

EWA SOMMER, TERESA MACIAK, EWA KUBISSA

Izolacja pałeczek *Salmonella* z materiału zwierzęcego przy użyciu różnych podłoży namnażających

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Warszawie, ul. Lechicka 21, 02-156 Warszawa

W ciągu ostatnich lat obserwuje się wzrost przypadków salmonelozy u zwierząt (1). Walka z tą chorobą uwarunkowana jest szybką i skuteczną identyfikacją czynnika wywołującego. Pomimo ciągłego postępu w laboratoryjnej diagnostyce salmonelozy, obecność pałeczek *Salmonella* w zakażonym materiale wykrywa się tylko w około 60% (9).

Do metod przyczyniających się do lepszej izolacji tych drobnoustrojów zaliczyć można stosowanie przednamnażania, selektywnych podłoży namnażających, przedłużonego czasu inkubacji oraz inkubację w podwyższonej temperaturze. Wyniki izolacji zależą także od rodzaju badanego materiału oraz serotypu pałeczki *Salmonella* (5, 12). Żadna z obecnie stosowanych metod nie daje w pełni zadowalających wyników (7). Diagnoza jest szczególnie utrudniona w przypadkach materiału zanieczyszczonego innymi drobnoustrojami, materiału zawierającego małe ilości pałeczek *Salmonella*, lub poddanego działaniu czynników termicznych, a także w próbach pochodzących od zwierząt leczonych antybiotykami i od nosicieli (2).

Celem pracy było sprawdzenie efektywności izolacji pałeczek *Salmonella* z prób padłego drobiu i zwierząt futerkowych przy zastosowaniu dwóch płynnych podłoży namnażających i dwóch podłoży stałych.

Materiał i metody

Badaniom poddano 347 prób narządów mięszo- wych padłych zwierząt (241 — drób, 50 — lisy, 31 — norki, 14 — tchórzofretki, 11 — nutrie). Próby z drobiu pochodziły od zwierząt podejrzanych o salmonelozę, pozostałe próbki natomiast — od zwierząt bez ukierunkowanej diagnozy.

Z narządów mięszo- wych padłych zwierząt wykonywano rutynowe posiewy na podłoża stałe — Mc Conkeya (MC) i podłoża z czerwienią fenolową i zielenią brylantową (BGA). Równocześnie wsiewano materiał do dwóch płynnych podłoży namnażających — bulionu z kwaśnym seleninem sodowym (SF) i bulionu z czterotianem sodu wg Müller-Kauffmanna (MK), w stosunku 1:10. Po 24 godzinach inkubacji w temp. 37°C podejrzane kolonie identyfikowano wg ogólnie przyjętych zasad (badania serologiczne i biochemiczne). Serotypy grupy OC, rzadko spotykane, zostały określone przez Krajowy Ośrodek *Salmonella* w Gdańsku.

Wyniki i omówienie

Pałeczkę *Salmonella* wyizolowano w 125 przypadkach. Najczęściej stwierdzano *S. typhimurium* (57 przypadków). Na uwagę zasługuje stosunkowo duża liczba, uprzednio rzadko spo-

tykanych na naszym terenie u drobiu, pałeczek *Salmonella* z grupy OC — *S. isangi*, *S. infantis*, *S. newport*, *S. thompson* i *S. oranienburg*.

Metodą bezpośrednich posiewów uzyskano 33 wyniki dodatnie. Zastosowanie podłoży namnażających zwiększyło liczbę pozytywnych wyników prawie trzykrotnie (tab. 1). Najbardziej skutecznym w naszych badaniach okazało się 24 godzinne namnażanie badanego materiału na podłożu SF, a następnie przesiew na podłożu BGA (tab. 2). Warto podkreślić, że każdą zastosowaną metodą otrzymano pewną ilość wyników dodatnich, których nie uzyskano pozostałymi metodami. Większą efektywność podłoża SF aniżeli podłoża MK potwierdzają badania innych autorów (8, 10). Zdaniem Harvey'a (6) podłoża SF jest bardziej przydatne przy izolowaniu pałeczek *Salmonel-*

