

należy, że celowe byłoby wykonanie takich badań na większą skalę, w różnych ośrodkach wypasowych, a w razie ujawnienia reakcji pozytywnych należałoby w drugim etapie zastosować zespół odczynów takich jak odczyn alergiczny, zlepnny i wiązania dopełniacza dla uzyskania dokładniejszych danych o rozprzestrzenieniu się brucelozy u owiec. Akcję badań owiec metodą pierścieniową należałoby prowadzić wiosną po wykotach, po których zazwyczaj miano aglutynacyjne narasta. Badania takie celowe jest przeprowadzić ze służbą zdrowia, gdyż warunki sanitarne na baczniach, zazwyczaj spożywania surowej rzętycy i bezpośredni kontakt z owcami sprzyja (w razie zakażenia owiec brucelozą) zakażeniu się ludzi. Wydaje się przeto celowe w razie ujawnienia brucelozy badanie juhasów i baczni np. metodą szybkiej aglutynacji z kroplą krwi od razu w czasie badania owiec lub przeprowadzenie takich badań podczas redyktu.

#### Wnioski:

1) W orientacyjnych masowych badaniach owiec w podhalańskim ośrodku wypasowym nie stwierdzono przypadków pozytywnego reagowania na brucelozę w odczynie pierścieniowym z mlekiem.

2) Wyniki te potwierdzają wywiady, w których nie obserwowano wśród owiec przypadków wzbudzających podejrzenie brucelozy i są ponadto zgodne z wynikami odczynu zlepnego próbkiowego wykonywanego w pracowni z serwatką mleka.

3) Terenowa metoda pierścieniowa z mlekiem, jako szybka i prosta w wykonaniu, wydaje się metodą odpowiednią do masowych badań epizootologicznych na halach.

4) Metodą tą należałoby zbadać większy materiał hodowlany w większych ośrodkach, zwłaszcza tam gdzie są owce importowane.

5) W wypadku ujawnienia brucelozy u owiec celowe byłoby stosowanie w drugim etapie kompleksu odczynów, oraz badanie baczni i juhasów.

#### Piśmiennictwo.

- 1) Anczykowski F.: Roczn. Nauk Rol. 1954, 66, E-3 (303-317)
- 2) Anczykowski F.: Roczn. Nauk. Rol. 1954, 66 E-3 (319-325).
- 3) Chyliński G.: Med. Wet. 1954, 10, 4) Feils G.: Tierärztl. Umschau 1955, 3, 5) Gadzyjew K., Szyronow F.: Wiet. 1954, 12, 6) Kamińska A., Larski Z., Prokopeczko M.: Med. Wet. 1953, 8, 7) Kolar L., Kral J., Kraus L.: Cesk. hyg. epid. mikrob. immun. 1955, IV, 3, 8) Łosiński T.: Med. Wet. 1951, 4, 9) Pietrow L. G., Sidorowa A. W.: Wiet. 1951, 12, 10) Runge S., Łosiński T., Chwojnowski A., Dziubek T.: Med. Wet. 1951, 6, 11) Ratowski A., Wiśniowski J.: Med. Wet. 1955, 1, 12) Samojłow P.: Wiet. 1951, 10, 13) Soironow N. W.: Wiet. 1953, 10, 14) Szafarski J.: Med. Wet. 1948, 6, 15) Szafarski J., Steffen J.: Med. Wet. 1951, 8, 16) Trylenko P. A.: Wiet. 1954, 1, 17) Wiśniowski J.: Med. Wet. 1953, 3, 18) Wiśniowski J., Kocowicz L., Kmieńska M.: Med. Wet. 1954, 1-2, 19) Wszeleski S.: Wiet. 1951, 4.

