

celu do badań użyto młode zwierzęta w wieku 8—10 miesięcy, zarażone w naturalnych warunkach brodawczą. Chorym zwierzętom podawano doustnie badane frakcje w ilości równoważnej 15 g całych nasion. Z 15 g nasion otrzymano: 0,3 g lipidów, 4 ml frakcji rozpuszczalnych w wodzie (co odpowiada 1,5 g masy ciastowatej), 0,75 g albumin, 1 g globulin, 1,5 g glutelin. W takich ilościach wymienione frakcje stosowano u zwierząt. Wszystkie zwierzęta dobrze znosiły użyte do badań frakcje i nie wykazywały żadnych zaburzeń w stanie zdrowia.

Wyniki

Wyniki leczenia przedstawiono w tab. 1. Wskazują one, że lipidy i białka nie posiadają właściwości leczniczych. Spośród 5 zbadanych

frakcji przeciwbrodawczycowe działanie wykazywała tylko frakcja rozpuszczalna w wodzie i efektywność jej działania dochodziła do 100%. Dalsze badania mające na celu wyjaśnienie mechanizmu działania leczniczego są w toku.

Piśmiennictwo

1. Wardapietjan Sz. S., Agirjan A. P.: Izwestia, Siel.-Choz. Nauk 3, 1968.
2. Wardapietjan Sz. S., Batojan N. P.: Moł. Naucz. Rab. 2, 12, 1970.
3. Wardapietjan Sz. S.: Mat. Naucz. Konf. Moł. Ucz., Erewan. Gos. Uniwer. 1971.
4. Wardapietjan Sz. S., Kazarjan F. R.: Moł. Naucz. Rab. 14, 1971.
5. Wardapietjan Sz. S.: Medycyna Wet. 27, 1, 1971.
6. Wardapietjan Sz. S.: Medycyna Wet. 28, 3, 1972.

Tłumaczył: T. Jastrzębski

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

DANUTA CIOSEK, MARIAN TRUSZCZYŃSKI

Badania nad wykrywaniem drobnoustrojów z rodzaju *Escherichia* w przemysłowych mieszankach paszowych

Zakład Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach

Kierownik: prof. dr M. TRUSZCZYŃSKI

W intensywnej produkcji zwierzęcej, w tym u zwierząt znajdujących się w fermach przemysłowych, może dochodzić do obniżenia poziomu odporności naturalnej przeciw infekcji (4). W następstwie tego ujawniają się z reguły małą patogenność drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze. Źródłem zakażenia mogą być w tej sytuacji między innymi przemysłowe mieszanki paszowe, w których występują tego rodzaju zarazki. Zostało to ustalone przede wszystkim w odniesieniu do drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella* (1, 3, 10). Brak natomiast bliższych danych na temat występowania w mieszankach przemysłowych drobnoustrojów z rodzaju *Escherichia*. Nie wiadomo również, czy zakażone nimi pasze mogą być źródłem infekcji i powstawania u zwierząt kolibakterioz. Schorzenia te wywołane są u poszczególnych gatunków zwierząt w zasadzie przez określone serotypy *E. coli* (5). Jednak zestawy tych serotypów mogą różnić się zależnie od czynników ekologicznych, czasu badania oraz wieku zwierząt (6, 7, 8).

Chcąc ustalić, czy mieszanki przemysłowe, zakażone pałeczką okrężnicy, mogą powodować zachorowania u zwierząt, zwłaszcza u trzody chlewnej, postanowiono na wstępie rozwiązywania tego zagadnienia ustalić, jakie grupy serologiczne O tego drobnoustroju reprezentowane są w krajowych mieszankach przemysłowych. W badaniach tych zmierzano też do wyboru możliwie najczulszych metod izolacji oraz najmniej pracochłonnych sposobów identyfikacji

E. coli. Izolowane szczepy zaliczano w oparciu o pełen zestaw znanych surowic anty-O (O1—O149) do poszczególnych grup O. Uzyskane wyniki miały być podstawą do poprawy obecnej metodyki, używanej dotąd w kraju do izolacji i identyfikacji szczepów *E. coli* w paszach lub ich składnikach, a zawartej w Polskiej Normie PN-58/R-64785.

