

2. Constantine D. G., Solomon G. C., Woodall D. F.: Am. J. vet. Res. 29, 181, 1968.
3. Courtois G.: Bull. Off. int. Epizoot. 67, 457, 1967.
4. Elton C. S.: The ecology of invasions by animals and plants. P. 73 Methuen, London, 1966.
5. Flückiger G.: Tierärztl. Umsch. 23, 359, 1968.
6. Gottal C.: Bull. Off. int. Epizoot. 67, 463, 1967.
7. Irvin A. D.: Vet. Rec. 87, 333, 1970.
8. Kauker E., Zettl K.: Vet. med. Nachr. 2/3, 96, 1963.
9. Kauker E.: Rep. Heidelberg Acad. Sci. 1966.
10. Kokles R., Wittmann W.: Arch. exp. Vet. Med. 18, 129, 1964.
11. Mól H.: Wścieklizna zwierząt w Polsce w latach 1965—1971 z uwzględnieniem czynników wpływających na powstawanie i przebieg procesu epizootycznego. Praca doktorska 1972.
12. Müller J.: Med. Klin. 63, 331, 1968.
13. Nikolitsch M.: Bull. Off. int. Epizoot. 47, 506, 1957.
14. Peace C. K., Hopes R.: Vet. Rec. 86, 299, 1970.
15. Pitzschke H.: Zentbl. Parasitkde I. 196, 411, 1965.
16. Ritossa P., D'Agostini S.: G. Mal. Infett. Parassi. 19, 687, 1967.
17. Schindler R., Denning H. K.: Mh. Tierheilk. 10, 169, 1958.
18. Schneider L. G.: Zentbl. Vet. Med. B. 14, 598, 1967.
19. Sodja J., Matouch O.: Acta virol. Praga 16, 147, 1972.
20. Sodja J., Matouch O.: Acta virol. Praga 16, 153, 1972.
21. Steck F.: Vet. Rec. 83, 15, 1968.
22. Stryszak A.: Epizootologia ogólna PWRiL 1961.
23. Tierkel E. S.: Adv. vet. Sci. 5, 183, 1959.
24. Tuncman Z. M.: Mikrobiol. 11, 81, 1958.
25. Walker V. C. R.: Can. vet. J. 10, 11, 1969.
26. Wittmann W., Kokles R.: Arch. exp. Vet. Med. 21, 165, 1967.

Adres autora: doc. dr habil. Zbigniew Baczyński, ul. Kra-  
szewskiego 10, 24-100 Puławy.

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, JÓZEF PILASZEK

## Ocena metod izolacji i identyfikacji drobnoustrojów z rodzaju *Mycoplasma* i *Acholeplasma* występujących u świń

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach

Zgodnie z wynikami prac szeregu autorów (6, 14, 19, 20, 21) mikoplazmy, czyli drobnoustroje z rodzaju *Mycoplasma* i *Acholeplasma*, uważane są za jeden z najważniejszych czynników etiologicznych enzoptycznej bronchopneumonii świń. Nie wklucza to ewentualnego współdziałania wirusów lub innych niż mikoplazmy bakterii (6, 13, 14).

Spośród mikoplazm w wywoływaniu wymienionej choroby bierze udział przede wszystkim *Mycoplasma* (*M.*) *hyopneumoniae* i *M. hyorhinis*. Pewne znaczenie w tym względzie wydaje się mieć *Acholeplasma* (*A.*) *laidlawii* oraz inne szczepy względnie gatunki mikoplazm (6, 15).

W diagnostyce infekcji wywołanych przez mikoplazmy, w tym enzoptycznej bronchopneumonii świń, podstawowe znaczenie mają metody hodowlane i serologiczne (1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16, 22).

Izolacja i hodowla mikoplazm jest trudna. Służy temu celowi szereg podłoży specjalnych (1, 2, 10, 17, 22). Okazało się, iż nie wszystkie nadają się w jednakowym stopniu do izolacji poszczególnych gatunków *Mycoplasma* i *Acholeplasma*. Niektóre podłoża muszą dodatkowo zawierać drogie i niekiedy trudno dostępne składniki.

