

O m ó w i e n i e

Wyniki średnie procentowej zawartości oksytterracyiny w 9 koncentratach i 4 mieszankach paszowych, uzyskane przy jej oznaczaniu metodą zmodyfikowaną (HCl) i klasyczną (MK) przedstawiono w tabeli 1. Przedstawione w tabeli dane przekonują, że wyniki przy ekstrakcji oksytterracyiny z pasz 1 n kwasem solnym i oznaczaniu jej % zawartości na jednowarstwowym 8 ml podłożu, zawierającym 1,5% agaru, są prawie identyczne, jak przy ekstrakcji antybiotyku metanolem kwaśnym i przy oznaczaniu na dwuwarstwowym podłożu. Uwidocznione niewielkie różnice dochodzące w niektórych przypadkach tylko do ok. 2% mogą wynikać z nierównomiernego wymieszania antybiotyku w paszy, bądź z błędu przy odczycie.

Metoda ekstrahowania oksytterracyiny z pasz 1 n kwasem solnym i oznaczania antybiotyku na jednowarstwowym podłożu, zawierającym 1,5% agaru, pozwala na całkowite wyeliminowanie metanolu i zmniejszenie ogólnej ilości pożywki o 33%, a w tym agaru o 40%. Dzięki więc całkowitej, względnie częściowej redukcji drogich i trudno osiągalnych surowców, koszt badania jednej próbki paszy, przeprowadzane go na 4 płytkach, obniża się wg obliczeń z 7,90 zł przy metodzie klasycznej, do 0,90 zł przy metodzie zmodyfikowanej, czyli o prawie 89%. Ograniczenie się zaś do sporządzania tylko jednego rodzaju pożywki agarowej i do jednokrot-

nego napełniania tą pożywką płytek Petriego — zmniejsza czas i pracochłonność o ok. 20%.

Nawiązując do tabeli 2 należy podkreślić, że przy ekstrahowaniu oksytterracyiny z koncentratów, zarówno metanolem kwaśnym, jak i kwasem solnym 1 n, wyniki były powtarzalne i prawie identyczne (100%).

W n i o s k i

1. Opracowana zmodyfikowana metoda mikrobiologicznego oznaczania oksytterracyiny w paszach, polegająca na ekstrakcji antybiotyku 1 n kwasem solnym i przy użyciu jednowarstwowego agaru 1,5% w ilości 8 ml na jedną płytkę o $\phi 9$ cm, w niczym nie ustępuje metodzie zazwyczaj stosowanej (MK).

2. Koszt analizy opracowaną metodą zmniejsza się o ok. 89%, a czas pracy o ok. 20%.

P i ś m i e n n i c t w o

1. Braude R., Kon S. K., Porter J. W. G.: Nutrit. Abstr. Rev. Aberdeen 23, 3, 437, 1953.
2. Ewdokimow P. D.: Antibiotiki w wietierinarii i żywotnowodstwie. Lenizdat 103, 1964.
3. Gauze G. F.: Lekcii po antibiotikam. Moskwa 14—15, 1956.
4. Giernuch A. M., Kivman T. J.: Antibiotiki grupy tetracyklinow. Medgiz 296—316, 1962.
5. Grove D. C., Randall W. A.: Assay methods of antibiotics a laboratory manual. Medical encyklopedie. Nev York 1955.
6. Korzybski T., Kuryłowicz W.: Antybiotyki. PWN W-wa 1959, 399—408.
7. Kramery V., Ciznar I., Helcłova M., Zelkova E.: Veterinarni Medicina 2, 1964.
8. Rzewniś K., Roślik D.: Medycyna Wet. 593—596, 1959.
9. Stokstad E. L. R., Jukes T. H.: Prec. Soc. Expr. Biol. and Med. 73:523, 1950.

Adres autora: dr Paweł Połujański, Warszawa, ul. Białobrzaska 19/42.

JERZY ZAHACZEWSKI, ANDRZEJ KOMOROWSKI

Prosty zestaw do hodowli drobnoustrojów beztlenowych

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Rzeszowie
Kierownik: dr J. ZAHACZEWSKI

Zagadnienie diagnostyki drobnoustrojów beztlenowych nastęrcza duże trudności w pracowniach bakteriologicznych. Szczegółowa diagnostyka laseczek beztlenowych posiada wielkie znaczenie zarówno w badaniach produktów spożywczych (rozróżnianie drobnoustrojów beztlenowych chorobotwórczych — *Cl. botulinum*, *Cl. perfringens* od drobnoustrojów niechorobotwórczych mających jednak zasadniczy wpływ na jakość i trwałość produktów), jak i w badaniach bakteriologicznych na szelestnicę, bradsołowiec, enterotoksemię itp.

Stosowane dotychczas powszechnie u nas, w terenowych laboratoriach metody diagnostyk laseczek beztlenowych, szczególnie w badaniu środków spożywczych, opierają się na prostych podłożach (bulion Wrzoska, agar słupkowy, podłoże Wilson-Blaira) pozwalających jedynie na identyfikację grupową w obrębie tego rodzaju drobnoustrojów.

