

Reasumując, wyniki prezentowanych badań wskazują na pękanie tętnic u indyków jako istotne źródło strat w chowie tego gatunku drobiu. Etiologia tego typu stanów chorobowych wydaje się być złożona. Poza czynnikami antyżywniowymi zawartymi w grochu, bobiku i wyce istotną rolę mogą też odgrywać zaburzenia w przemianie tłuszczowej oraz stany niedoborów witaminowo-mineralnych. Predysponująco też oddziałują różnego typu czynniki stresowe prowadzące do pobudzenia ruchowego ptaków i wzrostu ciśnienia krwi tętniczej.

Piśmiennictwo

1. Bańkowski E., Galasiński W.: Post. Bioch. 20, 481, 1974.

2. Carnes W. H.: Fedn Proc. 30, 995, 1971.
3. Hennenberg M.: Zatrucia roślinami wyższymi i grzybami. PZWL, Warszawa 1984.
4. Hultquist G. T., Karlsson U.: Path. Europ. 97, 101, 1972.
5. Jeleńska M. J.: Post. Bioch. 17, 137, 1971.
6. Koncicki A.: Informacja ustna, 1993.
7. Kucharz E.: Wiad. lek. 39, 609, 1976.
8. McKusick V., Martin G. R.: Ann. intern. Med. 82, 585, 1975.
9. Włoch J., Ratka P.: Przeg. derm. 65, 477, 1977.
10. Quereshi M. Y.: Phytochemistry 16, 477, 1971.

Adres autora: prof. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskiego 4/5, 50-345 Wrocław

ANDRZEJ HOSZOWSKI, MARIAN TRUSZCZYŃSKI

Ocena przydatności podłoża Rambacha przy izolacji i identyfikacji pałeczek *Salmonella*

Zakład Mikrobiologii Instytutu Weterynarii. Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Usefulness of Rambach's agar for *Salmonella* sp. isolation and their identification

One hundred and nineteen strains of *Salmonella* sp. belonging to 26 serovars were tested on Rambach's agar. Only 65 per cent of the strains under study produced characteristic red colonies. The other strains could not be distinguished from *Enterobacteriaceae* because of the atypical colour of the colonies. No strains belonging to the *S. choleraesuis*, *S. pullorum* or *S. gallinarum* serovars were found, which could develop red pigmented colonies on Rambach's agar. The detection of lactose-positive strains of *Salmonella* sp. was not possible because such bacteria produced blue-violet colonies. A final assessment of the medium needs further examinations including fresh isolates.

Przy wykrywaniu pałeczek *Salmonella* stosuje się wiele różnych podłoży różnicująco-selektywnych. Większość z nich posiada w swym składzie laktozę oraz wskaźnik siarkowodorowy, który daje możliwość wykazania zdolności danego szczepu do tworzenia H₂S. Oprócz tych elementów w składzie podłoża znajdują się pewne substancje selektywnie hamujące wzrost innych niż salmonelle bakterii (zieleń brylantowa, żółć, sole żółci itp.) (4).

Różnicowanie pałeczek *Salmonella* możliwe jest dzięki temu, że są one zdolne do tworzenia siarkowodoru i alkalizacji podłoży (z zasady nie fermentują laktozy) w miejscu wzrostu kolonii, co jest uwidaczniane dzięki odpowiednim wskaźnikom barwnym, wchodzącym w skład podłoża. Inne bakterie, fermentujące laktozę, zakwaszają pożywkę i nie tworzą siarkowodoru w miejscu wzrostu bakterii, w związku z czym barwa kolonii jest inna. Niekiedy jednak przy identyfikowaniu kolonii *Salmonella* napotyka się na znaczne trudności, gdyż około 4% szczepów *Salmonella* nie jest zdolnych do produkcji siarkowodoru, a pewien odsetek szczepów cechuje zdolność do rozkładania laktozy (1, 6). Dodatkowym utrudnieniem jest fakt, że takie drobnoustroje, jak *Proteus* czy *Citrobacter fre-*

undii są również zdolne do tworzenia siarkowodoru i mogą nie rozkładać laktozy; ich kolonie są zatem bardzo podobne do kolonii pałeczki *Salmonella*. Należy również pamiętać o tym, że intensywność produkcji siarkowodoru przez poszczególne szczepy salmoneli może się różnić i dodatkowo zależeć od koncentracji tlenu w kolonii oraz od pH i stężenia żelaza w podłożu (5).