Wartość diagnostyczna poszczególnych prób serologicznych takich jak: aglutynacja płytowa i probówkowa, odczyn zahamowania wzrostu, zahamowania metabolizmu, wiązania dopełniacza i immunofluorescencji — jest różna i nie została dotąd bliżej określona.

Względy powyższe uzasadniają podjęcie badań nad oceną wartości diagnostycznej, w odniesieniu do enzoptycznej bronchopneumonii świń, szeregu spośród dotąd znanych metod hodowlanych i serologicznych. Badania takie

mają na celu wybór metodyki stosunkowo prostej i pewnej, którą możnaby stosować bez większych trudności w warunkach Polski.

### Materiał i metody

Szczepy bakteryjne. Jako szczepów wzorcowych do badań użyto po jednym szczepie: *M. hyorhinis*, *A. granularum* i *A. laidlawii*. Szczepy te otrzymano z Instytutu Chorób Bakteryjnych w Jenie — NRD\*). Przedmiotem badań był również szczep *M. hyopneumoniae*, otrzymany z Instytutu Weterynarii w Brnie — CSRS\*). Do badań włączono też szczepy izolowane w kraju z płuc świń ze zmianami anatomiczno-patologicznymi, wskazującymi na enzoptyczne zapalenie płuc. Oznaczono je symbolami M-1L i M-3L.

Podłoża. Do izolacji i namnażania mikoplazm stosowano podłoża: VF wg Barbera i Fabricanta (2), E wg Roberts i Pijoana (17), HP wg Whittlestonea (22), wg Goisa i wsp. (10) oraz Bannerman i Nicolet (1). We wszystkich wymienionych podłożach użyto surowicy końskiej w ilości 15—20% a podłoże wg Goisa i wsp. zawierało ponadto 5% surowicy świń.

W pożywkach E, HP oraz wg Goisa i wsp. i wg Bannerman i Nicolet w miejsce wyciągu drożdżowego, przygotowanego przez podane w odnośnych przepisach firmy, stosowano wyciąg ze świeżych drożdży. Był on sporządzony wg Goisa i wsp. (10). W pożywce HP stosowano w miejsce bulionu Hartleya bulion z płuc świń, wolnych od zakażeń mikoplazmami. Bulion ten przygotowywano wg Whittlestonea (22). W wymienionych wyżej podłożach jako inhibitorów użyto octan talu w rozcieńczeniu 1:2000 oraz penicylinę krystaliczną od 2 do 10 tys. j.m./1 ml.

Podłoża stałe wykonywano w ten sposób, że do bulionu VF dodawano agar zwykły w ilości 1,5% a do pożywek płynnych HP oraz Goisa i wsp. agar — Oxoid w ilości 1%. Pożywka E zawierała agar PPLO (Difco) w ilości 3,5%.

Izolacja szczepów. Materiałem do izolacji mikoplazm były wycinki płuc, wykazujące zmiany chorobowe, spotykane przy enzoptycznej bronchopneumonii. Badania przeprowadzono bezpośrednio po pobraniu materiału lub zamrażono go w temperaturze suchego lodu do momentu ich rozpoczęcia. Izolację szczepów

\* ) Autorzy składają podziękowanie za przekazane szczepy.

