

choroby u świń. Za dodatni uważa się co najmniej 4-krotny wzrost miana przy metodzie stałej dawki wirusa lub wzrost indeksu neutralizacji o 2 log przy zastosowaniu stałej dawki surowicy (14).

Badania serologiczne (przeglądy) populacji świń wykonać można przy pomocy odczynów zobojętniania, hamowania hemaglutynacji, precypitacji w żelu (17) oraz odczynu lateksowego (20). Używa się dowolnego szczepu wirusa EMC, gdyż wszystkie są antygenowo identyczne. Z tego ostatniego względu uzyskane wyniki pozwalają jedynie zorientować się co do rozprzestrzenienia zakażeń bezobjawowych u świń (także u innych zwierząt domowych oraz schwytanych gryzoni w danym gospodarstwie), natomiast nie dostarczają żadnych danych o zjadliwości wywołującego je szczepu.

Piśmiennictwo

1. Acland H. M., Littlejohns I. R.: Aust. vet. J. 51, 409, 1975.
2. Acland H. M., Littlejohns I. R., Walker R. I.: Aust. vet. J. 46, 348, 1970.

3. Andrewes C., Pereira H. G.: Viruses of Vertebrates. Bailliere Tindall, London 1972.
4. Craighead J. E.: Am. J. Path. 48, 333, 1966.
5. Craighead J. E., Shelokov A.: Proc. Soc. Exp. Biol. 109, 823, 1961.
6. Gainer J. H.: J. Am. vet. med. Ass. 151, 421, 1967.
7. Gainer J. H., Murchison T. E.: Vet. Med. 56, 173, 1961.
8. Gainer J. H., Sandehur J. R., Bigler W. J.: Cornell Vet. 58, 31, 1968.
9. Kovath R. M., Garcia Mora R., Medina H. G.: Revta Fac. Med. vet. Guatemala 2, 51, 1969, ref. Vet. Bull. Abstr. 2853, 1970.
10. Larski Z.: Medycyna Wet. 15, 321, 1959.
11. Larski Z.: Wirusologia Weterynaryjna. PWRiL, Warszawa 1975.
12. Lavicka M., Ramos R., Luya M., Reyna A., Rorroella E., Renaud J., Costillo F.: Veterinarstvi 27, 221, 1977.
13. Littlejohns I. R., Acland H. M.: Aust. vet. J. 51, 416, 1975.
14. Mayr A., Bachmann P. A., Bibrack B., Wittmann G.: Virologische Arbeitsmethoden. VEB G. Fischer Verlag, Jena 1974 u. 1977.
15. McKercher D. G.: Am. J. Vet. Res. 24, 501, 1963.
16. Murnane T. G., Craighead J. E., Mondragon H., Shelokov A.: Science 131, 498, 1960.
17. Sangar D. V., Rowlands D. J., Brown F.: Vet. Rec. 100, 240, 1977.
18. Saxegaard F., Onstad O.: Nord. Vet. Med. 19, 49, 1967.
19. Simpson C. F., Lewis A. L., Gaskin J. M.: J. Am. vet. med. Ass. 171, 902, 1977.
20. Teschner H.: Diss. Tierärztliche Hochschule, Hannover 1976.
21. Vizoso A. D., Vizoso M., Hay R.: Nature 201, 849, 1964.
22. Warren J.: Viral and Rickettsial Infections of Man. Pitman Medical, London 1965.

Adres autora: prof. dr Zdzisław Larski, 10-957 Olsztyn-Kortowo, bl. 37.

CEZARIUSZ ŻÓRAWSKI, TADEUSZ KARPIŃSKI, PELAGIA SKWAREK

Badania nad przeżywalnością prątków kwasoodpornych w gnojowicy

Z Pracowni Immunologii Gruźlicy Instytutu Weterynarii w Puławach

Intensywny rozwój hodowli bydła i świń w naszym kraju przy równoczesnym uprzemysłowieniu metod produkcji zwierzęcej, stworzył konieczność rozwiązania problemu prawidłowego zagospodarowania gnojowicy, pochodzącej z dużych ferm. O ile zagadnienia związane z techniczną i agrotechniczną stroną tego problemu są ostatnio tematem licznych prac, o tyle aspektem sanitarno-weterynaryjnym użytkowania odchodów zwierzęcych poświęca się stosunkowo niewiele uwagi. Chodzi tu głównie o przeżywalność w gnojowicy chorobotwórczych drobnoustrojów, które mogłyby zagrozić zdrowiu zwierząt i ludzi.