Poważną przyczyną tych trudności diagnostycznych jest między innymi brak, lub niedoskonałość posiadanych przez terenowe laboratoria bakteriologiczne odpowiedniego sprzętu do hodowli drobnoustrojów beztlenowych.

Według Willisa (6) i Hallmana (2) Lwowa (4) i Kowalenki (3) istnieją 4 zasadnicze metody hodowli drobnoustrojów beztlenowych.

1) Hodowla w aparacie Mc Intosh'a — uważana za

najdoskonalszą. Polega na obniżeniu w słoju potencjału oksydoredukcyjnego przez spalanie wodoru w obecności tlenu przy katalitycznym działaniu rozżarzonego włókna platynowego. Wobec braku w handlu aparatów Mc Intosha, stosowanie ich u nas jest bardzo ograniczone.

2) Metody chemiczne. Polegają one na umieszczeniu w szczelnym naczyniu posiewu wraz z mieszaniną związków pochłaniających tlen. Do najczęściej używanych związków pochłaniających należą: pyrogallol dwutlenku sodu w mieszaninie z węglanami. Metody te charakteryzuje duża wygoda, praktyczność i niewielkie wymagania w sprzęcie. Istnieje wariant metody, polegający na bezpośrednim dodaniu do podłoża płynnego związków silnie redukujących (np. cysteiny, soli sodowej kwasu tioglikolowego) co pozwala na hodowlę w warunkach tlenowych.

3) Metoda próżniowa. Polega ona na hodowli drobnoustrojów w warunkach obniżonego ciśnienia parcjalnego tlenu usuniętego z naczynia lub termostatu próżniowego pompą próżniową. Metoda dawniej propagowana w starszych podręcznikach przed rozpowszechnieniem aparatu Mc Intosha i metod chemicznych, ma jednak szereg wad. Za najważniejszą wadę należy uznać słabą gwarancję osiągnięcia odpowiedniej próżni. Równocześnie, często obserwuje się kondensację pary na powierzchni podłoża stałych. Wilgot-

ność powierzchni płytek powoduje wzrost nietypowych morfologicznie kolonii, co zasadniczo utrudnia wstępną diagnostykę laseczek. Ponadto raptowne wahania ciśnienia mogą być przyczyną odklejania się podłoża od płytek. Ze względu na te wady przydatność metody jest ograniczona. Znajduje ona raczej zastosowanie do hodowli drobnoustrojów mało wrażliwych na śladowe ilości tlenu nie usuniętego z aparatu. Mimo niedokonałości ze względu na dostępność aparatury, metoda próżniowa znajduje zastosowanie w licznych laboratoriach.

4) Metoda biologiczna. Polega ona na równoczesnej hodowli w pojemniku drobnoustrojów beztlenowych i bezwzględnych tlenowców lub żywych tkanek roślinnych. Zdolność pochłaniania tlenu z pojemnika przez drobnoustroje tlenowe lub tkanki roślinne jest ograniczona co czyni metodę mało popularną.

Mając do dyspozycji aparat próżniowy, nie zdający w naszych warunkach egzaminu, zmuszeni byliśmy uciec się do zmodyfikowanej chemicznej metody Moszela (1) i (5), w której deficytowy pyrogallol zastąpiono z zadawalającym wynikiem dwutlenkiem sodu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$). Wyniki uzyskane dzięki tej metodzie okazały się zadawalające, jednakże metoda była mało ekonomiczna, a dodatkową jej wadą jest szybkie rozpuszczanie się zwilgotniałej mieszaniny dwutlenku sodu i kwasnego węgla sodu, co powodowało tworzenie się zacieków.

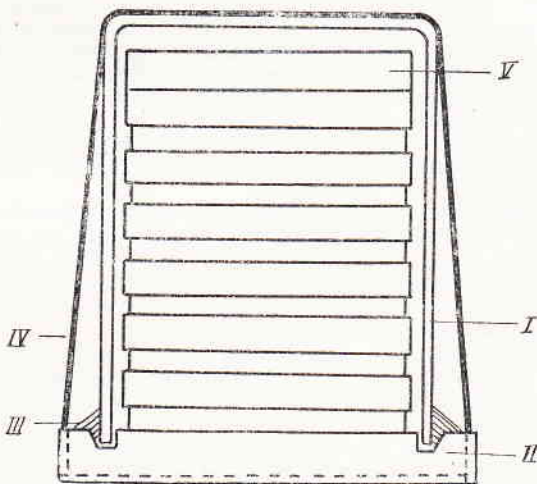
W tej sytuacji opracowaliśmy wygodny zestaw do hodowli beztlenowców metodą chemiczną (rys.1). Zestaw składa się:

1) klosza szklanego (rys.1-I) o wymiarach — 17cm wysokości, 11 cm średnicy i 4 mm grubości ścianek.

2) podstawy wykonanej z tworzywa sztucznego (rys.2) o średnicy 14,5cm i grubości 15mm.

