

PAŃSTWOWY INSTYTUT WETERYNARYJNY
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

Al. Partyzantów 57
24-100 Puławy
<http://www.piwet.pulawy.pl>

tel. (0-81) 886 30 51
fax (0-81) 886 25 95

Tigret Sp.z.o.o
Grzegorz Piętowski
ul. Dzieci Warszawy 48
02-495 Warszawa

Wasze pismo z dnia: 2003.11.04

Nasz znak: ZHS-4101/ 8556 /03/04

Data: 2004.03.19

Sprawa: Opinia testów RapidChek® *Salmonella* do wykrywania pałeczek *Salmonella* w środkach żywienia zwierząt.

W nawiązaniu do pisma z dnia 2003.11.04 przesyłam wyniki badań oceniających test RapidChek® *Salmonella* do wykrywania pałeczek *Salmonella* w środkach żywienia zwierząt wraz z załączoną opinią.

Badania zostały wykonane w Zakładzie Higieny Środków Żywienia Zwierząt PIWet – PIB w Puławach.

Załączniki:

2. Wyniki badań i opinia.

Do wiadomości: Tigret Sp.z.o.o.

Symbol (inicjały) referenta: ES

D Y R E K T O R

doc. dr hab. Tadeusz Wijaszka

**Państwowy Instytut Weterynaryjny -
Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach**

**Raport
z oceny przydatności testu RapidChek[®] *Salmonella*
do wykrywania pałeczek *Salmonella*
w środkach żywienia zwierząt**

Luty 2004

1. Wstęp

1.1. Opis metody i przeznaczenie

Test RapidChek[®] *Salmonella*, zgodnie z informacją podawaną przez producenta, przeznaczony jest do wykrywania pałeczek *Salmonella* spp. "w różnego rodzaju żywności (surowe mięso, drób, przetwory mleczne, przetworzone mięso i świeże produkty)". W Zakładzie Higieny Środków Żywnienia Zwierząt PIW-PIB badano również skuteczność tego testu pod kątem wykrywania tego patogena w środkach żywienia zwierząt.

Test ten polega na wykorzystaniu przeciwciał, które reagują specyficznym z antygenem zlokalizowanym na powierzchni *Salmonella*, tworząc specyficzny kompleks przeciwciało - antygen - przeciwciało. Wynik reakcji widoczny jest jako jedna linia lub dwie czerwone linie na membranie poprzecznego przepływu w okienku kasetki. Jeśli badana próbka nie zawiera pałeczek *Salmonella* i test został przeprowadzony prawidłowo w okienku kasetki powinna się pojawić pojedyncza czerwona linia (linia kontrolna) oznaczająca wynik negatywny. Natomiast w przypadku obecności tego patogena w badanej próbce dodatkowo powinna się pojawić druga linia testująca (wynik pozytywny).

1.2. Cel badań

Celem podjętych badań było określenie przydatności testu RapidChek[®] *Salmonella* do wykrywania obecności pałeczek *Salmonella* w różnego rodzaju środkach żywienia zwierząt. W ramach prowadzonych badań w różnych układach modelowych postanowiono określić następujące cechy metody:

- specyficzność testu
- czułość testu

Prowadzone badania miały charakter walidacyjny i przebiegały zgodnie z procedurą walidacji mikrobiologicznych metod jakościowych.

2. Materiał i metody

2.1. Zawartość zestawu

Zestaw testowy składa się z 50 kasetek testowych oraz 50 pipet (150 µl):

- Kod produktu: 7000166,
- Numer serii: 3K1142,
- Data ważności: październik 2004.

2.2. Sprzęt zastosowany do badania

- Inkubator (JOUAN) utrzymujący temperaturę 42°C przez 20-24 godzin,
- Inkubator (BINDER) utrzymujący temperaturę 37°C przez 20-24 godzin,
- Torba typu Stomacher - Seward 400 Circulator (Seward),
- Homogenizator A 11 basic (IKA),
- Waga WPS 600/C (RADWAG), zakres pomiaru 500 mg - 600 g (czułość 10 mg),
- Densimat (BioMerieux),
- Liofilizator GT3 (LYOWAC),
- Ciepłarka KBC G-65/250 (PREMED),
- Wyrząsarka TK3S (TecnoKartell).

2.3. Producent/Dystrybutor

- **Producent testu:**

Strategic Diagnostics Inc.