Dane z piśmiennictwa wskazują, że pałeczki *Brucella abortus* mogą przeżywać w gnojowicy 35—72 dni, a drobnoustroje z rodzaju *Salmonella* nawet do 300 dni (5). Co się tyczy prątków kwasoodpornych, to badania Larsena (4) wykazały, że prątki John'e'a są w stanie przeżywać w kale okres 9 miesięcy, a gnojowica zawierająca te zarazki wykorzystana do zraszania łąk i pastwisk, może być źródłem infekcji dla młodego bydła. Brak jest natomiast danych co do przeżywalności w płynnych odchodach zwierzęcych innych chorobotwórczych mykobakterii.

Celem niniejszej pracy było określenie czasu przeżywalności niektórych prątków kwasoodpornych w gnojowicy pochodzącej z różnych typów ferm bydła i świń. Równocześnie oceniono przy-

datność do tego rodzaju badań 4 wybranych podłoży bakteriologicznych, używanych do izolowania i hodowli prątków kwasoodpornych.

Materiał i metody

Gnojowica użyta do badań pochodziła z trzech obiektów: 1) Gospodarstwo O — prowadzi odchów cieląt oraz młodego bydła rzeźnego. Cielęta żywione były mlekiem chudym, wzbogaconym dodatkiem Bovitanu, sianem łąkowym oraz mieszanką C. Bukatam wagi powyżej 150 kg podawano wywar gorzelniany, kiszonkę z kukurydzy, siano oraz mieszanek T.; 2) Gospodarstwo A — obora bydła mlecznego, żywionego kiszonkami z wysłodków lub żyta oraz sianem i słomą. W obu gospodarstwach budynki inwentarskie były typu tradycyjnego, gnojowica była usuwana kanałami na zasadzie samospływu. W kolektorach ściekowych gnojowicę przetrzymywano średnio przez okres 1—2 miesięcy. 3) Obiekt M — ferma przemysłowego tuczu świń typu „Gi-Gi”. Żywienie zwierząt opierało się na mieszankach paszowych typu „Starter” i „Prestart”. Budynki fermy zaopatrzone były w automatyczne urządzenia do usuwania odchodów transportowanych rurociągami do zakładu utylizacyjnego. Gnojowicę do badań pobierano ze studzienek ściekowych przed doprowadzeniem do nich ścieków pochodzących z innych części fermy, takich jak hala ubojowa, obiekty administracyjne itp. Pomieszczenia chlewni splukiwano co 5—6 dni 3% roztworem Pollena-Jod K, w ilości 2 litry roztworu na 160 m³ ścieków.

Gnojowice pochodzące z poszczególnych obiektów pobierano do plastikowych pojemników i badano je wstępnie na obecność prątków kwasoodpornych. W tym celu 5 ml próbki poddawano homogenizacji metodą szczawianową i posiewano na 3 podłoża Lowensteina-

—Jensena, 3 — Petragnaniego i 3 syntetyczne według Dubosa (2) z dodatkiem 1,5% agaru oraz 0,05 g chlorocidu, 0,05 g pimarufinu i 100 000 j. penicyliny na 1 l podłoża. Ponadto wykonywano posiewy na 3 podłoża Stuarta (8) używanego do izolowania *M. johnei*.

Gnojowice nie zawierające prątków kwasoopornych rozlewano do kolbek po 100 ml i zakażano je sztucznie następującymi szczepami: *Myc. bovis* AN₅, *Myc. avium* TB, *Myc. johnei* 1305, *Myc. battey* oraz prątkami skotochromogennymi szczepu *Nicolas*. Każdy rodzaj gnojowicy był zakażony oddzielnie każdym z wymienionych szczepów. Dawka zakażająca wynosiła 10 mg półsuchej masy prątków zawieszonych w 10 ml płynu fizjologicznego. Kolbki z gnojowicą zabezpieczono korkami z waty i przetrzymywano w miejscu ocienionym w warunkach otoczenia. Po upływie 2, 6, 12, 24, 32 i 40 tygodni od chwili zakażenia z każdej kolbki pobierano próbki po 5 ml gnojowicy, po czym homogenizowano je i posiewano na podłoża bakteriologiczne jak opisano wyżej.

Dodatkowo dla stwierdzenia czasu przeżywalności oraz zachowania zjadliwości *M. bovis* AN₅, próbki gnojowicy zakażonej tymi prątkami po homogenizacji wstrzykiwano domięśniowo 2 świnkom morskim. Po 8 tygodniach jeśli śmierć nie nastąpiła wcześniej zwierzęta zabijano i przeprowadzano badania sekcyjne. Próbkę biologiczną przeprowadzano także na kurczętach. Prątki ptasie wyizolowane z gnojowicy 24 i 32 tygodnie po jej zakażeniu, wstrzykiwano dożylnie w ilości 0,1 i 1,0 mg dwóm kurczętom w wieku 3 miesięcy. Z padłymi lub zabitymi po okresie obserwacji ptakami postępowano podobnie jak ze świnkami morskimi.

