

wynik badań laboratoryjnych, nasunęły również podejrzenie zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia.

Badaniami histopatologicznymi przeprowadzonymi w Instytucie Weterynarii w Puławach stwierdzono zmiany charakterystyczne dla zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia (AE).

Omówienie

Zakaźne zapalenie mózgu i rdzenia u kurcząt typu brojler stwierdzono na terenie woj. opolskiego dwukrotnie w ciągu dwu lat. Schorzenie występowało w miesiącach jesiennych (październik, listopad) i obejmowało jednocześnie kilka różnych ferm. W jednej z ferm składającej się z kilku brojlerni schorzenie wystąpiło w 1971 r. w dwu rzutach kurcząt, wstawionych do odchowu w odstępie jednego miesiąca. W każdym przypadku przebieg charakteryzował się znacznymi upadkami w pierwszych dniach życia kurcząt oraz w trzecim tygodniu. Od czwartego tygodnia upadki zmniejszały się do kilku sztuk dziennie, a pojedyncze utrzymywały się do końca odchowu. Ogółem upadki dochodziły do 25% pogłowia. Wszystkie kurczęta, które wykazały kliniczne objawy choroby padały. Objawy kliniczne oraz zmiany sekcyjne nie były charakterystyczne

dla tej choroby. Pozostałe na fermach kurczęta wykazywały dobre przyrosty osiągając w 10 tyg. życia wagę 1,5—1,7 kg.

Wnioski

1. Zakaźne zapalenie mózgu i rdzenia stwierdzone dwukrotnie na terenie woj. opolskiego wskazuje na możliwość dalszego występowania tej choroby w terenie.

2. Choroba charakteryzowała się wyraźną sezonowością i pojawiała się głównie w okresie jesiennym (październik, listopad).

3. Największe upadki i straty notuje się w 1 tyg. oraz w 3 tyg. życia kurcząt. U kurcząt starszych upadki ograniczają się do pojedynczych sztuk.

4. W obserwowanych przypadkach wszystkie kurczęta, które wykazywały objawy kliniczne choroby padały.

5. W obserwowanych fermach kurczęta nie wykazujące objawów klinicznych choroby uzyskiwały dobre przyrosty wagowe.

Piśmiennictwo

1. Marek K., Roszkowski J.: *Medycyna Wet.* 22, 257, 1966.
2. Gratzl E., Köhler H.: *Spezielle Pathologie und Therapie der Geflügelkrankheiten*, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 1968.

Adres autora: lek. wet. Adam Latała, Opole, M. Buczka 1.

TADEUSZ KARPINSKI

Próby izolowania i hodowli szczepów *M. johnei*

Pracownia Immunologii Gruźlicy Instytutu Weterynarii w Puławach

Kierownik: **prof. dr A. SPRYSZAK**

Stwierdzenie w naszym kraju ognisk paratuberkulozy bydła (4, 12) skłoniło do podjęcia badań nad metodami izolowania i hodowli prątków Johne'a. Izolowanie *M. johnei* z materiałów pobranych na sekcji potwierdza rozpoznanie paratuberkulozy, a izolowanie tego zarazka z próbek kału jest jedną z metod ujawniania choroby przed wystąpieniem objawów klinicznych.

Hodowla prątka Johne'a na podłożach sztucznych natrafia na pewne trudności, gdyż prątek wymaga do swego wzrostu czynnika, którego sam nie syntetyzuje, a który jest wytwarzany przez inne prątki kwasooporne. Czynnikiem tym jest ftiookol posiadający właściwości witaminy K (13). Dostarcza się go do podłoża przez dodatek bądź zawiesiny *M. phlei*, bądź wyciągu tego prątka, („mycobactin”) który uzyskuje się na drodze ekstrakcji acetonowo-eterowej. Izolowanie prątków Johne'a z próbek kału utrudnia dodatkowo obecność w kale flory towarzyszącej, a zwłaszcza pleśni, która powoduje przerastanie podłoża. Dla zahamowania wzrostu tej flory szereg autorów stosowało różne metody przygotowania materiału do posiewu. Taylor (18) oraz inni autorzy (3, 16) zlecają

do homogenizacji materiału 5% roztwór kwasu szczawiowego. Cameron (1) stosował roztwór kwasu szczawiowego z dodatkiem zieleni malachitowej. Levi (6) i Taylor (19) używali do homogenizacji próbek kału 15% roztworu antyforminy. Merkal i wsp. (8) podają, że uzyskali dobre wyniki, stosując do homogenizacji próbek kału detergent o nazwie fabrycznej Zephiran. Stuart, dodając do podłoża surowiczo-agarowych (16) antybiotyków fungistyczny — Pimaricin (syn. Natomycin), zabezpieczał podłoża przed wzrostem flory nieswoistej.