Materiał i metody

Przedmiotem badań były 32 próbki mieszanki T₁, 9 próbek mieszanki T₁, 7 próbek składników mieszanki T i T₁ (mączka mięsno-kostna, mączka kostna i mączka z krwi), 3 próbki mieszanki L, 3 próbki mleka w proszku i 11 próbek mączki rybnej.

Po 10 g materiału posiewano do 2 kolbek, zawierających po 90 ml bulionu zwykłego z dodatkiem 1% laktozy. Po dokładnym wymieszaniu przenoszono po 10 ml do kolejnych 2 kolbek o takiej samej ilości bulionu. Czynność tę powtórzono jeszcze raz i w ten sposób uzyskano rozcieńczenie badanej paszy 1:10, 1:100 i 1:1000 w dwóch zestawach po 3 kolbki. Jeden z zestawów kolbek wstrząsano przez cały czas inkubacji (6 godz.), drugi natomiast co 1 godz. Przed rozpoczęciem inkubacji z 3 kolbek o różnych stężeniach paszy wykonywano posiewy w ilości po 0,1 ml na podłoże McConkeya, agar z krwią i do próbki zawierającej 9 ml bulionu z dodatkiem 1% laktozy oraz do takiej samej ilości podłoża Eijkmana (5).

To ostatnie inkubowano w łaźni wodnej o temperaturze 44°C. Pozostałe zaś w temperaturze 37°C. Czas hodowli tych posiewów wynosił 24 godziny. Po 30 minutach i 6 godzinach inkubacji wspomnianych wyżej kolbek dokonywano z nich przesiewów na takie same pożywki jak podano uprzednio. Po 24 godzinach hodowli sprawdzono odczyn pH w podłożu Eijkmana i w przypadku zakwaszenia i gazu w rurce Durhama dokonywano przesiewu na podłoże McConkeya. Wysiewano na nie również wszystkie 24-godzinne hodowle z próbek zawierających bulion z 1% laktozy. Ze

wszystkich płytek z podłożem McConkeya przesiewano pojedyncze kolonie charakterystyczne dla *E. coli* na agar zwykły. Średnio z każdej płytki wybierano 3-4 kolonie.

Wyizolowane szczepy pałeczki okrężnicy badano biochemicznie wg metodyki podanej uprzednio (8). Za pomocą 140 surowic anti-O określono antygen O u wyizolowanych szczepów *E. coli*. Standardowe szczepy pałeczki okrężnicy, używane do uodparniania królików, otrzymano z Statens Serum Institut w Kopenhadze, Dania. Sposób otrzymywania surowic anti-O oraz schemat utworzenia 21 surowic poliwalentnych, jak również metodę określania antygeny O, przedstawiono w innej pracy (2).

lionie z laktozą wyizolowano *E. coli* w 47 przypadkach, przy rozcieńczeniu 1:100 — w 27 i przy rozcieńczeniu 1:1000 — w 9 przypadkach. Przy porównaniu 3 podłoży używanych do izolacji *E. coli* stwierdzono wzrost szczepów pałeczki okrężnicy 19 razy stosując przesiew bezpośredni na podłoże McConkeya, 13 razy wyizolowano *E. coli* stosując podłoże Eijkmana, z którego dokonywano przesiewu na pożywkę McConkeya, a 49 razy posługując się bulionem z laktozą, posiewanym materiałem z kolbek, z którego dla wykrycia *E. coli* przesiewano hodowlę na podłoże McConkeya.