Tab. 1. Częstotliwość izolowania pałeczek *Salmonella* z narządów padłych zwierząt w zależności od zastosowanej metody posiewów

Zwierzęta	Liczba przebadanych zwierząt	Ilość wyników dodatnich w posiewach		Ilość wyników ujemnych
		bez namnażania	z namnażaniem	
Drób	241	22	67	145
Futerkowe	106	11	25	70
Razem	347	33	92	215

Tab. 2. Stosunek dodatnich izolacji serotypów pałeczek *Salmonella* do ogólnej liczby izolacji przy zastosowaniu różnych podłoży namnażających

Salmonella (serotyp)	MK		SF		Po- siewy bezpo- średnie
	BGA	MC	BGA	MC	
S. typhimurium	38/57	19/57	48/57	30/57	—
S. enteritidis	3/7	0/7	5/7	2/7	—
S. dublin	2/2	0/2	2/2	1/2	—
S. anatum	3/7	1/7	4/7	3/7	—
S. isangi	0/1	1/1	0/1	0/1	—
S. infantis	4/7	0/7	6/7	6/7	—
S. newport	2/3	0/3	3/3	0/3	—
S. thompson	0/1	0/1	0/1	1/1	—
S. oranienburg	2/2	1/2	2/2	1/2	—
S. gallinarum- pullorum	1/7	1/7	1/7	1/7	7/7

la z kału świń, natomiast podłoże MK przy badaniu węzłów chłonnych tych zwierząt. Edgar i wsp. (4), izolując pałeczki *Salmonella* ze ścięków, przy zastosowaniu różnych podłoży, najlepsze wyniki uzyskali po namnażaniu prób w podłożu MK.

Wydaje się wskazane równoległe stosowanie obu płynnych podłoży namnażających oraz obu podłoży stałych. Postępowanie takie stwarza szansę uzyskania większej liczby dodatnich i miarodajnych wyników. W niniejszej pracy pałeczkę *S. isangi* izolowano bowiem jedynie w przypadku namnażania materiału diagnostycznego w podłożu MK, a następnie dokonaniu przesiewów na podłoże McConkey'a. W żadnym przypadku jednak nie uzyskano wzrostu *S. enteritidis* i *S. dublin* przy zastosowaniu tego toku postępowania. Równoległe stosowanie 2 różnych podłoży namnażających ma także istotne znaczenie w przypadkach obecności w badanym materiale dwóch lub więcej różnych serotypów pałeczek *Salmonella*. Robertson (11) stosując podłoże SF uzyskał lepsze wyniki przy wyosabnianiu *S. dublin*, *S. seftenberg*, *S. agona*, *S. montevideo* i *S. thompson*, natomiast stosując podłoże MK — przy wyosabnianiu *S. derby*, *S. tennessee* i *S. infantis*. Podobnie Harvey (7) lepsze wyniki uzyskał przy izolacji *S. dublin* na podłożu SF aniżeli na podłożu MK.

Z drugiej strony wiadomo, że obydwa omawiane podłoża namnażające wywierają hamujące działanie na wzrost pałeczek *S. gallinarum-pullorum*, *S. choleraesuis* i *S. abortus ovis* (11, 12). W badaniach własnych pałeczkę *S. gallinarum-pullorum* w posiewach bezpośrednich wyosobniono 7-krotnie. Przy zastosowaniu namnażania serotyp ten wyizolowano jedynie w 2 przypadkach (tab. 2). Potwierdza to opinię wym. autorów o toksycznym wpływie pożywek namnażających na pałeczkę *S. gallinarum-pullorum* i przemawia za koniecznością dokonywania posiewów bezpośrednich z materiału pochodzącego od drobiu.

Z dwu zastosowanych podłoży stałych, podłoże BGA w większości przypadków okazało się lepsze niż podłoże McConkeya (częstotliwość izolacji, obfitość wzrostu, łatwiejsze diagnozowanie podejrzanych kolonii). Zgodne jest to z ogólną opinią o przydatności tego podłoża do izolacji pałeczek *Salmonella* (3).

Wnioski

1. Równoległe stosowanie dwóch różnych podłoży namnażających gwarantuje uzyskanie większej liczby pozytywnych wyników w diagnostyce materiału podejrzanego o zakażenie pałeczką *Salmonella*.

