

i mozaikowość; nie wszystkie metody są należyście opracowane i brak jest ujednostajnienia tych metod. Jest już najwyższy czas, aby przedyskutować w skali międzynarodowej zagadnienia diagnostyki brucelozy w ogóle, dokonać krytycznej oceny dotychczasowego dorobku, wytypować węzłową tematykę, w sposób planowy realizować konsekwentnie zadania standaryzacji. Uprzednio powinno się ustawić diagnostykę brucelozy problemowo, i przy opracowaniu roboczym postępować według ramowego schematu.

Podstawą organizacji walki z brucelozą jest kompleksowe rozpoznanie biotopu gospodarstwa i wprowadzenie w życie wymogów sanitarno-weterynaryjnych. Szczepienie nie jest metodą zwalczania brucelozy.

Do walki z brucelozą powinny być wciągnięte wszystkie terenowe służby agrobiologiczne i resorty zainteresowane bezpośrednio w tej walce, jak służba zdrowia, przemysł mleczarski, przemysł mięsny itp., przy czym duża rola przypada kierownikowi gospodarstwa w ośrodkach państwowych i uspołecznionych.

Zwalczanie brucelozy musi nosić charakter: kompleksowy, zespołowy, planowy, konsekwentny i powszechny.

Zapobieganie ma podstawowe znaczenie w walce z brucelozą. Musi ono być również kompleksowe; w oparciu o sytuację epizootologiczną w gospodarstwie i w okolicy oraz na podstawie pobieżnego zdjęcia ekologicznego powinien

być opracowywany plan postępowania zarówno ze strony służby weterynaryjnej i służby zdrowia, jak również ze strony kierowników gospodarstw, wzgl. gospodarzy indywidualnych. Powszechna akcja uświadamiająca powinna zajmować przodujące miejsce w zapobieganiu brucelozie.

## Piśmiennictwo.

1. Anczykowski, F. — Roczn. N. Rol. (praca przekazana do druku).
- 2) Avezzu, G. — Boll. Ist. sieroter. milan. XXX, V—VI, 247—258 (1951). Streszcz. w Chl. f. Bakt. Parasit. u. Infkrkh. Bd. 151, S. 394 (1953).
- 3) Balarini, G. — Nuova Vet. 1, t. 27, 305 (1951). Streszcz. w Bull. Inst. Pasteur. t. 50, No. 9, 917 (1952).
- 4) Biggi, P. — Ann. Fac. Med. Vet. t. 5, 200—206 (1952). Streszcz. w Bull. Inst. Pasteur. t. 52, No. 7, 847 (1954).
- 5) Diernhofer, K. — Wien. t. Wschr. H. 6, 348—364 (1955).
- 6) Flueckiger. — Schweiz. Arch. Tierheilkunde Bd. 97, H. 6, 283—294 (1955).
- 7) Hall, W. H. i Manion R. — J. Clin. Investig. Vol. XXXII, No. 1, 96—106 (1953).
- 8) Henriesson, E. — Skand. Vet. — tidskr. 26, 57—61 (1936). Streszcz. w JBcht. Vet. Med. Jg. 60, S. 352 (1937).
- 9) Hess W. R. i Roepke M. R. — Proc. Soc. Biol. a. Med. 77, 469—472 (1951).
- 10) Hess W. R. — Amer. J. Vet. Research. Vol. XIV, No. 51, 192—194 (1953).
- 11) Hess W. R. — Am. J. Vet. Research. Vol. XIV, No. 51, 195—197 (1953).
- 12) Hoerlein, A. B. — Cornell Vet. Vol. 18, 28—37 (1954).
- 13) Hutyr, F. Marek J. i Manning R. — Special Pathology and Therapeutics of the Disease of Domestic Animals, Chicago (1943).
- 14) Iwanowa W. I. — Weterinaria No. 11, 29—33, (1954).
- 15) Iwanowa W. I. — Weterinaria, No. 10, 21—25 (1955).
- 16) Juszkowicz, M. K. — Bruceloz selskohozjajstwiennych žiwotnych. Selhizgiz (1952).
- 17) Juszkowicz, M. K. — Weterinaria, No. 3, 29—42 (1955).
- 18) Lwowski, I. L. — J. f. Mikrobiol. Epidemiol. u. Immunobiol. No. 4, 2127 (1939). Streszcz. w Zbl. f. Bact. Parasit. u. Infkrkh. Bd. 137, 13 (1940).
- 19) Orłow, E. S. — Weterinaria, No. 11, 34—39 (1954).
- 20) Pilipiienko, W. G., Sobolewa, N. M., Ponomarewa, T. N. i Kadackaja, K. P. — Z. Mikrobiol. Epid. i Immunol. No. 1, 82—87 (1955).
- 21) Pritulin, P. — Wiet. No. 7 (1954).
- 22) Renoux, G. — Ann. Inst. Pasteur. T. 86, 91—98 (1954).
- 23) Wilson, G. S. — Milles, A. A. — Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity. London (1948).
- 24) Verge, J. — Rec. Med. 122(3) : 97—114 (1946). Streszcz. w Biol. Abstr. Vol. 22, No. 10, pos. 24959 (1948).
- 25) Waring, W., Elberg, S., Schneider, P. i Green, W. — J. Bact. Vol. 66, 82—91 (1953).
- 26) Wellman, G. — Proc. XV Internat. Vet. Congr. Part. II, 170—171 (1953).