W tab. 2, przedstawionej w takim samym układzie, jak tab. 1, podano wyniki częstości izolowania szcze-

Tab. 1. Ocena metod izolacji szczepów *E. coli* z mieszanek paszowych w hodowli mieszanej co 1 godzinę

Badane próby		Przesiew po 30 minutach									Przesiew po 6 godzinach								
		1:10			1:100			1:1000			1:10			1:100			1:1000		
Rodzaj	Liczba	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Mieszanka T	32	—	—	3*	—	—	3	—	—	1	9	3	9	2	2	6	1	—	—
Mieszanka T ₁	9	—	—	2	—	—	2	—	—	—	3	2	3	1	1	2	1	1	1
Składniki mieszanek T i T ₁	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—
Mieszanka L	3	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	1	1	2	1	1	1
Mleko w proszku	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	2	—	—	—
Mączki rybne	11	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	1	—	—	—
Razem	65	—	2	6	—	—	5	—	—	1	12	7	20	4	4	14	3	2	3

Objaśnienia: I — wzrost *E. coli* na podłożu McConkey; II — wzrost *E. coli* na podłożu Eijkmana; III — wzrost *E. coli* na bulionie z laktozą; *) — cyfry oznaczają liczbę wyników dodatnich

Wyniki

W tab. 1 zawarte są wyniki częstości izolowania szczepów *E. coli* z mieszanek paszowych w hodowli mieszanej co 1 godzinę zależnie od różnego czasu przesiewów, rozcieńczeń badanego materiału i użytych podłoży. W tab. 1 nie uwidoczono wyników uzyskanych przy posiewach bezpośrednio po sporządzeniu rozcieńczeń, bez uprzedniej preinkubacji. W tym przypadku bowiem nie uzyskano wzrostu *E. coli*.

Jak wynika z tab. 1, na wszystkich używanych podłożach i z trzech stosowanych rozcieńczeń badanego materiału wyosobniono *E. coli* w 83 przypadkach. Przy przesiewie próbek paszy po 30 minutach uzyskano 14 wyników dodatnich, natomiast przy przesiewie po 6 godzinach — 69. Z próbek paszy rozcieńczonych 1:10 na podłożu McConkeya, Eijkmana i bu-

łów *E. coli* z mieszanek paszowych w hodowli wstrząsanej przez 6 godzin.

Jak widać w tab. 2, ogółem wyosobniono *E. coli* w 159 przypadkach. Przy przesiewie próbek paszy po 30 minutach uzyskano 32 wyniki dodatnie, przy przesiewie po 6 godzinach — 127. Z próbek paszy rozcieńczonych 1:10 na trzech podłożach wyizolowano *E. coli* w 94 przypadkach, przy rozcieńczeniu 1:100 — w 50 i przy rozcieńczeniu 1:1000 — w 15 przypadkach. Przy ocenie sposobów izolacji zależnie od zestawów pożywek potwierdzono wyniki z tab. 1.

Z porównania danych zawartych w tab. 1 i w tab. 2 wynika, iż do izolacji szczepów *E. coli* z mieszanek paszowych lepszą okazała się metoda hodowli wstrząsanej (159 wyników dodatnich), niż mieszanej co 1 godzinę (83 w.d.); większą liczbę wyników dodatnich uzyskano po 6-godzinnej preinkubacji hodowli wstrząsanej (127) niż przy 30-minutowej (32) oraz przy rozcieńczeniu próbek paszy 1:10 (94) niż przy rozcieńczeniu 1:100 (50) i 1:1000 (15). Do izolacji *E. coli*

Tab. 2. Ocena metod izolacji szczepów *E. coli* z mieszanek paszowych w hodowli wstrząsanej

Badane próby		Przesiew po 30 minutach									Przesiew po 6 godzinach								
		1:10			1:100			1:1000			1:10			1:100			1:1000		
Rodzaj	Liczba	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Mieszanka T	32	11*	4	4	1	2	2	—	—	1	21	9	14	11	8	9	—	—	2
Mieszanka T ₁	9	2	—	—	1	—	—	—	—	—	5	1	2	4	1	2	—	—	—
Składniki mieszanek T i T ₁	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	3	2	1	2	—	—	—
Mieszanka L	3	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1	—	—	1	1	1	1
Mleko w proszku	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	2	—	—	2	—	—	2
Mączki rybne	11	—	—	1	—	—	—	—	—	1	3	1	3	—	—	1	—	—	1
Razem	65	14	5	5	2	2	2	—	—	2	32	13	25	17	10	17	7	—	6

Objaśnienia: I — wzrost *E. coli* na podłożu McConkey; II — wzrost *E. coli* na podłożu Eijkmana; III — wzrost *E. coli* na bulionie z laktozą; *) — cyfry oznaczają liczbę wyników dodatnich

z preinkubowanego w kolbkach materiału najlepszym okazał się kolejny przesiew na bulion z 1% laktozy, jego 24-godzinna hodowla i posiew na podłoże McConkeya.

