 200	20
<i>B. mycoides</i> (1)	< 125	> 2000	250	500	< 4
<i>Staphylococcus aureus</i> (1)	< 125	< 62,5	> 1000	nieozn.	12
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (1)	> 500	nieozn.	> 1000	nieozn.	16
<i>Micrococcus lysodeikticus</i> (1)	< 125	> 2000	1000	1000	8
<i>Streptococcus pyogenes</i> (1)	< 125	> 2000	> 1000	2000	< 4
<i>Streptococcus faecalis</i> (1)	> 500	1000	> 1000	2000	20
<i>Streptococcus sp</i> (3)	< 125	125–1000	> 1000	500	< 4

* cyfry w nawiasach oznaczają ilość zbadanych szczepów

Tab 4 Maksymalne dopuszczalne stężenia inhibitorów nie hamujące wzrostu *Clostridium* w podłożu płynnym

Gatunek drobnoustroju	Neomycyna w mcg/ml	Streptomycyna w mcg/ml	Azydek sodu w mcg/ml	Fiolet kryształ w mcg/ml
<i>Cl. perfringens</i> A–E (8) *	> 500	500–2000	< 200–1000	> 25
<i>Cl. oedematiens</i> A (5)	> 500	500–1000	250–500	> 25
<i>Cl. septicum</i> (3)	> 500	1000–2000	250–500	> 25
<i>Cl. sordelli</i> (3)	250–500	500–1000	200–500	> 25
<i>Cl. botulinum</i> A,B,C,E (6)	250–500	250–500	< 200–500	16–25
<i>Cl. fesceni</i> (1)	> 500	1000	250	> 25
<i>Cl. bifermentans</i> (2)	> 500	500–1000	500–1000	> 25
<i>Cl. histolyticum</i> (2)	250–500	nieozn.	500–1000	> 25
<i>Cl. sporogenes</i> (1)	250–500	250	250	> 25
<i>Cl. letani</i> (1)	500			

* cyfry w nawiasach oznaczają ilość zbadanych szczepów

wynosząca 200 do 1000 mcg/ml. Stężenie to jest niższe od proponowanego przez Forget i Fredette (6), a wynoszącego 2000 mcg/ml. Dużą wadą azydku sodu w podłożach płynnych jest również mała aktywność w stosunku do pałeczki odmieńca.

HST polimyksyny B wyniosło ponad 1000 mcg/ml. W związku z tym, biorąc pod uwagę konieczność używania przy hodowli beztlenowców dużych ilości gazu, użycie tego preparatu byłoby nieekonomiczne, wobec czego dalszych badań z nim nie prowadzono.

Z tabeli 3 i 4 wynika, że najmniej przydatnym spośród zbadanych inhibitorów jest streptomycyna. W koncentracjach nie hamujących beztlenowców nie hamowała ona także niektórych szczepów rodzaju *Escherichia*, *Pseudomonas* i *Salmonella*. Spostrzeżenia Willis (25) o dużej skuteczności streptomycyny w hamowaniu wzrostu laseczek rzekomowąglikowych nie znalazły tu potwierdzenia. Natomiast osiągnięte wyniki co do wysokości DSC na ogół są zgodne z rezultatami badań Willis (25).

Wnioski

1. Spośród 7 przebadanych w podłożu stałym inhibitorów (neomycyna, streptomycyna, polimyksyna B, sulfametazyna, sulfatiazol, azydek sodu oraz fiolet krystaliczny) najbardziej selektywnym okazała się neomycyna. W stężeniu 125 mcg/ml stałego podłoża zahamowała ona wzrost wszystkich użytych bakterii tlenowych, za wyjątkiem *Str. faecalis*. Dawka ta nie hamowała wzrostu wszystkich użytych szczepów *Clostridium* za wyjątkiem 1 szczepu *Cl. histolyticum* i *Cl. sporogenes*.