M. DOLEŻAŁ, R. LUTYŃSKI, J. WIŚNIEWSKI

## Badania owiec na brucelozę w podhalańskim ośrodku wypasowym

Z Zakładu Mikrobiologii Lek. A. M. — Woj. Stacji San. Epid. — i Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Krakowie

W ostatnich latach brucelozę nabiera coraz większego znaczenia jako choroba zawodowa. Głównym rezerwuarem zarazka i źródłem zakażenia ludzi w Polsce jest bydło domowe. Stan rozprzestrzenienia się brucelozy u bydła jest naogół dobrze poznany, a wieloletnia akcja jej zwalczania stoi zasadniczo na odpowiednim poziomie. Zagadnienie to z punktu widzenia epidemiologicznego uznać należy za wyjaśnione. Interesującym natomiast problemem zarówno epizootologicznym jak i epidemiologicznym jest poszukanie innych, niż bydło rezerwuarów *Brucella* u zwierząt domowych podatnych na zakażenie. W Polsce badaniami takimi u koni, świń, psów i ptactwa domowego zajmowali się Anczykowski, Kamińska, Larski, Prokopeczko, Steffenowa i Szaflarski. Jak z dostępnego nam piśmiennictwa wynika, brucelozę u owiec w Polsce w okresie powojennym interesował się jedynie Chyliński (1954). Przebadał on odczynami zlepnym i wiązania dopełniacza 1200 surowic owiec rzeź-

nych w Gdańsku i stwierdził na podstawie wyników serologicznych i uzyskanych wywiadów, że w jego materiale doświadczalnym nie było przypadków brucelozy. Nasze badania obejmujące teren południowej Polski, w którym skupia się duży ośrodek hodowlany, miały nieco inny charakter, gdyż wykonaliśmy je na halach (w okolicy Jaworek koło Szczawnicy). Badania takie były bardzo celowe, gdyż tereny wypasu leżą na granicy z Czechosłowacją, w której właśnie ostatnio stwierdzono u kóz i owiec brucelozę wywołaną przez *Brucella melitensis*, zawleczoną z owcami importowanymi (Kolar, Kral, Kraus 1955). Feils (1955) również podkreśla konieczność badania owiec, gdyż istnieje możliwość rozprzestrzenienia się *Br. melitensis*, jak to miało miejsce np. w N.R.F. gdzie stwierdzono zawleczenie tego zarazka z połud. Francji i zakażenie owiec na terenie Niemiec w okolicach przygranicznych.