wykonywano w ten sposób, że wycinkiem z płuc pobranym z miejsca, będącego na przejściu tkanki zmienionej chorobowo w tkankę zdrową, dokonywano posiewu na pożywkę stałą. Ten sam wycinek umieszczano następnie w próbówce, zawierającej 10 ml pożywki płynnej. W przypadku podłoża sporządzonego wg Bannerman i Nicolet materiał badany posiewano tylko na to podłoże, które stanowiło pożywkę dwufazową — równocześnie płynną i stałą. Posiewy inkubowano w termostacie w temperaturze 37°C przez 7 do 10 dni a w niektórych przypadkach do 15 dni. Płytki z podłożem stałym umieszczano w komorze wilgotnej w celu zabezpieczenia przed wyschnięciem. Wzrost po 24 godz. inkubacji uważano za zanieczyszczenia towarzyszącą florą bakteryjną i w takiej sytuacji odstępowano od dalszych badań. Hodowle, w których po tym czasie brak było wzrostu, przesiewano co drugi dzień. Z podłoża płynnego wykonywano przesiewy na takie samo podłoże i na pożywkę stałą, natomiast z podłoża agarowego w przypadku wzrostu kolonii podobnych do kolonii mikoplazm posiewano je na pożywkę płynną i stałą. Zawsze wykonywano nie mniej niż 3 pasaże, starając się uzyskać hodowlę pochodzącą z jednej kolonii na podłożu stałym. W celu wykluczenia form L bakterii, uzyskane hodowle, pasażowano przez bulion zwykły i stosowane do izolacji podłoża płynne bez dodatku inhibitorów. Natomiast w celu uzyskania antygeny do aglutynacji, adaptowano izolowany szczep, pasażując go kilkakrotnie przez pożywkę VF a w przypadku braku wzrostu na tym podłożu, używano pożywkę, na której izolowano ten szczep.

Aglutynacja. Metody aglutynacji próbówkowej i płytkowej oraz sporządzania barwnej zawiesiny aglutynacyjnej zostały podane uprzednio (15).

Odczyn zahamowania wzrostu. Odczyn ten wykonywano metodą opisaną przez Clyde (4). Wyjąłowie krążki bibuły o średnicy 6 mm nasączono surowicami odpornościowymi, uzyskanymi przez uodparnianie królików wymienionymi wyżej szczepami mikoplazm. Suszono je w jałowych płytkach Petriego. Kolejno sporządzono podłoże agarowe wg Goisa i wsp. (9), zawierające 1% agaru firmy Oxoid. Rozlewano je do płytek Petriego w ilości 6 ml. Po ochłodzeniu i częściowym wysuszeniu pożywki wykonywano posiewy, rozprowadzając 0,2 ml 72 godzinnej hodowli bulionowej mikoplazm w rozcieńczeniu  $10^{-2}$  lub  $10^{-3}$  na całą powierzchnię pożywki. Na posianą płytkę nakładano krążki bibuły i po 3—4 dniowej inkubacji w temperaturze 37°C odczytywano wynik. Strefa zahamowania wzrostu wokół krążka, ze znaną surowicą swoistą wskazywała na przynależność gatunkową badanego szczepu.

### Wyniki i omówienie

W celu oceny wartości kilku podłoży do izolacji mikoplazm posiewano je używając wycinków płuc, pochodzących z materiału chorobowego. Uzyskane hodowle identyfikowano. Wyniki przedstawia tab. 1.

Jak wynika z tab. 1 najwięcej szczepów izolowano na podłożu VF. Na 52 przeprowadzo-

Tab. 1. Wyniki izolacji szczepów rodzaju *Mycoplasma* i *Acholeplasma* przy zastosowaniu kilku podłoży bakteryjnych

Liczba badanych próbek <sup>x</sup>	Podłoża sporządzone wg metody opisanej przez	Liczba szczepów wyosobnionych	Szczepy zaliczono do <sup>xx</sup>				Szczepy nieokreślone
			<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>M. hyorhinis</i>	<i>A. granularum</i>	<i>A. laidlawii</i>	
52	Barbera i Fabricanta (VF)	33 (63,5%)	—	13	1	5	14
52	Robertsa i Pijoana (E)	27 (51,9%)	—	15	2	4	6
52	Goisa i wsp.	23 (44,2%)	—	12	1	4	6
25	Whittlestonea (HP)	10 (40,0%)	4	2	—	—	4
25	Bannerman i Nicolet	11 (44,0%)	—	7	—	—	4
Razem		104	4	49	4	13	34

Objaśnienia: x = badane próbki pochodziły z płuc świń ze zmianami anatomo-patologicznymi, wskazującymi na entozootyczne zapalenie płuc; xx = wyosobnione szczepy określono metodą aglutynacji próbówkowej.

