

DR O. BOSGRA

Szczepionka *Brucella abortus* S 19 suszona w stanie zamrożeniaLaboratoria Państwowego Instytutu Serologicznego w Rotterdamie
Dyrektor: G. M. van WAVEREN

Bruceloza u bydła jest pod względem ekonomicznym jedną z najważniejszych chorób w Holandii. Zorganizowana walka z nią rozpocznie się w zimie 1950/51 r. w tych okolicach, w których gruźlica u bydła została już usunięta. Szczepienia nieciężarnych jałówek, a jeśli zajdzie potrzeba, nawet nieciężarnych krów będą w zwalczaniu tej choroby brane pod uwagę w pierwszym rzędzie. Od roku 1908 do obecnych czasów — szczepienia były wykonywane przy pomocy hodowli bulionowych z gliceryną, przygotowywanych poprzednio ze zjadliwego szczepu *Brucella abortus*, a w ostatnich latach z awirulentnego szczepu S₁₉ w dawkach po 20 cc, zawierających $3-5 \times 10^9$ żywych drobnoustrojów bezpośrednio po wyprodukowaniu. Liczba żyjących drobnoustrojów w takiej szczepionce zmniejsza się około 50% w czasie magazynowania jej w temperaturze pokojowej w ciągu 14 dni. Inną wadą tej szczepionki jest możliwość przejścia szczepu „S” w „R” na skutek dysocjacji, która jest zależna od wielu czynników, a szczególnie od ładunku podłoża odżywczego.

Liczba żyjących drobnoustrojów ($3-5 \times 10^9$) jest uważana za niską, aby wywołać wysoki stopień odporności, jakkolwiek stosownie do badaczy duńskich, taka sama liczba drobnoustrojów powinna wywoływać daleko większą odporność w hodowlach bulionowych, aniżeli w zawiesinach drobnoustrojów wyhodowanych na podłożach stałych. (1).

Drobnoustroje S₁₉ hodowane na podłożu stałym w Roux flaszczkach, a następnie zawieszone w fizjologicznym roztworze soli lub w mieszaninie fizjologicznego roztworu soli i zbuforowanych soli fosforowych, mogą znajdować się w dostatecznej ilości w stanie żywym i gładkim (60×10^9) bezpośrednio po spreparowaniu ich. W czasie magazynowania takiej szczepionki liczba żyjących drobnoustrojów zmniejsza się (2) i (6), przy czym stopień zmniejszania się jest zależny od temperatury i czasu magazynowania, (3) i (4), jako też od innych warunków takich, jak wstrząsy w czasie transportu (5). Te wpływy nie mogą być standaryzowane, wobec czego liczba żyjących wstrzykiwanych drobnoustrojów jest niestała i zmniejszona.

W czasie przygotowywania i standaryzacji szczepionki istnieje możliwość zanieczyszczenia jej, a jeżeli temperatura jest dość wysoka to zanieczyszczające drobnoustroje rozmnażają się w szczepionce, która w rezultacie musi być następnie zniszczona. Normalnie szczepionka powinna być trzymana w niskiej temperaturze, jednakże w czasie wysyłki lub w rękach praktyka temperatura może podnieść się do optimum temperatury dla wzrostu zanieczyszczającej flory bakteryjnej. Jest rzeczą prawie niemożliwą dostarczać zawsze niezanieczyszczoną szczepionkę S₁₉ (7).

Proces zamrażania szczepionki S₁₉ w suchym stanie natrafia na trudności z chwilą preparowania zawiesin po wyhodowaniu i zmyciu ich na podłożach w Roux

flaszczkach. Po odrzuceniu zanieczyszczonych flaszek i zlanu wszystkich zawiesin razem, nie można pozwolić sobie na zniszczenie całego zbioru z powodu przypadkowego następnego zanieczyszczenia. Kilka drobnoustrojów zabłąkanych przypadkowo z powietrza w czasie napełniania ampułek nie ma czasu na rozmnażanie się, zwłaszcza jeżeli zawiesina jest poddana natychmiast wysuszeniu w stanie zamrożenia pod wysokim ciśnieniem ujemnym.

