

wy i krystaliczny hamowały wzrost badanych drobnoustrojów (21 dni obserwacji). W hodowli na podłożu Brucella Medium Base z surowią i krwią w warunkach tlenowych stwierdzono brak wzrostu.

W preparatach mikroskopowych wykonanych z materiału z podłoża bakteriologicznych stwierdzono kokopalczki barwiące się metodą Grama — ujemnie, zmodyfikowaną metodą Ziehl-Neelsena na czerwono oraz metodą Köstera na ciemnoniebiesko (inne brucele barwią się na czerwono) (1).

Właściwości biochemiczne (badano na materiale wyrosłym na podłożach w obecności CO₂) były następujące: oksydaza⁻, H₂S⁻, V—P⁻, M—R⁻, ureaza⁻, glukoza⁻, katalaza⁺, laktoza⁻, red. azotanów⁻. W hodowli na podłożach Levina i MacConcey w warunkach tlenowych oraz 10% CO₂ nie stwierdzono wzrostu.

Szczep przesłano do Instytutu Pasteura w Paryżu do pracowni prof. H. H. Mollaret z podejrzeniem o przynależność do gatunku *Brucella ovis*. Wynik został potwierdzony (Instytut Pasteura, pismo nr 785-83 z 12.10.83). Metodami serologicznymi i typowaniem fagowym wykluczono *Brucella abortus* i *Brucella melitensis*.

Wykrycie przypadku zakażenia u tryka palczką *Brucella ovis* wskazuje na możliwość występowania tego schorzenia w stadach owczych w Polsce. W tej sytuacji celowe wydaje się podjęcie badań serologicznych za pomocą OWD z antygenem *Brucella ovis* w stadach owiec szczególnie tam, gdzie występuje znaczniejsze nasilenie zapaleń najądrzy u tryków ewentualnie ronień, dla określenia zasięgu i nasilenia tego schorzenia.

Piśmiennictwo

1. Blobel H., Schlessner T.: Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren. T. IV, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1982.
2. Buddle M. B.: J. Hyg. 54, 351, 1956.
3. Buddle M. B., Boyes M. W.: Aust. vet. J. 29, 145, 1953.
4. Meyer M. E., Blobel H., Schlessner T.: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. T. IV, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1982.

Adres autora: doc. dr hab. Zdzisław Boryczko, ul. Nowoursynowska 164/24, 02-766 Warszawa.

Борычко З., Фурович А., Вильк Г., Якубовская Л.
— Случай инфекции семени барана палочкой *Brucella ovis*

У барана, в семени которого отметили некро-спермии и клинические изменения в генеративном органе в непосредственном мазке из семени, окрашенном методом Циля-Нельсена и Кестера, нашли палочки из рода *Brucella*. Подробные бактериологические исследования, выполненные после забоя животного, из ткани ядра и отложений фибрина с поверхности собственной оболочки ядра, позволили изолировать палочки *Brucella ovis*.

Boryczko Z., Furowicz A., Wilk G., Jakubowska L. — Contamination of a ram semen with *Brucella ovis*

In the necrotic semen, obtained from a ram with clinical lesions in the genital organ, there were found the rods of *Brucella* sp. after staining with the modified Ziehl-Neelsen method and Köster's method. PM bacteriological examinations enabled to isolate *B. ovis* from the testicle tissue and fibre deposits from the surface of the testicular sheath.

KAZIMIERZ ROSŁANOWSKI, CARL H. PEDERSEN*,
STEFAN WIERZBOWSKI**, EWA ANDRZEJEWSKA

Występowanie bakterii *Campylobacter sputorum* subsp. *bubulus* w worku napletkowym buhajów zebu i bawołów

Zakład Profilaktyki Niepłodności Instytutu Weterynarii Oddział w Poznaniu, ul. Poznańska 35,
62-020 Swarzędz

* FAO Livestock Development Project, Zanzibar, Tanzania P.O. Box 159

** Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasienniania Zwierząt Instytutu Zootechniki w Krakowie, 32-083 Balce

Spośród bakterii rodzaju *Campylobacter* w narządach rozrodczych bydła, oprócz szczepów chorobotwórczych, takich jak *C. (Campylobacter) fetus subsp. fetus* i *C. fetus subsp. intestinalis*, występować może również szczep niechorobotwórczy, określony według systematyki bakterii w VII wydaniu Bergeya (1974) jako *C. sputorum subsp. bubulus* (dawna nazwa *Vibrio bubulus* (4)). Obecność tych bakterii stwierdza się bardzo często w worku napletkowym buhajów, natomiast tylko sporadycznie występują one w narządach rozrodczych krów i jałówek.