Materiał do izolacji szczepów. Stanowiło go 58 próbek z płuc pobranych od świń, poddanych ubojowi. We wszystkich płucach badanych były zmiany anatomo-patologiczne, wskazujące na bronchopneumonię. Materiał, użyty do badań, pobrany był w okresie od października do marca.

Zwierzęta doświadczalne. Do produkcji surowic odpornościowych użyto 18 królików, pochodzących z hodowli własnej Instytutu Weterynarii w Puławach.

Surowice odpornościowe. Surowice, służące do badań serologicznych, otrzymano wg metody Mortona i Robertsa (1967), podanej przez Baszmałową i Sołbatową (3). Dodać należy, że w okresie, poprzedzającym właściwe uodparnianie tą metodą, królikom podawano dożylnie w odstępach 3-dniowych, przez okres 2 tygodni, zawiesinę odwirowanych i przemytych mikoplazm. Uzyskiwano ją z 10 ml 72 godz. hodowli bulionowej, używając pożywki VF. Była ona zawieszana w 2 ml płynu fizjologicznego. Do uodparniania królików użyto szczepów *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *A. granularum* i *A. laidlawii*. Antygeny służące do uodparniania królików metodą Mortona i Robertsa były zawsze mieszane z kompletnym adjuwantem Freund'a, produkowanym przez Zakłady Biomed.

nych prób izolacji wyosobniono w 33 przypadkach mikoplazmy; stanowiło to 63,5%. Najmniej, bo 10 szczepów na 25 badanych próbek (40%), izolowano na pożywkę HP. Stosując to ostatnie podłoże wyosobniono jednak 4 szczepy, które następnie zaliczono do gatunku *M. hyopneumoniae*. Gatunku tego nie wyosobniono, stosując wszystkie inne użyte w pracy podłoża. Na podłożu E wykryto mikoplazmy w 51,9%, na podłożu Goisa i wsp. w 44,2% a na podłożu Bannerman i Nicolet w 44% próbek badanych. Nie ustępują one zatem w znacznym stopniu podłożu ocenionemu w badaniach własnych za najlepsze, czyli VE.

Przy użyciu wymienionych pożywek najczęściej izolowanych szczepów zaliczono do *M. hyorhinis*. Przy pomocy podłoża E wyosobniono 15 szczepów *M. hyorhinis* na ogólną liczbę 27 izolowanych szczepów mikoplazm. Stosując podło-

że wg Bannerman i Nicolet na 11 izolowanych szczepów mikoplazm, 7 zaliczono do *M. hyorhinis*. Również podłoże VE i podłoże wg Goisa i wsp. nadawały się do izolacji tego gatunku. Spośród izolowanych na pierwszym z nich 33 szczepów, 13 zaliczono do *M. hyorhinis*. Na 23 izolowane szczepy na podłożu drugim, 12 zasze-regowano do wymienionego gatunku *Mycoplasma*. Szczepy *A. laidlawii* i *A. granularum* nie wyosobniono na podłożu HP oraz pożywce przygotowanej wg Bannerman i Nicolet natomiast izolowano je na podłożach VE, E i Goisa i współaut. Jak wspomniano *M. hyopneumoniae* udało się wyosobnić jedynie na podłożu HP. Powyższe różnice w możliwości izolacji mogły być częściowo związane z różnymi stężeniami poszczególnych gatunków mikoplazm w badanym materiale. Były one jednak niewątpliwie również zależne od rodzaju podłoża użytego do badań.