111 Pencader Drive

Newark, Delaware 19702

USA

Tel: 302-456-6789, 800-544-8881.

www.sdix.com

- **Dystrybutor testu:**

TIGRET Sp. z o.o.

ul. Dzieci Warszawy 48

02-495 Warszawa

tel. +48 (22) 8670528/9

fax. +48 (22) 8670530

tigret@poland.org

www.tigret.pl

2.4. Pożywki i odczynniki

2.4.1. Test z surowicą do aglutynacji *Salmonella* spp.

Celem potwierdzenia i klasyfikacji serologicznej wyizolowanych pałeczek *Salmonella* w metodzie ISO stosowano surowice aglutynacyjne: anty-HM (Immunolab) oraz anty-BO, CO, DO, EO (Wellcome diagnostics).

2.4.2. Przednamnażanie

2.4.2.1. RapidChek Media for *Salmonella*

Rozpuszczono 27g pożywki *Salmonella* Enrichment Medium w jednym litrze jałowej wody o temperaturze 42°C. Tak przygotowaną pożywkę używano natychmiast po przygotowaniu.

2.4.2.2. Zbuforowana woda peptonowa (BPW)

- Skład:

Enzymatyczny hydrolizat kazeiny	10g
Chlorek sodu	5,0g
Wodorofosforan (V) disodu dwunastowodny ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$)	9,0g
Diwodorofosforan(V) potasu (KH_2PO_4)	1,5g
Woda	1000 ml

- Przygotowanie:

Składniki rozpuszczono w wodzie. Ustalono pH tak, aby po sterylizacji wynosiło $7,0 \pm 0,2$ w temperaturze 25°C. Pożywkę rozlewano do kolb o odpowiedniej objętości i sterylizowano w autoklawie w temperaturze 121°C przez 15 min.

2.4.2.3. Pożywka Rappaport-Vassiliadis z soją (pożywka RVS)

- Skład:

Roztwór A	
Enzymatyczny hydrolizat sojowy	5,0g
Chlorek sodu	8,0g
Diwodorofosforan(V) potasu (KH_2PO_4)	1,4g
Wodorofosforan(V) dipotasu (KHPO_4)	0,2g
Woda	1000 ml
Roztwór B	
Chlorek magnezu sześciowodny ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	400,0g
Woda	1000 ml
Roztwór C	
Szczawian zieleni malachitowej	0,4g
Woda	100 ml
Pożywka kompletna:	
• Skład pożywki kompletnej:	
Roztwór A	1000 ml
Roztwór B	100 ml
Roztwór C	10 ml

• Przygotowanie pożywki kompletnej:

Do 1000 ml roztworu A dodawano 100 ml roztworu B i 10 ml roztworu C. Ustalono pH tak, aby po sterylizacji wynosiło $5,2 \pm 0,2$. Rozlano do próbek w ilości 10 ml. Sterylizowano w autoklawie w temperaturze 115°C przez 15 min. Pożywkę przechowywano w temperaturze $3^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ zużyto w dniu przygotowania.

2.4.2.4. Pożywka Müller-Kauffmanna z czterotianem i nowobiocyną (pożywka MKTTn)

• Skład pożywki podstawowej:

Ekstrakt mięсны	4,3g
Enzymatyczny hydrolizat kazeiny	8,6g
Chlorek sodu (NaCl)	2,6g
Węglan sodu (CaCO_3)	38,7g
Tiosiarczan sodu pięciowodny ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	47,8g
Żółć bydłęca do celów bakteriologicznych	4,78g
Zieleń brylantowa	9,6mg
Woda	1000 ml

• Skład roztworu jodu w jodku potasu:

Jod	20,0 g
Jodek potasu (KI)	25,0g
Woda	100 ml

• Skład roztworu nowobiocyny:

Sól sodowa nowobiocyny	0,04 g
Woda	5 ml

• Skład pożywki kompletnej:

Pożywka podstawowa	1000 ml
Roztwór jodu w jodku	20 ml
Roztwór nowobiocyny	5 ml

• Przygotowanie pożywki kompletnej:

W sposób jałowy dodano 5 ml roztworu nowobiocyny do 1000 ml pożywki podstawowej. Wymieszano, następnie dodano 20 ml roztworu jodu w jodku. Dokładnie wymieszano. Przeniesiono pożywkę aseptycznie do sterylnych kolbek o odpowiedniej pojemności, tak aby uzyskać porcje niezbędne do wykonania badań.