W wyniku omówionych badań wyizolowano 444 szczepy bakteryjne. Za pomocą prób biochemicznych 348 spośród nich zaliczono do rodzaju *Escherichia*, w tym 6 szczepów określono jako nietypowe ze względu na brak wytwarzania indolu. Wyniki badań serologicznych 348 znajdujących się w fazie S szczepów *E. coli* przedstawia tab. 3.

Tab. 3. Przynależność do grup O szczepów *E. coli* izolowanych z przemysłowych mieszanek paszowych lub ich składników

Rodzaj próbki	Liczba szczepów		Grupy O
	badanych	określonych serologicznie	
Mieszanka T	180	101	O4, O5, O6, O19, O23, O27, O34, O36, O49, O50, O53, O64, O74, O75, O76, O77, O79, O83, O86, O88, O91, O93, O98, O103, O105, O107, O114, O116, O117, O147
Mieszanka T ₁	68	39	O32, O33, O63, O65, O74, O76, O86, O90, O92, O102, O112, O149
Składniki mieszanek T i T ₁	30	19	O5, O112, O114, O116
Mieszanka L	22	17	O8, O13, O17, O28, O50, O86, O99
Mleko w proszku	24	17	O8, O21, O46, O66, O84, O86, O93
Mączki rybne	24	11	O4, O12, O16, O18, O21, O25
Razem	348	204	52

Jak widać z tab. 3, do określonych grup O zaliczono 204 szczepy *E. coli*, co stanowi 58,4% badanej kolekcji drobnoustrojów. Należały one do 52 różnych grup O.

Stwierdzono, iż w badanych mieszankach przemysłowych występowały szczepy *E. coli* zaliczone do serologicznych grup chorobotwórczych dla świń — a mianowicie raz O149 i dwukrotnie O147. Wykazano też grupy serologiczne chorobotwórcze dla bydła (O17, O66, O86, O88, O117) oraz dla człowieka (O025, O112, O114, O118). Okazało się, iż z tego samego rodzaju mieszanki paszowej można wyosobnić po kilka grup O. Różne próbki tej samej mieszanki mogły zawierać po kilka grup serologicznych *E. coli*. Obserwowano dość często różnice w zestawie grup O w poszczególnych próbkach w tej samej mieszance paszowej.

Omówienie

Jak wynika z dostępnego piśmiennictwa, nie wykonywano dotąd badań nad występowaniem poszczególnych grup O *E. coli* w przemysłowych mieszankach paszowych. Jak widać z badań własnych, mogą być one w znacznym stopniu zakażone tymi drobnoustrojami. Stwierdzenie w nich szczepów należących do grup O, uważanych za chorobotwórcze dla trzody chlewnej lub bydła, może wskazywać na potencjalne źródło zakażenia się tych zwierząt za ich pośrednictwem. Również pozostałe grupy *E. coli*, mimo iż dotąd nie były uważane jako patogenne dla zwierząt, mogą takie znaczenie posiadać (6, 7, 8).

Okazało się, iż spośród izolowanych z mieszanek paszowych szczepów mniejszy odsetek udawało się zaliczyć do znanych obecnie grup O *E. coli*, niż to miało miejsce przy określaniu

szczepów *E. coli* wyosobnionych z przypadków chorobowych u zwierząt (6, 8, 9).

