

оболочки и придатка (по Baiburtcjan), или с устранением оболочки и придатка, оказались менее выгодными, чем метод Rosenberger. Иссечение придатка (Rosenberger) вызывает расстройство сперматогенеза; хирургическое устранение паренхимы приводит к инсулярной регенерации паренхимы яичка. Оставление придатка с удалением яичка устраняет полностью сперматогенез; выводные протоки являются в том случае выполнены слущенным эпителием или выделениями.

Badura R., Kaszubkiewicz C., Króliczek A., Osiński B., Preś J. — **Comparative examinations of economic and surgical effects in bulls following the application of chosen methods of castration.**

Comparative examinations have been conducted in order to estimate an increase of body weight after the application of three surgical methods of castration in bulls. It was stated that the best economic

and surgical effects were obtained in bulls castrated acc. to Rosenberger's method (resection of the part of the epididymis). This method gave similar economic effects (increase of body weight, utilization of food and meat quality) as one can obtain in noncastrated bulls in modern industrial intensive fattening process. Baiburtcjan's method (removal of the testical parenchyma with leaving of the intima propria and epididymis) and also with the removal of testis and leaving the epididymis proved to be less effective than Rosenberger's method. The removal of the epididymis acc. to Rosenberger brings about some disturbances in spermatogenesis, but the surgical removal of testical parenchyma acc. to Baiburtcjan leads to the islet regeneration of testes. Leaving of the epididymis in the case of removal of the testes depressed spermatogenesis entirely, and the efferent ducts are filled with the desquamated epithelium or with secretion.

## CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, MARIA SŁUŻEWSKA

### Badania nad wyborem optymalnej metody wykrywania drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella* w przemysłowych mieszankach paszowych\*)

Zakład Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach  
Kierownik: prof. dr M. TRUSZCZYŃSKI

Przemysłowe mieszanki paszowe, zakażone drobnoustrojami chorobotwórczymi, stanowią jedno z ważniejszych źródeł chorób zakaźnych u zwierząt. Stosunkowo często spotykane jest zakażenie salmonelami, zwłaszcza składowych komponent tych pasz, takich jak mączka rybna lub mięsno-kostna (1, 4, 8, 10, 11). Powyższe zagadnienie nabrało znaczenia szczególnie w ostatnich latach w związku ze wzrastającym importem mączek rybnych i mięsno-kostnych z krajów o niezadawalającym poziomie higieny. Konieczna staje się zatem kontrola bakteriologiczna wymienionych produktów, tym bardziej, iż mieszanki paszowe znajdują szerokie zastosowanie w produkcji zwierzęcej typu przemysłowego. Ze względu na jej masowość oraz obniżone przy tej specyfice produkcji mechanizmy obronne ustroju zwierzęcego (9) zakażone salmonelami pasze mogą stać się przyczyną występowania poważniejszych strat z powodu salmonelozy.

Podstawą w bakteriologicznym badaniu przemysłowych mieszanek paszowych jest odpowiedni dobór metod. Wykrywanie bowiem w tym materiale drobnoustrojów chorobotwórczych nie jest łatwe. Łączy się to z obniżeniem ich funkcji fizjologicznych w wyniku bytowa-

nia w niekorzystnych warunkach, co określa się stanem „uśpienia” (12).

Konieczne jest zatem dążenie do opracowania możliwie czułych metod izolowania salmonel z pasz i ich komponent. Znanych jest szereg prac na ten temat (1, 2, 3, 4, 5, 11, 12). Na szczególną uwagę zasługuje włączenie do procedury badawczej preinkubacji (2, 5). Polega ona na wstępnym „ożywianiu” bakterii przy użyciu podłoża płynnych, w których znajdują korzystne warunki wzrostu.

