

- Kelser R., Schoennig H., *Manuel of Veterinary Bacteriology*, Baltimore, 1945.
- Kress F., *Wien. Tierärztl. Monatschrift*, II, 1, 1946.
- Kolle W., Kraus R., Uhlenhuth P., *Handb. d. Path. Mikroorg.* Bd. VI. S. 751—776, 1929.
- Parnas J., Kunicki-Goldfinger Wl., Stępkowski S., *Annales UMCS., Lublin. Dz. DD. Med. Wet. R. V. No. 3.* 1949.
- Salyi J., *Arch. Tierheilk.* 77. 1942.
- Miesner, Harms, *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 1937, 685, 744.
- Sedlmaier, *Münch. tierärztl. Wschr.* 1938, 37.
- Manninger, Csontos, *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 1941, 105.
- Anderson K., Goodpasture E., *Amer. J. Pathol.* 1942, 18, 555.
- Dimock W. W., *J.A.V.M.A.* 1940, 96, 665.
- Hutyra F., Marek J., *Spec. Path. u. Ther. d. Haustiere.* 1922, Jena.
- Beller K., Bieling R., *Viruskrankheiten.* 1942.
- Oppermann L., *Zeitschr. Infektrh. Haustiere.* 1938, 106.

DANUTA DOBROWOLSKA, LECH JAŚKOWSKI

Badania nad wartością metody hodowlanej w wykrywaniu rzęsistka u buhai podejrzanych o chorobę

Z Wydziału Hodowli i Higieny Weterynaryjnej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Bydgoszczy
Kierownik: Dr EUGENIUSZ DOMAŃSKI

Stosowane metody w rozpoznawaniu trychomonazy u buhai nie dają dostatecznie pewnych wyników. Do pozytywnego rozpoznania wystarcza wprawdzie stwierdzenie jednego choćby rzęsistka w wydzielinie z narządów rodnych, nie znalezienie jednak zarazka na drodze bezpośredniej lub hodowlanej nie pozwala na wykluczenie choroby.

W celu wykluczenia zakażenia stosuje się dlatego równocześnie kilka metod diagnostycznych. Najczęściej łączy się bezpośrednio badanie mikroskopowe wydzielin z napletka z próbą biologiczną, polegającą na obserwacji kilku niestanowionych jałowic, świeżo pokrytych przez podejznanego buhaja.

Przy masowych badaniach buhai należy uzyskać wszechstronne informacje, od wyniku których zależy dopuszczenie zwierzęcia do eksploatacji hodowlanej. Wskutek tego, badanie każdego buhaja trwa długo. Ograniczenie się tylko do badania mikroskopowego, nie daje żadnych oszczędności w czasie; szczegółowe badanie materiału z napletka winno trwać nie mniej niż 60 min., przy czym jak to stwierdził Miedzian (1943) w większości wypadków jest niewystarczające.

Z tej przyczyny zdecydowaliśmy się na zastosowanie metody hodowlanej, jako środka diagnostycznego. Diagnostyka hodowlana przesuwa punkt ciężkości badań do laboratorium, praca zaś terenowa ogranicza się do pobrania materiału z napletka, oraz pobieżnego przeglądu wydzielin z napletka pod mikroskopem w celu określenia elementów morfologicznych.

Cel pracy.

Badania nasze miały dać odpowiedź na następujące pytania: a) czy diagnostyka hodowlana trychomonazy jest wystarczająca, ażeby mogła znaleźć zastosowanie w praktyce? b) jakie objawy kliniczne towarzyszą najczęściej zakażeniu? c) jakie czynniki obniżają istotę diagnostyki hodowlanej?

Metodyka pracy.

Z wielu pożywek dla rzęsistka opisanych w literaturze wybraliśmy pożywkę M. Schneidera (1941) zmodyfikowaną dodatkiem 10 proc. świeżej surowicy końskiej, oraz dodatkiem około 500 jednostek penicyliny na 1 ml części płynnej pożywki. Według E. Schneidera (1943) dodatek penicyliny podnosi znacznie wartość diagnostyki hodowlanej dzięki hamowaniu rozwoju drobnoustrojów.