W związku z tym trwają ciągłe poszukiwania stworzenia bardziej doskonałych podłoży, w sensie identyfikacji salmoneli. Jednym z podłoży opracowanych ostatnio z myślą o izolacji salmoneli jest agar z glikolem polipropylenowym (GP), opisanym przez Rambacha (5). Różnicowanie salmoneli na tym podłożu opiera się na ich zdolności do tworzenia kwasu z glikolu polipropylenowego. Według autora ta cecha jest charakterystyczna dla salmoneli w przeciwieństwie do innych *Enterobacteriaceae*. W związku z tym może być wykorzystana dla ich identyfikowania.

Produkcja podłoża została podjęta przez kilka firm. Pojawiło się ono również na rynku polskim. Z tego powodu postanowiono ocenić jego przydatność przy izolacji i identyfikacji salmoneli z materiału zwierzęcego.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 119 szczepach *Salmonella* kolekcji Zakładu Mikrobiologii IWet w Puławach. Należały one do 26 serotypów. Izolowano je w latach 1982-1990 od padłych zwierząt i z pasz. Laktozodatnie (Lac+) szczepy *S. agona* oraz *S. typhimurium* uzyskano z Państwowego Zakładu Higieny. Szczepy przechowywano na podłożu agarowym, w postaci skosów, w próbkach szczelnie zamkniętych, w temperaturze pokojowej, bądź w postaci liofilizatów.

P o d ł o ż a. Do badań użyto agaru Rambacha produkcji firmy Merck. Przygotowywano go zgodnie z zaleceniami producenta. Przed posiewem na agar Rambacha szczepy bakteryjne pasażowano 3-krotnie przez bulion BHI (Brain Heart Infusion Broth Difco) po 24 godziny w temp. 37°C. Następnie za pomocą ezy o Ø3 mm dokonywano posiewów powierzchniowych w taki sposób, ażeby uzyskać na agarze pojedyncze

kolonie. Posiewy na płytkach z agarem Rambacha hodowano przez 24 godz. w temp. 37°C i obserwowano wygląd kolonii.

Wyniki i omówienie

Tabela 1 zawiera wyniki uzyskane z obserwacji wzrostu 26 różnych serotypów *Salmonella* na podłożu Rambacha po 24-godzinnej inkubacji. Ogółem przebadano 119 szczepów. Typowy wygląd kolonii, zgodny z opisem podanym przez producenta (czerwone kolonie), stwierdzono podczas hodowania 78 badanych szczepów (65,5%). W pozostałych przypadkach obserwowano tworzenie kolonii zabarwionych na kolor beżowy, zielono-niebieski lub niebieski. Ani razu nie zarejestrowano tworzenia typowych czerwonych kolonii przez szczepy *S. choleraesuis* (0/10), *S. gallinarum* (0/7), *S. pullorum* (0/8) oraz *S. abortus-ovis* (0/1). Większość szczepów spośród kolejnych 2 badanych serotypów, *S. enteritidis* oraz *S. thompson*, nie była również zdolna do tworzenia charakterystycznych dla salmoneli kolonii. Także nie wszystkie szczepy *S. newland* i *S. newport* tworzyły podczas wzrostu na tym podłożu kolonie o typowym dla salmoneli wyglądzie. Laktozododatnie szczepy, zgodnie z oczekiwaniami, nie rosły na podłożu Rambacha w postaci charakterystycznych dla salmoneli kolonii, co uniemożliwiało ich różnicowanie z innymi *Enterobacteriaceae*.

Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że zdolność do metabolizowania glikolu propylenowego (GP) jest cechą charakterystyczną dla pałeczek *Salmonella* (5). Wyjątkiem są szczepy należące do serotypów *S. typhi* i *S. paratyphi* nie rozkładające GP, w związku z czym podłoże Rambacha nie nadaje się do izolacji tych drobnoustrojów (2, 3, 5).

Uzyskane przez nas wyniki nie pokrywają się z tymi obserwacjami, gdyż – jak się okazało – tylko 65,5% szczepów pochodzących z naszej kolekcji tworzyło podczas wzrostu na tym podłożu czerwone kolonie. Pozostałe rosły w postaci kolonii barwy beżowej lub niebieskiej, co wskazywało na nierozkładanie GP.