Istnieje jednak potrzeba dalszego ulepszania metodyki izolacji salmonel z mieszanek paszowych. Z tego względu podjęto w tym zakresie badania własne. Celem ich było określenie wpływu na wzrost salmonel wstrząsania hodowli w ciągu 18 godzin preinkubacji. Sposób ten nie był dotąd w odniesieniu do mieszanek paszowych stosowany. Porównywano też przydatność do namnażania salmonel bulionu zwykłego i bulionu z mannitolem i krwią (5) z wybranym przez siebie do tego celu bulionem Hottingera (6). Konfrontowano również wyniki przesiewu materiału badanego po 18 godzinnej preinkubacji na podłożu stałym z kolejnym przesiewem i dalszą 48-godzinną hodowlą na pożywce Müller-Kaufmanna (7), przed przesiewem na podłożu stałym. W badaniach uwzględniono znaczenie dla izolacji salmonel wielkości bada-

\*) Praca była referowana na XL Sesji Ogólnej Międzynarodowego Urzędu Epizootii (OIE) w Paryżu, w maju 1972.

nej próby i objętości podłoża płynnego, stosowanego do hodowli, oraz czasu i temperatury inkubacji.

#### Materiał i metody

Użyto szczep *S. dublin* nr 51, który znajduje się w Kolekcji Drobnoustrojów Zakładu Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach. Jako podłoże do namnażania służyły bulion zwykły i bulion wg Hottingera (6). Znajdowały się one w probówkach po 10 ml i w kolbkach po 200 ml. Posiane podłoża inkubowano w temperaturze 37°C w ciągu 24 godzin. Część z nich wstrząsano przez podany przeciąg czasu przy pomocy wytrząsarki uniwersalnej typu WS-2. Po 24-godzinym wzroście liczbę żywych drobnoustrojów w 1 ml określano za pomocą metody płytkowej Kocha (13). Dodatkowo dokonywano pomiaru gęstości optycznej hodowli bakteryjnych przy długości fali 655 nm, posługując się kolorymetrem firmy Coleman Jr.

Tab. 1. Liczba *S. dublin* w 1 ml w zależności od podłoża i metod hodowli.

Podłoże i metody hodowli	Absorpcja przy długości fali 655/nmu	Liczba drobnoustr. ml w 1 ml
Bulion zwykły w probówkach hodowla niewytrząsana	0,125 <sup>*)</sup>	0,625
Bulion zwykły w probówkach hodowla wytrząsana	0,215	1,070
Bulion zwykły w kolbce hodowla wytrząsana	0,255	1,215
Bulion Hottingera w probówkach hodowla niewytrząsana	0,185	0,925
Bulion Hottingera w probówkach hodowla wytrząsana	0,350	1,750

Objaśnienie: \*) średnie z trzech powtarzanych doświadczeń.

Do badań użyto mączkę rybną, importowaną z jednego z krajów Ameryki Łacińskiej, z której pobrano 100 próbek. Wyjściowa wielkość próby badanej wyniosła 20 g. Rozpuszczano ją w 180 ml bulionu z dodatkiem 0,5% mannitolu, uzyskując rozcieńczenie 1:10. Całość wstrząsano w temperaturze 37°C w ciągu 1 godziny. Następnie przenoszono 20 ml płynu wraz z mieszaną paszową do kolejnej kolbki, zawierającej 180 ml bulionu z mannitolem. Po 1 godzinie wytrząsania, jak wyżej, z kolbki tej przenoszono 20 ml płynu do trzeciej kolbki. Zawierała ona podłoże to samo i w takiej samej ilości jak poprzednie kolbki. W ten sposób uzyskano rozcieńczenie 1:1000. Kolbkę tę podobnie, jak poprzednio, wytrząsano 1 godzinę w temperaturze 37°C. Z każdego z rozcieńczeń wysiewano następnie po 1 ml materiału do dwóch próbek, zawierających po 9 ml bulionu Hottingera (6) oraz do dwóch dalszych, zawierających po 9 ml bulionu zwykłego z dodatkiem 0,5% mannitolu i 10% odwołnionej krwi końskiej (5). Jeden zestaw, w skład którego wchodziły probówki zawierające pierwsze i drugie podłoże, hodowano w temperaturze 37°C, stosując wstrząsanie przez 18 godzin. Drugi, analogiczny zestaw próbek hodowano bez wstrząsania w temperaturze 43°C przez 48 godzin. Kolejnym punktem badań był