Inną korzystną cechą suchej szczepionki jest jej duża wartość pod względem wytrzymałości, która jest znacznie wyższą aniżeli każdy inny rodzaj żywej szczepionki S₁₉.

Standaryzacja liczby żywych drobnoustrojów powinna być przeprowadzana bezpośrednio przed użyciem jej przez praktyka. Ponieważ można ją magazynować bez ujemnego wpływu na nią przez znaczny okres czasu w lodówce — produkcja jej może być wykonywana przez cały okrągły rok nawet w tym wypadku, jeżeli jej zwiększone zapotrzebowanie trwa przez stosunkowo krótki okres czasu w ciągu roku. Praktyk lekarz wet. może magazynować małe ilości szczepionki dla własnego użytku jeżeli zachodzi potrzeba.

W krajach mniej postępowych, w których są trudności komunikacyjne, a temperatura w lecie wysoka, a niska w zimie — niemożliwym jest używanie szczepionki płynnej z powodu obniżenia liczby żyjących drobnoustrojów w temperaturze wyższej i zupełnego zniszczenia szczepionki w czasie zamrażania i odtajania.

Nie samo zamrażanie, ale kombinacja zamrażania i odtajania jest właściwą przyczyną spadku ilości żywych drobnoustrojów w szczepionce.

Stałość szczepionki S₁₉ wysuszonej w stanie zamrożenia jest dobrą w temperaturze powyżej 0°C., a jeszcze lepsza poniżej 0°C.

Do hodowli drobnoustrojów S₁₉ używa się następującego zmodyfikowanego podłoża agarowo - kartoflanego w ilości około 140 cc. na jedną flaszczkę Roux:

- 1) do 500 g świeżego mięsa mielonego dodać 500 cc. *Aq. dest.* i trzymać przez noc w chłodni.
- 2) do 250 g świeżych i czystych plasterków kartofli dodać 500 cc wody i trzymać je przez noc w temperaturze 60°C.;
- 3) ogrzać wyciąg mięsny do 80°C., przefiltrować przez gruboziarnisty filtr, ogrzać i znów przefiltrować;
- 4) przefiltrować wyciąg kartoflany przez flanelę, następnie przez filtr z celulozy (sporządzony z włókien bibuły filtracyjnej), dopóki nie uzyska się czystego filtratu;
- 5) zmieszać oba wyciągi, mięsny i kartoflany i dodać wody do 1000 cc;
- 6) rozpuścić w tej mieszaninie:
a. 10 g peptonu proteose (Difco), b. 5 g NaCl,
c. 20 cc gliceryny.

- 7) Dostosować pH do 7,6 — dodać 25 g sproszkowanego agaru, zagotować i wstawić do autoklawu na 15 minut w 120°C;
- 8) wlać to wszystko do wąskiego, wysokiego szklanego cylindra (kilku) trzymać w 100°C przez 75 minut, skoagulować w aparacie Kocha bez otwierania pokrywy, usunąć skoagulowany agar z naczynia na zewnątrz, odciąć i usunąć dolną partię agaru z nierozpuszczalnym materiałem;
- 9) górny, przejrzysty czysty agar roztopić, dodać 10 g dekstrozy, wypełnić wyjałowione Roux flaszki po 140 cc i trzymać w autoklawie przez 20 minut w 115°C;
- 10) po ochłodzeniu do 55°C, dodać do każdej flaszki po 14 cc jałowej mieszaniny składającej się z 7 cc surowicy końskiej i 7 cc 20% roztworu „Powiet” (autolizat drożdżowy duńskiego pochodzenia), która po sprowadzeniu pH do 7,0 została wyjałowiona za pomocą filtru Seitza.
- 11) Następnie wypróbować się podłoża we flaszках na jałowość przez umieszczenie ich na 3—4 dni w cieplarni, w którym to czasie woda kondensacyjna ulega zupełnemu wyparowaniu.