Liczni autorzy (3, 5, 14, 17) wykazali, że *C. sputorum subsp. bubulus* występuje u 18,0—85,0% buhajów. W toku własnych obserwacji stwierdzono, że ten podgatunek mętlika bytuje w worku napletkowym 50—80% buhajów

starszych, a znacznie rzadziej występuje u buhajów młodych (9). Rola tego drobnoustroju nie jest dokładnie poznana. Wiadomo, że bakterie te usadawiają się w przedniej części worka napletkowego i bytują na powierzchni nabłonka, nie wnikając do głębszych warstw błony śluzowej (10). Próby sztucznego doszyjkowego zakażenia jałówek tymi bakteriami w toku własnych badań (6) nie dały pozytywnego efektu, co przemawiałoby również za ich niechorobotwórczością. Istnieją jednak prace, których autorzy (11, 13, 17) wykazali obecność *C. sputorum subsp. bubulus* w postaci czystych kultur w poronionych płodach bydłych.

Podjęte badania miały na celu ocenę częstotliwości występowania bakterii rodzaju *Campylobacter*, a szczególnie *C. sputorum subsp. bubulus* w materiale pobranym od buhajów

używanych do rozplodu w Pakistanie. Materiał do badań w stanie zamrożonym przesyłano drogą lotniczą do Polski i w Zakładzie Profilaktyki Niepłodności Instytutu Weterynarii w Swarzędzu poddawano szczegółowej diagnostyce laboratoryjnej.

Materiał i metody

Badaniem w kierunku zakażenia bakteriami rodzaju *Campylobacter* objęto ogółem 66 buhajów, w tym 25 buhajów zebu rasy sahiwal oraz 41 bawołów rasy nili ravi. Buhaje te były używane w stacji unasienniania Oadirabad. Wiek zwierząt wynosił od 2,8 do 14,8 lat, z przewagą osobników starszych.

Materiałem do badań diagnostycznych były wypłuczyny z worka napletkowego pobrane przy użyciu około 50 cm³ fizjologicznego roztworu NaCl o pH 7,0 oraz świeżo uzyskane nasienie (pierwszy ejakulat). Wypłuczyny poddawano wirowaniu 3500 obr/min. przez 15 minut i następnie z 1/3 dolnej części wirowanego płynu pobierano próbki, którymi napełniano słomki plastikowe o pojemności 0,5 cm³. Nasienie rozcieńczano w stosunku 1:10 rozcieńczalnikiem laktowo-żółtkowym z dodatkiem 7% glicerolu i również napełniano nim słomki. Proces zamrażania próbek odbywał się według zasad postępowania stosowanego w odniesieniu do nasienia przeznaczanego dla potrzeb unasienniania, przy zachowaniu okresu ekwibracji 3—6,5 godzin. W niektórych przypadkach odwirowany płyn pochodzący z wypłuczyn z worka napletkowego mieszano z rozcieńczonym nasieniem i dopiero wówczas napełniano słomki i zamrażano. Słomki z zamrożonym materiałem umieszczano w 25-litrowym pojemniku z płynnym azotem i drogą lotniczą wysyłano do Polski. Po otrzymaniu przesyłki, słomki z zamrożonym materiałem wyjmowano z pojemnika z płynnym azotem i umieszczano w łaźni wodnej o temp. 37°C na okres 15 sekund. Następnie zawartość słomek wlewno do probówek wirówkowych i wirowano 3500 obr/min. przez 15 minut, po czym z każdej probówki pobierano pewną ilość supernatantu i наносzono po 1—2 krople na dwie płytki z podłożem stałym (agar mięsny z dodatkiem chlorowodoru cysteiny oraz krwi) i do dwóch probówek z pożywką płynną według Bartletta. Podłoża z naniesionym materiałem umieszczano w pojemniku w atmosferze 85% azotu, 10% dwutlenku węgla oraz 5% tlenu i inkubowano w cieplarni w temp. 37°C, a po upływie 72 godzin przeprowadzano kontrolę wzrostu bakterii.

