

c. ż. przetrwałych i torbieli jajnikowych, a w przypadku jałowienia na tle niedoborów mineralno-witaminowych — mieszkankami MM, Mikrofos, wit. A i prep. Tonophos. Skuteczność leczenia zwiększyła się w miarę poprawy warunków środowiskowych.

Pismienictwo

1. Biborski J., Glód W.: Z. probl. Post. Nauk rol. 31, 25, 1961.
2. Blicharski K.: Medycyna Wet. 18, 549, 1962.
3. Domański E.: Z. probl. Post. Nauk rol. 67, 133, 1966.
4. Donińiewicz K.: Medycyna Wet. 18, 552, 1962.
5. Fitko R., Domański E.: Z. probl. Post. Nauk rol. 31, 101, 1961.
6. Fitko R.: Z. probl. Post. Nauk rol. 61, 145, 1966.
7. Fitko R.: Medycyna Wet. 16, 338, 1960.
8. Fitko R.: Z. probl. Post. Nauk rol. 31, 107, 1961.
9. Jaśkowski L.: Pol. Arch. wet. 14/2, 179, 1971.
10. Jaśkowski L., Synowiedzki Z., Janowska K.: Pol. Arch. wet. 14/2, 195, 1971.
11. Jaśkowski L.: Pol. Arch. wet. 14/3, 373, 1971.
12. Jaśkowski L., Rulski T.: Z. probl. Post. Nauk rol. 67, 145, 1966.
13. Marcinkowski K., Rauluszkiewicz S., Samborski Z.: Z. probl. Post. Nauk rol. 67, 137, 1966.
14. Mazurczak J.: Z. probl. Post. Nauk rol. 61, 61, 1966.
15. Nawrocki J., Zaprzal K.: Medycyna Wet. 11, 349, 1955.
16. Owoc W.: Z. probl. Post. Nauk rol. 67, 173, 1966.
17. Rauluszkiewicz S.: Z. probl. Post. Nauk rol. 61, 87, 1966.
18. Romaniuk J.: Z. probl. Post. Nauk rol. 67, 153, 1966.
19. Rommel W.: Z. probl. Post. Nauk rol. 61, 57, 1966.
20. Rulski T., Jaśkowski L.: Z. probl. Post. Nauk rol. 61, 279, 1966.
21. Senze A.: Medycyna Wet. 15, 507, 1959.
22. Senze A.: Medycyna Wet. 7, 455, 1951.
23. Thom K. L., Schneider H., Steiwender R., Phillip H.: Wien. tierärztl. Mschr. 47, 590, 1960.
24. Zebracki A.: Medycyna Wet. 11, 296, 350, 1955.

Adres autora: dr Józef Flis, 26-025 Dyminy 160, pow. Kielce.

STEFAN SAMÓL, MARIA KORPOLIŃSKA

Zastosowanie filtrów membranowych w rutynowej diagnostyce mętwnika płodowego

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Warszawie

Buhaje — nosiciele mętwnika płodowego są najczęstszym źródłem zakażenia krów. Z tego względu możliwie proste a jednocześnie pewne metody wykrywania mętwnika płodowego w nasieniu, względnie w wypłuczynach z napletka stanowią poważną pomoc w zwalczaniu wibriozy bydła. W diagnostyce tej napotyka się jednak na szereg trudności. Jedną z nich stanowi częste przerastanie podłoża towarzysząca mętwnikowi florą bakteryjną i związane z tym trudności w uzyskiwaniu czystych kultur niezbędnych do biochemicznej identyfikacji szczepów.

Z praktyki własnej wynika, że najczęstszą przyczyną przerostów jest obecność pałeczki ropy błękitnej i odmienia w napletku buhajów. W latach 1966—1971 odsetek prób przerośniętych pałeczką ropy błękitnej wyniósł ok. 24%, natomiast pałeczką odmienia ok. 21% (5). Na skutek tego pomimo wielokrotnego powtarzania badań nie zawsze możliwe było postawienie jednoznacznego rozpoznania.