2.4.2.5. Bulion TT (Hajna)

- Przygotowanie:

Dodano 91,5 g pożywki do 1 litra dejonizowanej wody, zagotowano a następnie schłodzono do temperatury niższej niż 50°C, dodano 40 ml/l roztworu jodu. Rozlano po 10 ml do jałowych próbek.

2.4.3. Agar z ksylozą i lizyna (XLD agar) + kwas nalidiksowy

- Skład:

Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Chlorek sodu (NaCl)	5,0 g
Ksyloza	3,75 g
Laktoza	7,5 g
Sacharoza	7,5 g
Chlorowodorek L-Lizyny	5,0 g
Tiosiarczan sodu	6,8 g
Cytrynian żelazowo-amonowy(III)	0,8 g
Czerwień fenolowa	0,08 g
Dezoksyholan sodu	1,0 g
Agar	9 do 18 g
Kwas nalidiksowy (25mg w 5ml 0,1 NaOH)	5ml
Woda	1000 m

- Przygotowanie:

Rozpuszczono składniki podstawowe w wodzie przez ogrzewanie, mieszając pożywkę aż do momentu zagotowania. Ustalono pH, tak aby po sterylizacji wynosiło $7,4 \pm 0,2$, w temperaturze 25°C. Rozlano pożywkę podstawową do probówek lub kolbek o odpowiedniej pojemności. Podgrzewano, często mieszając, do momentu zagotowania pożywki i rozpuszczenia agaru.

2.4.4. Agar z zielenią brylantową i czerwienią fenolową (BGA) + kwas nalidiksowy

- Skład pożywki podstawowej:

Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Ekstrakt mięsny	5,0 g
Pepton	10,0 g
Chlorek sodu (NaCl)	3,1 g
Wodorofosforan (V) disodu ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	1,0 g
Diwodorofosforan (V) sodu ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	0,6 g
Agar	12,0 g
Kwas nalidiksowy (25mg w 5ml 0,1 NaOH)	5ml
Woda	900 ml

- Skład roztworu cukrów i czerwieni fenolowej:

Laktoza	10,0 g
Sacharoza	10,0 g
Czerwień fenolowa	0,09 g
Woda destylowana	ad 1000 ml

- Skład roztworu zieleni brylantowej

Zieleń brylantowa	0,5 g
Woda destylowana	100 ml

- Skład pożywki kompletnej:

Pożywka podstawowa	900 ml
Roztwór cukrów i czerwieni fenolowej	100 ml

Roztwór zieleni brylantowej

1 ml

• Przygotowanie pożywki:

Dodano roztwór zieleni brylantowej w ilości 1ml na 100 ml roztworu cukrów i czerwieni fenolowej, zmieszano całość, dodano do 900 ml pożywki podstawowej o temperaturze 45 ± 50°C. Dokładnie wymieszano i rozlano natychmiast do płytek Petriego.

2.4.5. Agar odżywczy

• Skład:

Agar	15,0 g
Ekstrakt drożdżowy	2,5 g
Pepton	5,0 g
Woda peptonowa	1000 ml

• Przygotowanie pożywki:

Składniki rozpuszczono w wodzie przez podgrzewanie. Ustalono pH tak, aby po sterylizacji wynosiło 7,0±0,2. Rozlano do kolb i wyjaławiano w temperaturze 121°C przez 20 min. Agar rozlewano do jałowych płytek Petriego.

2.5. Przygotowanie liofilizatów do kontaminacji próbek

Do kontaminacji próbek badanych użyto szczepu *Salmonella* Typhimurium 940 nalidixic acid resistance, którego liczba została określona w zawiesinie o gęstości 0,5 McF (w jednostkach McFarlanda) na $1,5 \times 10^8$. Z kolejnych rozcieńczeń przygotowano inokula, które zamrożono w temperaturze -80°C a następnie poddano liofilizacji. Tak przygotowane liofilizaty przechowywano w temperaturze -20°C do momentu zakażenia badanych próbek (matryc). Kontaminacje próbek przeprowadzano tuż przed rozpoczęciem badania.

2.6. Rodzaje matryc użytych w badaniach

Badanie przydatności i skuteczności testu wykonano na następujących rodzajach matryc:

1. mączka rybna
2. śruta sojowa
3. śruta rzepakowa
4. mieszanka paszowa
5. sucha karma dla psów
6. pasze naturalnie kontaminowane (próbki archiwalne laboratorium), w których badanie wykazało obecność pałeczek *Salmonella* w 25 g paszy:
 - a) śruta słonecznikowa
 - b) mieszanka paszowa dla drobiu
7. pasze naturalnie kontaminowane, w których badanie wykazało obecność *Citrobacter* spp. w 25 g paszy.

