

S. RUNGE, T. ŁOSIŃSKI,

A. CHWOJNOWSKI, T. DZIUBEK

Próba pierścieniowa (ABR) dla rozpoznania brucellozy u krów*)

Porównawcze studium zgodności wyników barwnej reakcji pierścieniowej z odczynami aglutynacyjnymi z surowicami krwi i mleka oraz wiązaniem dopełniacza

Z Zespołu Katedr Produkcji Zwierzęcej Wydziału Rolniczego Uniwersytetu Poznańskiego.

Przewodniczący: Prof. dr STANISŁAW RUNGE

Silne rozprzestrzenienie się brucellozy wśród bydła, wywołane niewątpliwie chaotycznym ruchem zwierząt w czasie wojny, zmusiły wszystkie państwa do bardziej szybkiego i intensywnego zwalczania tej klęski gospodarczej jaką jest brucelloza i tym samym do stosowania środków rozpoznawczych brucellozę, dających się przeprowadzać masowo w sposób łatwy i wykazujących szybko wyniki.

Z powyższego względu próba pierścieniowa (obraczkowa) jako metoda rozpoznawcza posiadająca powyższe zalety, poddana została próbom wyceny swej wartości tak w Europie jak i poza Europą.

W Polsce mimo przepisowego stosowania przy zwalczaniu brucellozy jako metod rozpoznawczych reakcji aglutynacyjnych z surowicą krwi (RAs**) i mleka (RAm***) oraz wiązania dopełniacza (RWD****), zagadnienie wartości rozpoznawczej próby pierścieniowej (ABR*****) było niejednokrotnie rozważane na posiedzeniach Rady Naukowej przy Min. Roln. i R. R. i wyłonionej przez tę Radę specjalnej Komisji, na której niektórzy jej członkowie (Runge, Lipnicki), podnosili zalety próby ABR.

Wynikiem tych rozważań na Radzie Naukowej jest właśnie podjęcie się dokonania ściślejszej wyceny wartości rozpoznawczej ABR, przyjmując jako miernik porównawczy dla wyceny wartości i zgodności tej próby miano 1:40 RAs i RWD (w myśl Okóln. Dep. Wet. Min. Roln. i R.R.). Jako metod uznanych dzisiaj za najbardziej pewne i zgodne.

Próby ABR przeprowadzano rozmyślnie w przec. tp. pokojowej (14—16°C.), po uprzednio przeprowadzonych doświadczeniach wykonywania jej w tp. termostadowej, dla ew. przekonania się czy przy masowym wykonywaniu ABR, użycie cieplarki jest konieczne, czy też można obejść bez termostatu, co jest ważne ze względu na możliwość przeprowadzenia ABR przez lek. wet. w miejscu badania krów bez pomocy laboratorium.

Próbę ABR można wykonać z 1 cc. mleka i 1 kroplą antygeny jak i z większą ilością mleka np. 2 cc. mleka i 2 kroplami antygeny.

Według naszych spostrzeżeń w masowym przeprowadzaniu ABR w terenie, użycie 2 cc. mleka i 2 kropli antygeny, w próbkach ok. 10 mm. średnicy jest odpowiedniejsze, gdyż ułatwia odczytanie wyniku.

Przy wykonywaniu próby należy pamiętać o dobrym wymieszaniu mleka przed pobraniem go do próbki jak również bezpośrednio po dodaniu do próby anty-

geny. Przy mieszaniu należy unikać wytworzenia się pianki na powierzchni mleka a pojawienie się w kilka minut po dodaniu antygeny ciemnej barwy na powierzchni śmietanki w pobranym do próbki mleku, świadczy o niedostatecznym wymieszaniu dolnych warstw mleka. Poza tym przy wykonaniu próby należy pamiętać o zachowaniu czystości, szczególnie probówek i kroplomierzy, użyciu kroplomierzy dających równe co do wielkości krople antygeny oraz o dokładnym i zgodnym oznaczaniu prób odnośnie do ich identyczności z numeracją krów od których pobrało się mleko.