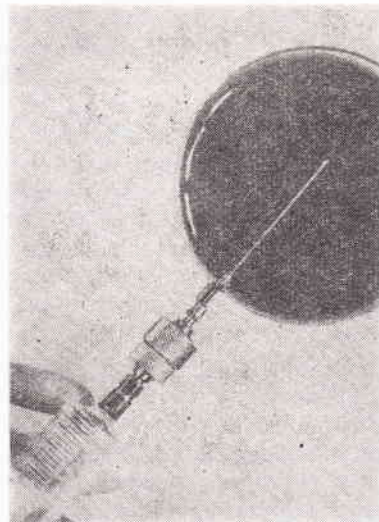
Głównymi metodami pozwalającymi na wyeliminowanie wpływu ubocznej flory bakteryjnej są: identyfikacja *Vibrio fetus* metodą immunofluorescencji (3, 6, 8, 10, 11, 12) oraz stosowanie filtrów membranowych w celu wstępnego oczyszczenia materiału badanego (2, 4, 9).

Jak wynika z doniesień LeRoy i Alberta (7), Bingöla i Blobela (8) identyfikacja *Vibrio fetus* jest możliwa na drodze aglutynacji i immunofluorescencji z „poliwalentnymi” surowicami odpornościowymi (otrzymywanymi przy użyciu różnych szczepów) dla *Vibrio fetus*. To samo dotyczy reakcji *Vibrio bubulus* z „poliwalentnymi” surowicami odpornościowymi dla *Vibrio bubulus*. Aczkolwiek metoda ta zdaje się w pełni spełniać swoje zadanie w przypadku wzorcowych kultur, to jednak bezpośrednie badanie wypłuczyn z napletka względnie nasienia nastrożca pewne trudności. Dlatego też w pracy rutynowej podstawowe znaczenie mają metody prowadzące do wyeliminowania przerostów

podłoża florą towarzyszącą i uzyskania czystych kultur mętwnika oraz pozwalające na jego bliższe określenie przy pomocy stosunkowo prostych metod biochemicznych.

Materiał i metody

Materiał stanowiło 224 próby wypłuczyn z napletka buhajów z Państwowych Zakładów Unasienniania Zwierząt pobranych w pierwszym półroczu 1973 r. Materiał pobierany był przez wyspecjalizowanych lekarzy wet. przy użyciu jałowych pipet szklanych i gruszek gumowych. Do pobierania wypłuczyn stosowano płyn diagnostyczny o składzie: bulion mięsny 1000 ml, pepton 20,0 g, NaCl 10,0 g, NaOH 10% 11,5 ml, pH 7,0.



Ryc. 1. Posiewy wypłuczyn przez filtr.

Materiał dostarczano do laboratorium i analizowano w dniu pobrania.

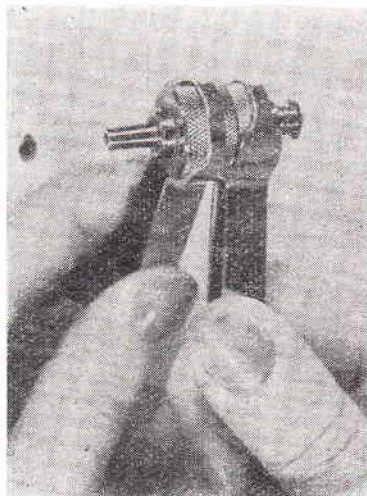
Podłoża:

1. Agar odżywczy z dodatkiem 10% krwi baraniej i 0,005% chlorowodoru cysteiny.
2. Podłoże wybiórcze złożone z agaru odżywczego z dodatkiem 10% krwi baraniej, 0,005% chlorowodoru cysteiny i 0,0025% zieleni brylantowej.
3. Podłoże Bartletta.

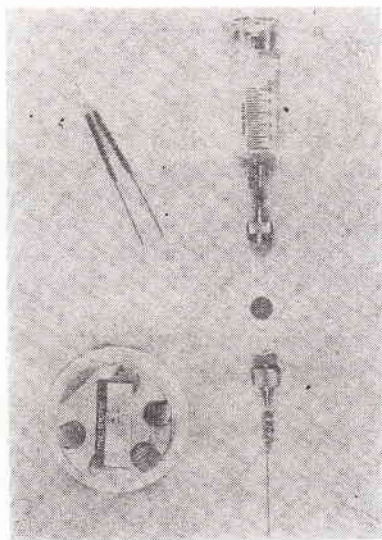
Posiewy: wypłuczyny odwirowano przez 30 min. przy 3.500 obr./min i posiewano na w/w podłoża, przy czym każdą próbę posiewano na 3 podłoża agarowe, 3 podłoża wybiórcze i 2 podłoża Bartletta. Ponadto na taką samą ilość podłoży posiewano ten sam materiał przesączony przez filtr membranowy.

