

FELIKS ANCZYKOWSKI

W sprawie standaryzacji barwionej zawiesiny Br. abortus do aglutynacji. II. Namnażanie szczepu a wiek hodowli

Z Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach. Zakład Chorób Bydła.
Kierownik: Doc. dr FELIKS ANCZYKOWSKI

W dalszym ciągu panuje wśród szeregu autorów niezgodność co do tego, w jakim wieku powinno się używać hodowlę na butelkach Roux w cyklu masowego wytwarzania żywej i pełno żywotnej zawiesiny do przyżyciowego barwienia jej solami tetrazolu. Chodzi o to, że im starsza zawiesina, tym więcej ma ona zawierać słabo żywotnych, a nawet martwych komórek bakteryjnych, które w środowisku roztworu soli tetrazolu barwią się słabiej aniżeli komórki bakteryjne pełnożywotne, bądź też nie ulegają zabarwieniu zupełnie. Na szczególne podkreślenie na tym miejscu zasługują wymagania *Gregoryego*, który wyklucza posługiwanie się w omawianym przyżyciowym barwieniu zawiesin hodowlami starszymi aniżeli 44^h.

W niniejszym doniesieniu przedstawiono wyniki prac, podjętych w celu w miarę możliwości rozstrzygającego załatwienia jaki wiek hodowli spełnia optymalnie wymogi pod względem barwliwości spłuczyny i jednocześnie wydajności produkcyjnej.

Przebieg i wyniki doświadczeń

Badania wykonano z 17 seriami zawiesin, wyprodukowanych łącznie na 11 partiach podłoża, przy czym każda seria ze względu na kontrolę była jednocześnie wykonywana trzykrotnie. Dwanaście serii przebadano w skali laboratoryjno-doświadczalnej, natomiast pięć serii pozostałych wyprodukowano i sprawdzono w skali technicznej. W ocenie przydatności zawiesin posługiwano się czterema kryteriami: obfitością zbioru hodowli, ewentualnie zachodzącymi zmianami dysocjacyjnymi, aglutynabilnością zawiesin, oraz ich barwliwością.

1. Obfitość zbioru hodowli

Standartowy szczep hodowano na agarze kartoflanym przy zastosowaniu własnej techniki, która szczegółowo zostanie podana w odrębnym doniesieniu (II). Ogólnie biorąc do spłukiwania hodowli użyto, zamiast roztworu fizjologicznego NaCl, buforowanego płynu odżywczego. Obfitość zbioru wyrażała się w otrzymanej gęstości spłuczyny z butelek Roux. Zawartość masy bakteryjnej w spłuczynach ustalono drogą wirowania w próbkach Hopkinsa-Fitcha. W omawianym postępowaniu zmienność próbkowa sprawdzona rachunkiem statystycznym nie przekraczała dopuszczalnych granic, jak również nie stwierdzono istotnych różnic między poszczególnymi wirowaniami. Każdą zawiesinę wirowano jednocześnie w 4 próbkach. Obliczony przedział

ufności dla średnich z czterech próbek Hopkinsa-Fitcha wynosił 0,04 Vol. ‰

Najślabszy zbiór otrzymano z hodowli 24^h. W miarę przedłużania okresu hodowli wzrastała ustawicznie obfitość zbioru, osiągając najwyższe wartości z hodowli 96^h. W krańcowych przypadkach różnica w gęstości zbiorów osiągała siedmiokrotną wartość. Mała ilość płynu (10 ml), jaką trzeba było używać do spłukiwania hodowli 24^h dla otrzymania gęstości spłuczyny w granicach standartowych (10 Vol. proc.), utrudniała pracę i nie zawsze dawała pewność, że zbiór hodowli będzie odpowiadał ujednostajnionym wymogom. Zmudna praca i słaba wydajność przemawiały więc wyraźnie przeciw stosowaniu 24^h hodowli do wytwarzania zawiesiny.

Nie stwierdzono wyraźnego wpływu partii podłoża na obfitość zbioru hodowli. Natomiast obniżało wydajność hodowli niedokładne wysiewanie materiału na butelkach Roux, oraz wadliwa jakoś samych butelek (wkleśłe ściany do wewnątrz, co umożliwiło uzyskiwanie jednolicie grubej warstwy podłoża w naczyniach).