Oprócz próby hodowli rzęsistka, badano wydzielinę z napletka na zawartość elementów morfologicznych. Na badanie charakteru elementów komórkowych zdecydowaliśmy się na podstawie spostrzeżenia Haq'a i Rollinsona (1943), którzy zaobserwowali występowanie dużej ilości leukocytów w napletku buhai zakażonych rzęsistkiem.

Ze względu na to, że część terenowa naszej pracy może znaleźć zastosowanie praktyczne, podajemy szczegółowy opis czynności wykonanych w terenie.

Badania przeprowadzono przy okazji masowego badania buhai na gruźlicę i brucellozę w powiatach świeckim i bydgoskim (1949). Materiał pobrano od 178 buhai na 267 badanych, który pobierano w większości wypadków metodą opisaną przez Kapłana (1947); w kilku wypadkach przeprowadzono dla celów porównawczych głębokie płukanie worka napletkowego zmodyfikowaną metodą zademontrowaną przez Stewarta (1949).

Technika pobierania materiału.

Do rurki szklanej o średnicy 8—10 mm, zaopatrzonej na jednym końcu w gruszkę gumową, nabitą od 7—10 ml roztworu fizjologicznego z dodatkiem 1000 jedn. penicyliny na 1 ml roztworu. Rurkę wprowadzano do worka napletkowego na głębokość 30—40 cm, wydmuchując plyn z rurki i równocześnie wykonując ruchy masujące wzdłuż ścian prącia i worka napletkowego. Następnie powolnym ruchem wycofywano rurkę z worka napletkowego, zasysając

przy pomocy gruszki wydzielinę zmieszana z wprowadzonym roztworem. Przy dobrym wykonaniu zabiegu uzyskiwano 5—8 ml wypłuczyn, mniej lub więcej zniekształconych. Materiał zlewano do jałowej probówki i ustawiono pionowo dla uzyskania osadu który tworzył się w ciągu 1—2 godzin po pobraniu.

Badanie mikroskopowe materiału z napletka przeprowadzono w 1—3 godziny po pobraniu przy czym przenoszono na szkiełko podstawowe kroplę osadu z probówki. Przeglądano około 50 pól widzenia, przy powiększeniu 250-krotnym, szukając rzesistka i ustalając stosunek procentowy ciałek ropnych do elementów komórkowych.

Pozostały materiał wysyłano tego samego dnia do laboratorium, gdzie w 8—12 godzin po pobraniu, następowało wysianie na pożywkę.

Z każdego materiału sporządzono 4 posiewy, które trzymano w termostacie w ciągu 6-ciu dni. Kontrola kultur następowała po 48, 96, 120 i 144 godzinach po wysianiu. Przy kontroli notowano stan zanieczyszczenia pożywek drobnoustrojami, oraz ewentualną obecność rzesistka.

Wyniki

Po wysianiu 178 próbek na 712 probówkach, wyhodowano rzesistka z 18 prób w 35 probówkach. Należy podkreślić, że jedynie w dwu próbkach wypłuczyn udało się stwierdzić rzesistka przy bezpośrednim badaniu mikroskopowym. W jednej próbce negatywnego wyniku hodowlanego, stwierdzono rzesistka pod mikroskopem. W tym wypadku materiał był silnie zakażony drobnoustrojami.

Z dwu materiałów wyhodowano rzesistka we wszystkich probówkach serii (4-ch), z trzech materiałów posiew dał porost rzesistka w 3-ch probówkach, z dalszych 4-ch tylko dwie probówki serii wykazały rzesistka, i wreszcie z 8-miu prób rzesistka wyhodowano tylko w jednej z 4-ch probówek.

Po raz pierwszy stwierdzono rzesistka: przy pierwszej kontroli w 8-miu przypadkach, przy drugiej kontroli w 5-ciu przypadkach przy trzeciej kontroli w 3-ch przypadkach i przy czwartej kontroli w 2-ch przypadkach.