#### FELIKS KOZŁOWSKI

## Pożywka wybiórcza do wyosabniania pałeczek brucelli z materiałów zanieczyszczonych

Z Katedry Zoohigieny Wydziału Zootechnicznego W.S.R. w Lublinie  
Kierownik: Prof. dr ALFRED CHODKOWSKI

Materiał nadsyłany do pracowni rozpoznawczych WZHW do bakteriologicznego rozpoznania brucelozy, jest często tak mocno zanieczyszczony saprofityczną florą bakteryjną, że wyosabnienie z niego właściwego drobnoustroju sprawcy schorzenia, jest bardzo trudne. Zdarza się to szczególnie w okresie letnim, gdy materiał przesyłany pocztą jest w drodze niekiedy kilka dni. W uwzględnieniu tego przeprowadziłem szereg badań porównawczych na pożywkach zwykłych, wzbogaconych i pożywkach z dodatkiem różnych bakteriostatycznych substancji chemicznych, w celu znalezienia pożywki o składzie najbardziej nadającym się do wyosabniania pałeczek brucelli z materiałów zanieczyszczonych. Chodzi o pożywkę która by umożliwiła wzrost pałeczek brucelli, a równocześnie hamowała wzrost innych drobnoustrojów zanieczyszczających zwłaszcza, że te ostatnie, rozmnażając się szybciej, hamują rozwój wolniej rosnących pałeczek brucelli.

Huddleson I. F. (1946) używał do wyosabniania brucelli z zanieczyszczonych materiałów agaru z wyciągiem wątrobowym z do-

datkiem fioletu krystalicznego w stosunku 1:1.000.000. Stosownie do instrukcji podanej przez FAO (1949) do wyosabniania brucelli można używać pożywki agarowej z dodatkiem zieleni malachitowej w stosunku 1:25.000 i fioletu gencjany w 1:50.000. Topley & Wilson (1946) podaje sposób wyosabniania brucelli z mleka przy użyciu podstawowej pożywki agarowej z dodatkiem wyciągu wątrobowego lub pożywki agarowej z dodatkiem 2% glicerolu i 10-15% surowicy bydlęcej oraz z dodatkiem fioletu gencjany w stosunku 1:100.000 i zieleni malachitowej 1:200.000 końcowego rozcieńczenia.

Wstępne badania miały na celu dostosowanie najlepszej pożywki podstawowej dla wzrostu pałeczek brucelli. Po wypróbowaniu całego ich szeregu jak agarowej, agarowej z glukozą, agarowej z wyciągiem wątrobowym, agarowej z dodatkiem różnych surowic, agarowej z dodatkiem gliceryny i różnych kombinacji okazało się, że szczepy *Brucella* rosły najlepiej na pożywce agarowej z dodatkiem 5% inaktywowanej surowicy krwi konia, 1% glukozy, przy pH pożywki = 6,8. Po ustaleniu

Tabela 1

rozcieńczenia		Br. melit.	Br. bovis	Br. bovis	Br. bovis	Br. bovis	Br. suis
fiolet gencjany	1:20.000	++	++	++	++	++	++
"	1:50.000	++	++	++	++	++	++
"	1:40.000	++	++	++	++	++	++
"	1:50.000	+++	+++	+++	+++	+++	+++
"	1:100.000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
"	1:200.000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
"	1:400.000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
zieleń malachitowa	1:10.000	+	+	+	+	+	+
"	1:15.000	+	+	+	+	+	+
"	1:20.000	+	+	+	+	+	+
"	1:25.000	++	++	++	++	++	++
"	1:50.000	++	++	++	++	++	++
"	1:100.000	+++	+++	+++	+++	+++	+++
"	1:200.000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
fiolet gencjany	+	zieleń malachitowa					
1:20.000		1:10.000	—	—	+	—	+
1:50.000		1:15.000	—	—	±	+	++
1:40.000		1:20.000	—	+	++	+	++
1:50.000		1:25.000	++	++	++	++	++
1:100.000		1:50.000	+++	+++	+++	+++	+++
1:200.000		1:100.000	++++	++++	++++	++++	++++
1:400.000		1:200.000	++++	++++	++++	++++	++++
Pożywka kontrolna AGS			++++	++++	++++	++++	++++

Objaśnienia: + = słaby wzrost  
 ++ = średni wzrost  
 +++ = silny wzrost  
 ++++ = obfity wzrost

najlepszej pożywki podstawowej przystąpiłem do stosowania różnych bakteriostatycznych barwników w różnych rozcieńczeniach i w różnej proporcji, które następnie dodawałem do powyżej opracowanej pożywki podstawowej. Na tak przygotowane pożywki wysiewałem trzy odmiany standartowych szczepów genewskich *Br. melitensis*, *Br. abortus bovis*, *Br. suis* oraz odmiany naszych szczepów terenowych. Po namnożeniu w cieplarni w +37°C odczytywałem wyniki po 5—7 dniach. Dla kontroli osobno wysiewałem te szczepy na pożywkę

podstawową (bez dodatku barwników) i po namnożeniu w cieplarni po 5—7 dniach odczytywałem wyniki. Wyniki badań przedstawia tabela 1.