Technika posiewów z użyciem filtrów membranowych. Odwirowane wypłuczyny nabierano do strzykawkę Cornwall 10 cc Syringe-Luer-lok *) w ilości ok. 8 ml i po nałożeniu nasadki z filtrem membranowym i igły zawarty w strzykawce płyn przesączono przez filtr do próbówki, a ostatnie porcje w ilości po 0,1 ml nanoszono wprost ze strzykawki na podłoże (ryc. 1) i rozprowadzano równomiernie bagietką szklaną.

Stosowano filtry „Millipore” o średnicy 13 mm i wielkości porów 0,65 mikrometra (μm) umocowane w specjalnych nasadkach „Swinny Adapter” **). Do posiewu każdego materiału używano nowej uprzednio wyjałowionej nasadki z filtrem. Przy montowaniu urządzenia filtrującego do części wylotowej nasadki (ryc. 2) zakładano w kolejności pierścień płaski, siatkę



Ryc. 3. Skręcanie nasadki po założeniu filtru.



Ryc. 2. Opakowanie z filtrami, penseta „Millipore”, igła, część wylotowa nasadki, pierścień płaski, siatka stalowa, filtr (poniżej), pierścień okrągły, część wlotowa nasadki, strzykawka „Cornwall Syringe”.

stalową, filtr, pierścień okrągły a następnie zakręcano część wlotową nasadki przy pomocy specjalnych kluczy (ryc. 3). Tak umocowane filtry sterylizowano w autoklawie pod ciśnieniem 1 atmosfery przez 15 min.

Inkubacja. Posiewy inkubowano przez 10 dni w temperaturze 37°C w przystosowanych do hodowli bez-tlenowej bańkach od mleka i eksykatorze w atmosferze: 1. 92% N₂, 3% CO₂ i 5% O₂, 2. gazu ziemnego, 3. normalnej po wypaleniu tlenu świecą woskową (eksykator).

Począwszy od drugiego dnia inkubacji przeglądano podłoża makroskopowo, względnie pod lupą stereosko-

pową. Z wyrosłych kolonii sporządzano preparaty i barwiono metodą Grama, dla dalszego różnicowania przesiewano na pożywkę Bartletta. Po 2—3 dniowej inkubacji określano gatunek mętwnika na podstawie następujących właściwości biochemicznych (tab. 1).

Tab. 1. Zestawienie właściwości biochemicznych szczepów *Vibrio*

Gatunek mętwnika	Katalaza	H ₂ S	Bulion z 3,5% NaCl	Bulion z 1% glicyny
<i>V. fetus</i> typ I (<i>venerealis</i>)	+	—	—	—
<i>V. fetus</i> typ II (owczy)	+	±	—	+
<i>V. fetus</i> typ III	+	±	+	+
<i>V. bubulus</i>	—	+	— lub +	— lub +

Wyniki

Spośród 224 badanych prób wypłuczyn z napletka buhajów w hodowli na agarze z krwią i chlorowodorkiem cysteiny w atmosferze azotu, dwutlenku węgla i tlenu przy zastosowaniu filtrów „Millipore” — podłoże uległo przerostowi w 6 (2,6%) przypadkach, natomiast w posiewach wykonanych bez filtrów w 130 (58%) przypadkach. Przerosty te były nieco mniejsze w środowisku gazu ziemnego, a prawie identyczne w atmosferze, w której wypalono tlen świecą.

Na pożywkę wybiórczej z chlorowodorkiem cysteiny i zielenią brylantową w warunkach N₂, CO₂ i O₂ — przerosty miały miejsce tylko w posiewach bez filtrów — w 103 (45,9%) przypadkach (tab. 2). Przyczyną tych przerostów w około 86% była pałeczka ropy błękitnej, w 5% pałeczka odmienia, a w 9% flora mieszana — pałeczki ropy błękitnej i odmienia.

W jednorazowych badaniach materiału na agarze z krwią i chlorowodorkiem cysteiny w warunkach N₂, CO₂ i O₂ — w posiewach wykonanych przez filtry *Vibrio fetus ven.* stwierdzono w 24 przypadkach, a *Vibrio bubulus* w 26 przypadkach; w atmosferze gazu ziemnego otrzymano analogicznie 16 i 17 wyników dodatnich, a w atmosferze bez-tlenowej (po wypaleniu tlenu świecą) w 3 i 2. W posiewach bez filtrów zara-

*) Becton, Dickinson and Comp. Rutherford N.J. USA.
**) Millipore Filter Corp. Bedford, Mass. USA.