Rzesistek wyhodowany z 16 prób utrzymywał się od dnia, w którym go zaobserwowano po raz pierwszy do ostatniego dnia kontroli. W dwu zaś seriach przy trzeciej kontroli stwierdzono obumarcie rzesistka. W obu seriach namnożenie rzesistka było gębsze, natomiast stwierdzono silne zanieczyszczenie drobnoustrojami.

W celu uzyskania danych o wiarygodności metody hodowlanej, powtórzyliśmy w różnych odstępach czasu, w kilku dostępnych dla nas przypadkach, badanie buhai zakażonych. Wyniki tych badań przedstawia załączone zestawienie.

Z zestawienia tego wynika, że w 9 wypadkach na 10 udało się u zakażonych buhai wyhodować rzesistka, przy czym przypadek negatywny należy przypisać zbyt wczesnemu pobraniu materiału po płukaniu dezynfekcyjnym worka napletkowego.

Dla ustalenia jakie objawy kliniczne najczęściej towarzyszą zakażeniu rzesistkiem braliśmy pod uwagę następujące dane:

Zestawienie

Występowanie rzesistka w hodowli przy powtórnych badaniach zakażonych buhai.

Nr karty klinicznej buhaja	Data pierwszego badania	Ilość zakażonych probówek w serii	Daty badań powtórnych	Ilość zakażonych probówek w serii
8	10.VII.49	2	5.VIII.49	1
32*)	18.VIII.49	3	29.XI.49	3
			7.XII.49	4
			10.XII.49	3
			23.XII.49	0
			19.I.50	1
181	13.VIII.49	2	1.XII.49	3

- wywiad,
- zmiany kliniczne uchwytnie przy badaniu,
- wynik badania mikroskopowego wypłuczyn z napletka.

Za wywiad pozytywny uważaliśmy przypadki, w których właściciel oświadczał, że zauważył u buhaja wyciek ropny z otworu napletkowego, lub objawy niechęci do krycia, lub też stwierdził, że dużo krów krytych danym buhajem nie zacielało się^{*)}. Ponadto do podejrzanych zaliczyliśmy buhaje używane w gromadach, w których stwierdziliśmy rzesistka przed rozpoczęciem niniejszych badań. Natomiast wykluczyliśmy z grupy wywiadów pozytywnych wszystkie zwierzęta o niskim wskaźniku płodności, jeżeli stwierdzono, że dają one nasienie o złej jakości.

Za objawy kliniczne uzasadniające podejrzenie uważaliśmy nadżerki i guzki na błonie śluzowej prącia i napletka, obrzęk puzdra, lub wyciek ropny z puzdra.

Badania nasze wykazały, że ani zmiany patologiczne na prąciu, ani pozytywny wywiad nie są charakterystyczne dla zakażenia rzesistkiem. Natomiast wysoce znamieną jest korelacja między występowaniem ciałek ropnych w wydzielinie z napletka a zakażeniem rzesistkiem.

Wszystkie buhaje podejrzane w ilości 66 podzieliliśmy na trzy grupy. Do pierwszej zaliczyliśmy buhaje, u których stwierdzono zmiany na prąciu lub napletku, w wywiadzie zaś ustalono, że wiele krów krytych przez buhaja podejrzanego nie zaciela się. Do drugiej grupy zaliczyliśmy wszystkie buhaje nie wykazujące zmian klinicznych na prąciu, ale u których wywiad był pozytywny. Wreszcie trzecia grupa objęła buhaje, u których zarówno badanie kliniczne, jak i wywiad były negatywne. W pierwszej grupie znalazło się 7 buhai, przy czym zakażenie rzesistkiem stwierdzono u 2 (29%); w drugiej grupie znalazło

*) 10.XII.49 pobrano materiał w 3 dni po zabiegu leczniczym, 23.XII.49 w 12 godzin po płukaniu leczniczym, 19.I.50 w 27 dni po przerwaniu leczenia.