Według Rambacha (5) zdolność do utylizacji GP przez pałeczki *Salmonella* jest cechą fenotypową tego drobnoustroju. Można więc przypuszczać, że część naszych szczepów podczas przechowywania utraciła tę cechę. Powstaje pytanie, czy szczepy bytujące u zwierząt lub występujące w paszach, środowisku, żywności, pod wpływem różnych czynników zewnętrznych (leczenie, dezynfekcja, różnorodne czynniki chemiczne) mogą także tracić tę właściwość. Wówczas mogłoby się bowiem okazać, że podłoże Rambacha nie spełnia właściwie swej funkcji, a efektywność izolacji i wstępnej identyfikacji salmoneli, może być niska.

Z naszych obserwacji wynika, że żaden ze szczepów w obrębie takich serotypów, jak *S. choleraesuis*, *S. pullorum* i *S. gallinarum* nie był zdolny do tworzenia na tym podłożu czerwonych kolonii. Jak na razie brak jest danych innych autorów co do wyglądu kolonii tworzonych przez te szczepy na tym podłożu (2, 3, 5).

Dodatkowo laktozododatnie szczepy *Salmonella*, stwierdzane ostatnio coraz częściej (6), rosną w postaci kolonii niebiesko-fioletowych, nie do odróżnienia od takich reprezentantów *Enterobacteriaceae*, jak *E. coli*, *Citrobacter*, *Hafnia*. Takie szczepy *Salmonella* w przypadku posługiwania się ocenianym podłożem zostaną więc odrzucone z dalszych badań.

Kolejną niedoskonałością podłoża Rambacha jest użycie jako czynnika hamującego wzrost innych niż salmonele bakterii jedynie dezoksyholanu sodu w koncentracji (1 g/L). Obniża to jego efektywność, gdyż wyszukanie kolonii salmoneli wśród

Tab. 1. Wygląd kolonii *Salmonella* na podłożu Rambacha

Serotyp	Liczba szczepów	Wygląd typowy*	Wygląd nietypowy**
<i>S. abortus-ovis</i>	1	0	1
<i>S. agona</i>	3	3	0
<i>S. agona Lac+</i>	3	0	3
<i>S. anatum</i>	2	2	0
<i>S. choleraesuis</i>	10	0	10
<i>S. derby</i>	6	6	0
<i>S. dublin</i>	2	2	0
<i>S. enteritidis</i>	18	17	1
<i>S. gallinarum</i>	7	0	7
<i>S. heidelberg</i>	6	6	0
<i>S. infantis</i>	5	5	0
<i>S. manhattan</i>	1	1	0
<i>S. manchester</i>	1	1	0
<i>S. meleagridis</i>	2	2	0
<i>S. muenster</i>	2	2	0
<i>S. newland</i>	6	4	2
<i>S. newport</i>	6	4	2
<i>S. ohio</i>	2	2	0
<i>S. oranienburg</i>	8	8	0
<i>S. pullorum</i>	6	0	6
<i>S. saint-paul</i>	4	4	0
<i>S. schwarzengrund</i>	1	1	0
<i>S. senftenberg</i>	4	4	0
<i>S. thompson</i>	9	1	8
<i>S. typhimurium</i>	3	3	0
<i>S. typhimurium Lac+</i>	1	0	1
Razem	119 (100%)	78 (65,5%)	41 (34,5%)

Objaśnienia: * – barwa czerwona; ** – barwa beżowa, niebieska lub niebiesko-fioletowa.

obfitego wzrostu innych bakterii na powierzchni podłoża może nastąpić dużych trudności.

W celu przedstawienia ostatecznej oceny niezbędne wydają się dalsze badania przy użyciu świeżo izolowanych kultur salmoneli, gdyż fenotypowa cecha metabolizowania GP mogła ulec zanikowi u szczepów stanowiących przedmiot badań, a które w znacznym odsetku były przechowywane w warunkach laboratoryjnych zanim użyto je w omawianych doświadczeniach.

Piśmiennictwo

1. Ewing W. H.: Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. 4th edition. Elsevier Science Publishing Co., New York 1986.
2. Freydiere A. M., Gille Y.: J. Clin. Microb. 29, 2357, 1991.
3. Gruenewald R., Henderson R. W., Yappow S.: J. Clin. Microb. 29, 2354, 1991.
4. Harvey R. W. S., Price T. H.: J. Appl. Bact. 46, 27, 1979.
5. Rambach A.: Appl. Environ. Microb. 56, 301, 1990.
6. Tyc. Z., Szych J., Kałużewski S.: Med. Dośw. 41, 108, 1989.

Adres autora: dr Andrzej Hoszowski, ul. Kołłątaja 43/19, 24-100 Puławy