Po stwierdzeniu obecności drobnoustrojów o morfologicznych cechach *Campylobacter*, dążono do uzyskania czystej hodowli wyizolowanego szczepu i określenia jego właściwości biochemicznych w celu ustalenia przynależności gatunkowej. Badania te polegały na określeniu zdolności wzrostu na podłożach z dodatkiem 1% glicyny i 3,5% NaCl, a także zdolności wytwarzania katalazy i siarkowodoru. Obserwowano również wzrost tych bakterii w temp. 25°C. Okres między pobraniem materiału od buhajów, a przeprowadzeniem badań diagnostycznych wynosił od kilku tygodni do kilku miesięcy. Uzyskane wyniki analizowano pod względem częstotliwości występowania wyizolowanych bakterii rodzaju *Campylobacter*, z uwzględnieniem przynależności rasowej badanych buhajów oraz ich wieku.

Wyniki i omówienie

Laboratoryjne badania diagnostyczne wypłuczyn z worka napletkowego i nasienia pobranego od 66 buhajów wykazały, że w materiale pochodzącym od 15 (22,7%) osobników nie stwierdzono obecności bakterii należących

Tab. 1. Występowanie bakterii *Campylobacter sputorum* subsp. *bubulus* w materiale z worka napletkowego buhajów zebu i bawołów

Badane buhaje			Izolacja bakterii <i>C.sput. subsp. bubulus</i>		Brak izolacji bakterii <i>C.sput. subsp. bubulus</i>	
rasa	liczba	wiek (w latach)	liczba buhajów	%	liczba buhajów	%
zebu sahiwal	25	5,2 (2,8-9,5)	13	52,0	12	48,0
Bawoły nili ravi	41	7,2 (4,1-14,8)	38	92,7	3	7,3
Ogółem	66	6,2 (2,8-14,8)	51	77,3	15	22,7

Tab. 2. Właściwości biochemiczne szczepów *Campylobacter sputorum* subsp. *bubulus* wyizolowanych z worka napletkowego i nasienia badanych buhajów

Liczba wyizolowanych szczepów	Właściwości biochemiczne					
	wytwarzanie			wzrost na podłożu		
	katalazy	H ₂ S*	H ₂ S** z dodatkiem 1% glicyny	z dodatkiem 1% glicyny	z dodatkiem 3,5% NaCl	w temp. 25°C
31	-	+	+	+	+	+
17	-	+	+	+	+	±
3	-	+	+	+	+	-

Objaśnienia: * = badane papierkiem ołowianym, ** = badane na podłożu trójcukrowym z siarczanem żelazawym.

do rodzaju *Campylobacter*. Z pozostałych prób pobranych od 51 (77,3%) buhajów wyizolowano drobnoustroje, które na podstawie cech morfologicznych oraz właściwości biochemicznych według Smiberta (15) i podziału taksonomicznego według Bergeya (2) sklasyfikowano jako *C. sputorum* subsp. *bubulus* (tab. 1). Szczepy te nie wytwarzały katalazy, natomiast posiadały zdolność wytwarzania H₂S i wykazywały wzrost na podłożach z dodatkiem 1% glicyny oraz 3,5% NaCl. Zdecydowana większość wyizolowanych szczepów charakteryzowała się dobrym wzrostem w temperaturze 25°C, a jedynie niektóre szczepy cechowały się słabym lub zupełnym brakiem wzrostu w tej temperaturze (tab. 2).