Omawiane badania potwierdziły w odniesieniu do *E. coli* uprzednie obserwacje (10), dotyczące znaczenia preinkubacji w izolacji salmonel z mieszanek przemysłowych. Wykazały one też, iż 6-godzinne wstrząsanie zwiększało liczbę wyosobnionych z mieszanek przemysłowych szczepów *E. coli*. Wykonane badania wskazały

też zestaw podłoży płynnych i stałych, przy pomocy którego uzyskuje się dobre wyniki wykrywania szczepów *E. coli* w przemysłowych mieszankach paszowych.

Wnioski

1. Największą liczbę izolacji szczepów *E. coli* z przemysłowych mieszanek paszowych uzyskano przy rozcieńczeniu paszy 1:10, po 6-godzinnej jej preinkubacji w hodowli wstrząsanej, w bulionie zwykłym z 1% laktozy i następnym przesiewie na takie samo podłoże w próbówce, inkubowane przez 24 godziny, skąd dokonuje się przesiewu na podłoże McConkeya.

2. W mieszankach przemysłowych wykazano obecność grup O *E. coli* chorobotwórczych dla świń i bydła, obok szeregu grup O dotąd nie izolowanych z przypadków chorobowych u tych zwierząt.

3. Na 348 określonych serologicznie szczepów *E. coli* 58,4% zaliczono do 52 grup O, a pozostałe nie dały się określić za pomocą stosowanych surowic swoistych znanych obecnie grup O (O1—O149).

4. Uzyskane dane przyczynią się do poprawy obecnie obowiązującej w kraju metodyki izolacji z pasz drobnoustrojów z gatunku *E. coli*.

Piśmiennictwo

1. Bischoff J., Rohde R.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 69, 50, 1956.
2. Ciosek D.: Identyfikacja antygenu O u szczepów *E. coli* wyizolowanych od świń przy użyciu pełnego zestawu surowic anty — O, Medycyna Wet. (w druku).

3. Jacobs J., Guinee P. A. M., Kampelmacher E. H., Keulen A.: Zentbl. Vet. Med. B. 10, 542, 1963.
4. Mayr A., Rojahn A.: Tierärztl. Umsch. 23, 553, 1968.
5. Sojka W. J.: Escherichia coli in domestic animals and poultry. Commonwealth Agricultural Bureaux Farnham Royal, Bucks, England, 1965.
6. Söderlind O.: Zentbl. Vet. Med. B. 18, 569, 1971.
7. Stevens A. J.: Br. vet. J. 119, 520, 1963.
8. Truszczyński M., Ciosek D., Tereszczuk S.: Medycyna, Wet. 10, 584, 1965.
9. Truszczyński M., Ciosek D., Tereszczuk S.: Medycyna Wet. 23, 9, 1967.
10. Truszczyński M., Stulewska M.: XL General Session of the OIE, Report Nr 114, Paris, 15-20 May 1972.

Adres autora: dr Danuta Ciosek, Puławy, ul. Partyzantów 51.

Циосек Д., Труциньски М. — Исследования по диагностике полочек рода Escherichia в промышленных кормовых смесях.

Целью исследований была разработка самого чувствительного метода изоляции *E. coli* из промышленных кормовых смесей и не трудоемкого способа их идентификации. В проведенных исследованиях самое большое количество выделенных штаммов *E. coli* кормовых концентратов получили следующим методом: — разведение материала 1:10 обычным булионом с 1% лактазы; очередной пассаж на такой же лактозубулион и инкубация 24 часа; пассаж не среду McConkey.

Изолированные штаммы по антигену *O* принадлежали к группам *O* патогенным для крупного рогатого скота и свиней и группам до сего времени не выделяемым из случаев болезней этих животных. Из 348 серологических определенных штаммов *E.*

coli 58,4% зачислили к 52 из 149 описанных в литературе групп. Остальных штаммов не определили. Полученные результаты позволяют улучшить применяемую в Польше методику изоляции *E. coli* из кормов их идентификации а также определить какие серогруппы в этих кормах в стране появляются.

Ciosek D., Truszczyński M. — Detection of microorganisms of Escherichia genus in industrial feed mixtures.