2. Zmiany dysocjacyjne zawiesin

Przed każdym posiewem na butelki Roux sprawdzano szczep bruceli pod względem czystości fazy S, wzgl. I. W tym celu posługiwano się metodą płytkową Henryego oraz zmodyfikowaną metodą Henryego przez White'a & Wilsona. Natomiast spłuczyny bakteryjne z butelek Roux, jak również zawiesiny barwione kontrolowano w odczynie termoaglutynacji w modyfikacji własnej (Anczykowski F. — Med. Wet. 1946 i 1947) oraz za pomocą roztworu akriflawiny 1:1000.

Nie stwierdzono, aby szczep S-19 dawał zmienione dysocjacyjne zawiesiny z hodowli 24^h, 40^h, 44^h, 48^h, 72^h, bądź też 96^h. Również ujemnie wypadły w próbach na szorstkość zawiesiny już zabarwione chlorkiem terazolu.

3. Zlepliwość zawiesin

Aglutynabilność zawiesin sprawdzano za pomocą aglutynacji próbkowej, którą wykonywano techniką standartową. Próby nastawiano z dodatnimi i ujemnymi surowicami bydłecymi i króliczymi, i z zawiesinami o gęstości 4 Vol. ‰ ustabilizowanymi (po 2 tygodniach). Dawka zawiesiny wynosiła 0,05 ml na 1 ml zawartości w poszczególnych próbkach.

Nie stwierdzono godnych uwagi różnic w zlepliwości żadnej z badanych zawiesin.

4. Barwliwość zawiesin

Spluczyny z butelek Roux o gęstości doprowadzonej do 10 Vol.‰ barwiono przyżyciowo chlorkiem 2,3,5-trójfenylnitrazolu według metody Bendtsena w modyfikacji własnej (patrz doniesienie III). Barwliwość zawiesin sprawdzono dwoma sposobami: Fotokolorymetrycznie (badano 0,5 Vol.‰ zawiesiny w kiwetach o grubości warstwy 0,5 cm, i przy użyciu filtra S-53), oraz własną metodą wirowania, polegającą na sprawdzaniu jednolitości barwy osadu po odwirowaniu zawiesiny. Okazało się mianowicie, że, jeśli użyje się do barwienia zawiesinę niejednorodną pod względem żywotności zawartych w niej komórek bakteryjnych, formuje się na dnie probówek pierścieniowaty osad rozmaicie intensywnie zabarwionych bakterii. Prawidłowa zawiesina po odwirowaniu daje osad jednolicie zabarwiony na kolor ciemno-buraczkowo-czerwony. Wydaje się przeto konieczne wprowadzenie powyższej metody wirowania do powszechnego użytku dla umo-

żliwienia pełnej kwalifikacji wytwarzanej w praktyce zawiesiny diagnostycznej.

Ogólnie biorąc okazało się, iż barwią się bez zastrzeżeń spluczyny z hodowli 24^h, 40^h, 44^h, 48^h i 72^h. Natomiast spluczyna z hodowli 96^h wypadła w próbie negatywnie.

Ze względów ekonomicznych, jak również biorąc pod uwagę dotychczasowy sposób standardowego postępowania przy sporządzaniu zawiesiny niebarwionej — wybór padł na zawiesinę z hodowli 72^h, oczywiście pod warunkiem że przy wytwarzaniu omawianej zawiesiny do barwienia będzie przestrzegana zastosowana przez mnie technika postępowania. W ten sposób, jeśli chodzi o wiek hodowli, będzie można posługiwać się taką samą zawiesiną barwioną i nie barwioną. Zapewnia to jednolitość w postępowaniu nawet w przypadkach, kiedy w praktycznym użyciu będzie się ew. korzystało nadal z obu rodzajów zawiesin — z zawiesiny barwionej i nie barwionej *).

*) Praca w oryginale zostanie opublikowana w Roczn. Nauk Roln. Seria E.

STEFAN KOSSAKOWSKI

Paławy

Przypadek gruźlicy u psa

Gruźlica psów, ze względu na stałe przebywanie ich wśród ludzi i innych zwierząt domowych, posiada duże znaczenie epidemiologiczne. Zagadnieniu temu jednak poświęca się niestety w literaturze mało na ogół miejsca, przy czym większość ukazujących się doniesień jest publikowana przez patologów, mniej zaś przez klinicystów.