Przed zastosowaniem do kontroli testu RapidChek® *Salmonella* używane matryce badano pod kątem obecności pałeczek *Salmonella* i otrzymano wynik ujemny.

2.7. Porównanie do obowiązującej metody

Test RapidChek® *Salmonella* był porównywany z metodą referencyjną PN-EN ISO 6579:2003 "Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp."

2.8. Wykonanie badania

Próbka właściwa o masie 25 g (matryca) była kontaminowana różną liczbą pałeczek *Salmonella*, próbka kontrolna (25 g) była kontaminowana *Citrobacter* spp. Następnie do

próbek dodawano 225 ml Buforowanej Wody Peptonowej ISO lub *Salmonella* Enrichment Medium (RapidChek Salmonella).

2.8.1. ISO

Wykrywanie pałeczek *Salmonella* wykonywano wg. metody referencyjnej PN-EN ISO 6579: 2003. Posiewy wykonywano na płytce z pożywką BGA oraz XLD. Pożywki wzbogacone były w kwas nalidiksowy celem selekcji szczepu używanego do kontaminacji próbek opornego na ten związek i eliminacji natywnych pałeczek *Salmonella*.

2.8.2. RapidChek Salmonella

Po 5,5 godzinnym namnażaniu w temp. 42°C materiał przenoszono do 10 ml bulionu TT Hajna (podgrzanego wcześniej do 42°C). Próbkę umieszczono ponownie w inkubatorze i inkubowano przez 19 godzin. Następnie pobierano 150 µl z bulionu i podawano do zbiorniczka kasetki. Po 10 minutach odczytywano wynik (Rys. 1).

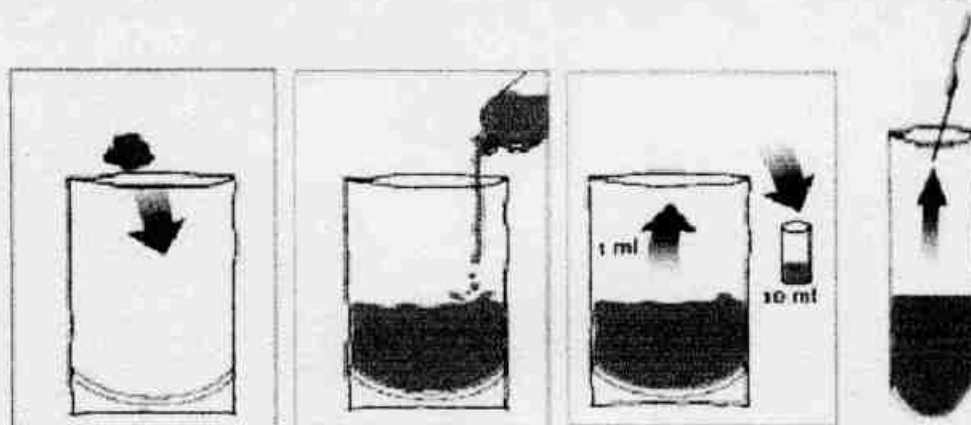
Rys.1 Wykonanie testu RapidChek Salmonella

25 g próbki (matryca) umieszczono w torbie Stomacher. Próbkę kontaminowano różnymi poziomami pałeczki *Salmonella*

Dodano 225 ml *Salmonella* enrichment medium. Inkubowano 5,5 h w temp. 42°C

Przeniesiono 1 ml wzbogaconego bulionu do 10 ml bulionu TT (Hajna). Inkubowano w temp. 42°C przez 19 h.

Pobrano próbkę płynu pipetą a następnie nakreplano w okienku kasetki testującej.



Badanie próby właściwej (kontaminowanej) powtarzano siedmiokrotnie, używając pięciu matryc, dwoma metodami. Badanie prób kontrolnych (kontaminowane *Citrobacter*) powtarzano dwukrotnie, dla każdej z matryc, dwoma metodami. Każdy poziom kontaminacji sprawdzano równocześnie przez powierzchniowy posiew inokulum na czterech płytkach agaru odżywczego. Po inkubacji odczytywano wynik i obliczano średnią liczbę komórek *Salmonella* w inokulum.