Tab. 2. Badanie pokrewieństw antygenowych kilku gatunków mikoplazm przy pomocy odczynu zahamowania wzrostu

Surowica anty	Szczepy użyte do badań:				
	<i>M. hyorhinis</i>	<i>A. granularum</i>	<i>A. laidlawii</i>	M-1L	M-3L
<i>M. hyorhinis</i>	18x	—	—	—	10
<i>A. granularum</i>	—	16	—	—	—
<i>A. laidlawii</i>	—	—	18	—	—
M-1L	—	—	—	12	—
M-3L	10	—	—	—	20
Kxx	—	—	—	—	—

Objaśnienia: x = strefa zahamowania wzrostu w mm; xx = surowica pochodząca od królików nieoupornianych; — = brak strefy zahamowania wzrostu.

Znacznego odsetka wyosobnionych szczepów *Mycoplasma* i *Acholeplasma* nie udało się zaliczyć do gatunków uważanych obecnie za chorobotwórcze dla świń. Istnieje zatem możliwość, iż wśród tych szczepów znajdują się nieokreślone dotychczas gatunki, które odgrywają rolę w etiologii enzootycznej bronchopneumonii świń, podobnie jak np. *M. hyopneumoniae* lub *M. hyorhinis*.

Tab. 3. Określenie przynależności gatunkowej szczepów mikoplazm metodą aglutynacji płytowej i próbówkowej oraz odczynem zahamowania wzrostu

Liczba szczepów wyosobnionych	Gatunek	Aglutynacja próbówkowa	Aglutynacja płytowa	Odczyn zahamowania wzrostu
104	<i>M. hyopneumoniae</i>	4	3	—*)
	<i>M. hyorhinis</i>	49	34	28
	<i>A. granularum</i>	4	4	4
	<i>A. laidlawii</i>	13	10	9

Objaśnienia: \*) ze względu na niedostateczny wzrost na pożywce stałej nie udało się oznaczyć badanych szczepów przy pomocy odczynu zahamowania wzrostu.

Przedmiotem kolejnych doświadczeń było badanie wartości diagnostycznej odczynów serologicznych. W szczególności chodziło o bliższe określenie reakcji krzyżowych między kilkoma gatunkami mikoplazm. Posłużono się szczepami wzorcowymi *M. hyorhinis*, *A. granularum*, *A.*

*laidlawii* jak też szczepami dotąd nie zaliczonymi do żadnego gatunku o symbolach M-1L i M-3L oraz ich homologicznymi surowicami.

W badaniach przeprowadzonych uprzednio (15) wykazano odczyny krzyżowe w próbie aglutynacji płytowej i próbówkowej pomiędzy *M. hyorhinis* i szczepem M-3L, a w mniejszym stopniu również *A. laidlawii*. W obecnej pracy postanowiono, używając tych samych szczepów i surowic odpornościowych, zbadać w jakim stopniu wynik ten da się potwierdzić przy zastosowaniu odczynu zahamowania wzrostu. Uzyskane dane przedstawiono w tab. 2.

Z tab. 2 wynika, iż dla odróżnienia *M. hyorhinis* od *A. laidlawii* odczyn zahamowania wzrostu jest bardziej przydatnym testem aniżeli aglutynacja płytowa i próbówkowa. Strefa zahamowania wzrostu w układach homologicznych była szeroka i dobrze zaznaczona. Natomiast w układach heterologicznych można było zauważyć tylko minimalne zahamowanie wzrostu. Przy użyciu odczynu zahamowania wzrostu wykazano identyczność antygenową pomiędzy *M. hyorhinis* a szczepem M-3L. Nie było to możliwe w oparciu o próbę aglutynacji płytowej i próbówkowej, gdzie w przypadku systemów heterologicznych stwierdzono znaczne różnice w porównaniu z systemami homologicznymi (15).

Celem kolejnych doświadczeń było określenie przynależności gatunkowej przy pomocy aglutynacji próbówkowej i płytowej oraz odczynu zahamowania wzrostu wyosobnionych w niniejszej pracy szczepów mikoplazm. Również te badania miały na względzie ocenę wartości wymienionych prób dla identyfikacji szczepów. Wyniki przedstawia tab. 3.