W materiale pochodzącym od buhajów zebu rasy sahiwal stwierdzono obecność bakterii *C. sputorum* subsp. *bubulus* w 13 próbach, co stanowi 52%, natomiast w materiale pobranym od 41 bawołów rasy nili ravi drobnoustroje te były obecne w 38 badanych próbach, co stanowi 92,7%. Wydaje się, że ta większa częstotliwość występowania bakterii *C. sputorum* subsp. *bubulus* u bawołów mogła wynikać z faktu, iż grupa tych buhajów była wiekowo starsza (średni wiek 7,2 lata) od buhajów zebu (średni wiek 5,2 lata) (tab. 1). Wyniki tych stwierdzeń były zgodne ze znanym zjawiskiem wzrastającej częstotliwości występowania bakterii *C. sputorum* subsp. *bubulus* w worku napletkowym buhajów wraz z ich wiekiem (9). Odnosi się to również do zakażenia buhajów chorobotwórczym szczepem mętвика (*C. fetus* subsp. *fetus*), który znacznie częściej izolowany jest z materiału od buhajów starszych aniżeli od osobników młodych (1, 7, 8, 16). Tę większą podatność buhajów starszych na zakażenie mętwikiem tłumaczy się między innymi tym, że u osobników starszych błona śluzowa worka napletkowego wykazując z wie-

kiem głębsze krypty, stwarza bardziej sprzyjające warunki dla bytowania bakterii *Campylobacter* (10, 12). Aczkolwiek bakterie *C. sputorum subsp. bubulus* uważa się za drobnoustroje niechorobotwórcze, to jednak w świetle cytowanych na wstępie prac (11, 13, 17) nie można z całą pewnością wykluczyć, iż pewne szczepy tych bakterii mogą być czynnikami uciążliwymi za przyczynę ronień bydła.

Reasumując całość przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników można stwierdzić, iż wykazanie obecności bakterii *C. sputorum subsp. bubulus* w wypluczynach z worka napletkowego i nasieniu buhajów zebu oraz bawolów w Pakistanie wskazuje, że drobnoustroje te występować mogą u różnych gatunków tych zwierząt i w różnych warunkach klimatycznych. Częstotliwość występowania tych bakterii okazała się zbliżona do wyników izolacji u buhajów, uzyskanych przez innych autorów w różnych krajach (3, 5, 9, 14, 17).

Ponadto wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że zamrażanie i przechowywanie materiału (wypluczyny z worka napletkowego i nasienia) w płynnym azocie i transport tego materiału z Pakistanu do Polski okazały się przydatne dla celów diagnostycznych w kierunku obecności bakterii rodzaju *Campylobacter*. Stwarza to nowe możliwości w zakresie organizacji badań buhajów podejrzanych o zakażenie tymi drobnoustrojami, szczególnie w przypadkach, gdy miejscowe laboratoria diagnostyczne nie posiadają możliwości prowadzenia badań rozpoznawczych w tym kierunku.

Piśmiennictwo

1. Adler H. C.: Genital vibriosis in the bovine. Praca dokt. København 1957.
 2. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams and Wilkins Company, Baltimore 1974.
 3. Block P., Schröder E.: Blauen Hefte 3/4, 22, 1964.
 4. Florent A.: C. r. Seanc. Soc. Biol. Paryż 147, 2066, 1953.
 5. Lein D., Erickson L., Winter A. J., McEntee K.: J. Am. vet. med. Ass. 133, 1574, 1968.
 6. Łosiński T., Roslanowski K., Wyszczanowski J.: Przegląd prac ZHW Poznań 1, 139, 1974.
 7. Philpott M.: Vet. Rec. 82, 458, 1968.
 8. Roslanowski K., Łosiński T., Wyszczanowski J.: Medycyna Wet. 28, 194, 1972.
 9. Roslanowski K.: Choroba mętwikowa bydła. PWRiL Poznań 1981.
 10. Samuelson J. D., Winter A. J.: J. Infect. Dis. 116, 581, 1966.
 11. Schöne W.: Tierärztl. Umsch. 26, 265, 1971.
 12. Schütte A. P.: Zuchtthg. 5, 35, 1970.
 13. Schwelghardt H., Pechan P., Lauerman E., Zisch H.: Wien. tierärztl. Mschr. 70, 309, 1983.
 14. Settegren J., Söderlind O.: FAO Roma No. 2128, 1966.
 15. Smideri R. M.: w Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams and Wilkins Company, Baltimore 1974.
 16. Wagner W. C., Dunn H. O., Van Vleck L. D.: Cornell Vet. 55, 209, 1965.
 17. Wormstrand A.: Nord. Vet. Med. 20, 634, 1968.
- Adres autora: prof. dr hab. Kazimierz Roslanowski, Os. Przyjaźni 13/153, 61-687 Poznań