Kontrolę stanowiła pasza, w której badanie wykazało obecność *Citrobacter* i brak *Salmonella*. Ze względu na możliwość ogniskowego występowania pałeczek *Salmonella* w paszy matryce przed odważeniem poddano homogenizacji celem ujednoczenia próbki a następnie dzielono na dwie porcje (po 25g na każdą metodę). Wykonano jedną kontrolę dla każdej matrycy w obu metodach. Posiewy wykonywano na płytce z podłożem BGA oraz XLD.

3. Uzyskane wyniki i ich omówienie

Wszystkie matryce sztucznie kontaminowane wykazywały bardzo dobrą żywność w namnażaniu pałeczek *Salmonella* (Tabele 1-5). Czułość detekcji tego patogena była 100% w metodzie referencyjnej ISO oraz w teście RapidChek (na wszystkich poziomach zakażenia). Nawet na najniższych poziomach zakażenia pasek testowy w metodzie RapidChek był wyraźnie widoczny już po 2 minutach od rozpoczęcia badania (Rys. 2, 3), natomiast w metodzie ISO na pożywkach

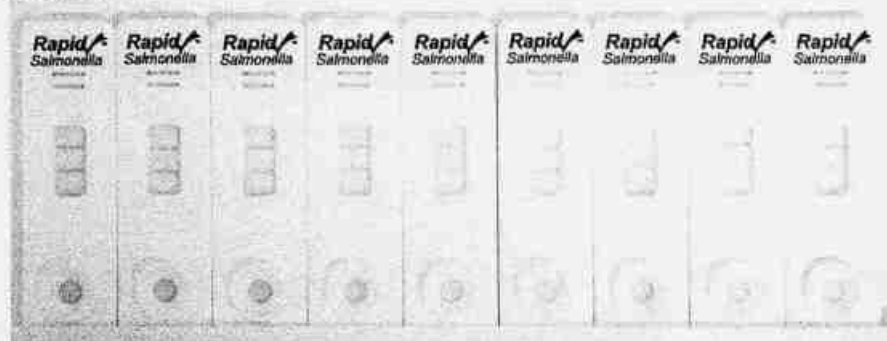
XLD i BGA otrzymano czyste kultury koloni *Salmonella* spp. (Rys. 4, 5). Świadczy to o użyteczności testu w przypadku pałeczek *Salmonella* poddanych wcześniej liofilizacji, która częściowo symuluje warunki przetwarzania w zakładzie produkującym żywność i pasze. Otrzymane wyniki badań zestawiono w tabelach 1-5.



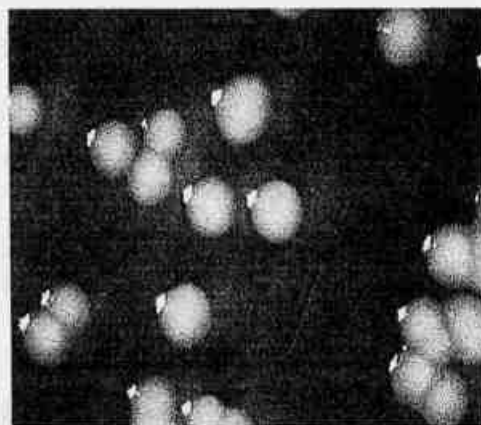
Rys 2. Test RapidChek Salmonella, od lewej: (a) reakcja przeprowadzona nieprawidłowo, (b) wynik ujemny, (c) wynik dodatni.

Wszystkie próby kontrolne zakażone *Citrobacter* spp. nie dawały reakcji krzyżowej (fałszywie dodatniej) w teście RapidChek. Świadczy to o wysokiej specyficzności tego testu (100%).

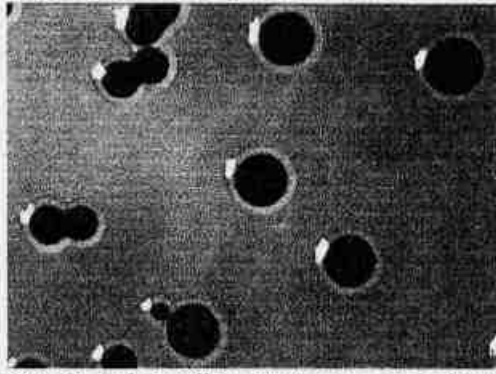
Skuteczność testu RapidChek była sprawdzana przez AOAC Reasearch Institute na następujących matrycach: surowa wołowina, surowa wieprzowina, surowe mięso drobiowe (kurczak, indyk). Test porównywano do metody referencyjnej. Zastosowano dwa poziomy inokulum (zerowy oraz niski) dla każdej z matryc. Otrzymane wyniki korelują z wynikami otrzymanymi w Zakładzie Higieny Środków Żywnienia Zwierząt dla próbek sztucznie zakażonych.