Każdą flaszkę zasiewa się następnie przy pomocy drobnoustrojów wyhodowanych na skośnym agarze glicerynowym, zawieszonym w 2 cc roztworu składającego się z 0,1% tryptozy i 0,5% roztworu soli.

Drobnoustroje używane do zasiania są hodowane i przesiewane dwukrotnie co 48 godzin po obfitym zasianiu świeżo przygotowanych agarów skośnych, gdyż wówczas znajdują się one w logarytmicznej fazie wzrostu i zaczynają się mnożyć w momencie zasiania.

Po wysianiu i wylęganiu drobnoustrojów we flaszках Roux przez 48 godzin w pozycji poziomej uzyskuje się optimum warunków dla wzrostu żywych zarazków (patrz wykres Nr 1).

Przy pomocy 10 cc 7,5% roztworu dekstrozy można zmieścić około 9 cc zawiesiny z każdej flaszki. Po rozcieńczeniu tej zawiesiny 1:10⁸, w roztworze solnym tryptozy 1/20 cc wysiewa się na powierzchnię pożywki, składającej się z agaru z gliceryną i tryptozy z dodatkiem fioletu genjany 1:200,000.

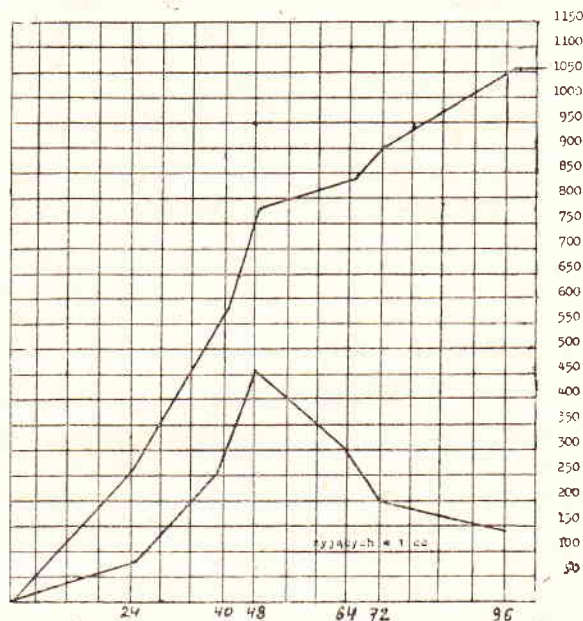
Przeciętna liczba żywych drobnoustrojów w 1 cc takiej zawiesiny z 6-ciu płytek podwójnych wynosi w miliardach (10⁹).

Zbiory następujących po sobie hodowli zawierały w 1 cc zawiesin następujące ilości drobnoustrojów: 408 × 10⁹, 503 × 10⁹, 454 × 10⁹, 471 × 10⁹, 449 × 10⁹, i 479 × 10⁹.

Przyjmuje się, że ci, którzy są zainteresowani przygotowaniem tego rodzaju szczepionek, są zaznajomieni z zasadami zasuszania w stanie zamrożenia (8).

Przy suszeniu zawiesiny S₁₉ w zamrożonym stanie w próżni bardzo ważnymi są z uwagi na odsetek spożycia drobnoustrojów właściwości zawieszającego płynu. Na spadek żywotności ma wpływ nie tylko jakość płynu zawieszającego, ale i gwałtowność zamrażania w pewnych warunkach. Używając jako płynu zawieszającego wyjałowionego, zbieranego mleka oraz zburowanych soli fosforowych (9) i (4), i poddając zawiesinę przedwstępnemu zamrożeniu bardzo szybko w

Wykres. Hodowanie drobnoustrojów *Brucella abortus* S 19 na zmodyfikowanym podłożu agarowo-kartoflanym. Każda Roux flaszka została zmyta przy pomocy 10 cc płynu x 10⁹, drobnoustr.