W związku z tego typu badaniami — to jest poszukiwaniem ewentualnego ogniska choroby

— jednakże nie popartymi pozytywnymi wywiadami, wskazującymi na podejrzenie brucelozy, wysuwa się zagadnienie wyboru metody rozpoznawczej. Zupełny brak na ten temat piśmiennictwa krajowego a zatem i brak wzorów, zmusił nas do oparcia się na wynikach i metodach badaczy zagranicznych przede wszystkim radzieckich. Wybraliśmy odczyn zlepnny pierścieniowy z mlekiem jako metodą szybką, prostą w wykonaniu terenowym, zapewniającą przynajmniej minimum czułości i swoistości. Należy podkreślić, że przystępując do badań — poprzedzonych zupełnie negatywnymi wywiadami — mieliśmy na celu uzyskanie raczej ogólnych danych epizootiologicznych, a nie rozpoznawanie indywidualne. Zależało nam za zdobyciu większego materiału obserwacyjnego kosztem bardziej szczegółowych i wnikliwych badań, które byłyby drugim etapem badań.

Oceny wartości poszczególnych odczynów rozpoznawczych przy brucelozie owiec są naogół dość zgodne. Najpewniejsze wyniki uzyskuje się stosując badanie kompleksowe odczynami alergicznym, zlepnym i wiązania dopełniacza (Pietrow i Sidorowa 1951, Wyszeleski 1951, Feils 1955). Odczyny te wzajemnie się uzupełniają, gdyż zdolność reagowania w czasie jest różna, co ma tym większe znaczenie, że u owiec brucelozą ma tendencję do samowyleczenia. Badania doświadczalne z 30 owcami sztucznie zakażonymi *Brucella* (dane Kostruliny i Samojłowa cyt wg. Wyszeleskiego) wykazały, że odczyn wiązania dopełniacza u większości sztuk (20 na 30) zanika po 349 dniach. O wiele krótszy jest czas reagowania w odczynie zlepnym próbówkowym, który u prawie wszystkich osobników (28) był negatywny już po 109 dniach. Dłużej nieco trwa okres możliwości wykrycia aglutynin metodą szkiełkową; wynosił on 220 dni (u 29 sztuk na 30). Jeszcze dłużej bo 11 miesięcy utrzymuje się zdolność reagowania z alergenem (23 sztuki na 30). Samojłowa (1951) twierdzi ponadto, że odczyn alergiczny dłużej daje wyniki pozytywne u owiec z brucelozą naturalną, niż u sztuk zakażonych doświadczalnie. Zdania co do wartości samego odczynu zlepnego są naogół również zgodne. Odczyn ten uważa się za dość mało czuły, jakkolwiek swoisty (Sofronow 1953). Podkreśla się natomiast, że ze względu na znaczne różnice w składzie chemicznym krwi czy mleka bydła i owiec, nie należy odczynu zlepnego wykonywać jednakowo u tych zwierząt. Trylenko (1954), Gądzijew i Szyronow (1954) na podstawie badań porównawczych doszli do wniosku, że odczyn zlepnny zarówno z surowicą krwi owiec, jak i w formie próby pierścieniowej z mlekiem jest 3-4 razy czulszy, gdy używa się jako rozcieńczalnika nie 0,85% roztwór NaCl, ale roztwór 10%. W wypadku stosowania próby pierścieniowej, z uwagi na bardzo dużą zawartość tłuszczu w mleku owiec, należy mleko rozcieńczyć 10%

roztworem NaCl w stosunku 1:1 (Trylenko).