Antygen dla przeprowadzonych badań z próbą ABR, sporządził T. Łosiński według przepisu Hermann, który nazywamy niemieckim (Nr I.) i według przepisu podanego przez Kaplana w broszurze świat. Organizacji Zdrowia, nazwany przez nas międzynarodowym (Nr II.).

Autorzy, po przeprowadzeniu wstępnych orientacyjnych licznych prób ABR, wybrali 3 obory należące do Uniwersytetu Poznańskiego, w sumie o ogólnym pogłowie 100 krów mlecznych, o wiadomych danych odnośnie do przebiegu brucellozy, przypadków roznien, sposobu żywienia, obchodzenia się ze zwierzętami, pielęgnacji itd. w oborach, w których pobierało się mleko dla ABR, przy zachowaniu dokładnej kontroli i ostrożności, przyjętych przy przeprowadzaniu tego rodzaju badań, z odrzuceniem wszelkich przypadków, które mogłyby nasuwać wątpliwość w wyciągnięciu krytycznych wniosków z porównawczo zebranych wyników.

Próbę ABR przeprowadzano tak z mleka pełnego zbiorowego (od kilku, kilkunastu krów) jak i z pełnym mlekiem, świeżo pobranych od poszczególnych krów, po uprzednim pobraniu równocześnie od każdej krowy próby krwi dla przeprowadzenia RAs i RWD, przeprowadzając także próbkową aglutynację z surowicą mleka (RAm).

Z każdej próby mleka zbiorowego jak i od poszczególnych krów, przeprowadzano ABR z antygenem niemieckim (Nr I.) i z antygenem międzynarodowym (Nr II.), odczytując wyniki w czasie 75—90 minut, w temperaturze pokojowej, od chwili zmieszania antygeny z próbą mleka.

Przyjęta w pracy interpretacja (odczytywanie) wyników była następująca:

1. Pierścień b. wyraźny, nieb.-fiol. słupek poniżej całkiem odbarwiony ++++ dodat.
2. Pierścień b. wyraźny, nieb.-fol. słupek poniżej z odcieniem niebieskim prawie odbarwiony... +++ dodat.
3. Pierścień b. wyraźny, nieb.-fiol. słupek poniżej niebieskawo-fioletowy... ++ dodat.

*) Praca w oryginale będzie ogłoszona w Pracach Kom. Roln. - Leśn. P. T. P. N.

*****) Skróty tych stale będziemy używali w niniejszej pracy. ABR — skrót z niem. Abortus Bang. Ringprobe.

4. Pierścień b. wyraźny, nieb.-fiol. słupek poniżej niebieski ale wyraźnie jaśniejszy od pierścienia + dodat.
5. Pierścień słabo odgraniczony wzgl. warstwa śmietanki niebieska tej samej barwy co pierścień lub nieco jaśniejsza $\pm$ wątpl.
6. Brak pierścienia lecz warstwa śmietanki biała lub jasno niebieska, słupek mleka poniżej tej warstwy niebiesko-fioletowy, nieodbarwiony lub odbarwiony tylko nieznacznie... — ujemny.

Wyniki porównawcze próby ABR z antygenami Nr I i Nr II, RAs, RWD i RAm, ujęto w tabele, diagramy i krzywe oraz zestawienia procentowe zgodności wzgl. niezgodności, które podane są w oryginale pracy.

Zgodnie z ogłoszonymi już przez Łosińskiego (Med. Wet. Nr 4 — 1951) obserwacjami, antygen niemiecki według Hermanna (Nr I) daje zazwyczaj przy wynikach dodatnich, pierścień wybitnie szerszy od pierścienia przy wynikach dodatnich, uzyskanych przy użyciu antygeny międzynarodowego (Nr II), co jednak nie wpływa na łatwiejsze odczytanie wyniku w odniesieniu do pierwszego, gdyż chodzi o wyrazistość i ostre odgraniczenie się pierścienia barwnego od słupka mleka poniżej pierścienia, a nie o jego szerokość.