Tab. 2. Odsetek prób przerośniętych florą towarzyszącą

Warunki hodowli	Ogółem prób	Posiewy			
		agar z krwią i cysteiną		pożywka wybiórcza	
		z filtrem	bez filtru	z filtrem	bez filtru
N ₂ +CO ₂ +O	224	2,6%	58,0%	0	45,9%
Gaz ziemny	224	0,8%	52,7%	0,8%	39,2%
Wypalanie tlenu świecą	224	2,6%	57,1%	1,3%	43,2%

zek *Vibrio* izolowano sporadycznie. To samo dotyczy hodowli na podłożu z zielenią brylantową (tab. 3). Wzrost stwierdzano zazwyczaj na 3—6 dzień inkubacji. W jednym przypadku wzrost *Vibrio fetus ven.* uzyskano w 2 i w jednym w 9 dniu inkubacji.

pałeczkę odmienia 5%. Dane te mają swoją wymowę również w aspekcie zoohigienicznym.

Wyniki inkubacji posiewów w mieszaninie azotu, tlenu i dwutlenku węgla, w gazie ziemnym

Tab. 3. Stwierdzono wzrost *Vibrio fetus ven.* i *Vibrio bubulus*

Warunki hodowli	Przebadano ogółem	Posiewy							
		agar z krwią i cysteiną				pożywka wybiórcza			
		z filtrem		bez filtru		z filtrem		bez filtru	
		V.f.v.	V.b.	V.f.v.	V.b.	V.f.v.	V.b.	V.f.v.	V.b.
N ₂ +CO ₂ +O	224	24	26	0	4	1	1	0	0
Gaz ziemny	224	16	17	1	2	1	1	0	0
Wypalanie tlenu świecą	224	3	2	0	3	1	0	0	0

Objaśnienie: V.f.v. = *Vibrio fetus venerealis*; V.b. = *Vibrio bubulus*.

Omówienie wyników

Z przeprowadzonych badań wynika, że stosowanie filtrów zapobiega przerostom najczęściej spotykaną florą bakteryjną w wypluczynach z napletka buhaja. Ze stosowanych pożywek najbardziej przydatną okazał się agar z krwią z dodatkiem chlorowodoru cysteiny, a najbardziej sprzyjające warunki hodowli — to mieszanina azotu, dwutlenku węgla i tlenu.

Dodatek zieleni brylantowej do pożywek zmniejsza jedynie w nieznacznym stopniu przerosty posiewów, lecz jednocześnie hamuje również wzrost mętlika płodowego.

Mimo zastosowania filtrów otrzymano przerosty podłóż przy badaniu 6 prób (2,7%). Wydaje się, że przerosty te były raczej wynikiem niewłaściwej techniki (niewłaściwe umocowanie filtru, względnie jego nasadki umożliwiają spływ inokulum również poza filtrem), aniżeli przechodzeniem przez filtr 0,65 µm pałeczek ropy błękitnej, odmienia względnie okrężnicy.

Przeprowadzone badania dowodzą również o postępującym zakażeniu buhajów pałeczką ropy błękitnej. Zgodnie z doniesieniem Korpoltińskiej (5) w latach 1968—71 przerosty pałeczką ropy błękitnej wzrosły z 20,3% do 35,2% badanych prób, przy jednoczesnym zmniejszeniu przerostów pałeczką odmienia z 28,5% do 13,9%. W pierwszym półroczu 1973 r. przerosty posiewów bez filtrów dotyczyły 58% prób, z czego na pałeczkę ropy błękitnej przypadło 86%, na pałeczkę ropy błękitnej i odmienia 9%, a na

i powietrzu, w którym tlen wypalano świecą — przemawiają jednoznacznie za metodą pierwszą. W przeciwieństwie do poprzednich doświadczeń ze stosowaniem gazu miejskiego (5), gaz ziemny daje daleko gorsze rezultaty. Nie mogliśmy też potwierdzić dobrych wyników uzyskiwanych przez Bingöla i wsp. (2) z hodowlą mętlika w szczelnym naczyniu zamykanym przy płonącej świecy.

Wnioski

1. Zastosowanie filtrów membranowych likwiduje niemal całkowicie przerosty podłóż.
2. Najbardziej przydatną pożywką dla hodowli mętlika jest agar z krwią z dodatkiem chlorowodoru cysteiny.
3. Najlepsze wyniki uzyskuje się stosując hodowlę mętlika płodowego w atmosferze mieszaniny azotu, dwutlenku węgla i tlenu.