Celem niniejszej pracy była próba oceny wartości niektórych podłoży do hodowli *M. johnei* w czystej hodowli (subkulturze) oraz do izolowania tego zarazka z materiału zakażonego (kał, wycinki jelit). Równocześnie porównywano wartość dwóch metod homogenizacji materiału — metody szczawianowej i detergentowej.

Materiał i metody

Oceniono wartość dla hodowli i izolowania prątków Johne'a następujących podłoży:

- 1) podłoże jajowe Taylora (18) zawierające zabite prątki tymotki,
- 2) podłoże jajowe Nemoto (10) zawierające również prątki tymotki,

3) podłoże surowicze-agarowe Stuarta (16) posiadające w swym składzie antybiotyk hamujący rozwój pleśni — Pimaricinę,

4) podłoże surowiczo-agarowe, zwane dalej SAN, w którym zastosowano antybiotyk fungistatyczny Nystatynę — Polfa w ilości 0,05 g/1000 ml podłoża, rozpuszczony wg wskazań Weissa (20).

Do ostatnich dwóch podłoży dodawano nieoczyszczony „Mycobactin”, w ilości 0,15 g na 1000 ml pożywki, uzyskany według metody Francisa i wsp. (2) drogą ekstrakcji wysuszonych prątków tymotki.

Podłoża rozlewano do jałowych probówek 18×180 zaopatrzonych w korki z waty, które następnie uszczelniono parafiną, lub do probówek z nakrętkami.

W pierwszym etapie badań sprawdzono wartość poszczególnych podłoży dla hodowli subkultur *M. johnei*. W tym celu zawiesiny wyjściowe o gęstości 1 mg/ml półsuchej masy prątków szczepu standardowego 1305 oraz dwóch szczepów własnych, nr 760 i 747, wyizolowanych z bydła, rozcieńczano w postępie geometrycznym, a następnie zawiesinę rozcieńczoną 10^{-6} , dającą policzalny wzrost kolonii, posiewano w ilości po 0,1 ml na 5 probówek każdego z badanych podłoży. Drogą odpowiedniego poruszenia probówką trzymaną w pozycji poziomej, rozprowadzono zawiesinę na całej powierzchni skosu podłoża, po czym uszczelniano korki i wstawiano posiewy do termostatu o temp. 37°C na okres 12 tygodni. Co 7 dni przeglądano wszystkie próbki i notowano czas pojawienia się pierwszych kolonii. Po zakończeniu obserwacji (12 tygodni) notowano dokładnie liczbę kolonii na badanym podłożu. Statystyczna analiza średnich liczb kolonii wyrosłych na porównywanych podłożach przeprowadzono metodą analizy wariancji i testu rozstępu dla wszelkich możliwych porównań (11).

Ponadto zbadano, czy roztwory związków chemicznych, stosowane do homogenizacji materiału zakaźnego, nie wywierają ujemnego wpływu na wzrost prątków *Johne'a*. W badaniu tym posługiwano się metodą opisaną przez Szymaczek-Meyer (17). Zawiesinę wyjściową, rozcieńczoną 10^{-5} mg/ml, poddawano działaniu 5% kwasu szczawiowego i 3% roztworu Sterinolu — Polfa. Czas działania środków homogenizujących na prątki *Johne'a* był taki sam, jak w przypadku homogenizacji materiału zakaźnego. Aby uniknąć tworzenia się konglomeratów prątków, zawiesiny nie wirowano, lecz w przypadku kwasu szczawiowego zubożniano ją 1% roztworem Ca(OH)_2 wobec błękitu bromotymolowego, a następnie dodawano taką ilość jałowego płynu fizjologicznego, aby końcowe rozcieńczenie wynosiło 10^{-6} . W przypadku działania na prątki Sterinolem rozcieńczenie końcowe zawiesiny również doprowadzono do 10^{-6} . Posiew, inkubowanie i odczytanie wyników przeprowadzono jak opisano wyżej. Miarą działania obydwu związków chemicznych, użytych w tym doświadczeniu, był spadek liczby kolonii, wyrosłych na badanych podłożach w porównaniu do posiewów kontrolnych wykonanych w podobny sposób z zawiesinami nie poddanymi działaniu środków chemicznych. Statystyczną weryfikację różnic przeprowadzono na poziomie istotności $p=5\%$ drogą testu istotności F. Doświadczenie w podanym wyżej układzie przeprowadzono 3 razy.