Рослановский К., Педерсен Х. П., Вежбовский С., Анджеевская Э. — Появление бактерий *Campylobacter sputorum subsp. bubulus* в препуциальном мешке быков зебу и буйволов

Провели исследования, касающиеся появления бактерий *C. sputorum subsp. bubulus* в вымываниях из препуциального мешка и семени 25 быков зебу породы Sahiwal и 41 буйвола породы Nili и Ravi, применяемых для репродукции в Пакистане. Вз-

тый материал замораживался в пластмассовых соломинах в жидком азоте и высылался в Польшу, где на станции профилактики бесплодия Ветеринарного института в Сважендзе проводили диагностические исследования на появление бактерий из рода *Campylobacter*. Наличие бактерий, распознанных на основе биохимических свойств как *C. sputorum subsp. bubulus*, отметили в материале, происходящем от 13 (52,0%) быков зебу породы Sahiwal и 38 (92,7%) буйволов породы Nili Ravi. Кажется, что большая частотность появления бактерий *C. sputorum subsp. bubulus* у буйволов могла вытекать из факта, что группа этих животных была старше (средний возраст 7,2 года) быков зебу (средний возраст 5,2 года). Полученные результаты исследований показали, что в климатических условиях и натуральной среде Пакистана бактерии *C. sputorum subsp. bubulus* появляются у быков в подобном масштабе как в других странах и у быков других видов. Примененный метод взятия, подготовки и транспорта материала оказался практически пригодным для диагностических целей.

Roslanowski K., Pedersen C. H., Wierzbowski S., Andrzejevska E. — Occurrence of *Campylobacter sputorum subsp. bubulus* in the preputial sac of the zebu and buffaloes

The semen samples and preputial flushings from 25 zebu bulls (Sahiwal breed) and 41 buffaloes (Nili and Ravi breeds) were collected in one of artificial insemination centres in Pakistan, frozen in liquid nitrogen and sent to Poland. The Veterinary Research Institute in Swarzędz (Poznań) was responsible for the examination against *Campylobacter*. Only *C. sputorum subsp. bubulus* was found in the samples from 13 (52%) zebu bulls of Sahiwal breed and in 38 (92.7%) buffaloes of Nili and Ravi. Higher incidence of *Campylobacter* in buffaloes might be related to the age as buffaloes were on an average two years older. The findings indicated that the incidence of *C. sputorum subsp. bubulus* under climatic and environmental conditions in Pakistan was similar to that found any where else. The applied method of collecting and freezing the samples was useful for diagnostic purposes.

CHANG K., KURTZ H. J., WARD G. E., GENHARD C. J.: Zastosowanie odczynów mikroaglutynacji u świń z proliferacyjnym zapaleniem jelit do wykrywania *Campylobacter*. (*Campylobacter* microagglutination tests of swine with proliferative enteritis). Am. J. vet. Res. 45, 1373—1378, 1984 (7).

Odczyn mikroaglutynacji płytowej zastosowano do określania miana swoistych przeciwciał dla *Campylobacter* w surowicach świń z proliferacyjnym zapaleniem jelit. W odczynie zastosowano antygeny dla *Campylobacter hyointestinalis* (CHI), *C. sputorum ss mucosalis* (CSM), *C. jejuni/coli* (CJC), *C. fetus ss fetus* (CFF). Antygenowo homogenne były szczepy CHJ. Nie reagowały one z surowicami odpornościowymi dla CSM. Pieć z 6 szczepów CSM aglutynowało z surowicami homologicznymi, zaś 7 szczepów CJC dawało autoaglutynację. Antygeny z 5 szczepów CFF i CF nie reagowały z surowicami dla CHJ, CSM i CJC. Badania w odczynie mikroaglutynacji 1052 surowic świń wykazały, że większość surowic reaguje z antygenami CHI i CSM. W podobnych mianach reagowały surowice prosiąt z 3 stad w których występowało proliferacyjne zapalenie jelit i 2 z 3 stad wolnych od choroby. Jednakże u świń z potwierdzonym badaniem sekcyjnym proliferacyjnym zapaleniem jelit miana były niższe.

G.