Piśmiennictwo

1. Bingöl R., Blobel H.: Zentbl. Bakt. Parasitkde I 215, 316, 1970.
2. Bingöl R., Brückler J., Blobel H.: Tierärztl. Umsch. 25, 381, 1970.
3. Bingöl R., Blobel H., Scharmann W.: Zentralbl. Vet. Med. 16, 799, 1969.
4. Gibson C. D., Dreher W. H., Zemjanis R.: J. Am. Vet. med. Ass. 157, 34836, 1970.
5. Korpoltińska M.: Medycyna Wet. 29, 475, 1973.
6. Lein D., Erickson J., Winter A. J., McEntee K.: J. Am. Vet. med. Ass. 153, 1574, 1968.
7. LeRoy K. T., Albert L. K.: Am. J. Vet. Res. 29, 711, 1968.
8. Mellick P. N., Winter A. J., McEntee K.: Cornell Vet. 55, 280, 1965.
9. Plumer G. J., Durall W. C., Schepler V. M.: Cornell Vet. 52, 110, 1962.
10. Schimmelpfennig H., Mitscherlich E.: Zentbl. VetMed. 11, 393, 1964.

11. Taul W. K., Kleckner A. L.: Am. J. vet. Res. 29, 711, 1968.
 12. Winter A. J., Sammelson J. D., Elkana M.: Am. Vet. med. Ass. 150, 449, 1967.

Adres autora: doc. dr habil. Stefan Samól, 02-156 Warszawa, ul. Lechicka 21.

Самуль С., Корполиńska М. — **Применение мембранных фильтров в рутинной диагностике *Vibrio fetus*.**

Исследовали стандартным методом и с применением мембранных фильтров Millipore с поперечнике 13 мм и величине пор 0,65 микрометра 224 образца ополосков крайней плоти быков из 5 Станции Осеменения Животных. Посевы провели на следующие среды: а) агар + 10% бараньей крови + 0,005% хлористоводородного цистеина, б) избирательная среда (агар + кровь + хлористоводородный цистеин + бриллиантовая зелень), в) среда Барлетта.

Посевы инкубировали в 37° в атмосфере: а) смеси 92% N₂; 3% CO₂ и 5% O₂, б) природного газа, в) эксикатора после сожжения в нем кислорода при помощи восковой свечи. Применение фильтров позволило почти полностью ликвидировать прораствление посевов (с фильтрами — 2,7%, без фильтров

— 58%). Самой лучшей средой признали агар + кровь + хлористоводородный цистеин, а самой лучшей атмосферой смесь N₂ + CO₂ + O₂. В исследованном материале идентифицировали *Vibrio fetus ven* в 24 случаях и *Vibrio bubulus* в 26 случаях.

Samól S., Korpolińska M. — **The application of membrane filters in routine diagnosis of trichomoniasis.**

There was examined by standard method, and by the use of membrane filters „Millipore” (diameter 13 mm, mesh 0.65 Mm) 224 washings of bull's prepuce derived from 5 State Insemination Stations of Animals. The following media were inoculated with the washings: i. blood agar (10% of sheep blood and 0.005% of cysteine hydrochloride), ii. selective medium (blood agar, cysteine hydrochloride, brilliant green), iii. Bartlett's medium. Media were incubated at 37°C with: i. N₂ — 92%, CO₂ — 3%, O₂ — 5%, ii. natural gas, iii. in an excicator after ignition up of O₂ by the use of candle. By the use of the filters it was possible to eliminate nearly completely the contaminations (filters — 2.7% of contamination; without filters — 58.0% of contamination). The best results were obtained on blood agar with cysteine hydrochloride and in the atmosphere of N₂, CO₂ and O₂. In the washings under study *Vibrio fetus veneralis* was diagnosed in 24 cases and *Vibrio bubulus* in 26 cases.

RECENZJE I BIBLIOGRAFIA

NAJBRT R. i WSP.: Veterinarni anatomic. (Anatomia weterynaryjna). T. I. Statni Zemedelske Nakladatelstvi Praha 1973, str. 441, ryc. 454, cena 37 kcs.

Tom I podręcznika obejmuje następujące rozdziały: Systema skeleti, Articulationes, Systema musculorum, Splanchnologia, Apparatus digestorius, Apparatus respiratorius, słowniczek nazw anatomicznych (nazwy stare — nazwy z NAV i odwrotnie), słowniczek czesko-słowacki, indeks.