Następnym etapem badań było sprawdzenie wartości używanych w doświadczeniach podłoży do izolowania prątków *Johne'a* z materiału zakaźnego. W tym celu użyto 10 próbek kału pobranego od krów z klinicznymi objawami paratuberkulozy lub podejrzanych o tę chorobę oraz wycinki jelit 8 krów wykazujących na sekcji zmiany typowe dla choroby *Johne'a*. We wszystkich materiałach użytych do posiewów stwierdzono bakterioskopowo mniej lub bardziej liczne prątki kwasooporne, występujące w skupiskach charakterystycznych dla prątków *Johne'a*.

Próbki kału przygotowano równolegle dwoma metodami: 1) metodą homogenizacji 5% kwasem szcza-

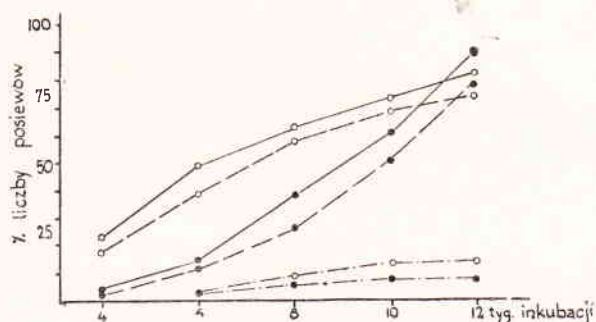
wiowym według techniki podanej przez Stuarta (16) oraz metodą Merkala (9) zmodyfikowaną przez zastąpienie Zefiranu 3% roztworem Sterinolu Polfa (bromek dwumetylo-laurylo-benz-amoniumy).

Próbki tkankowe (wycinki jelit) homogenizowano także dwoma metodami wyżej opisanymi, z tym, że w metodzie Merkala używano w miejsce Zefiranu 1% roztwór Sterinolu — Polfa, a próbki przed homogenizacją poddawano trawieniu 2,5% roztworem tryptynu w ciągu 2 godz.

Tak przygotowane materiały posiewano na 3 skosy każdego z porównywanych podłoży. Z posiewanego materiału każdorazowo wykonywano preparat bakterioskopowy dla sprawdzenia obecności prątków. Probówki z posiewami dokładnie uszczelniano i inkubowano w tem. 37°C przez okres 12 tygodni, postępując analogicznie jak przy posiewach czystych kultur. Przyjęto następujące kryteria oceny wzrostu: + — wzrost skąpy (do 20 kolonii w skosie), + + — wzrost dobry (ponad 20 do 100 kolonii), + + + — obfity (powyżej 100 kolonii). Uzyskane w hodowli próbki badano na kwasooporność oraz przesiewano na 2 podłoża z mycobactinem i 2 podłoża Lovensteina-Jensena dla wykluczenia obecności innych prątków kwasoopornych.

Wyniki i omówienie

Posiewy wykonane z zawiesin czystych hodowli prątków *Johne'a* dały następujące wyniki: na 1 skosie podłoża Nemoto uzyskano średnio 46 kolonii, na podłożu Taylora 37 kolonii, a na pożywce Stuarta 36 kolonii. Przeciętna liczba kolonii wyrosłych na podłożu SAN wynosiła 33. Analiza statystyczna uzyskanych wyników nie wykazała istotnych różnic w liczbie kolonii wyrosłych na poszczególnych podłożach. Natomiast czas pojawienia się widocznego gołym okiem wzrostu pierwszych kolonii było niejednakowe. Ilustruje to ryc. 1.