przesiew z każdej z wymienionych wyżej probówek w ilości 0,1 ml na płytkę o średnicy 10 cm, zawierającą podłoże BG (7) oraz po 1 ml do podłoża Müller-Kauffmanna (7), znajdującego się w probówkach w ilości po 9 ml. Z tego ostatniego podłoża po 48 godzinach dokonano przesiewu, jak wyżej, na podłoże BG. Po 48 godzinach hodowli na podłożu BG kolonie nie rozkładające laktozy i wyglądem zbliżone do kolonii salmonel przesiewano na agar zwykły, z którego po 24 godzinach pobierano materiał do aglutynacji HM i O, w celu ustalenia serotypu (7). Kolonie te przesiewano również na rząd biochemiczny (7) dla potwierdzenia przynależności szczepu do rodzaju *Salmonella*.

#### Wyniki

W pierwszej serii doświadczeń, powtarzanych trzykrotnie, badano wpływ rodzaju podłoża, jego objętości i wstrząsania na intensywność wzrostu czystej hodowli *S. dublin*. Wyniki przedstawia tab. 1.

Jak widać z tab. 1 najlepszy wzrost uzyskano w przypadku hodowli, znajdującej się w większej objętości w kolbce — w porównaniu do objętości zawartej w probówce oraz przy wytrząsaniu w czasie wzrostu. Spośród użytych podłoży lepszy okazał się bulion wg Hottingera niż bulion zwykły.

Powyższe wyniki zostały wykorzystane do dalszych doświadczeń, których celem było opracowanie możliwie najlepszej metody izolacji salmonel z przemysłowych mieszanek paszowych. Badania te uwzględniały wpływ czynników podanych we wstępie. Wyniki przedstawia tab. 2.

Jak widać z tab. 2, największą liczbę izolacji salmonel, biorąc pod uwagę stopień rozcieńczenia próby badanej, uzyskano w przypadku użycia do badań mączki rybnej rozcieńczonej 1:10. W wyższych rozcieńczeniach, we wszystkich uwzględnionych kombinacjach, odsetek wyników dodatnich był znacznie niższy. Wyosobniono następujące serotypy: *S. choleraesuis*, *S. thompson* oraz szereg dotąd nieokreślonych. Największy odsetek prób, z których wyosobniono salmonelę, wykazano przy wstrząsaniu posianego bulionu Hottingera oraz przy kolejnym przesiewie na podłoże Müller-Kauffmanna. Różnica była jednakże niezbyt duża w porównaniu do wytrząsanego bulionu z mannitolem i krwią oraz w porównaniu do prób wstrząsanych i przesiewanych na podłoże stałe (BG) z pominięciem hodowli w podłożu Müller-Kauffmanna. Biorąc pod uwagę wyłącznie wpływ wstrząsania na wynik izolacji salmonel — wykazano przewagę hodowli wstrząsanych nad niewstrząsanymi we wszystkich kombinacjach z wyjątkiem jednej. Zabieg ten powodował, iż po 18 godzinach inkubacji uzyskano lepsze wyniki niż po 48-godzinnej hodowli podłoży niewstrząsanych. W zastosowanym układzie doświadczeń trudno było ustalić wpływ temperatury 37°C i 43°C na częstość izolowania salmonel — chociaż wydaje się, iż różnica ta nie była istotna.

Wykonane doświadczenia wskazały zatem na wartość w izolacji salmonel z przemysłowych mieszanek paszowych lub ich komponent podłoża Hottingera, jak też wstrząsania próbki badanej w czasie 18 godzin hodowli w temperaturze 37°C.

Tab. 2. Porównanie różnych metod izolacji salmonel z przemysłowych mieszanek paszowych.