Okres inkubacji w godzinach.

cienkich warstwach przy pomocy mieszaniny składającej się ze śniegu dwutlenku węgla i alkoholu, odsetek przeżyjących drobnoustrojów po wysuszeniu sięga 41 do 67%. Jeżeli zaś zamrażanie do -20°C. tej samej zawiesiny jest powolne, to liczba żyjących drobnoustrojów po suszeniu w stanie zamrożenia sięga 24 do 29% (1).

Przy migawkowym zamrożeniu i wysuszeniu w wirówkowym wysuszającym zamrażaczu Edwardsa (Edwards Model 3 centrifugal freeze-dryer), odsetek przeżyjących drobnoustrojów jest niższy niż 1%.

Roztwór dekstrozy (7,5%) używany do zawieszania drobnoustrojów S₁₉ jak wyżej opisano, ochrania drobnoustroje, które wysuszane w aparacie Edwardsa posiadają następujący odsetek przeżyjących drobnoustrojów 45, 57, 60, 57 i 48%.

Podłoże odżywcze, na którym te drobnoustroje rozmnażają się, ma też ujemny wpływ na żywotność w czasie wysuszania.

Jest rzeczą konieczną po wysuszeniu szczepionki w pierwotnej wysuszającej i wirówkowej komorze poddać zawartość ampułek wysuszaniu wtórnemu. Wytrzymałość szczepionki zależy nie tylko od obecności próżni w ampułce, ale też i od zawartości wilgoci. Wtórne wysuszenie wykonuje się w tylnej części aparatu, składającego się z 10 głowic każda na 40 ampułek. Przy tym wtórnym systemie wysuszania można uzyskać próżnię o 0,002 mm Hg. Używa się także środka pomocniczego wysuszającego P₂ O₅.

Po wysuszeniu 2 cc skoncentrowanej zawiesiny w ampułkach zawierających 400 do 500 × 10⁹ żywych drobnoustrojów w 1 cc, najpierw w próżni w 0,1 mm rtęci, a następnie w próżni wysokiej, liczba żyjących drobnoustrojów w ampułce może wynosić: 590 × 10⁹,

561×10^9 , 570×10^9 , co wystarcza do zaszczepienia 5 zwierząt.

Ssawki gumowe, znajdujące się na wtórnych głowicach wysuszających, na które nakłada się ampułki — posiadają bardzo wąskie otwory; wobec powyższego wyparowywanie odbywa się z trudnością, wynikiem czego jest bardzo powolne wysuszenie.

Większy opór zmniejsza szybkość odparowywania i powoduje opóźnienie wysuszenia.

Przy użyciu szklanych eksykatorów z zawartością $P_2 O_5$ pod wysokim ciśnieniem ujemnym, wtórne wysuszenie odbywa się bardzo szybko. Po wtórnym wysuszeniu S_{19} , szyjki ampułek zatapia się nad silnym płomieniem palnika gazowego, chroniąc szczepionkę zawartą w ampułce przy pomocy kołnierza azbestowego. Używając ampułek z łatwo topliwego szkła „Thuringia“ wystarczy mały kompresorowy palnik pierścieniowy o czterech płomieniach (10), w wypadku jednak, gdy mamy do czynienia z trudnoplwym szkłem, jak np. w ampułkach Edwardsa należy używać dużego palnika kompresorowego stosowanego do wydmuchiwania szkła. Po wtórnym wysuszeniu i zwężeniu szyjek, nakłada się ampułki na gumowe ssawki, a po uzyskaniu ujemnego ciśnienia 0,002 — 0,005 mm. rtęci zatapia się je w miejscu przewężenia nad kompresorowym palnikiem pierścieniowym. Zaleca się zatapianie ampułek po kilkogodzinym podaniu ich zawartości, działaniu ujemnego ciśnienia.