Ryc. 1

Na podłożach surowiczo-agarowych Stuarta i SAN wcześniej ujawniono wzrost prątków *Johne'a*, prawdopodobnie dzięki przezroczystości podłoży ale kolonie nie wyrastały w późniejszym okresie zbyt dobrze, były drobne i suche. Na podłożach jajowych w większości przypadków dostrzegano wzrost nieco później, ale kolonie wyrastały dobrze, były barwy kremowej, o gładkiej, lśniącej powierzchni. Podobne obserwacje poczynił Nemoto (10), który wykazał wyższość podłoży jajowych do hodowli szczepów *M. johnei*.

Wyniki doświadczenia mającego na celu stwierdzenie czy 5% kwas szczawiowy i 3%

Sterinol nie wywierają ujemnego wpływu na żywotność prątków Johne'a zestawiono w tab. 1.

Tab. 1. Średnie liczby*) kolonii wyrosłych z rozcieńczenia 10^{-6} zawiesin poddanych działaniu środków homogenizujących

Srodek homogenizujący	Surowicz-agarowe		Jajowe	
	Stuarta	SAN	Taylora	Nemoto
5% kwas szczawiowy	34,0	32,1	36,3	45,5
3% Sterinol	31,4	32,2	34,8	43,4
Kontrola	36,0	33,0	37,0	46,0

*) Średnia liczba dotyczy 45 obserwacji z posiewów zawieszin szczepów 1305, 747, 760.

Jak wynika z tab. 1 średnia liczba kolonii wyrosłych na podłożach z posiewów kontrolnych była nieco większa niż liczba kolonii uzyskana z zawieszin poddanych działaniu środków homogenizujących. Analiza uzyskanych wyników wykazała jednak, że różnice nie były statystycznie znamienne.

Wyniki posiewów z próbek kału homogenizowanych kwasem szczawiowym i Sterinolem zestawiono w tab. 2.

— 4, a na podłożu SAN — 14 Na podłożach surowicz-agarowych w żadnym przypadku nie zanotowano przerośnięcia posiewów, gdy materiał homogenizowano Sterinolem. Odmiennie wyniki posiewów z próbek kału uzyskano na podłożach jajowych. Na podłożu Nemoto stwierdzono wzrost tylko na 7 lub 14 skosach w zależności od metody homogenizacji, a pozostałe podłoża były przerośnięte lub wzrost na nich nie wystąpił. Jeszcze gorsze wyniki uzyskano na podłożu Taylora: wszystkie podłoża przerosły niezależnie od zastosowanej metody homogenizacji materiału. Tak więc oba podłoża jajowe, nie dały wyników zadawających w próbach izolowania prątka Johne'a z kału. Natomiast podłoża surowicz-agarowe były bardziej przydatne do izolowania prątków i oba posiadały zbliżoną wartość. Antybiotykiem produkcji krajowej Nystatin — Polfa z powodzeniem zastąpił w pożywce SAN antybiotyk zagraniczny Pimaricin.

Interesujące jest porównanie czasu pojawienia się kolonii prątków izolowanych z próbek kału.

Ryc. 2 przedstawia odsetki dodatnich posiewów uzyskanych na poszczególnych podłożach, w różnym okresie inkubacji, po homogenizacji materiału kwasem szczawiowym i Sterinolem.

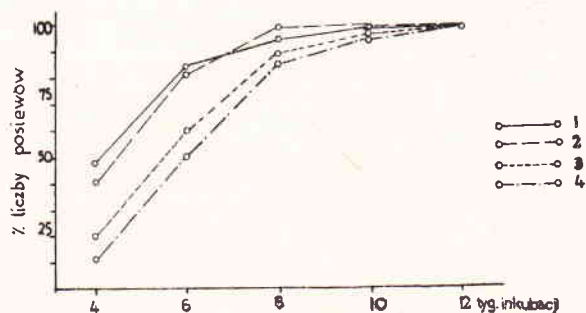
Wyniki wskazują, że po homogenizacji materiału kwasem szczawiowym po 4 tyg. wzrost