Rozcieńczenie próby badanej	Hodowle wstrząsane				Hodowle niewstrząsane			
	Podłoże Hottingera, 15g, 37°C		Bulion z mannitolem i krwią, 18g, 37°C		Podłoże Hottingera, 48g, 43°C		Bulion z mannitolem i krwią, 48g, 43°C	
	przesiew na podł. BG	hodowla 48g na podł. MK i przesiew na podł. BG	przesiew na podł. BG	hodowla 48g na podł. MK i przesiew na podł. BG	przesiew na podł. BG	hodowla 48g na podł. MK i przesiew na podł. BG	przesiew na podł. BG	hodowla 48g na podł. MK i przesiew na podł. BG
1:10	37 <sup>*)</sup>	41	32	37	27	35	33	35
1:100	14	16	18	17	14	16	16	15
1:1000	12	14	8	7	10	11	10	12

Objaśnienie: \*) — procenty wyników dodatnich na 100 prób zbadanych, BG — podłoże z zielenią brylantową, MK — podłoże Müller-Kauffmanna.

## Omówienie wyników

W celu zwiększenia możliwości wyosabniania bakterii, w tym salmonel, z przemysłowych mieszanek paszowych szereg autorów (2, 5) wprowadziło do procedury badawczej preinkubację próby badanej w podłożu płynnym przed przesiewem na podłoże stałe. Dla zwiększenia intensywności namnażania się bakterii wprowadzono też dodatkowo 15 minutowe wstrząsanie posiadanego podłoża wzbogacającego, które następnie w ramach preinkubacji hodowano przez kolejne 18—24 godzin bez wstrząsania (2). W badaniach własnych, jak to wynika z dostępnego piśmiennictwa, zastosowano po raz pierwszy wstrząsanie przez cały okres preinkubacji, wynoszący 18 godzin. Zabieg ten zwiększył częstość izolacji salmonel z materiału badanego a oprócz tego przyczynił się do skrócenia czasu badania, w porównaniu do podłoża niewstrząsanych, które były inkubowane 48 godzin.

Do preinkubacji prób badanych były stosowane różne podłoża namnażające a zwłaszcza bulion z mannitołem (3) oraz takie pożywki namnażająco-wybiórcze jak podłoże Müller-Kauffmanna oraz pożywki z seleninem i cysteiną (2). W badaniach własnych porównano efektywność bulionu Hottingera z podłożem uznanym przez Kafła i Kossakowską (5) jako najlepsze spośród kilku badanych. Okazało się, iż pożywka Hottingera, daje takie same lub nieco lepsze wyniki.

W pracy własnej uwzględniono również wpływ wielkości próbki paszy, użytej do badań. Okazało się, iż ilość 20 g na 180 ml podłoża daje największe szanse wykrywania salmonel w porównaniu do ilości 10 i 100-krotnie mniejszej. Pokrywa się to z wynikami podanymi przez Gerichtera i Sechtera (2).

Stosowany w pracy własnej sposób izolacji, który polegał na przesiewie materiału po okresie wstrząsania dodatkowo na podłoże płynne wg Müllera-Kauffmanna nie zapewnił wyraźnie lepszych wyników niż wyłączna preinkubacja z wstrząsaniem. Wykazano też, iż lepsze warunki wzrostu salmonel uzyskuje się przy hodowli w kolbach w większej objętości podłoża niż hodując je w probówkach.

## Wnioski

1. Wstrząsanie w czasie preinkubacji przez 18 godzin podłoża wraz z mieszkanką paszową zwiększa liczbę izolacji salmonel w porównaniu z hodowlą niewstrząsaną.

2. Bulion wg Hottingera stanowi dobre podłoże do namnażania salmonel znajdujących się w mieszkankach paszowych.

3. Stosowanie wstrząsania i bulionu Hottingera skraca cykl badania mieszanek paszowej o 30 godzin w porównaniu do preinkubacji bez wstrząsania, wykonanej w bulionie z mannitołem i krwią.