Przy bardzo szybkim suszeniu w próżni płynów zawierających białko, może wystąpić proces gotowania i pienienia, w następstwie uwolnienia rozpuszczonych gazów zanim samooziębianie zostanie ukończone. Można temu zapobiec przez wstępne oziębianie płynu i uzyskanie odpowiedniej próżni w ampułkach.

W aparacie Edwardsa zapobiega się temu przez odwirowanie ampułek w czasie uzyskiwania próżni, zawartość ampułek jest wówczas odrzucona siłą odśrodkową na jedną ścianę i w tej pozycji ulega zamrożeniu i wysuszeniu. Drugim korzystnym momentem w opisanym działaniu jest to, że wysychająca powierzchnia zawartości ampułki jest większa niż poprzednia, skutkiem czego suszenie odbywa się szybciej.

Największe obciążenie oziębiacza występuje w czasie ochładzania zawartości ampułek do $0^\circ C$ i zamrażania jej do -10° lub $-15^\circ C$. Gdy uzyska się równowagę, szybkość suszenia zależy wówczas od dostarczenia ciepła ampułkom i wtedy obciążenie oziębiacza jest ułamkiem w porównaniu z ochładzaniem i zamrażaniem zawartości ampułek. Przez zastosowanie przedwstępnego oziębiania zawartości ampułek, ilość suszących się ampułek może być znacznie zwiększona bez obawy uszkodzenia (przepalenia) jednostek oziębiacza.

Ujemną stroną wirówki w wysuszającym oziębiaczu Edwardsa jest to, że część drobnoustrojów zostaje odwirowana powyżej dna, tak, że po rozpuszczeniu szczepionki przed użyciem na bocznnej ścianie ampułki, pozostaje trudno rozpuszczalny (ropiasty) osad drobnoustrojów, a wysuszająca powierzchnia jest ograniczona, ponieważ zawartość ulega zamrożeniu tylko po jednej stronie ampułki.

Celem powiększenia liczby ampułek jednorazowo

suszonych i uniknięcia wirowania drobnoustrojów w ampułkach oraz powiększenia powierzchni suszenia, a także zmniejszenia wysokości warstwy suszonej, sporządzono płytę nośną na 200 ampułek — o średnicy 15,5 mm (o 80 więcej niż w Edwardsie). Płyta ta jest umieszczona w komorze oziębiającej w $-20^\circ C$ na wirówce wykonującej 3 obroty na minutę, prawie prostopadle tak, że ampułki są umieszczone prawie poziomo. Podstawa płyty jest podziurkowana, a poniżej niej znajduje się wiatrak o 300 obrotach na minutę, celem ochładzania ampułek. Motor elektryczny i zwalniacz są umieszczone na zewnątrz komory oziębiającej. Zawiesina bakteryjna przesuwa się po wewnętrznej powierzchni ampułek trzy razy na minutę tak długo, dopóki zawartość nie zostanie zamrożona.

Drobnoustroje S_{19} zawieszone w 7,5% roztworze dekstrozy nie ulegają zamrożeniu w $0^\circ C$ tylko oziębianiu aż do momentu zamrożenia w przeciągu 12—15 sekund. Przy takim postępowaniu więcej aniżeli połowa powierzchni ścian zostaje pokryta zamrożoną zawiesiną. Przed zamrożeniem usuwa się z ampułek korki wacikowe.

Przed wysuszeniem należy ochłodzić kondensator oziębiający parę wodną do $-35^\circ C$. celem uniknięcia przedostania się wody do pompy próżniowej. Jeżeli aparat był używany poprzednio przez krótki czas, wskazanym jest włączenie go (otworzenie). W tym czasie wewnętrzna powierzchnia oziębiającego parę wodną kondensatora ulega wysuszeniu, co jest wielkim obciążeniem dla jednostek oziębiacza. Temperatura podnosi się z -35 do $-10^\circ C$, a nawet jeszcze bardziej, zaś bezpośrednio po wysuszeniu powierzchni spada do $-40^\circ C$.