Jak wynika z tab. 3 nie wszystkie badane szczepy można było zaliczyć do określonego gatunku każdą z trzech stosowanych metod. Na 104 izolowane szczepy 49 określono metodą aglutynacji próbówkowej jako *M. hyorhinis*, 34 reagowało z surowicą użytą do tej próby w aglutynacji płytowej a wzrost 28 szczepów był hamowany przez tą surowicę. Analogiczne wyniki uzyskano przy oznaczaniu szczepów *A. laid-*

*lawii*. Z ogólnej liczby 104 szczepów izolowanych 13 zaliczono metodą aglutynacji próbówkowej do tego gatunku, w aglutynacji płytowej reagowało dodatkowo 10 szczepów a w odczynie zahamowania wzrostu strefę zahamowania obserwowano w 9 przypadkach. W przeciwi-

stwie do przedstawionych wyników, wszystkie szczepy określone jako *A. granularum* reagowały dodatnio w trzech stosowanych próbach w równym stopniu.

Spośród 4 szczepów oznaczonych w aglutynacji próbowkowej jako *M. hyopneumoniae*, 3 reagowały dodatnio z surowicą homologiczną w aglutynacji płytowej. Nie udało się tych szczepów określić odczynem zahamowania wzrostu, gdyż nie otrzymano dostatecznego wzrostu na pożywce stałej.

Reasumując, zawiesiny bakteryjne szczepów mikoplazm, których wzrost był hamowany przez odpowiadające im surowice w odczynie zahamowania wzrostu, dawały zawsze reakcję dodatnią w aglutynacji płytowej i próbowkowej z tą surowicą. Przy pomocy tych dwóch prób określono na ogół przynależność gatunkową większej liczby szczepów niż odczynem zahamowania wzrostu. Aglutynacja płytowa ustępowała w tym względzie aglutynacji próbowkowej. Można zatem wnosić, iż odczyn zahamowania wzrostu jest mniej czuły niż próba aglutynacji próbowkowej i płytowej. Jak wynika jednak z badań zawartych w tab. 2, wydaje się być on bardziej swoistym odczynem niż dwie wymienione próby.

Gois (8), stosując odczyn zahamowania wzrostu dla określenia szczepów mikoplazm wykazał, że wzrost dwu różnych szczepów *M. hyorhinis* może być przez tę samą surowicę odpornościową zahamowany w różnym stopniu. Dinter i Taylor-Robinson (5) zaobserwowali natomiast, iż królicze surowice anty-*M. hyorhinis* nie hamowały wzrostu wszystkich szczepów, należących do tego gatunku.

Biorąc pod uwagę wyniki badań własnych i przytoczonych danych należy sądzić, iż najśluszniej jest stosować do określania przynależności gatunkowej mikoplazm równocześnie aglutynację próbowkową i odczyn zahamowania wzrostu.

#### Wnioski

1. Do izolacji drobnoustrojów rodzaju *Mycoplasma* i *Acholeplasma* z płuc świń, najbardziej przydatne jest podłoże VF, przygotowane wg metody podanej przez Barbera i Fabricanta. Podłoża przygotowane wg metod opisanych przez Robertsa i Pijoana (E) oraz Goisa i wsp. również nadają się do izolacji tych drobnoustrojów, lecz w mniejszym stopniu.

2. Podłoże Bannerman i Nicolet okazało się stosunkowo mało przydatne do izolacji *A. granularum* i *A. laidlawii*, można natomiast przy jego pomocy izolować *M. hyorhinis*.

3. *M. hyopneumoniae* izoluje się spośród badanych pożywek tylko na podłożu HP, przygotowanym wg Whittlestonea.

4. W celu identyfikacji mikoplazm przydatne są aglutynacja próbowkowa oraz odczyn za-

hamowania wzrostu. Winno się stosować w przypadku każdego badanego szczepu obie próby, gdyż uzupełniają się one wzajemnie.