Przydatność polimyksyny B i streptomycyny ogranicza brak hamowania wzrostu szeregu często spotykanych w materiale tlenowców. W jeszcze większym stopniu odnosi się to do sulfamidów.

Dla oceny przydatności fioletu krystalicznego stosowanego łącznie z azydkiem sodu konieczne są dalsze badania.

2. Na podłożach płynnych spośród 4 przebadanych inhibitorów (neomycyna, streptomycyna, azydek sodu i fiolet krystaliczny) najlepsze wyniki dała znowu neomycyna. W stężeniu 500 mcg/ml antybiotyk ten nie hamował użytych szczepów *Clostridium*, za wyjątkiem *Clostridium botulinum* C, a jednocześnie uniemożliwiał wzrost wszystkich użytych tlenowców, prócz *Str. faecalis* i *Staph. epidermidis*.

Piśmiennictwo

1. Angelotti R., Hall H. E., Foter M. J., Lewis K. H.: Appl. Microbiol. 10, 193, 1962.
2. Blenden D. C., Merilan Ch. P.: Am. J. Vet. Res. 22, 944, 1961.
3. Brill J., Szykiewicz Z.: Medycyna Wet. 6, 516, 1950.
4. Cygan Z.: Materiały Sesji Beztlencowcowej, Lublin 1967 — w druku.
5. Eward L. O., Vaughn R. H.: J. Bact. 63, 487, 1952.
6. Forget A., Fredette V.: J. Bact. 83, 1217, 1962.
7. Gibbs B. M., Freane B.: 1 st Internat. Cong. Fd. Sci. Technol., London 1962 — cyt. wg poz. 3.
8. Gibbs B. M., Freane B.: J. Appl. Bact. 28, 95, 1965.
9. Horodniceanu T., Sasarman A.: Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol. 9, 633, 1964.
10. Johansson K. R.: J. Bact. 65, 225, 1953.
11. Lichstein H. C., Snyder M. L.: J. Bact. 42, 653, 1941.
12. Lichstein H. C., Soule M. M.: J. Bact. 47, 221, 1944.
13. Lowburg E. J. L., Lilly H. A.: J. Path. Bact. 70, 105, 1955.
14. Maki L. R., Pickard K.: J. Bact. 89, 1244, 1965.
15. Mossel D. A. A., dr Bruin A. S., v. Diepen H. M. J., Vendrig C. M. A., Zoutewelle G.: J. Appl. Bact. 19, 142, 1956.
16. Packer R. A.: J. Bact. 46, 343, 1943.
17. Pestl L.: Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 15, 447, 1965.
18. Prévot A. R., Thouvénot H.: Ann. Inst. Pasteur 86, 235, 1954.
19. Put H. M. C.: Ann. Inst. Pasteur 12, 175, 1961.
20. Smith H. W.: J. Path. Bact. 77, 79, 1959.
21. Snyder M. L., Lichstein H. C.: J. Infect. Dis. 67, 113, 1940.
22. Szykiewicz Z.: XIII Zjazd Mikrobiologów Polskich. Poznań 1955.
23. Szykiewicz Z.: Biuletyn III Zjazdu PTNW. Lublin 1966.
24. Wetzler T. F., Marshall J. D., Cardella M. A.: Amer. J. Clin. Path. 26, 418, 1956.
25. Willis A. T.: J. Path. Bact. 74, 113, 1957.
26. Willis A. T., Hobbs G.: J. Path. Bact. 77, 511, 1959.
27. York G. K., Vaughn R. H.: J. Bact. 68, 739, 1954.

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

Ястшембски Т., Цыган З., Новак Ю. — Исследования методов выделения палочек *Clostridium*. I. Оценка эффективности ингибиторов в селективных средах.