Następnie wirówkową płytę nośną z zamrożonymi ampułkami umieszcza się w pierwotnej komorze wysuszającej przy jak najszybszym zastosowaniu próżni, aby zapobiec odtajaniu.

Duża ilość ampułek i zwiększona powierzchnia każdej z nich, wymagają zwiększonej dostawy ciepła koniecznego do parowania. W tym celu na dnie komory wysuszającej jest umieszczony ogrzewacz w postaci płyty metalowej.

Przy tego rodzaju technice można wysuszyć 200 pięciodawkowych lub trójdawkowych ampułek w czasie jednej nocy oraz 200 jednodawkowych ampułek w ciągu dnia. Przy pomocy aparatu Edwardsa produkuje się 500 dawek tygodniowo, a ponad 200.000 w ciągu roku.

Cena produkcji szczepionki jest stosunkowo niska, gdy się weźmie pod uwagę straty powstałe przy leczeniu tej choroby. Taniość uzyskuje się na skutek bogatego wzrostu żywych drobnoustrojów w Roux flaszkach, stosunkowo wysokiego odsetka ich przeżycia po wysuszeniu i odrzuceniu zaledwie kilku flaszek bakteriologicznie zanieczyszczonych. Od chwili rozpoczęcia regularnej produkcji, tj. od września 1950 roku mniej aniżeli 15% zanieczyszczonych Roux flaszek, zostało odrzuconych z powodu zanieczyszczenia, a 85% było użytych do produkcji szczepionek.

Z chwilą, gdy produkcja będzie się odbywała stale przez cały rok, użytkowość wyposażenia laboratoryjnego oraz personel będą wykorzystane jeszcze bardziej.

Piśmiennictwo.

1. Bendixen & Jorgensen Royal vet. and Agric. Coll. Copenhagen. Yearbook, 1940. 2. Bosgra & van Klinkenberg. Tijdschr. Diergeneesk. 72, 734, 1947. (Summary in English). 3. Bove & Mingie. Proc. 45 th. Ann. Meeting U. S. Livestock Sanit. Ass. 1941, Waverly Press Inc. (1942) 45. 4. Verwey

& Scheldy. Javma, 109, 362, 1946. 5. Mitchell & More. Canad. J. comp. Med. 6. 292, 1942. 6. Ritchie, Vet. Rec. 58, 45, 1946. 7. Knudsen. J. Am. pharm. Ass.; sci Ed. 38. 332, 1949. 8. Flosdorf. Freeze drying. New York, 1949. 9. Verwey. Proc. 48 th. Ann. Meeting U. S. Livestock San. Ass. 1944. Waverly Press Inc. (1945) 68. 10. Bosgra. Antonj van Leeuwenhoek. 13. 165, 1947 (in English).

PROF. DR RUDOLF MANNINGER

Budapeszt

Zwalczanie brucellozy u bydła. Odosobnienie i odkażenie

Opanowanie brucellozy w środowiskach bydłych należy do jednego z najtrudniejszych i najuciążliwszych zadań lekarzy weterynarii. Z tego też względu winno się zdążyć przede wszystkim do utrzymania w stanie pełnego zdrowia obór niezakażonych, by tą drogą nie dopuścić do poważnych strat gospodarczych, jakie wyrządza brucelloza. Środkami przeciwdziałającymi możliwości zakażenia środowiska jest uzupełnienie pogłowia własnym zdrowym przychowiem, największa ostrożność przy dokupywaniu zwierząt (pewność że dokupione sztuki pochodzą z miejsc bezwzględnie wolnych od zarazy; w przypadkach wątpliwych odosobnienie do pierwszego porodu, w czasie odosobnienia co najmniej dwukrotne badania krwi lub próby alergiczne w odstępach co najmniej trzech tygodni) przestrzeganie, by zdrowa obora nie była narażona na styczność ze zwierzętami zakażonymi (wypasy, obcy reproduktor) nadzwyczajna ostrożność w każdym przypadku poronienia.