#### Piśmiennictwo

1. Bannerman E. S. N., Nicolet J.: Schweizer Arch. Tierheilkunde 113, 697, 1971.
2. Barber T., Fabricant J.: Bact. 82, 1269, 1962.
3. Baszmałowa M. A., Solbatowa V. M.: Z. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol. 11, 40, 1971.
4. Clyde W. A.: J. Immunol. 92, 958, 1964.
5. Dinter Z., Taylor-Robinson D.: J. gen. Microbiol. 57, 263, 1969.
6. Dzu N. M., Schimmel D.: Mh. VetMed. 26, 304, 1971.
7. Friis F. N.: Acta vet. scand. 10, 295, 1969.
8. Gois M.: ZentBl. VetMed. 15, 382, 1968.
9. Gois M., Cerny M., Rozkosny V., Souadina M.: ZentBl. VetMed. (B). 16, 253, 1969.
10. Gois M., Valicek L., Souadina M.: ZentBl. VetMed. (B). 15, 230, 1968.
11. Hodges R. T., Betts A. O.: Vet. Rec. 85, 452, 1969.
12. Hodges R. T., Betts A. O.: Vet. Rec. 85, 455, 1969.
13. Kasza L., Hodges R., Betts A.: Vet. Rec. 84, 262, 1969.
14. Papageorgiou C.: Bull. Soc. Sci. Vet. Med. Lyon, 72, 633, 1970.
15. Pilaszek J.: Właściwości antygenowe i toksyczne kilku gatunków *Mycoplasma* wyisobnionych od świń. Praca doktorska. Instytut Weterynarii, Puławy 1972.
16. Roberts D. H., Little T. W. A.: J. comp. Path. 80, 211, 1970.
17. Roberts D. H., Pijoan C.: Br. Vet. J. 127, 582, 1971.
18. Schimmel D., Dzu N. M.: Arch. exp. Vet. Med. 23, 403, 1969.
19. Stojanow B.: Vet. Med. Nauki Sof. 6, 83, 1969.
20. Struzak A.: Medycyna Wet. 27, 641, 1971.
21. Whittlestone P.: Am. N. Y. Acad. Sci. 143, 1967.
22. Whittlestone P.: Isolation methods for microbiologists. Edited by D. A. Shapton and G. W. Gauld 1969.

Adres autora: prof. dr Marian Truszczyński, Al. Partyzan-  
tów 57, 24-100 Puławy.

Трущинский М., Пиляшек Ю. — Оценка методов выделения и идентификации микробов из рода *Mycoplasma* и *Acholeplasma* у свиней.

В результате проведенных исследований установили, что из исследованных сред лучшей оказалась среда VF приготовленная по Barber и Fabricant. Немного менее пригодными оказались среда по Roberts и Pijoan а также среда по Gois и др. При употреблении среды по Bannerman и Nicolet хорошие результаты получили при выделении *M. hyorhinis* менее хорошие при изоляции *A. granularum* и *A. laidlawii*. *M. hyopneumoniae* удалось выделить только при помощи среды по Whittlestonea. Для идентификации микоплазм подходящими оказались реакция пробирочной агглютинации и реакция торможения роста. Автор предлагает применять обе эти реакции одновременно.

Truszczyński M., Pilaszek J. — The assay of the methods of the isolation and identification of microorganisms of *Mycoplasma* and *Acholeplasma* genus occurring in pigs.

The purpose of the work was to evaluate certain media applied for the isolation of *Mycoplasma* and *Acholeplasma* from the lungs of pigs showing the symptoms characteristic for enzootic bronchopneumonia. There were also evaluated the usefulness of plate and tube agglutination tests and growth inhibition test in the identification of the strains studied. It was found that Barber and Fabricant's medium appeared the best one for the isolation of *Mycoplasma* and *Acholeplasma*. Media acc. to Roberts and Pijoan and Gois et al. proved to be less suitable. Bannerman and Nicolet's medium was very useful for the isolation of *M. hyorhinis* and less helpful for the isolation of *A. granularum* and *A. laidlawii*. *M. hyopneumoniae* was isolated only on the Whittlestone's medium. Tube agglutination and growth inhibition tests appeared very suitable for the identification of *Mycoplasmas*. The application of both the tests was recommended.