Badania przeprowadzono dwukrotnie, z gnojowicami pobranymi w sezonie letnim i zimowym. W wynikach podano łącznie maksymalny czas przeżywalności poszczególnych prątków uzyskany w obu badaniach.

Wyniki i omówienie

Wyniki dotyczące przeżywalności badanych prątków kwasoopornych w gnojowicy zestawiono w tab. 1. Jak wynika z tabeli okres przeżywalności tych drobnoustrojów zależał zarówno od właściwości indywidualnych określonego szczepu prątków, jak i od rodzaju gnojowicy. I tak prątki bydłace szczepu AN₅ izolowano z gnojowicy pochodzącej z obór bydła mlecznego i opasowego jeszcze po 12 tygodniach od chwili zakażenia, natomiast posiewy (i próba biologiczna) z gnojowicy świńskiej zakażonej tymi drobnoustrojami dawały wynik ujemny już po 6 tygodniach. Znacznie dłużej niż *M. bovis* AN₅ przeżywały w gnojowicy prątki ptasie szczepu TB. Zachowywały one żywotność i zjadliwość dla kur w gnojowicy bydłacej w ciągu 24 tygodni, a w gnojowicy świńskiej 32 tygodnie.

Tab. 1. Okres przeżywalności prątków kwasoopornych w gnojowicy pochodzącej z różnych ferm

Czas badania	Posiewy próbek gnojowicy zakażonej:														
	<i>M. bovis</i> AN ₅					<i>M. avium</i> TB					<i>M. johnei</i> 1305				
	O	A	M	O	A	M	O	A	M	O	A	M	O	A	M
2 tyg.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6 tyg.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12 tyg.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24 tyg.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32 tyg.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
40 tyg.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Objaśnienia: O — gnojowica z fermi bydła opasowego, A — gnojowica z fermi bydła mlecznego, M — gnojowica z fermi trzody chlewnej.

Okres przeżywalności *M. johnei* 1305 w próbkach gnojowicy pochodzącej z obory bydła opasowego był dłuższy niż 24 tyg., a w próbkach gnojowicy z fermi świńskiej — krótszy niż 6 tygodni. Prątki atypowe *M. battey* oraz szczepu skotochromogennego *Nicolas* zachowywały zdolność do wzrostu na podłożach bakteriologicznych przez okres 12—24 tygodni, w zależności od gnojowicy w której przeżywały.

Badane prątki przeżywały na ogół znacznie dłużej w gnojowicy bydłacej niż świńskiej. Być może odgrywał tu rolę środek dezynfekcyjny, którym okresowo odkazano fermę świń. Jednakże prątki ptasie, jak wspomniano wyżej, zdolne były przeżywać w tym środowisku ponad 32 tygodnie tj. około 8 miesięcy. Prątki ptasie odznaczają się szczególnie dużą opornością na działanie czynników zewnętrznych. Schliesser i Weber (7) wykazali, że w trocinach prątki ptasie zachowują żywotność i zjadliwość przez okres co najmniej 160 dni. Kozłow (3) podaje, że prątki ptasie po 17 miesiącach przebywania w ziemi utraciły częściowo zjadliwość, ale były zdolne do wywołania zakażenia u kur. Paterson (6) natomiast twierdzi, że w glebie, suchym nawozie i ściółce, *M. avium* może przebywać w stanie zdolnym do wywołania infekcji u drobiu i świń przez okres 4 lat. Podobny okres przeżywalności prątków ptasich wykazali Abdulin i wsp. (1) w ziarnie przeznaczonym na pasze dla zwierząt.

Z porównania wyników badań własnych i cytowanych autorów można sądzić, że w płynnych odchodach zwierzęcych *M. avium* i inne prątki kwasooporne przeżywają krótszy okres czasu, niż w wysuszonym kale, ściółce lub paszy. Tym niemniej okres ten jest dostatecznie długi, aby gnojowica zakażona prątkami gruźlicy, prątkami John'e'a lub atypowymi stanowiła zagrożenie dla zdrowia zwierząt.