Stwierdzam, że na podstawie własnych doświadczeń, w oborach zapowietrzonych, można brucellozę zupełnie opanować w ciągu kilku lat przez rozumne stosowanie zabiegów o charakterze czysto higienicznym. Polegają one na uniemożliwieniu nowych zakażeń w danym środowisku, przy równoczesnym zatrzymaniu krów, które poroniły i które tą właśnie drogą nabyły mniejszej lub większej odporności. Ponieważ brucelle wydostają się do świata zewnętrznego w największej ilości z treścią macicy w czasie ronienia albo też przy porodzie jednostek zakażonych brucellozą, winien się każdy poród i każde poronienie odbyć w oddzielnym i odosobnionym stanowisku, łatwo dającym się odkażać. Takie samo stanowisko wypada mieć w pogotowiu dla porodów prawidłowych, choćby już z tego względu, że nigdy przewidzieć nie można, czy w danym przypadku nie zachodzi poronienie opóźnione, w którym niebezpieczeństwo rozwleczenia infekcji jest równie groźne jak w każdym innym poronieniu zakaźnym. Odosobnione stanowisko dla krów roniących i rodzących powinno posiadać własną, dobrze wyszkoloną obsługę i być zaopatrzone we własny sprzęt i naczynia.

Założenie takich odosobnionych stanowisk połą-

czone jest czasami z poważnymi trudnościami praktycznymi. W dużych oborach zależeć to będzie od zręczności i doświadczenia lekarza weterynarii i właściciela obory, by dojść do właściwych i zadowalniających wyników, któreby cały problem rozwiązały bez specjalnego obciążenia środowiska. W oborze krowy cielne należy co najmniej dwa razy w tygodniu, poddać bardzo dokładnym oględzinom. Obsługa zauważy zawsze objawy zbliżającego się porodu lub ronienia, na czas je uchwyci i bezwzględnie przeprowadzi krowę do odosobnionego stanowiska. Ambitny i wyszkolony personel jest zwykle dumny z tego, że objawy te rychło spostrzegł. W odosobnionym stanowisku należy po każdym porodzie i po każdym poronieniu również i płód i stanowisko bardzo dokładnie odkażać. Krowy — matki po umyciu, przynajmniej tyłu ciała jakimś łagodnym płynem odkażającym np. 0.5% roztworem NaOH, można dopiero wtedy wstawić do czystego pomieszczenia, gdy nie ma wpływu z macicy albo też gdy przy ew. zatrzymaniu łożyska, macica przy odpowiednim leczeniu została doprowadzona do stanu prawidłowego. Krowy wstawione z powrotem do czystej obory, mogą w najgorszym razie zakażać inne krowy swym mlekiem, jednak praktycznie to źródło zakażenia da się wykluczyć, o ile przy dojeniu pierwsze strugi mleka zdoła się do osobnego naczynia i zniszczy. Zwierzęta, które poroniły należy tylko wtedy poddać ubojowi, gdy mimo właściwych zabiegów i leczenia, pozostają jałowe.

Gdy mimo tych wszystkich zarządzeń zdarzy się w oborze niespodziewany przypadek poronienia, należy natychmiast przedsięwziąć odpowiednie środki dla odkażenia. Do krycia krów, nawet w środowiskach zakażonych używać tylko niezakażonych buhai. Zakażone reproduktory, rozumie się o zdrowym narzędzie płciowym, użyć można tylko w przypadkach wyjątkowej konieczności i to tylko do stanowienia krów, które uprzednio poroniły.

Opisane powyżej zarządzenia i zabiegi, polegające wyłącznie na użyciu środków czysto higienicznych, mają tę ujemną stronę, że stawiają poważne wymagania zrozumienia i poczucia obowiązków obsługi