Tab. 2. Wyniki posiewów z próbek kału homogenizowanych porównywanymi metodami

Homogenizacja	Podłoże	Liczba posiewów	Liczba dodatnich posiewów				Brak wzrostu	Posiewy przerośnięte z
			Razem	z tego wzrost				
				+	++	+++		
5% kwas szczawiowy	Stuarta	110	89 (80,9%)	46	28	15	17 (15,5%)	4 (3,6%)
	SAN	110	80 (72,7%)	40	24	26	16 (14,6%)	14 (12,7%)
	Nemoto	110	14 (12,7%)	10	4	0	7 (6,4%)	89 (80,9%)
	Taylora	110	0	0	0	0	0	110 (100%)
Sterinol (3%)	Stuarta	110	98 (89,9%)	47	29	22	12 (10,1%)	0
	SAN	110	84 (76,3%)	43	28	13	26 (23,7%)	0
	Nemoto	110	7 (6,4%)	6	1	0	31 (28,1%)	72 (65,5%)
	Taylora	110	0	0	0	0	0	110 (100%)

Jak wynika z tab. 2 na podłożach surowicz-agarowych Stuarta i SAN na 110 posiewów uzyskiwano 80—98 wyników dodatnich przy obu metodach homogenizacji materiału. Po homogenizacji kwasem szczawiowym posiewów przerośniętych stwierdzono na podłożu Stuarta

zaobserwowano na podłożu Stuarta w 23% posiewów, a na podłożu SAN w 18% posiewów. Po 6 tyg. inkubacji odsetek dodatnich posiewów wzrósł na omawianych podłożach do 48 i 39, a po 12 tygodniach odsetek ten wynosił dla podłoża Stuarta — 80, a dla podłoża SAN — 73.



Ryc. 2.

Nieco inne wyniki odnotowano po posiewie materiału homogenizowanego Sterinolem. Po 4 tyg. wzrost zaobserwowano tylko na 5% podłożu Stuarta i 3% podłożu SAN. Po dalszych tygodniach inkubacji liczba dodatnich posiewów stopniowo wzrastała i po zakończonym okresie inkubacji (12 tyg.) uzyskano dodatnich posiewów na podłożu Stuarta — 89% a na podłożu SAN — 76%.

Odsetek dodatnich posiewów na podłożu jajowym Nemoto najwyższą swą wartość — 12% osiągnął po 12 tygodniach, a posiewy na podłożu Taylora, jak to wykazano w tab. 2 przerosły w całości, niezależnie od metody homogenizacji materiału.

wie nie obserwowano podłoży przerośniętych. Gorsze wyniki uzyskano na podłożu Taylora, na którym odsetek posiewów dodatnich wynosił 65, ujemnych 9 i przerośniętych 26.

Znacznie mniejszy odsetek dodatnich posiewów (37—54) uzyskano na wszystkich trzech podłożach, gdy materiał homogenizowano Sterinolem. Liczba przerośniętych podłoży była znacznie większa, niż w przypadku homogenizacji kwasem szczawiowym i sięgała na podłożu Taylora 50% posiewów.

Powyższe wyniki świadczą, że stosowna do homogenizacji próbek tkankowych metoda Merkala, w której zagraniczny detergent Zefiran zastąpiono krajowym Sterinolem, nie dała zadawalających wyników. Być może wyższe stężenie krajowego detergentu zmniejszałoby odsetek przerośniętych podłoży i zwiększyłoby liczbę dodatnich wyników.

Porównanie czasu wzrostu prątków Johne'a izolowanych z próbek tkankowych prowadzi do podobnych spostrzeżeń, jakie poczyniono przy okazji podobnego porównania czasu wzrostu prątków izolowanych z kału.

Wnioski

Na podstawie otrzymanych wyników można wysunąć następujące wnioski:

Tab. 3. Wyniki posiewów próbek tkankowych (jelito cienkie, węzły chłonne krezkowe) homogenizowanych porównywanymi metodami

Homogenizacja	Podłoże	Liczba posiewów	Liczba dodatnich posiewów				Brak wzrostu	Posiewy przerośnięte
			Razem	z tego wzrost				
				+	++	+++		
5% kwas szczawiowy	SAN	88	78 (88,6%)	50	19	9	10 (11,4%)	0
	Taylora	88	57 (64,5%)	43	11	3	8 (9,0%)	23 (26,5%)
	Nemoto	88	81 (92,0%)	31	31	19	5 (5,6%)	2 (2,3%)
Sterinol (1%) + trypsyna	SAN	88	48 (54,6%)	46	2	0	37 (42,0%)	3 (3,4%)
	Taylora	88	32 (36,4%)	21	8	3	12 (13,6%)	44 (50,0%)
	Nemoto	88	45 (51,1%)	29	11	5	14 (16,0%)	29 (28,9%)