2. Uzyskano lepsze wyniki przy zastosowaniu podłoża BGA w porównaniu do podłoża McConkey'a.

3. W przypadku diagnozowania prób pochodzących od drobiu należy koniecznie wykonywać posiewy bezpośrednie na podłożach stałych.

Pismienictwo

1. Anusz Z.: Prz. epid. 33, 109, 1979.
2. Chaitopadhyay B., Pufold J. N.: Med. Lab. Science 33, 191, 1976.
3. Dunn C., Martin W. J.: Appl. Microbiol. 22, 17, 1971.
4. Edgar D., Sour M. S.: J. appl. Bact. 47, 237, 1979.
5. Harvey R. W. S., Price T. H.: J. Hyg., Camb. 77, 333, 1976.
6. Harvey R. W. S., Price T. H., Morgan J.: J. Hyg. Camb. 78, 439, 1977.
7. Harvey R. W. S., Price T. H.: J. appl. Bact. 46, 27, 1979.
8. Hobbs B. C.: Annis. Inst. Pasteur, Paryż 104, 621, 1963.
9. Kafel S., Bryan F. L.: Appl. Environ. Microbiol. 34, 245, 1977.
10. North W. R., Bartram M. T.: Appl. Microbiol. 1, 130, 1953.
11. Robertsson J. A., Soderlind O.: Acta vet. scand. 18, 300, 1977.
12. Smith H. W.: J. Hyg., Camb. 50, 21, 1952.

Adres autora: dr Ewa Sommer, ul. Lechicka 21, 02-156 Warszawa.

Зоммер Э., Мацяк Т., Кубисса Э. — Изоляция палочек *Salmonella* из животного материала с применением различных размножающих питательных сред.

Сравнительно применили 2 размножающие питательные среды: бульон по Мюллеру-Кауффману и бульон с кислым селенитом натрия, а также 2 устойчивые питательные среды: агар по Макконкею и агар с бриллиантовой зеленью и феноловым красным, для изолирования палочек *Salmonella* из 347 проб, происходящих от домашней птицы и пушных зверей. Методом непосредственных посевов получили 33 положительных результата. Применение размножающих питательных сред увеличило число положительных результатов почти в 3 раза. Наилучшие результаты получили при применении бульона с кислым селенитом натрия и затем посева на агар с бриллиантовой зеленью и феноловым красным. Параллельное применение двух разных размножающих сред вызывало получение большего числа положительных результатов.

Sommer E., Maciak T., Kubissa E. — Isolation of *Salmonella* bacilli from animal samples using various growth media.

There were used two liquid growth media, i. e. broth acc. to Müller-Kauffman and broth with sodium acid selenite, and two solid media — MacConkey's agar and medium with brilliant green and phenol red (BGA), to isolate *Salmonella* bacilli from 347 samples originated from poultry and from fur animals. There was obtained 33 positive findings by means of direct inoculation of the media. The use of growth media increased the positive results almost 3 times. The best findings were found using broth with sodium acid selenite and then by carrying the inoculum on BGA medium.

SCOTT E. A., BYARS T. D., LAMAR A. M.: Zaburzenie krzepliwości krwi u koni pod wpływem warfaryny. (Warfarin anticoagulation in the horse). J. Am. vet. med. Ass. 177, 1146—1151, 1980 (11).

Badania przeprowadzone na 4 koniach z zapaleniem żyl z użyciem warfaryny podawanej doustnie w tabletkach (0,25—25 mg) względnie w iniekcjach (50, 75 mg) wykazały, że warfaryna indukuje protrombopenię. W celu zniesienia efektów zatrucia warfaryną podawano heparynę i witaminę K. Warfaryna hamowała wytwarzanie przez wątrobę czynników krzepnięcia II, VII, IX i X. Pojawienie się wybroczyn zarówno na brzegach ran chirurgicznych jako i pod skórą komplikowało leczenie. Witamina K1 w iniekcjach dożylnych w dawce 0,3—0,5 mg/kg masy ciała znosiła efekty toksycznego działania warfaryny.

G.