Niektóre objawy chorobowe tbc u psów opisał po raz pierwszy *Gadiot* w 1893 r. Bardziej szczegółowo przedstawiał obraz kliniczny tbc u psów w 1914 r. *Douville*, który określił ją jako „jedyną chorobę wśród innych schorzeń psów o wielkiej zmienności objawów”. Obszerne studia nad tbc psów przedstawił *Smythe*, *Ouler* i *Stableforth* (1936), *Olsen*, *Schubre* — *Meese* (1957) doniesienia zaś kliniczne opublikowali *Blair*, *Lesbouyries*, *Hinz* i *Schroder*, *Moltzen* — *Nielsen* i *Plum*, *Gratzel*, *Larsen* i *Plum*, *Tennissen* i *Treudiger*.

Według tych autorów gruźlicą zarażają się psy przeważnie od osób chorych, przy czym rozprzestrzenienia się ona przede wszystkim wśród psów przebywających w miejscach publicznych, restauracjach itp. W wypadkach tych chodzi przeważnie o zakażenie typem ludzkim. *Verge* i *Senthile* stwierdzili u psów w 65,7‰ typ ludzki, w 34,3‰ typ bydłowy, *Cheyrolles* w 65,7‰ typ ludzki, w 32‰ typ bydłowy, w 0,3‰ typ ptasi i w 2‰ lasecz. atypowe; *Hjärre* w 70‰ typ ludzki i w 30‰ typ bydłowy.

W oparciu o zmiany sekcyjne, różni autorzy starają się określić drogą zakażenia, co ma duże znaczenie epidemiologiczne. *Nieberle* i *Pallaske* stwierdzili zakażenia w 64,8‰ przez przewód oddechowy, w 31,5‰ przez przewód pokarmowy i w 3,7‰ przez skórę. *Hjärre* zaś w 59‰ przez przewód oddechowy, w 37‰ przez przewód pokarmowy i w 4‰ przez skórę, *Böhm* w 67‰ przez przewód oddechowy, w 33‰ przez prze-

wód pokarmowy, *Zakrzewski* w 54‰ przez przewód oddechowy i w 46‰ przez przewód pokarmowy.

Gruźlica występuje w zasadzie wśród ras całej populacji psów, *Hjärre* jednak obserwował, że częściej były zakażone fox-terriery, boxery, buldogi i setery irlandzkie, aniżeli inne rasy, co potwierdza *Latzel*, wyłączając jedynie z grupy tej buldogi. Wielu autorów donosi o częstszym występowaniu gruźlicy u osobników męskich niż u żeńskich. *Joest* stwierdził w 69‰ przyp. tbc u samców i w 31‰ u samic, *Lovell* i *White* w 85‰ u samców i w 15‰ u samic, *Hjärre* w 37‰ u samców i w 27‰ u samic, *Zakrzewski* w 79,2‰ u samców i w 20,8‰ u samic. Odnosnie wieku psów *Hjärre* twierdzi że tbc. u psów występuje najczęściej pomiędzy 1—4—7 rokiem, wg. *Pallaske* między 1—5 rokiem, natomiast *Zakrzewski* nie stwierdza wyraźnego szczególniejszego nasilenia gruźlicy w ściśle określonym wieku psów.

Wszystkie powyższe dane opierają się głównie na materiale sekcyjnym, jednak należy podkreślić, że znaczna ilość przypadków klinicznych pozostaje nie rozpoznana. Stad też, jak zaznacza *Pallaske*, wszelkie statystyki dotyczące występowania tbc u psów nie przedstawiają faktycznego stanu.

Przypadek własny dotyczy psa — samca rasy owczarek niemiecki, maści wilczatej, w wieku około 1 roku, zakupionego do Zakładu tresury u Ob. H. J., który skutkiem zmiany warunków mieszkaniowych związanych z przeniesieniem do Warszawy był zmuszony zrezygnować z psa. Stan pielęgnacji i kondycji psa w okresie zakupu na ogół dobre.

Po około 15 dniach szkolenia w niezbyt sprzyjających warunkach atmosferycznych (październik — listopad) pies został doprowadzony do kliniki (dnia 5.XI.) z powodu, jak po-