Próba pierścieniowa z mlekiem jest odczynem, który w Polsce zupełnie nie znalazł praktycznego zastosowania, pomimo iż prace Rungego, Łośińskiego, Chwojnowskiego i Dziubka (1951) poruszyły znaczenie i wartość tej metody w rozpoznawaniu brucelozy u bydła i przedstawiły wyniki porównawcze. Obszerne piśmiennictwo zagraniczne na temat tego odczynu, zwanego odczynem ABR (Abortus-Bang-Ringtest) — zresztą cytowane w swoim czasie przez jednego z nas (1954) — wskazuje, że nie czas na zastanawianie się nad czułością i swoistością metody, gdyż było to przedmiotem wielu już badań i jest rzeczą ustaloną, że próba pierścieniowa jest bardzo wartościowa właśnie w pracach typu epizootiologicznego. Należy przyjąć za autorami zagranicznymi, że odczyn ten nadaje się specjalnie do badania zbiorowych prób mleka i daje orientacyjne dane o brucelozie. Zwykle po tego rodzaju badaniach orientacyjnych zaleca się szczegółowe badanie serologiczne z surowicą krwi od indywidualnych osobników oraz badania alergiczne.

#### Badania własne

Kierując się wyżej wymienionymi przesłankami, zastosowaliśmy do badań w terenie próbę pierścieniową, a dla kontroli antygeny, który jeszcze nie jest produkowany oficjalnie, ponadto również odczyn zlepnny próbówkowy z serwatką mleka. Badania wykonaliśmy na halach wypasowych w rejonie Jaworek w sezonie letnim 1955 r. Ogółem przebadaliśmy 2638 owiec tj. 1/3 ilości owiec zgromadzonych na tym obszarze wypasowym. Zbadane owce, skupione w 6 oddzielnych kierdelach rozmieszczonych w różnych punktach całego rejonu, stanowiły własność częściowo spółdzielców, częściowo drobnych indywidualnych posiadaczy z okolic Poronina, Niedzicy, Białego Dunajca, Kluszkowic, Gronia, Jaworek, Krościenka, Szczawnicy i Grywałdu. Badaliśmy zbiorowe próbki mleka pochodzące od 10 sztuk każda. W badaniach zastosowaliśmy do odczynu terenowego antygen barwiony wg. Bendtsena trójfenylochlorem tetrazolu. Antygen ten sporządził dla na specjalne zamówienie Wydz. Rozp. PIW wg. podanej receptury Antygen barwy czerwono-wisniowej stanowił zawiesinę szczepów używanych przez PIW do produkcji standardowego antygeny do odczynu zlepnego próbówkowego z surowicą krwi i posiadał gęstość ok. 15 miliardów bakterii w 1 ml.

Omawiając zastosowany antygen, przy okazji pragnęlibyśmy podkreślić, że jeżeli chociażby o rozpowszechnienie próby terenowej czy to dla celów weterynaryjnych czy też przez służbę zdrowia (np. kontrola mleka w mleczarniach lub mleka rynkowego), to rzeczą pierwszorzędnej wagi jest właśnie sprawa antygeny i jego stan-

daryzacji. Wprawdzie Łosiński (1951) opisał i opanował technikę barwienia hematoksyliną wg. wzorów niemieckich, jednak jest to już technika dziś przestarzała i co najważniejsze o wiele bardziej skomplikowana od metod Bentsena czy Wooda. Barwienie bakterii solami tetrastolu jakie badacze ci zastosowali (opisywane zresztą i wypróbowane przez jednego z nas 1953, 1954, 1955) jest bardzo proste i nie wpływa na własności antygenowe. Ponieważ zarówno za granicą jak i w Polsce obserwuje się duże zainteresowanie terenowymi metodami serologicznymi w rozpoznawaniu chorób zakaźnych, a przy tego rodzaju badaniach stosuje się zwykle antygeny barwione, byłoby celowe, by produkcją takich antygenów właśnie przydatnych np. przy brucelozie zajęły się kompetentne czynniki weterynaryjne, tym bardziej, że w krajowym piśmiennictwie ostatnich paru lat opublikowano już kilka prac doświadczałnych na ten temat.