Tabela powyższa wykazuje, że wszystkie trzy typy pałeczek brucelli rosły najlepiej na pożywce z dodatkiem fioleto gencjany w końcowym rozcieńczeniu powyżej 1:100.000, podczas gdy na pożywce z dodatkiem zieleni malachitowej w rozcieńczeniu powyżej 1:200.000.

Sporządzenie pożywek. Pożywka podstawowa: do gotowego, jałowego, rozpu-

Tabela 2

rozcieńczenia		Br. melit.	Br. bovis	Br. bovis	Br. bovis	Br. bovis	Br. bovis	Br. bovis	Br. suis
fiolet gencjany	+	zieleń malach.							
1:100.000		1:100.000	+++	++++	+++	++++	+++	++++	+++
1:100.000		1:200.000	+++	++++	+++	++++	+++	++++	+++
1:200.000		1:100.000	+++	++++	+++	++++	+++	++++	+++
1:200.000		1:200.000	++	+++	+	+++	++	+++	++
Pożywka kontrolna AGS			++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

szczonego i ochłodzonego do temp.  $+46^{\circ}\text{C}$  agaru z dodatkiem 1% glukozy dodaje się 5% surowicy konia inaktywowanej (jałowa, sprawdzona, z konia zdrowego).

Pożywka wybiórcza: następnie do pożywki podstawowej dodaje się gotowe, wyjałowione roztwory w wodzie dest. fioletu gencjany w 1:200.000 i zieleni malachitowej 1:100.000 w końcowym rozcieńczeniu.

#### Posiewy hodowli drobnoustrojów

Po rozlaniu przygotowanej pożywki do płytek Petriego i po ich osuszeniu przystępowałem do wysiewów materiałów przygotowanych sztucznie tzn. standartowych szczepów *Br. melitensis*, *Br. abortus bovis*, *Br. suis* oraz naszych szczepów terenowych (po namnożeniu w cieplarni odczytywałem wyniki po 5—7 dniach) oraz szczepu terenowego *Br. abortus*, zmieszanego w różnych proporcjach z saprofityczną florą bakteryjną pobraną ze skóry żywych zwierząt.

Florę zanieczyszczającą pobrałem ze skóry krowy. Gęstość zawiesiny bakteryjnej szczepu *Brucella* jak też i flory zanieczyszczającej określiłem przy pomocy nefelometru Brown Nr 7; tzn. zawiesiny zawierały około 5 miliardów komórek bakteryjnych w 1 ml. Następnie mieszałem obie zawiesiny w stosunku jak 1:2, 1:5, 1:10, 1:20 i wysiewałem na pożywki z barwnikami. Po namnożeniu w cieplarni odczytywałem wyniki po 5—7 dniach. Wyniki przedstawia tabela 3. Najkorzystniejsze rozcieńczenie hamujące drobnoustroje zanieczyszczające ustaliłem dla fioletu gencjany 1:200.000 i zieleni malachitowej 1:100.000. Jako kontrolę w badaniach używano każdorazowo pożywkę AGS (3% Agar, 1% Glukoza, 5% Surowica końska inaktywowana) na którą wysiewałem wymienione czyste szczepy, jak również szczepy zmieszane z florą zanieczyszczającą.

Tabela 3

rozcieńczenie		Br. abor. bovis + flora zanieczyszczająca			
fiolet gencjany	zieleń malach.	stos. 1:2	stos. 1:5	stos. 1:10	stos. 1:20
1:100.000	1:100.000	++	++	++	++ z
1:100.000	1:200.000	++	++	++	++
1:200.000	1:100.000	+++	++++	+++	+++
1:200.060	1:200.000	+ z	+ z	+ z	+++ z
Kontrola AGS		z	z	z	z

Objaśnienia: jak w tabeli 1 i 2  
z = zanieczyszczenie

Określanie wyrosłych kolonii brucelli przeprowadzono przy pomocy badań mikroskopowych, hodowlanych (pożywka Brauna), oraz badań serologicznych (odczyn zlepnij).