W tab. 3 zestawiono wyniki posiewów z tkanki (wycinki jelit) na podłożu SAN, Taylora i Nemoto. W doświadczeniu tym nie używano podłoża Stuarta z powodu braku antybiotyku — Pimaricyny. Jak wynika z tab. 3 homogenizacja materiału tkankowego kwasem szczawiowym dała lepsze wyniki, niż homogenizacja Sterinolem. Po zastosowaniu tej pierwszej metody uzyskano na pożywce SAN i Nemoto 89 i 92% dodatnich posiewów, przy czym pra-

1. Wszystkie badane podłoża są zbliżone pod względem wartości dla hodowli szczepów *M. paratuberculosis*.

2. Dobre wyniki posiewów z próbek kału uzyskano na podłożach surowiczo-agarowych Stuarta i SAN zarówno po homogenizacji 5% kwasem szczawiowym jak i 3% Sterinolem.

3. Najwięcej dodatnich posiewów z próbek tkankowych uzyskano po homogenizacji kwa-

sem szczawiowym na podłożu Nemoto, a w drugiej kolejności na podłożu SAN.

4. Najszybsze wzrosty prątków Johne'a z materiałów zakażonych uzyskiwano na podłożach Stuarta i SAN po homogenizacji kwasem szczawiowym.

Piśmiennictwo

1. Cameron J.: J. Path. Bact. 71, 223, 1956.
2. Francis J., Mc Turk, H., Midinaveitia J., Snow G. A.: Biochem. J., 55, 596, 1953.
3. Hole N. H.: Adv. Vet. Sci. vol. IV, 341, 1958.
4. Karpiński T.: Życie wet. 45, 3, 1972.
5. Kosirzeński W., Paklerska-Pobratyn H.: Gruzlica 39, 987, 1971.
6. Levi M. L.: Vet. Rec. 62, 336, 1948.
7. Merkal R. S., Larsen A. B.: Am. J. vet. Res. 23, 1307, 1962.
8. Merkal R. S., Kopecky K. E., Larsen A. B., Thurston J. R.: Am. J. vet. Res. 25, 1290, 1964.
9. Merkal R. S., Larsen A. B., Kopecky K. E., Ness R. D.: Am. vet. Res. 29, 1533, 1968.
10. Nemoto H., Hatakeyama H., Yougi H.: Nath. Inst. Anim. Hlth. Qrt. Tokio, 5, 105, 1965.
11. Oktaba W.: Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalnictwa, PWN, 1963.
12. Ramisz A., Cakala S., Szańkowska Z., Hoffman H., Damm A., Zahaczewski J., Danilczuk K., Jaremski A.: Medycyna wet. 26, 203, 1970.
13. Rzućciło L.: Zeszyty Probl. Nauki Polskiej, PAN, Warszawa 1957.
14. Smith H. W.: J. Path. Bact. 66, 375, 1953.
15. Smith H. W.: J. Path. Bact. 80, 440, 1960.
16. Stuart P.: Brit. vet. J. 12, 289, 1955.
17. Szymaczek-Meyer L.: Gruzlica, 36, 1103, 1963.
18. Taylor A. W.: J. Path. Bact. 62, 64, 1950.
19. Taylor A. W.: J. comp. Path. 63, 355, 1955.
20. Weiss A.: Antibiotics and Chemotherapy 7, 374, 1957.

Adres autora: lek. wet. Tadeusz Karpiński, Puławy, Al. Partyzantów 57, Instytut Weterynarii.

Autor składa podziękowanie dr Van Os za przesłanie do badań antybiotyku Pimaricin prod. Royal Netherlands Fermentation Industries Ltd, Delft oraz dr G. Slavin z Central Veterinary Laboratory Wenbridge za przesłanie szczep prątków Johne'a Nr 1305.

HANNA LEWKOWICZ

Odczyn antyglobulinowy w rozpoznaniu brucelozy bydła

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Poznaniu
Kierownik: dr T. ŁOSIŃSKI

Wielu autorów (1, 2, 4, 5, 7, 11) zwraca uwagę na braki serologicznych odczynów stosowanych dotychczas rutynowo w serodiagnostyce brucelozy bydła, postulując uzupełnienie jej za pośrednictwem odczynu antyglobulinowego Coombsa. Wykazuje on zdaniem większości autorów, największą liczbę wyników dodatnich.