Zwiększona ostatnio produkcja podręczników anatomicznych dla lekarzy wet. i studentów tego wdziału wydaje się być wyrazem konieczności poszukiwania dobrej książki, godzącej ogromny zasób wiedzy ze stale kurczącym się limitem czasu, przeznaczanego na naukę dla studentów. Poszukiwania te są bardzo trudne. Z jednej bowiem strony stoi na przeszkodzie fakt, że większość (na razie) anatomów to przedstawiciele i zwolennicy starej szkoły, „uczniowie Ellengerbera”, przyzwyczajeni do znacznej ilości godzin przeznaczonych na nauczanie oraz do takiej ilości szczegółów, która pozwalała anatomii być „uchem igielnym” lub „sitem”. Z drugiej zaś strony proces zmniejszania się programu anatomicznego dla studentów nie jest jeszcze, moim zdaniem, zakończony. Tak więc możliwości dostosowania nowego podręcznika do wymagań programu, recenzentów oraz studentów są tak trudne, że przekraczają często możliwości autorów.

Doc. Najbrt wybrał drogę maksymalnego skrócenia wiedzy anatomicznej przez usunięcie szeregu mniej istotnych szczegółów anatomicznych i potraktował anatomie weterynaryjną wyłącznie opisowo, słusznie stawiając na nowoczesny układ podręcznika, tj. opisując wszystkie zwierzęta w porównaniu do głównego — krowy. W tym zakresie należy uznać oceniany podręcznik jako nadzwyczaj udany i łatwy do przyswojenia dla studentów.

Jednakże budzi on i pewne zastrzeżenia. Nowoczesny program nauczania anatomii winien bowiem obejmować poza wiadomościami opisowymi także zasób wiedzy z zakresu anatomii topograficznej oraz anatomii czynnościowej, stanowiąc wstęp do nauk fizjologicznych i klinicznych. Jest to jednak tylko te-

oretyczny program maksimum, do tej pory w praktyce nie zrealizowany. Dlatego też można ocenić podręcznik opisowej anatomii doc. Najbrta jako aktualnie najbardziej przyswajalny przez studentów i najbardziej adekwatny do ilości godzin nauczania, chociaż nie obejmujący całości potrzebnej studentowi wiedzy. Książka jest bardzo bogato ilustrowana, co jest poważną zaletą. Jednakże czytelność rycin a szczególnie b. nikle odbite napisy przy rycinach, budzą zastrzeżenia.

Nie mając do dyspozycji kompletu podręcznika nie mogę wypowiedzieć się co do całości dzieła, wydaje mi się jednak, że należy ocenić je pozytywnie jako podręcznik dla studentów, nowoczesnie opracowany, wolny od zbędnego balastu wiedzy uzupełniającej, bardzo dobry do nowoczesnej nauki czystej opisowej anatomii. Jego zaletą jest także zastosowanie międzynarodowego mianownictwa anatomicznego (NAV).

Prof. dr Janusz Welento

Bulletin Office International des Epizooties, tome LXXIX, numeros 5—6, mai—juni 1973. (Biuletyn Międzynarodowego Urzędu do Spraw Epizootii, tom LXXIX, numer 5—6, maj—czerwiec 1973).

Spis treści:

1. IX Regionalna Konferencja OIE-FAO na temat epizootii w Azji, na Dalekim Wschodzie i w Oceanii. 2. Epizootiologia.

3. Sytuacja epizootyczna na świecie.

Ad. 1. IX Konferencja OIE-FAO dla krajów Azji, Dalekiego Wschodu i Oceanii odbyła się w Tokio w dniach 13—19 listopada 1973 r. W konferencji wzięli udział reprezentanci 12 państw. Tematem Konferencji było: a. sytuacja epizootyczna oraz zwalczanie epizootii w krajach członkowskich, b. epizootiologia, rozpoznawanie i zwalczanie pryszczycy, księgosuszu i chorób księgosuszo-podobnych, choroby Newcastle i zespoły białaczek u ptaków, c. kwarantanna zwierząt, d. gorączka przemijająca.

W doniesieniu na temat „Sytuacji epizootycznej oraz metod zwalczania epizootii w ZSRR” (j. franc. str. 383—387) podano, że sporadyczne przypadki pryszczycy występują na terenie Republik środkowoazjatyckich. Natomiast na pozostałych obszarach ZSRR pry-