Również barwa pierścienia przy użyciu antygeny Nr I bywa nieco więcej buraczkowo-fioletowa a przy użyciu antygeny Nr II, pierścień posiada więcej odcień niebieskawo-fioletowy, co zresztą zależy od ustalenia techniki barwienia roztworu macierzystego hematoksyliny Delafielda (Łosiński).

Jakkolwiek w dużej ilości przypadków, próba ABR występuje wcześniej, to jednak czasokres odczytania próby wynosi 75 — 90 minut i czas ten winien być ściśle przestrzegany, gdyż późniejsze reakcje mogą być nieswoiste.

Przy masowym wykonywaniu ABR w terenie, interpretacja wyników, naszym zdaniem, winna być określona: wynik dodatni (+), wątpliwy ($\pm$) i ujemny (—). Oznaczenie nasilenia reakcji dodatniej większą ilością plusów, nie ma znaczenia praktycznego, często bywa indywidualne i przyczynić się może tylko do nasuwania się wątpliwości, będące zazwyczaj tylko przeszkodą w ostatecznej decyzji co do dalszego postępowania rozpoznawczego. Istotą wyniku dodatniego jest pierścień (obraczka) wyraźnie odgraniczający się od mniej lub więcej silnie odbarwionego słupka mleka, pod nim się znajdującego i brak pierścienia wyraźnego, dobrze odgraniczającego się od podłoża nieodbarwionego lub odbarwionego nieznacznie do wodzi wystąpienia wyniku ujemnego. Pośrednie odchylenia w wyrazistości powstałego pierścienia i odbarwienie słupka mleka, oznaczają wynik wątpliwy, który według naszych badań częściej występuje przy użyciu antygeny Nr I niż przy antygenie Nr II.

Według wyników naszych badań, antygen niemiecki Nr I jest mniej czuły niż antygen międzynarodowy Nr II, gdyż wykazał aż 50% wyników wątpliwych, podczas gdy antygen Nr II nie wykazał ani jednego wyniku wątpliwego, ponadto antygen Nr II wykazał więcej o 20% wyników dodatnich od antygeny Nr I.

Niemожność dołączenia w niniejszym streszczeniu pracy tabel, diagramów i wykresów porównawczych, utrudnia wielce przejrzyste przedstawienie porównawczych wyników i z konieczności podajemy tylko ogólne zestawienie wyników, które jednak dostatecznie świadczą o rozpoznawczej czułości i zgodności ABR w stosunku do RAs, RAm i RWD.

Ogólne zestawienie wyników:

ABR					
ujemnych ant. Nr I 63%			ant. Nr II 66%		
wątpliwych ant. Nr I 5%			ant. Nr II 0%		
dodatnich ant. Nr I 32%			ant. Nr II 34%		

RAs	RWD	RAm
ujemnych 72%	ujemnych 70%	ujemnych 87%
wątpliwych 0%	wątpliwych 3%	wątpliwych 0%
dodatnich 28%	dodatnich 27%	dodatnich 12%

Z powyższej tabeli wynika, że próba ABR jest dla rozpoznania brucellozy u krów metodą najczulszą w porównaniu do RAs, RWD i RAm.

Dowodem czułości ABR był także przypadek, w którym ABR z obu antygenami wykazała ++ a RAs i RWD wypadły ujemnie, krowa jednak w 38 dni po pobraniu prób poroniła zakaźnie, jak to wykazała sekcja poronionego cielęcia oraz badanie bakteriologiczne płodu i błon płodowych.

Przyjmując nawet, że ABR nie jest czulszą od RAs i RWD, to w żadnym razie, jak na to wskazują dokładnie zebrane dane cyfrowe porównawcze, ABR daje w 96 — 98% zgodne wyniki z RAs i RWD, przewyższając obie metody prostotą, łatwością w wykonaniu, szybkością wykazywania wyników i łatwością ich odczytywania w temp. pokojowej bez pomocy specjalnego laboratorium i utenzyliów laboratoryjnych za wyjątkiem odpowiednich probówek i kroplomierzy, przy czym próbę wykonać może każdy lekarz weterynaryjny w miejscu badania przy znacznym zysku na czasie i kosztach rozpoznania brucellozy za pomocą RAs i RWD, jako też nie pobierania periodycznego prób krwi od zwierząt.