Rys. 3 Test RapidChek Salmonella dla matryc sztucznie zakażonych (1-5) dla których otrzymano jednakowy wynik (obraz), od lewej: pięć prób właściwych oraz dwie kontrolne



Rys. 4. Kolonie *Salmonella* wyizolowane na pożywce BGA po kontaminacji paszy na poziomie 2jtk/ 25g paszy



Rys. 5. Kolonie *Salmonella* wyizolowane na pożywce XLD po kontaminacji paszy na poziomie 2jtk/ 25g paszy

Tabela 1. Porównanie wyników badań próbek sztucznie kontaminowanych metodą ISO i RapidChek

Rodzaj matrycy	Rodzaj metody	Poziomy zakażenia (jtk/25 g paszy)*	Liczba próbek badanych	Liczba próbek pozytywnych	Czułość testu %	Specyficzność %
Mączka rybna	RapidChek	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	
	ISO	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	

*- wahanie liczby jtk w inokulum określono na 20%

Tabela 2. Porównanie wyników badań próbek sztucznie kontaminowanych metodą ISO i RapidChek

Rodzaj matrycy	Rodzaj metody	Poziomy zakażenia (jtk/25 g paszy)	Liczba próbek badanych	Liczba próbek pozytywnych	Czułość testu %	Specyficzność %
Śruta sojowa	RapidChek	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	
	ISO	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	

Tabela 3. Porównanie wyników badań próbek sztucznie zakażonych metodą ISO i RapidChek

Rodzaj matrycy	Rodzaj metody	Poziomy zakażenia (jtk/25 g paszy)	Liczba próbek badanych	Liczba próbek pozytywnych	Czułość testu %	Specyficzność %
Śruta rzepakowa	RapidChek	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	
	ISO	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	

Tabela 4. Porównanie wyników badań próbek sztucznie zakażonych metodą ISO i RapidChek

Rodzaj matrycy	Rodzaj metody	Poziomy zakażenia (jtk/25 g paszy)	Liczba próbek badanych	Liczba próbek pozytywnych	Czułość testu %	Specyficzność %
Mieszanka paszowa sypka	RapidChek	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	
	ISO	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	

Tabela 5. Porównanie wyników badań próbek sztucznie kontaminowanych metodą ISO i RapidChek

Rodzaj matrycy	Rodzaj metody	Poziomy zakażenia (jtk/25 g paszy)	Liczba próbek badanych	Liczba próbek pozytywnych	Czułość testu %	Specyficzność %
Sucha karma dla psów	RapidChek	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	
	ISO	1500	7	7	100	nie dotyczy
		400	7	7	100	
		360	7	7	100	
		90	7	7	100	
		40	7	7	100	
		20	7	7	100	
		5	7	7	100	
		2	7	7	100	
		kontrola negatywna	2	0	nie dotyczy	

4. Wnioski

- Test RapidChek *Salmonella* w badaniu próbek różnych środków żywienia zwierząt kontaminowanych szczepem *S. typhimurium* na poziomie 2-1500 jtk/25g wykazał bardzo wysoką (100%) specyficzność i czułość.
- Stosowany w badaniach oceniających test RapidChek *Salmonella*, podobnie jak metoda referencyjna wg PN ISO EN 6579:2003 zapewniły wykrycie pałeczki *Salmonella* na najniższym stosowanym poziomie kontaminacji tj. 2 jtk/25g, niezależnie od rodzaju środka żywienia zwierząt.
- Osiągnięcie wysokiej czułości i specyficzności testu RapidChek *Salmonella* w badaniach modelowych różnych rodzajów środków żywienia zwierząt daje podstawy do zalecenia tej metody do stosowania w badaniach kontrolnych prowadzonych przez producentów środków żywienia zwierząt w ramach tzw. kontroli wewnętrznej.

KIEROWNIK ZAKŁADU

K. Kwiatek

Doc. dr hab. Krzysztof Kwiatek