*) Na ogół wartość wywiadu była bardzo mała; np. stwierdzono, że buhaje o których właściciele mówili jako o buhajach bardzo płodnych, zacielały zaledwie 35% krytych krów.

się 26 buhai, zakażonych było 7 (27%); w trzeciej grupie było 33 buhai w tym 10 (30%) zakażonych. Jak widzimy przeciętnie stwierdzono zakażenie rzesistkiem u 29% buhai bez względu na grupę.

Z kolei podzieliśmy buhaje podejrzane na następujące grupy: I. grupa objęła buhaje, u których w wydzielinie z napletka stwierdzono więcej niż 50% ciałek ropnych. Znalazło się w niej 11 buhai z tego 5 zakażonych (45%). II. grupa objęła buhaje, których wydzielina napletka wykazywała do 50% ciałek ropnych; znalazło się w niej 28 buhai, z których 11 (39%) było zakażonych. Wreszcie w III. grupie ujęto buhaje, u których w wydzielinie z napletka było mniej niż 20% ciałek ropnych; w grupie tej tylko 3 buhaje na 33 (11%) były zakażone.

Choć występowania dużej ilości ciałek ropnych w wydzielinie z napletka nie można uważać za objaw patognomiczny dla trichomonazy, to jednak z praktycznego punktu widzenia, szczególnie przy masowych badaniach buhai, fakt powyższy trzeba uznać za obiektywną podstawę do powzięcia podejrzenia o zakażenie rzesistkiem. Jako drugi obiektywny wskaźnik należy uważać stwierdzenie zmian zapalnych na prąciu. Natomiast wywiad nie daje dostatecznych podstaw ani do powzięcia, ani do wykluczenia podejrzenia.

Wiarygodność diagnostyki hodowlanej obniża niewątpliwie zanieczyszczenie materiału drobnoustrojami. Stwierdzają to zgodnie wszyscy autorzy zajmujący się tym zagadnieniem. Najdobitniej wykazują to doświadczenia Johanson'a, B. B. Morgana i C. H. Winkler'a (1947—3), którzy wykazali, że normalna żywotność rzesistka, wynosząca w hodowli 10 dni, zostaje skrócona przez streptokoki do 36 godzin, przez pałeczki do 100 godzin. Jedynie obecność laseczki siennej nie upośledza ani zdolności namnażania, ani żywotności rzesistka.

W naszych badaniach mogliśmy stwierdzić dwa fakty, które potwierdzają dotychczasowe doniesienia.

Oto w 66% pozytywnych rozpoznawień hodowlanych wszystkie próbki serii badanych nie wykazały zanieczyszczeń bakterii. W pozostałych 33% przypadków stwierdzono wprawdzie zakażenie 1—3 próbek w serii, ale w próbkach, w których stwierdzono rzesistka, drobnoustrojów nie było w ogóle, lub w bardzo niewielkiej ilości.

Drugim momentem przemawiającym za znaczeniem zanieczyszczenia drobnoustrojami jest odsetek rozpoznawień pozytywnych w pierwszej pięćdziesiątce badań, w porównaniu z resztą.

W początkach nie przestrzegano zbyt ściśle aseptyki przy pobieraniu materiału z napletka. W rezultacie na pięćdziesiąt posianych materiałów 32 (64%) wykazały zanieczyszczenie drobnoustrojami w trzech lub więcej próbek w serii. W grupie tej wykryto rzesistka tylko u 2 buhai (4%) na 16 podejrzanych (32%). W drugiej fazie badań, obejmującej 123 wypadków, aseptyka pobierania materiału znacznie wzrosła. Dzięki temu zanieczyszczonych serii było tylko 14%, a rzesistka znaleziono w 16 przypadkach (16,6%) na 50 buhai podejrzanych (39% badanych).

Zanieczyszczenia w pierwszej grupie badań pochodziły w większości przypadków z zewnątrz, przy czym

drobnoustrojem powodującym zanieczyszczenie była głównie laseczka sienna. Wskazuje to, w przeciwieństwie do wyników badań Johanson'a i innych na możliwość ujemnego wpływu laseczki siennej na rozpoznanie rzesistka w tych wypadkach, gdy w momencie wyjściowym w pożywce jest mało rzesistków, a drobnoustrojów dużo^{**)}.