Badanie gnojowicy na obecność prątków kwasoopornych nie jest łatwe, z uwagi na duże jej zanieczyszczenie różnorodną florą bakteryjną. Dlatego dobór odpowiedniej metody homogenizacji próbek oraz odpowiedniego zestawu podłoży, jest istotnym warunkiem powodzenia w próbach hodowlanych. Co się tyczy homogenizacji gnojowicy przed posiewem, to we wstępnym etapie pracy stwierdzono, że zastosowanie 5% kwasu szczawowego lub 1% zefirolu produkcji Bayer-Leverkusen daje lepsze wyniki, niż uży-

Tab. 2. Wyniki posiewów na różne podłoża próbek gnojowicy zakażonej prątkami kwasoopornymi

Podłoże	Gnojowica zakażona szczepem														
	<i>M. bovis</i> AN ₅					<i>M. avium</i> TB					<i>M. johnei</i> 1305				
	+	-	z	+	-	z	+	-	z	+	-	z	+	-	z
Łowenskielna Jensen	5	17	38	10	10	40	2	21	37	8	14	38	4	17	39
Petragnaniego	7	21	32	13	6	41	3	20	37	6	16	38	10	18	32
Dubosa	6	46	8	14	39	7	4	50	6	11	42	7	49	4	4
Stuarta	10	43	7	26	31	3	18	39	3	22	34	4	19	38	3
	29			29			29			29			29		
	8,7%			8,7%			8,7%			8,7%			8,7%		
	26,3%			26,3%			26,3%			26,3%			26,3%		
	64,0%			64,0%			64,0%			64,0%			64,0%		
	39			39			39			39			39		
	13,0%			13,0%			13,0%			13,0%			13,0%		
	21,0%			21,0%			21,0%			21,0%			21,0%		
	60,0%			60,0%			60,0%			60,0%			60,0%		
	42			42			42			42			42		
	14,0%			14,0%			14,0%			14,0%			14,0%		
	25,3%			25,3%			25,3%			25,3%			25,3%		
	10,7%			10,7%			10,7%			10,7%			10,7%		
	95			95			95			95			95		
	31,7%			31,7%			31,7%			31,7%			31,7%		
	61,7%			61,7%			61,7%			61,7%			61,7%		
	6,6%			6,6%			6,6%			6,6%			6,6%		

Objaśnienia: + = posiewy dodatnie, — = posiewy ujemne, z = posiewy przerosnięte.

cie 23% roztworu fosforanu trójsodowego. W przeprowadzonych badaniach wykorzystano metodę szczawianową jako najłatwiejszą do wykonania (9).

Wyniki posiewów z próbek gnojowicy, zakażonej poszczególnymi szczepami prątków na 4 wybrane podłoża zestawiono w tab. 2. Jak wynika z tabeli, na każdy rodzaj podłoża wykonano łącznie 300 posiewów. Na podłożu Lowensteina-Jensena uzyskano 9,7% dodatnich i 26,3 ujemnych wyników, a pozostałe 64% posiewów było przerośniętych pleśnią. Nieco więcej, bo 13% czystych hodowli prątków uzyskano na pożywce Petraganiano, jednakże odsetek posiewów przerośniętych był także wysoki, wynosił bowiem 60.

Na podłożu syntetycznym Dubosa, zawierającym antybiotyki hamujące wzrost pleśni, uzyskiwano ogółem 14% czystych hodowli prątków, tylko 10,7% było przerośniętych, a na 75% podłożu nie stwierdzono żadnego wzrostu. Należy sądzić, że antybiotyki zawarte w tym podłożu hamowały nie tylko wzrost pleśni, ale częściowo także wzrost prątków kwasopornych.

Spośród badanych podłoży, najlepsze wyniki w izolowaniu prątków z gnojowicy uzyskano na pożywce Stuarta. Posiewy na to podłoże dały 31,7% wyników dodatnich, 61,7% ujemnych, a tylko 6,6% pożywek było przerośniętych. Tak więc podłoże Stuarta wykorzystywane głównie do izolowania i hodowli prątków Johne'a, okazało się bardzo przydatne także do izolowania innych prątków kwasopornych. Należy tu jednak podkreślić, że w pojedynczych przypadkach uzyskiwano hodowle prątków bydłych lub ptasich na podłożu Lowensteina-Jensena i Petraganiano, nie obserwując wzrostu tych drobnoustrojów na pożywce Stuarta. Przedstawione wyniki badań hodowlanych obejmują wszystkie posiewy wykonane w czasie trwania doświadczenia, a więc i te z późniejszych okresów po zakażeniu gnojowicy, gdy próbki nie zawierały już prątków zdolnych do wzrostu. Stąd stosunkowo duży odsetek wyników ujemnych uzyskanych w próbach hodowlanych.