Rozpoznawcze badania za pomocą RAs i RWD można by ograniczyć tylko do pobierania prób krwi od jałówek i krów bezmlecznych oraz huhajów wzgl. do jednorazowego ostatecznego pobrania krwi od całego pogłowia w danej oborze, przy końcowym uznaniu obór za wolne od brucellozy, gdy dwukrotne badanie próbą ABR wykazało wynik ujemny a RAs i RWD je potwierdziły, jak to zostało zastosowane w Danii.

Reakcje RAs i RWD można by ograniczyć do przeprowadzenia ich w wypadkach wątpliwych ABR, co ogromnie odciążałoby wojewódzkie zakłady higieny weterynaryjnej i stacje badawcze.

Próba ABR umożliwia również wychwytywanie obór zakażonych, przy sposobności badania mleka zbiorowego zwłaszcza w obecnych czasach, gdy sprzedaż mleka odbywa się tylko w mleczarniach i sklepach uspołeczniionych, posiadających dokładne wiadomości, z których obór mleko zbiorowe bywa dołączane, jak również na mocy tej próby można by oceniać, czy mleko może być dopuszczane do konsumpcji ze względu na wynik dodatni ABR, a tym samym pochodzące od krów zakażonych brucellozą.

Wyniki prób ABR u krów szczepionych zapobiegawczo szczepem S 19, będą ogłoszone osobno, w późniejszym czasie.

Wnioski

1) Próba pierścieniowa (ABR) jest nieskomplikowaną metodą rozpoznawczą, którą łatwo, w miejscu swej praktyki, może wykonać każdy lekarz weterynaryjny bez pomocy laboratorium, w temperaturze pokojowej, mieszając 1 lub 2 cc świeżego pełnego mleka z 1 lub 2 kroplami zabarwionego hematoksyliną, swoistego antygeny *Brucella abortus*.

Próbę ABR można wykonać także z mleka zbiorowego dla celów orientacyjnych i z mleka od poszczególnych krów.

2) Standardowy antygen międzynarodowy według Jepsena wzgl. jego modyfikacji jest czulszy od antygeny niemieckiego według Hermanna, jakkolwiek oba antygeny dają prawie jednakowo zgodne wyniki.

3. Próba pierścieniowa (ABR) wykazuje nie tylko zgodne wyniki z próbkową aglutynacją z surowicą krwi (RAs) i wiązaniem dopełniacza (RWD), ale je przewyższa czułością rozpoznawczą. Najmniej czułą i zgodną jest próbkowa aglutynacja z surowicą mleka (RAm).

4. Próba ABR ze względu na swą prostotę w wykonaniu, szybkość otrzymywania i łatwość odczytywania wyników, oszczędność czasu oraz taniość i nie kaleczenie zbyt częste krów mlecznych dla pobierania krwi dla wykonania RAs i RWD, szczególnie nadaje się dla masowego rozpoznawania brucellozy u krów.

5. Stosowanie ABR umożliwi ograniczenie kosztownych, laboratoryjnych i zabierających dużo czasu metod rozpoznawczych: aglutynację próbkową z surowicą

więć krwi (RAs) i wiązanie dopełniacza (RWD) tylko do przypadków, w których próba pierścieniowa (ABR) wykazała wynik wątpliwy oraz do stosowania ich u młodzieży, buhajów i krów bezmlecznych, co znacznie odciążałoby pracę lekarzy weterynaryjnych w terenie w pobieraniu krwi i jej wysyłki a zwłaszcza pracę w wojewódzkich zakładach higieny weterynaryjnych i stacjach rozpoznawczych a tym samym przyspieszyłoby i zmniejszałoby koszt akcji masowego zwalczania brucellozy wśród bydła w majątkach zespołowych PGR i spółdzielniach produkcyjnych.

Piśmiennictwo.