Omówienie wyników

Opinia o wartości diagnostycznej metody namnażania rzesistka jest bardzo niejednolita. B. B. Morgan (1946), na podstawie analizy znanych wówczas metod hodowlanych doszedł do wniosku, że ze względu na zanieczyszczenia bakteryjne, tylko 50% zakażonych zwierząt można wykryć przy pomocy najlepszych metod hodowlanych.

E. Schneider zaś, który zastosował dodatek penicyliny do pożywki, uważa że metoda hodowlana daje daleko pewniejsze wyniki aniżeli bezpośrednie badanie mikroskopowe.

Nasze badania potwierdzają opinię E. Schneidera. Przypuszczalnie nie wszystkie buhaje zakażone bądź można wykryć przy pomocy jednorazowego badania. Jednakże przy zakażeniu rzesistkiem chodzi przede wszystkim o wykrycie głównych ognisk zakażenia. Bliższe zajęcie się ogniskami zakażenia pozwoli wykryć wszystkie zwierzęta zakażone. Wykrycie ognisk zakażenia możliwe jest tylko w drodze masowych badań, przy których metoda hodowlana stanowi najlepszą i najdogodniejszą do wykrycia buhai zakażonych rzesistkiem.

Dla uniknięcia wyników niepewnych należy przestrzegać następujących zasad:

- 1) Materiał należy pobierać aseptycznie^{***)}.
- 2) Materiał należy pobrać prawidłowo.
- 3) Materiał należy postać w ciągu 12 godzin od pobrania.

Ograniczenie w czasie obniża znacznie przydatność praktyczną diagnostyki hodowlanej. Przed usprawnieniem komunikacji, jedynie powiaty znajdujące się w bezpośrednim sąsiedztwie pracowni rozpoznawczej mogłyby korzystać z tej metody przy masowych badaniach buhai.

Duży stopień korelacji między obecnością ciałek ropnych w wydzielinie z napletka, a dodatnimi wynikami hodowli, wskazuje, iż badanie mikroskopowe nawet gdy nie wykazuje rzesistka, to jednak ze względów orientacyjnych ma duże znaczenie dla diagnozy i powinno być przeprowadzone w każdym przypadku.

**) Mianowicie w warunkach doświadczalnych punktem wyjścia obserwacji była hodowla zawierająca 50000 rzesistków oraz jedną cząstkę drobnoustrojów. Między rzesistkami a drobnoustrojami mógł się przeto wytworzyć pewien stopień równowagi wyjściowej. W warunkach naturalnych może się znaleźć w pożywce tylko kilka rzesistków, natomiast drobnoustrojów bardzo dużo. W tych warunkach nawet pałeczka sienna może wywrzeć ujemny wpływ na ostateczny wynik hodowli.

***) Najważniejszym jest ażeby roztwór fizjologiczny używany do płukania był jałowy, dlatego najlepiej używać roztworu fizjologicznego wyjaławianego w ampulkach.

Д. ДОБРОВОЛЬСКА, Л. ЯСЬКОВСКИ

ИСПЫТАНИЯ СТОИМОСТИ МЕТОД ВЫРАЩИВАНИЯ ПРИ ОБНАРУЖИВАНИИ ТРИХОМОНАСА У ПОДОЗРИТЕЛЬНЫХ К ЭТОМУ БЫКОВ

Краткое содержание

Метод выращивания трихомонасы, авторы применили к диагностическим целям. Культивирование производилось на питательной среде Шнайдера (1941) смодифицированной добавкой 10% свежей лошадиной сыворотки и почти 500 ЕД пенициллина на 1 мл. жидкой среды.

Проводились также исследования морфотических элементов в истечении с прелуциального мешка.

Из высеванных в 712 пробирках 178 проб, выросло 18 проб в 38 пробирках.