Wnioski

1. Użyte w doświadczeniu szczepy *M. bovis*, *M. avium*, *M. johnei*, *M. battey* oraz prątki skotochromogenne, zdolne były przeżywać w gnojowicy pochodzącej z obór bydła mlecznego i opasowego przez okres 12—24 tygodni.

2. Czas przeżycia wymienionych prątków w gnojowicy pochodzącej z fermy świń typu przemysłowego, w której często stosuje się środki odkażające, wynosił na ogół 2—12 tygodni. Jednakże jeden szczep (*M. avium*) zachowywał w tym środowisku żywotność i zjadliwość dla kur przez okres 32 tygodni.

3. Spośród 4 badanych podłoży najlepsze wyniki w izolowaniu prątków kwasopornych z gnojowicy uzyskiwano na pożywce syntetycz-

nej Stuarta. Równoczesne stosowanie podłoży jajowych ułatwiało izolowanie prątków bydłych i ptasich.

4. Gnojowica zawierająca chorobotwórcze drobnoustroje z rodzaju *Mycobacterium* może przez długi okres czasu stanowić potencjalne źródło zakażenia dla zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Abdulin Ch., Ch., Morozowski K. H., Kiryluk D. A., Pawłowa I. P., Veterinarija 11, 102, 1969.
2. Dubos R. J., Middlebrook G.: Am. Rev. Tuberc. 56, 334, 1947.
3. Kozłow W. S.: Problemy Tuberk. 10, 78, 1974.
4. Larsen A. B.: Am. J. vet. Res. 17, 549, 1956.
5. Motz R., von der Aa R.: Mh. Vet. Med. 25, 60, 1970.
6. Paterson A. B.: Adv. Tub. Res. 7, 101, 1956.
7. Schlösser Th., Weber A.: Zentbl. Vet. Med. 20, 710, 1873.
8. Stuart P.: Brit. vet. J. 12, 289, 1965.
9. Żórawski C.: Instrukcja w sprawie zasad przeprowadzania mikrobiologicznych badań na gruźlicę zwierząt. Min. Rol. Dep. Wet. 1968.

Adres autora: doc. dr habil. Cezariusz Żórawski, ul. Parfyzantów 57, 24-100 Puławy.

Журавский Ц., Карпинский Т., Скварек П. — Исследования по переживаемости кислотоустойчивых палочек в навозной жиже.

Pokazali, что *Myc. bovis*, *Myc. johnei*, *Myc. battey* и скотохромогенные палочки способны жить в навозной жиже из-под крупного рогатого скота и свиней 2—24 недели. *Myc. avium* живут в этой среде и сохраняют вирулентность для цыплят 32 недели. Из 4 примененных бактериологических сред наилучшие результаты в изолировании кислотоустойчивых палочек из навозной жижи получили на синтетической среде Стюарта.

Żórawski C., Karpiński T., Skwarek P. — Studies on the survival of acid-fast bacilli in a manure.

It was showed experimentally that *Myc. bovis*, *Myc. johnei*, *Myc. battey* and skotochromogenic bacilli were able to survive in bovine and pig liquid manure for the period of 2—24 weeks. In this environment *Myc. avium* survived and retained its virulence for chickens for the period of 32 weeks. Out of 4 bacteriological media used the best results in the isolation of the acid-fast bacilli from liquid manure were obtained on Stuart's synthetic medium.

SAWYER G. J.: Obserwacje nad populacją bakteryjną os cervix u owiec przed i po zamarcu młodów. (Observations on the bacterial populations of the os cervix of the ewe before and after embryo death). Aust. vet. J. 53, 542—544, 1977 (11).

Przebadano ilościowe i jakościowe zmiany flory bakteryjnej pochwy u owiec w okresie rui oraz po śmierci zarodków. Do synchronizacji rui stosowano iniekcje 20 mg progesteronu. Wymazy do badań bakteriologicznych pobierano 5, 10 i 15 dnia cyklu. Po 2 iniekcjach progesteronu owce inseminowano rozcieńczonym nasieniem dwukrotnie w odstępie 12 godzin. Śmierć płodów indukowano wprowadzając do jamy macicy 3,0 mg kolchicyny w 0,5 ml jałowej wody destylowanej. Bakterie izolowano z os cervix dojrziałych owiec w okresie rui oraz z zamarych zarodkach. Najczęściej izolowano drobnoustroje z rodzaju *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Bacillus* i *Escherichia*. Ilość drobnoustrojów zwiększała się znacznie po zamarcu płodów. W tych przypadkach izolowano również drobnoustroje potencjalnie chorobotwórcze jak *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium pyogenes*, pa-ciorkowce i gronkowce.

G.