Każdą zbiorową próbkę mleka badaliśmy zarówno odczynem pierścieniowym w terenie, jak i odczynem zlepnym probówkowym z serwatką w pracowni. Próbki do tego odczynu (nastawianego ze standardowym antygenem produkcji PIW) były konserwowane fenolem (0,5%) Kontrolę nastawianego odczynu zarówno w terenie jak i w pracowni stanowiło mleko owcze zmieszane z wysokowartościową surowicą bydłą w różnych rozcieńczeniach. Ponadto antygen barwny skontrolowano jednorazowo z próbkami indywidualnymi mleka 25 krów, przeprowadzając to doświadczenie w warunkach terenowych w oborze od lat zakażonej brucelozą. Wyniki uzyskane w próbie pierścieniowej porównano z wynikami odczynu zlepnego z surowicą krwi, pobranej tego samego dnia, oraz z wynikami odczynu zlepnego z serwatką mleka. Doświadczenie to wykazało, że antygen barwy jest dostatecznie czuły i swoisty w granicach braku korelacji między występowaniem aglutynin w krwi i mleku (zgodność w wynikach próby pierścieniowej z odczynem zlepnym z surowicą krwi w 21 przypadkach, wyniki próby pierścieniowej fałszywie ujemne i fałszywie dodatnie po 2 przypadki).

Odczyn zlepny probówkowy ze serwatką nastawiano w rzędzie 4 rozcieńczeń od 1/5 do 1/40 w objętości 1 ml. Jako rozcieńczalnika używano 10% roztworu chlorku sodowego. Próby wstawiano do cieplarki (+37°C) na ok. 18 godzin, a po wyjęciu odczytywano wyniki po przetrzymaniu prób w temperaturze pokojowej przez dalsze 2—3 godziny. Dla uzyskania serwatki do odczynu stosowano podpuszczkę serowarską, którą dodawano w ilości szczypty (na koniec skalpela) na 5 ml. mleka. Mleko po bardzo dokładnym zmieszaniu z podpuszczką wstawiano na 2—3 godz. do cieplarki (+37°C). Zwykle serwatka oddziela się w postaci przejrzystej, opalizującej cieczy, a tylko wyjątkowo trzeba było

ją czasem przesączyć przez bibułę. Ponieważ dotychczas nie opisywano w Polsce odczynu pierścieniowego z mlekiem owiec, a warunki jego wykonania są odmienne, niż przy badaniu bydła w oborze, podamy dość szczegółowo nasze spostrzeżenia praktyczne.

1. Wyposażenie ekipy. Praca wykonana w okolicach górskich wymagała prócz sprzętu do badań właściwych również i wyposażenia turystycznego. W wyposażeniu tym niepoślednią rolę odgrywa namiot, w którym nawet podczas deszczu można przeprowadzać badania. Należy bowiem podkreślić, że próby nastawia się przy koszarze, a ten z reguły jest dość oddalony od baczki i położony jest nad nią. Noszenie więc próbek do baczki nie jest możliwe. Natomiast rozbicie namiotu, lub przynajmniej rozpięcie nieprzemakanej płachty umożliwia badanie niezależnie od pogody. Ekipa nasza składała się z 3 osób. Było to konieczne minimum, gdyż prócz podziału zajęć podczas badania, należało również rozdzielić do plecaków sprzęt laboratoryjny i normalne zaopatrzenie turystyczne. Wskazana jest bowiem niezależność od baczki w sensie noclegowym i wyżywienia. W wypadku gdyby nie pobierało się prób do badań kontrolnych w pracowni, można udać się w teren w składzie dwuosobowym. W badaniach naszych dysponowaliśmy następującym sprzętem: próbówki aglutacyjne, w ilości odpowiadającej planowanym badaniom (o myciu próbek z tłustego mleka nie ma mowy w terenie), składane statywy metalowe na próbówki aglutynacyjne (2-3 szt.), 10% roztwór chlorku sodowego (250 ml. — tj. zapas na ok. 250 prób), antygen (ok. 20ml. — tj. zapas na ok. 240 prób), 5% roztwór fenolu (ok. 150 ml. — tj. zapas na ok. 300 prób), próbówki pojemn. ok. 10 ml. na mleko konserwowane do prób laborat. (pipeta 5ml. z długim (50 cm) węzłem gumowym i ustnikiem do pobierania mleka do konserwacji, pipeta 1 ml. ze smoczkiem do pobierania mleka do próby pierścieniowej, 2—4 pipet 10 ml. lub 5 ml. do wkraplania chlorku sodowego i fenolu, 1-2 pipet 1ml do wkraplania antygeny, koszyki druciane lub pudełka na próbówki oraz metalowy tubus na pipety.