Как доказали исследования авторов, присутствие гнойных тельц в выделении из прелуциального мешка свидетельствует за инфекцией трихомонасы — из 11 быков имеющих в прелуциальном выделении больше чем 50% гнойных тельц, зараженными оказалось 5 быков, а из 28 быков с количеством гнойных тельц меньше 50% — у 11 быков констатировано инфекцию; из 33 быков имеющих 20% гнойных тельц — больных трихомонасом было 3 быка.

D. DOBROWOLSKA, L. JAŚKOWSKI

INVESTIGATIONS ON THE VALUE OF THE CULTURE METHOD FOR THE DISCOVERY OF TRICHOMONIASIS IN BULLS

An investigation was carried out into the practical applicability of culture diagnostic for the detection of trichomoniasis in bulls. The material from sheet was collected on the occasion of mass-scale examinations of the health of bulls. In order to insure against the bacterial growth 1000 units of penicillin were added

per 1 ml of the material collected. The material was inoculated on M. Schneider's nutritive medium, with addition of 500 units of penicillin per 1 ml of the liquid part of the medium.

In this way 18 bulls were found to be infected (10.1% of the total number examined).

The reliability of the method was tested by repeated fresh examination of infected bulls. In 90% of the cases the result of the cultivation was again found to be positive.

It was found that the presence of leucocytes in the sheet washings constituted a phenomenon arousing suspicion of trichomoniasis. That is to say, trichomonads were found in 45% of bulls in whose sheet washings there were more than 50% of leucocytes in proportion to the epithelial cells. In the group of bulls showing 30—50% of leucocytes in the washings 39% were infected, and finally in the group of bulls showing less than 20% of leucocytes in the washings only 11% of bulls were found to be infected.

Piśmiennictwo.

Haq, I., Rollinson D. H., Brit. Vet. Journ., 1948, 2,

Jaśkowski, Dobrowolska, Domański, Grycz, Gurlicki, Iwański, Zalewska, Medycyna Wet. 1949, 12

Johanson K. R., Morgan B. B., Winkler C. H., J. of Bact. 1947, 3.

Morgan B. B., Bovine Trichomoniasis, Minneapolis, 1946

Miedzdrin M. D., Wietierinarija, 1949, 8

Kaplan M., Med. Wet. 1947, 12, Med. Wet. 1949, 6, str. 483

Schneider E., Schweiz. Arch. f. Tierheilk., 1948, 9—10

Schneider M., J. of Parasitolog., 1942, 28

STANISŁAW PIWOWARCZYK

Próby diagnozowania gruźlicy u psów na podstawie hodowli na pożywkach jajowych z równoczesnym określaniem typu prątka gruźliczego

Z Zakładu Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu Warszawskiego

Kierownik: Prof. dr ABDON STRYSZAK

Badanie psów w kierunku gruźlicy opiera się głównie na badaniu klinicznym mikroskopowym materiału pobranego oraz biologicznym (szczepienie świnki morskiej). Badanie gruźlicy psów za pomocą tuberkulinizacji daje przeważnie wynik ujemny lub wątpliwy.

W pracy niniejszej starałem się wykazać, czy i w jakim stopniu próbę biologiczną można zastąpić hodowlą na pożywkach jajowych, szczególnie w przypadkach mikroskopowo ujemnych wyników badanego materiału. Do badania używano materiału z kli-

niki chorób wewnętrznych, zakaźnych oraz zakładu anatomii patologicznej Wydziału Weterynaryjnego U. W. w postaci wysięków z jamy brzusznej, płaski piersiowej, ropy z dostępnych gruźliczo zmienionych węzłów chłonnych, np. podżuchwowych, lub też wyściłków narządów wewnętrznych gruźliczo zmienionych ze zwierząt padłych. Poza tym wykonano badanie na obecność flory bakteryjnej towarzyszącej za pomocą posiewów na pożywce agarowej, na agarze z krwią, bulionie z surowicą itp. Materiały nie zawierające flory bakteryjnej towarzyszącej, badano