The purpose of the work was to determine the most sensitive and the least laborious methods for the isolation and identification of *E. coli* in industrial feed mixtures or their components. The greatest number of *E. coli* strains was isolated from this material diluted 1:10 with 1.0% lactose broth, after 6 hr preincubation of shaken culture, its subsequent subculturing into 1.0% lactose broth incubated for 24 hrs, and the final subculturing on McConkey's medium. *E. coli* strains of *O* groups, pathogenic for cattle and pigs, and the strains of other *O* groups not identified up to now in those animals, were isolated from industrial feed mixtures. Out of 348 *E. coli* strains determined serologically, 58.4% were classified into 52 *O* groups. Two remaining strains could not be typed by means of sera specific for the present recognized *O* groups of *E. coli*. Some data which may be used to improve officially accepted methods for the isolation and identification of *E. coli* in feed mixtures, as well as information on the incidence of serotypes in the examined material have been presented.

WIESŁAWA ŁABĘCKA, TADEUSZ KOBUSIEWICZ, STEFAN SZKILNIK,
JERZY WIŚNIEWSKI, CZESŁAW BARANOWSKI

Wartość uodparniająca szczepionki przeciwpryszczycowej dla świń przygotowanej według metody Frenkla

Zakład Badania Pryszczycy Instytutu Weterynarii w Zduńskiej Woli
Kierownik: prof. dr T. KOBUSIEWICZ

Ważnym problemem w zapobieganiu i zwalczaniu pryszczycy jest wynalezienie odpowiedniej szczepionki dla trzody chlewnej. Zakład Badania Pryszczycy Inst. Wet. prowadzi od szeregu lat badania w tym kierunku (14, 15). Szczepionka rutynowa produkowana dla bydła nie uodparnia świń (14, 15). W piśmiennictwie światowym istnieją liczne doniesienia o użyciu różnych szczepionek przeciwpryszczycowych stosowanych do uodporniania trzody chlewnej (1, 3, 4, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 17, 18, 25). Ostatnio podjęto w Zakładzie Badania Pryszczycy próby nad wyprodukowaniem szczepionki w oparciu o metodę Frenkla, która polega na namnażaniu wirusa pryszczycy na tkance nabłonkowej języka bydłowego *in vitro*. Obecnie metoda Frenkla służy do masowej produkcji szczepionek przeciwpryszczycowych w wielu krajach (2, 5, 6, 10, 16, 19, 20, 21, 22, 23, 24).

Celem pracy była próba czynnego uodpornienia trzody chlewnej przeciw pryszczycy przy zastosowaniu szczepionki przeciwpryszczycowej wyprodukowanej wg tej metody.

Materiał i metody

1. Szczep wirusa pryszczycy. Do zakażenia zwierząt i hodowli Frenkla użyto wirusa pryszczycy typu *O* szczep GL-69 pobrany od chorej świni i pasażowany przez świnię.

2. Szczepionki. W doświadczeniach stosowano następujące serie szczepionki przygotowane z materiału wirusowego namnożonego wg met. Frenkla a mianowicie: *O*-3Fr, *O*-4Fr, *O*-5Fr i *O*-6Fr. Skład szczepionki przedstawiał się następująco:

Materiał wirusowy	30%
wodorotlenek glinu	35%
glikokolowy płyn buforowy	1%
formalina	0,08%
glicerol	5%
saponina	0,2%
fosforanowy płyn buforowy	do 100%

Antybiotyki: penicylina, streptomycyna, neomycyna, mycostatyna.

Materiał wirusowy adsorbowano na 2% wodorotlenku glinu, inaktywację przeprowadzono w 25°C w ciągu 48 godzin.

3. Hodowla Frenkla. Hodowlę Frenkla prowadzono wg przyjętego schematu używając świeżo zdjętego nabłonka z języków bydłowych w pięciokrotnej objętości płynu odżywczego. Hodowlę zakażano wirusem pryszczycy typu *O* szczepem GL-69 pochodzącym od świń i kilkakrotnie pasażowanym przez te zwierzęta. Szczepionki przygotowano z materiału pochodzącego