2. Organizacja pracy i wykonanie odczynu. Ponieważ badania wykonuje się podczas normalnego udoju i nie należy juhasów zbyt absorbować swoją pracą, nie należy liczyć na pomoc z ich strony. Współpraca juhasów ogranicza się do przerywania dojenia po wydojeniu każdej 10-ki owiec. W związku z tym jedna osoba z ekipy powinna pilnować juhasów, by istotnie przerywali dojenie po każdej 10-ce. Ponadto musi ona zająć się równocześnie podawaniem skopków z wydojonym mlekiem temu, który pobiera próby. Osoba ta wreszcie po zlanu wykorzystanego mleka do wspólnej bańki oddaje pusty skopiec juhasowi. Ponieważ jednak zwykle doi naraz 3-4 juhasów, jednej osobie trudno podołać jeszcze dodatkowej kontroli juhasów. Nie

można więc mieć pewności, że za każdym razem próbka istotnie zawiera mleko 10 owiec (w naszych badaniach okazało się, że na jedną próbkę przypadało przeciętnie 11 owiec—238 próbek od 2638 owiec). Dwie pozostałe osoby zajęte były pobieraniem mleka, jedna dla zakonserwowania, druga do odczynu pierścieniowego. Osoba zajmująca się podawaniem skopków z mlekiem przebywa wewnątrz koszar, gdzie również stawia się bańkę na mleko. Dwie pozostałe osoby stoją raczej poza koszarem, a dysponując pipetą ze smoczkiem oraz pipetą z długim wężem dość łatwo pobierają próbki ponad ogrodzeniem koszar. Podział tego rodzaju zajęć, okazał się w naszych badaniach praktyczny.

Po zebraniu danych epizootologicznych i ustaleniu z bacą toku pracy, przygotowuje się odpowiednią ilość próbek. Do próbek aglutynacyjnych wlewa się po 1 ml. 10%owego roztworu NaCl, a do próbek, w których ma się konserwować próbki, po 0,5 ml. fenolu (5%owego). W czasie udoju z każdego skopka, do którego wydojono ok. 10 owiec pobiera się 1 ml. mleka do próby pierścieniowej (jedna osoba) i 4,5 ml mleka do konserwacji (druga osoba). Mleko z fenolem należy wymieszać bardzo dokładnie. Po ukończonym udoju do każdej próbki aglutynacyjnej, zawierającej już rozcieńczone (1:1) mleko wkrapla się pipetą po 2 krople antygeny i dokładnie miesza, unikając pienienia (kilkakrotnie przechylić próbkę zatkana palcem). Statywy z nastawionym odczynem pierścieniowym ustawia się poziomo, by próbki ustawione były w pionie. Ma to duże znaczenie ze względu na mechanizm odczynu, polegający jak wiadomo na mechanicznym unoszeniu aglutynatów przez kuleczki tłuszczu, mające tendencję zbierania się na powierzchni mleka. Odczytywanie orientacyjne wyników może nastąpić już po 1½ godz. lecz za wyniki ujemne można uznać próbki dopiero po 2 godzinach. Przekonaliśmy się bowiem doświadczalnie na kontrolach z mlekiem zmieszonym z surowicą wysokowartościową (z braku prób pozytywnych), że reakcja dodatnia występuje już po 1 godzinie (t. ok. +20°), jednak przy wyższych rozcieńczeniach surowicy pełne natężenie odczynu pojawia się dopiero po 2 godzinach. Odczyn dodatni może przebiegać w różnym natężeniu, a różnice te polegają na intensywności zabarwienia pierścienia, przy równoczesnym, mniej lub bardziej silnym odbarwieniu mleka. Oznaczanie stopnia natężenia odczynu jest rzeczą umowną, na ogół przyjmują autorzy oznaczenie 4 plus dla pełnej aglutynacji, przy której mleko jest zupełnie odbarwione, a pierścień ma bardzo intensywne barwę. Znakiem minus oznacza się utrzymanie pierwotnej barwy mleka przy białym pierścieniu śmietanki, co dowodzi o braku aglutynacji. Pomiedzy tymi granicznymi natężeniami odczynu zachodzą reakcje pośrednie oznaczone odpowiednią ilością plusów. W naszych