Posiewy z materiału zakaźnego

W badaniach tych robiłem posiewy na pożywkę wybiórczą i kontrolną (AGS) z narządów sekcjonowanych świnek morskich zakażonych doświadczalnie szczepami brucelli. Na 42 przeprowadzone sekcje wyosobniono na pożywkę wybiórczej brucelle ze śledziona 19 razy, wątroby 17, płuc 8, serca (krwi) 5, nerek 12, węzłów chłonnych 12, jąder 2, zaś na pożywkę kontrolnej AGS ze śledziona 10 razy, wątroby 4, serca 3, nerek 3, węzłów chłonnych 5. Podkreślić jeszcze należy, że pożywka kontrolna była zawsze w mniejszym lub większym stopniu przerośnięta florą bakteryjną zanieczyszczającą.

#### Wnioski

Z przeprowadzonych badań wynika, że zmodyfikowana pożywka wybiórcza z fioletem gencjany i zielenią malachitową może być użyta w pracowniach rozpoznawczych WZHW jako jeszcze jedno usprawnienie wykrywania pałeczek brucelli z materiałów zanieczyszczonych saprofityczną florą bakteryjną, co przydać się może w zwalczaniu brucelozy w naszym kraju.

\* \* \*

Poczuwam się do miłego obowiązku podziękowania Panu Prof. dr. A. Chodkowskiemu za udzielenie mi cennych rad i wskazówek podczas wykonywania tej pracy.

#### Piśmiennictwo

- 1) Chodkowski A. — Konsultacje ustne.
- 2) Huddleson I. F. — Brucellosis in Man and Animals. str. 26. London 1946.
- 3) FAO. Konferencja. Warszawa 1949, Med. Wet. Nr 2, Labor XVI, 1949.
- 4) Wilson G. S., Miles A. A. — Topley and Wilsons Principles of Bacteriology and Immunity. Vol. II, str. 1714. London, 1946.

#### Ф. КОЗЛОВСКИ

### ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КУЛЬТУР БРУЦЕЛЛЫ ИЗ ЗАГРЯЗНЕННОГО МАТЕРИАЛА

#### Резюме

Автором велись исследования с целью найти среду пригодную для получения культур бруцеллы из загрязненных материалов. Результаты исследований представляют таблицы. Состав среды представляется как ниже следует:

а) среда основная — к стерильному 3% агару с добавкой 1% глюкозы (после охлаждения до  $+46^{\circ}$ ) прибавляется 5% инактивированной сыворотки лошади;

б) избирательная среда — к основной среде прибавляется водный раствор 1:200.000 генцианвиолета и 1:100.000 малахитовой зелени.

В исследованиях секционного материала с 42 морскими свинками искусственно зараженными разными штаммами бруцеллы получено на избирательной среде культуры возбудителя бруцеллеза из селезенки в 19 случаях, печени — 17, легких — 8, сердца (кровь) — 5, почек — 12, лимфатических узлов — 12, семенников — 2, одновременно на среде контрольной AGS (агар, глюкоза, сыворотка) получено культуры из селезенки в 10 случаях, печени — 4, сердца — 3, почек — 3, лимфатических узлов — 5.

## F. KOZŁOWSKI

## A SELECTIVE MEDIUM FOR THE ISOLATION OF BRUCELLA STRAINS FROM CONTAMINATED MATERIALS

## Summary

The author's studies were directed to find a medium of a composition most suitable for the isolation of Brucella strains from contaminated materials.

Results of those studies are represented on the enclosed tables.

The composition of the modified medium is as follows:

- a) Basic medium. To the prepared, sterilized, dissolved and cooled to the temperature plus 46° C.

a 3% agar with 1% of glucose is added 5% of horse serum, previously inactivated.

- b) Selective medium. To the basic medium are added ready, sterilized solutions in distilled water of gentian violet in 1:200.000 of final concentrations and malachite green in 1:100.000 of final concentrations.

In 42 post-mortem examinations of guinea pigs previously experimentally infected with various strains of Brucella on the selective medium Brucella was isolated from the spleen 19 times, liver — 17, lungs — 8, heart (blood) — 5, kidneys — 12, lymphnodes — 12, testes — 2, while on the control medium (AGS, agar, glucose, serum) from the spleen 10 times, liver — 4, heart — 3, kidneys — 3, lymphnodes — 5.