3) opaski gumowej o szerokości 1,2 cm, obwodzie 48cm i grubości 3mm (rys.1-IV). Klosz mieści 6 płytek Petriego \varnothing 10cm oraz zbiorniczek szklany (połowa płytki Petriego) na wilgotną mieszaninę redukującą (rys.1-V). Podstawa (rys.1-II i rys.2) wytoczona jest z tworzywa sztucznego o grubości 15 mm kształtu okrągłego.

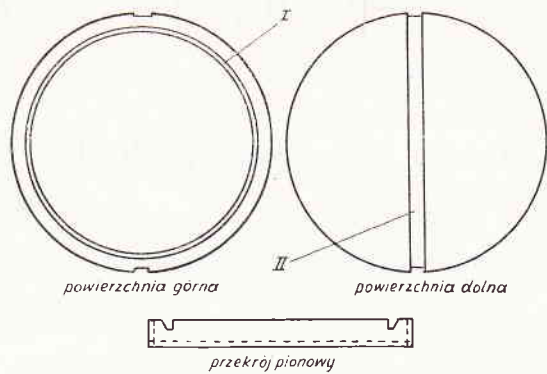
Rys.1. Zestaw do hodowli laseczek beztlenowych (przekrój pionowy)



Na górnej powierzchni podstawy znajduje się rowek (rys. 2-I) o głębokości 5mm, o wewnętrznej ścianie prostopadłej i zewnętrznej ukośnej. Przestrzeń między ukośną ścianką rowka a prostopadłą ścianką klosza wypełniona jest walczykiem plasteliny (rys.1-III) uszczelniającym klosz z pożywkami.

Dolna powierzchnia podstawy oraz jej część boczna posiada rowek o szerokości 1,2 cm i głębokości 4 mm mieszczący opaskę gumową (rys.2-II), która obejmuje

Rys. 2. Podstawa



podstawę wraz z kloszem. Opaska wykonana jest z wycinka dętki samochodowej, mieści się w rowku na powierzchni dolnej i bocznej podstawy. Zadaniem opaski jest ściśle zespolenie klosza z podstawą oraz zabezpieczenie przed rozłączeniem tychże pod wpływem dwutlenku węgla tworzącego się w reakcji dwutlenku sodu, kwasnego węgla sodu i wody.

Przygotowanie zestawu jest czynnością nieskomplikowaną. Płytki ustawia się na podstawie, na nich umieszcza się zbiorniczek wypełniony mieszaniną kwasnego węgla sodu i dwutlenku sodu (po 15 g). Mieszaninę zwilża się wodą. Całość natychmiast przykrywa się kloszem, okleja plasteliną i zakłada opaskę gumową. Tak zmontowany zestaw umieszcza się w cieplarni.

Powyższy zestaw jest stosowany od dłuższego czasu w tutejszym Zakładzie. Pozwolił on na hodowlę bez większych trudności tak wrażliwych drobnoustrojów jak *Cl. jejersi*, *Cl. botulinum*, *Cl. tetani*.

Zaletami zestawu są:

1) nie gromadzenie się wody kondensacyjnej na powierzchni płytek, przez co uzyskujemy wzrost typowych morfologicznie kolonii.

2) możliwość wizualnej kontroli wzrostu drobnoustrojów przy bocznym oświetleniu klosza. Pozwala to na prowadzenie hodowli od momentu uzyskania optymalnego wzrostu kolonii.

3) prostota urządzenia.

4) niski koszt, wynoszący około 100 zł.

Naszym zdaniem powyższy zestaw zasługuje na uwagę i mógłby być stosowany w licznych laboratoriach mających trudności w hodowli laseczek beztlenowych.

Piśmiennictwo

1. Burbianka M., Piłszka A.: Mikrobiologiczne badania produktów żywnościowych. 1963, 79.
2. Hallman L.: Bakteriologie und Serologie. 1961, 347—353.
3. Kowalenko J. R.: Anaerobnyje infekcji sielskochozajstwiennych žiwotnych. 1954, 11—22.
4. Lwow W. M.: Laboratornaja diagnostika anaerobnych zaboliewanii sielskochozajstwiennych žiwotnych. 1951, 28—35.
5. Meisel H.: Mikrobiologia lekarska. 1951, 51—55.
6. Willis A. T.: Anaerobic bacteriology in clinical medicine.

Adres autora: Jerzy Zahaczewski, Rzeszów, ul. Nowotki 12a.

WIESIEŁOWA T. P., DOROSZYNA M. W.: Wypróbowanie hexachlorparaksylolu przy fasciozie bydła. (Ispytanie heksachlorparaksilola pri fasciozie krupnowo rogatowo skota). Wietierinaria (Moskwa) 43, 9, 41—42 (1966).

Preparat wykazał dużą skuteczność. Dawka w paszy 0,5 g/kg dla młodych zwierząt jednorazowo, a dla dorosłych dwukrotnie, z odstępem 10 dni. Przy użyciu preparatu należy wykluczyć z karmy (2 dni przed i po podaniu) pasze sprzyjające wystąpieniu w przewodzie pokarmowym procesów fermentacyjnych.

T. J.