W Polsce prowadzone są przez Wiśniewskiego i wsp. (13) prace nad standaryzacją odczynu antyglobulinowego (OAG) przy brucelozie bydła. Postanowiono więc sprawdzić jego wartość rozpoznawczą w rutynowych badaniach w porównaniu z dotychczas stosowanymi tj. odczynem aglutynacyjnym (OA) i odczynem wiązania dopełniacza (OWD).

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły surowice pochodzące od 219 krów z 4 różnych z punktu widzenia epizootycznego środowisk, a mianowicie:

a) z obory przewlekłe zakażonej brucelozą, określonej urzędowo jako „izolator bangowy” — 90 krów, z

Karpiński T. — **Попытки изолирования и выращивания штаммов *Mycobacterium johnei*.**

Сравнивали пригодность яичных сред по Taylor и по Nemoto и сывороточно-агаровой среды по Stuarta, а также модифицированной среды SAN для выращивания чистой культуры *Myc. johnei*, а также для изолирования этих микробов из образцов кала и тканей организма. Сравнивали также результаты гомогенизации материала 5% щавелевой кислотой и 3% стеринолом. Установили что пригодность всех сред для выращивания субкультур *Myc. johnei* была почти одинакова. Положительные результаты изолирования *Myc. johnei* из кала получили после гомогенизации 5% щавелевой кислотой в 80% посевов а 3% стеринолом в 89,9%. Самый большой процент положительных результатов посевов из тканей (92%) получили на яичной среде по Nemoto после гомогенизации материала 5% щавелевой кислотой.

Karpiński T. — **Isolation and cultivation of Johne's bacilli.**

The value of Taylor's and Nemoto's egg-media, as well as Stuard's and modified SAN serum-agar media were compared for the cultivation of Johne's bacilli in pure culture, and for isolation of the organism from an infected material. Simultaneously, two methods of homogenization, e.g. by the use of 5.0% oxalic acid and 3.0% sterinol were compared. It was found that all the examined media had almost the same value for secondary cultivation of Johne's bacilli. The greatest number of cultures from faeces were obtained on Stuard's medium after homogenization with oxalic acid (80.0%) and sterinol (89.0%). Serum-agar medium named SAN showed the similar value. The greatest number of cultures from the samples of tissue (92.0%) were obtained on Nemoto medium after treatment with 5.0% oxalic acid.

których 39 było uodpornione szczepionką S-19 (36 sztuk przed 2, 4 sztuki przed 4 i 1 sztuka przed 6 latami);
b) z 2 obór o ostrym przebiegu brucelozy, gdzie po wyeliminowaniu sztuk roniących pobierano krew do badań od 77 krów. Wszystkie one były uodpornione szczepionką S-19 w różnym czasie (1 sztuka przed 3 lata, 19 sztuk przed 4 lata, 4 sztuki przed 5 latami i 35 sztuk przed 7 latami);

c) z obory uznanej za wolną od brucelozy i zabezpieczonej szczepionką S-19 — 40 krów (zaszczepione S-19 4 lata wcześniej);

d) z obory wolnej od brucelozy — 12 krów (nieszczepionych przeciw brucelozie).

Wszystkie krowy były rasy mizinno-czarno-białej w wieku 3—8 lat i ujemnie reagowały na tuberkulinę. Badaniem parazytologicznym u żadnej z nich nie stwierdzono jajeczek motylicy wątrobowej, a tylko u kilku sztuk z „izolatora bangowego” — pojedyncze nicienie żołądkowo-jelitowe.

OA i OWD nastawiano zgodnie z przepisami obowiązującymi w ZHW (8), przy uwzględnieniu zaleceń Wiśniewskiego i Królalka (10) odnośnie kontroli czułości OWD. Antygenem do OA były standaryzowana zawiesina pałeczek *Brucella abortus* (Brucellognost — Puławy) a jako antygen do OWD służył lizat brucelli produkcji Wydziału Rozpoznawczego IWet w Puławach. Wszystkie próby w OA nastawiano w rozcień-