## S. STĘPKOWSKI, S. WOŁOSZYN

Enzootia bradsotu owiec w gospodarstwie „J”  
Zespołu Hodowli Zarodowej „S”

Z Katedry Epizootiologii Wydziału Weterynaryjnego W. S. R. w Lublinie  
Kierownik: prof. dr STANISŁAW KRAUSS

Bradsot jest groźną, mało naogół u nas znaną zakaźną chorobą owiec o niezwykle ostrym, śmiertelnym przebiegu. Choroba ta występuje w różnych częściach świata: w Europie (kraje skandynawskie, Anglia, Niemcy, ZSRR i in.), Ameryce, Australii i Nowej Zelandii. W Polsce pierwsi zwrócili na bradsot owiec uwagę Osiński (1946) i Gołaszewski (1952).

Bradsot wywołują drobnoustroje beztlenowe z grupy obrzęku gazowego, głównie *Cl. Septicum*, *Cl. Novy* oraz *Cl. gigas*. Zarazki te są ubikwitarne rozpowszechnione w przyrodzie. Ich zarodniki występować mogą w nawozie, ziemi, pyle, trawie i sianie, pochodzącym zwłaszcza z niżej położonych, zalewanych w czasie ulewnych deszczy, przez potoki lub rzeki łąk i pastwisk, przy czym z karmą przedostają się one do przewodu pokarmowego owiec. Źródłem zakażenia mogą być również naturalne wodopoje ze stojącą wodą (I w a n o w).

Patogeneza choroby nie jest dokładnie wyjaśniona. Wiadomo jedynie, że prócz wymienionych beztlenowców, które stwierdzano niejednokrotnie (i to nawet w postaci zjadliwej dla zwierząt) w przewodzie pokarmowym całkiem zdrowych owiec, do wystąpienia bradsotu niezbędne jest współdziałanie czynników dodatkowych. Szczególnie usposabiająco oddziaływać mają: przechłodzenie zwierząt pokrytą szronem (często jesienią przy zbyt wczesnym wypędzaniu owiec na pastwisko), przemarzniętą lub zepsutą paszą, niedostateczna ilość ruchu i związane z tym osłabienie perystaltyki, a być może również inne czynniki obniżające rezystencję śluzówki żołądka i jelit (np. awitaminoza A i C, przekarmienie wysokobiałkową paszą — Gołaszewski). Mechanizm działania czynników nieswoistych nie został dotychczas poznany.

Według Wirtha i Diernhofera, czynniki te przez upośledzenie wydzielania kwasu solnego i soków trawiennych stwarzają dogodne warunki do przenikania beztlenowców bądź to w głąb śluzówki jelit, bądź też do wątroby. Przedostawanie się zarazków z przewodu pokarmowego w głąb tkanek mogą prawdopodobnie ułatwić także pasożyty obecne w trawie, jak *Strongylidae*, *Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium lanceolatum*. W błonie śluzowej trawieńca lub w wątrobie beztlenowce ulegają znacznemu namnożeniu i przez wytwarzanie toksyn powodują ciężkie, kończące się zejściem śmiertelnym, ogólne zatrucie organizmu.

Niektórzy z autorów wyróżniają t.zw. bradsot północny (wywołany ostrym, często krwotocznym stanem zapalnym trawieńca i jelit cienkich) oraz bradsot niemiecki, opisywany również jako zakaźna martwica wątroby (*Hepatitis infectiosa necroticans*), cechujący się występowaniem licznych ognisk martwiczych w wątrobie (wybucha po zakażeniu *Cl. Novy* lub *Cl. gigas*). Pod względem klinicznym obydwie te postacie mają przebieg podobny. Wrażliwe na bradsot są owce bez różnicy rasy. Choroba wybucha najczęściej wśród dorosłych, dobrze odżywionych i mało ruchliwych owiec, chociaż zapadać na nią również mogą sztuki młode, nawet ssące jagnięta. Bradsot owiec występuje w różnych porach roku, jednak szczególnie często pojawia się wczesną jesienią (październik) i zanika z początkiem zimy (styczeń).

W przeważającej większości przypadków przebieg bradsotu jest niezwykle gwałtowny. Pozornie zdrowe owce padają nagle na ziemię i z reguły giną (często w nocy) w ciągu 10–60 minut wśród objawów duszności, morzyska, zgrzytania zębami, drgawek i spadku tempera-