## Piśmiennictwo

1. Bischoff J., Rohde R.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 69, 50, 1956.
2. Gerichter C. B., Sechter I.: Appl. Microbiol. 14, 711, 1966.
3. Hajna A. A.: Public Health Lab., 13, 83, 1955.
4. Jacobs J., Guinee P.A.M., Kampelmacher E. H., von Keulen A.: Zbl. Vet. Med. B 10, 542, 1963.
5. Kafel S., Kossakowska A.: Bull. Vet. Inst. Puławy, 1972 (w druku).
6. Kahlfeld F., Wahlich A.: Bakteriologische Nährboden-Technik, G. Thieme — Verlag, Leipzig 1938.
7. Kauffmann F.: The Bacteriology of Enterobacteriaceae, Munksgaard, Copenhagen, 1966.
8. Kielstein P., Bathke W., Schimmel D.: Mh. Vet.-Med. 26, 12, 1971.
9. Mayr A., Rojahn A.: Tierärztl. Umsch. 23, 553, 1968.
10. Parry W. H.: Med. Officer 109, 27, 1963.
11. Rohde R., Bischoff J.: Zentbl. Bakt. ParasitKde., 159, 145, 1956.
12. Silliker J. H., Deibel R. H., Fagan P. T.: Appl. Microbiol., 12, 100, 1964.
13. Truszczyński M., Janowski H.: Roczn. Nauk. Rol. 69-E-2, 225, 1959.

Adres autora: prof. dr Marian Truszczyński, Puławy, ul. 22 Lipca 3.

Трущиньски М., Служевска М. — Исследования по определению оптимальной методики обнаруживания бактерий из рода *Salmonella* в промышленных комбикормах.

Целью исследований было установление эффективности 18 часового встряхивания во время преинкубации культуры *Salmonella* на размножение этих микробов. Определяли тоже влияние на размножение палочек *Salmonella* применения бульона по Хоттингеру. Результаты полученные на твердой среде после 18 часовой преинкубации сравнивали с культурой подвергнутой преинкубации а потом выращиваемой на среде по Миллер-Кауффману и высеянной на твердую среду. Исследовали тоже влияние величины исследуемого образца комбикорма, количества среды, температуры и времени инкубации на выделение палочек рода *Salmonella*.

Установили, что 18 часовое встряхивание среды вместе с образцом комбикорма во время преинкубации увеличивает число положительных результатов выделения палочек сальмонеллы по сравнению с культурой не подвергнутой встряхиванию. Хорошей средой для выращивания палочек *Salmonella* из комбикормов оказался бульон по Хоттингеру. Применение встряхивания и бульона по Хоттингеру сокращало срок бактериологического исследования комбикорма на 30 часов (по сравнению с применением метода без встряхивания на бульоне с маннитолом и кровью).

Truszczyński M., Służewska M. — Investigations on the evaluation of the best methods for the detection of *Salmonella* in industrial feed mixtures.

The purpose of the investigations was to determine the effect of *Salmonella* culture shaking for 18 hrs preincubation on their growth. The suitability of Hottinger's broth for the growth of *Salmonellae* was estimated. The results of subculturing of the tested material on a solid medium after previous 18 hrs preincubation were compared with subsequent subculturing and further 48 hrs incubation on Müller-Kauffmann's medium before subculturing on the solid medium. The effects of the size of the tested sample, the volume of the liquid medium used, temperature and incubation time on the isolation of *Salmonellae* were also taken into consideration. The results of the examinations showed that shaking of the liquid medium with industrial feed mixture during 18 hrs preincubation period increased the number of *Salmonella* isolation as compared with non-shaken cultures. Hottinger's broth proved to be a good medium for the multiplication of *Salmonellae* present in the industrial feed mixtures. The of Hottinger's broth and agitation shortened the period of bacteriological examination of industrial feed mixtures by 30 hrs as compared with the preincubation without shaking, performed in the broth supplemented with mannitol and blood.