Исследовали селективное влияние следующих ингибиторов: сульфат неомидина, основной стрептомицин, сульфат полимиксина В, сульфаметазин и сульфатиазол-натрий, нитрид натрия и кристалл-фиолет. Исследования провели по отношению к 27 штаммам аэробов (*E. coli* O8, O71, O139, 431, *Proteus* OX19 и *Proteus* sp., *S. enteritidis* Gärtner, *S. gallinarum*, *Corynebacterium equi*, *Aerobacter aerogenes*, *B. megatherium*, *B. mycoides*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *Str. faecalis*, *Str. pyogenes*, *Streptococcus* sp., *Staph. aureus* 209P, *Staph. epidermidis*, *Pseudomonas pyocyaneum*, *Listeria monocytogenes* и 31 штаммов анаэробов (*Cl. perfringens* А, В, С, D, E, *Cl. oedematiens*, *Cl. septicum*, *Cl. botulinum* А, В, С, E, *Cl. sordelli*, *Cl. bifermentans*, *Cl. histolyticum*, *Cl. tetani*, *Cl. feseri*, *Cl. sporogenes*). Установили, что как в плотной так и в жидкой среде самые лучшие результаты дает неомидин. Концентрация 125 mcg/мл среды плотной эффективно задерживает рост всех исследованных аэробов за исключением *Str. faecalis* не унегая в тоже время роста всех анаэробных палочек рода *Clostridium* за исключением *Cl. sporogenes* и одного штамма *Cl. histolyticum*. В жидкой среде лучшие результаты получили с 500 mcg/мл неомидина. Эта концентрация тормозит рост всех аэробов за исключением *Staph. epidermidis* и *Str. faecalis*, не действуя вредно на рост всех исследованных штаммов *Clostridium* за исключением *Cl. botulinum* С. Из остальных ингибиторов квалифицируется к дальнейшим пробам только кристаллфиолет (25 mcg/мл) но только совместно с другими препаратами задерживающими рост грамотрицательных палочек.

Jastrzębski T., Cygan Z., Nowak J. — The investigations on the methods of *Clostridium* isolation. I. The evaluation of inhibitors in selective media.

The selective influence was investigated of the following inhibitors: neomycine sulphate, streptomycine base, polymyxine B sulphate, sodium salts of sulphomethazine and sulphatiazole, sodium azide, gentiane violet. The investigations were made in relation to pure cultures of 27 aerobic bacteria strains: *E. coli* O8, O71, O139 and 431, *Proteus* OX19 and *Proteus* sp., *S. enteritidis* Gärtner, *S. gallinarum*, *Corynebact. equi*, *Aerobacter aerogenes*, *B. megatherium*, *B. mycoides*, *B. circulans*, *B. subtilis* (3), *B. cereus*, *Str. faecalis*, *Str. pyogenes* and 3 *Streptococcus* sp., *Staph. aureus* 209P, *Staph. epidermidis*, *Pseudomonas pyocyaneum* and *Listeria monocytogenes* and 31 strains of *Clostridium*: *Cl. perfringens* A (2), B (1), C (2), D (2) and E (1), *Cl. oedematiens* A (5), *Cl. septicum* (3), *Cl. botulinum* A (1), B (2), C (1), E (1), *Cl. sordelli* (3), *Cl. bifermentans* (2), *Cl. histolyticum* (2), *Cl. tetani* (1), *Cl. feseri* (1) and *Cl. sporogenes* (1).

It was shown that both in firm and liquid medium the best results were obtained with the use of neomycine. The 125 mcg/ml dose of firm medium stops all the aerobic bacteria used except for *Str. faecalis*, and at the same time it does not limit the growth of *Clostridium* bacilli, except for *Cl. sporogenes* and 1 strain of *Cl. histolyticum*. In liquid medium 500 mcg/ml concentration appeared to be the dose of choice. This dose stops the growth of all aerobic bacteria except *Staph. epidermidis* and *Str. faecalis*, but in has no negative influence on the growth of all *Clostridium* strains used, except for *Cl. botulinum* C. As to the rest of the inhibitors, gentiane violet may be used for further experiments, but it should be used with the addition of different preparation stopping the gram-negative bacteria.