badaniach — jak to już wspomnieliśmy — w żadnym przypadku nie stwierdzono odczynu pozytywnego, zarówno w próbie pierścieniowej jak i w odczynie zlepnym próbkowym. W związku z tym trudno nam zabierać głos w sprawie, jakie natężenie uznać należy za wynik dodatni. Wydaje się bardzo słuszny pogląd Rungego i wsp. (1951), że nie celowe jest w badaniach terenowych stwarzanie pewnego zamiętu wyróżnianiem aż 5-ciu rodzajów reakcji (4, 3, 2, 1 plus i minus), ale że wystarczy przyjąć 3 stopniową interpretację tj. wynik dodatni, wątpliwy i ujemny. Wg. tej interpretacji wszystkie odczyny różniące się od wspomnianych odczynów granicznych zaliczyć wypada do reakcji wątpliwej. Jeżeli założymy, że próba pierścieniowa jest tylko odczynem orientacyjnym w badaniu owiec, to istotnie subtelności interpretacyjne nie są ważne. Dysponuje się przecież lepszymi metodami, przy pomocy których w drugim, ewentualnym etapie można w sposób szczegółowy rozpoznać brucelozę u pojedynczych sztuk i określić nasilenie brucelozy w danym stadzie, czy na danym obszarze hodowlanym. Jeżeli chodzi o czas przetrzymania odczynu, to wydaje się nam, że okres 75—90 minut zalecany przy badaniu mleka krowiego jest nieco za krótki dla mleka owczego, dość znacznie różniącego się swym składem chemicznym (bardziej „skondenzowane“). Wg. naszych już przytoczonych doświadczeń odczyn należy przetrzymywać do 120 a nawet 180 minut. Ten dość długi okres sprawia, że w ciągu dnia można zbadać tylko 2 baczki, gdyż udój wieczorny jest już zbyt późno. Wychodząc z podkreślonego już założenia, że badania metodą pierścieniową są badaniami orientacyjnymi, do pobierania prób mleka używaliśmy tej samej pipety. Bardzo to upraszcza technikę i ogranicza ilość sprzętu. Wydaje się nam, że po ustaleniu metodyki badania i przy dysponowaniu sprawdzonym antygenem produkowanym centralnie, podobne badania terenowe możnaby wykonać na większym materiale bez konieczności uciążliwego pobierania prób do badań kontrolnych w pracowni.

#### O m ó w i e n i e.

Dla przekonania się czy owce w rejonie podhalańskim nie są rezerwuarem zarazków *Brucella* rozpoczęto w roku 1955 wstępne badania. Ogółem zbadano ponad 2500 owiec, stosując orientacyjną metodą aglutynacji pierścieniowej z mlekiem zbiorowym. Jako kontrolę tej metody wykonano z tymi samymi próbkami odczyn zlepny próbkowy z serwatką mleka w pracowni. Zgodnie z zebranymi danymi z wywiadu w żadnym przypadku nie stwierdzono w żadnym z odczynów reakcji pozytywnych. Przy wyborze metody zdawano sobie sprawę z jej niedoskonałości, brano jednak pod uwagę to, że nadaje się ona do masowych badań terenowych mających duże znaczenie epizootologiczne. Na podstawie wypraktykowanej w terenie techniki, uważać

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, zlepek 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 zlepekowego próbki 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