- Bruhn P. A.: Danske Dyrl. 27, 477, (1944); Christiansen, M. J.: Maanedskr. Dyrl. 59, 193 (1948); Diernhoffer K.: W. t. M. 20, (1933); Fleischauer G.: B. t. W. 34 (1937); Fleischauer, g. i Hermann G.: B. t. W. 23 (1938); Friesen A.: Dyss. dokt. Berlin (1938); Grenz A.: Milchw. Forsch. O. Bd. 39 (1932); Hermann, G.: B. t. W. 47, 715 (1937); Kaplan M.: W. H. Org. Un. Nat. 4 (1950); Lipnicki J.: Med. Wet. 12 (1949); Lipnicki J.: Med. Wet. 5 (1950); Łosiński T.: Med. Wet. 4 (1951); Norell N. i Olsen A.: Skand. Vet. Diskr. 38 (1943); Depart. Wet. Min. Roln. i R. R.: (Okólnik) — 1948; Orłow E. S. i Czernuszewa M. I.: Wieterin. 6 (1950); Parnas J. i Stępkowski S.: Ann. Univ. M.C.S DD., XV (1949); Protokół Wet. Rady Nauk. Min. Roln. i R. R.: dot. brucellozy (1950); Roepke M. H., Clausen L. B. i Wash A. L.: Proc. 52 Ann. Meet. U. S. Livest. San. Assoc. 147 (1948); Roepke M. H., Paterson, K. G., Driver F. C., Clausen L. B., Olson L. i Wendworth J. E.: A. J. V. R. XI., 39 (1950); Schern K. i Gorli B. D.: Montevideo (1930); Schoenberg F. i Imig H.: D. t. W. 28, 449 (1933); Seit B. i Leth Jergensen K.: Dyrl. 56, 227 (1944); Smitmans H.: B. t. W. 42 (1938); Winter O. i Hansen A. C.: 55, 401 (1943).

T. DĄBROWSKI i I. DASZKIEWICZ

O pasteurellozie prosiąt

Z Zakładu Mikrobiologii i Epizoocjologii Wydz. Wet. Uniw. Marii Curie-Skłodowskiej oraz z Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Kierownik: Prof. dr dr h. c. JÓZEF PARNAS

Pasteurelloza świń, jako jednostka chorobowa, nazwana została przez Löfflera i Schütza „zarazą świń”. Często identyfikowano ją z pomorem świń.

W 1886 r. Salmon i Smith (1890) w Ameryce Północnej, w Europie, zaś — Schütz, Jensen, Bang, a przede wszystkim Preisz stwierdzili, że pasteurelloza jest oddzielną jednostką chorobową, jakkolwiek często towarzyszy pomorowi świń. Prócz czystej formy pasteurellozy, nierzadko daje się zauważyć zakażenia mieszane (Wirus pomoru i grypy).

Za pasteurellozę świń uznaje się tylko takie schorzenie, które jest wywołane przez *Pasteurella suisepitica*. Schorzenie to występuje u prosiąt sporadycznie, a tylko w rzadkich wypadkach enzootycznie. *Past. suis.* jest drobną pałeczką gramoujemną, nie posiada rzęsek, długość jej waha się od 0,15—1,4 mikr., sze-

rokość od 0,14—0,6 mikr. Wyosobniona z organizmu barwi się niekiedy dwubiegunowo. Rośnie na pożywkach o pH 7,2—7,8 w temp. 37° C, w warunkach tlenowych. Kolonie na agarze 18-to godz. hodowli występują jako przeźroczyste, lśniące, okrągłe z tendencją do zlewania się. Po kilku dniach mętnieją i mają charakter śluzowy. Hemolizy nie powodują.

Newson i Cross (1932), Florent i Godbille (1950) stwierdzili występowanie pasteurelli hemolitycznej u bydła i owiec, Dąbrowski — Daszkiewicz (1950) u prosiąt i owiec. Czasami kolonie pasteurelli upodabniają się do kolonii *E. coli* i *S. paratyphi*. Śluzowaty charakter zawdzięczają kolonie, śluzowatej otocze. W bulionie początkowo powstaje słabe zmętnienie, następnie śluzowaty osad na dnie próbkówki, który po wstrząśnięciu unosi się ku górze w postaci nitek śluzowych.

W agarze kłutym i żelatynie wyrastają oddzielne,