
Z Katedry Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr nauk Alfred Trawiński

Alfred TRAWIŃSKI

**Nowa metoda masowego badania wieprzowych tusz mięsnych na
obecność larw włośni za pomocą odczynu wyklaczania w żelu**

**Новый метод массового исследования свиных мясных туш
относительно наличия личинок трихинелл
при помощи реакции осаждения в желе**

**A New Method of Mass Inspection of Pig Carcasses for the Presence
of *Trichinella spiralis* Larvae by Means of the Gel Flocculation Test**

Podstawowy postulat profilaktyki włośnicy ludzi stanowi zabezpieczenie przed spożyciem mięsa wieprzowego i jego przetworów, zarażonych larwami włośni. Cel ten ma spełniać trychinoskopia w kompresorze, której przy urzędowym badaniu psu bojowym podlega każda ubita świna. Trychinoskopia projekcyjna, a w mniejszej mierze mikroskopowa nie zabezpiecza jednak we wszystkich przypadkach stwierdzenia lub pewnego wykluczenia obecności larw włośni w tuszy mięsnej. Według załącznika nr 6 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa z dnia 29 stycznia r. 1929, poz. 305 „do badania mięsa z każdej ubitej świni pobiera się materiał z dwu mięśni filarów przepony w pobliżu ścięgien, a w braku obydwu mięśni po dwie próbki z żebrowej części przepony lub mięśni brzusznych”.

Pewniejsze wyniki, zwłaszcza w przypadkach słabego zarażenia, daje trawienie płynem, zawierającym 0,04% pepsyny i 0,25% kwasu solnego, wycinków mięsistej części przepony, w której larwy przeważnie usadawiają się. Metoda ta nie ma jednak zastosowania w urzędowym badaniu tusz mięsnych, ponieważ nie jest przewidziana w przytoczonym rozporządzeniu Ministra Rolnictwa.

Metoda trawienia daje pewniejsze wyniki niż trychinoskopia w kompresorze, co m. in. stwierdzili także ostatnio Schwartz, uzyskując o 21% więcej wyników dodatnich, niż przy stosowaniu trychinoskopii w kompresorze, oraz Lörincz i Nemeséri (3), którzy w roku 1951 stwierdzili metodą trawienia jako przyczynę epidemii włośnicy w miejscowości Salgotarian larwy włośni w szynce, których nie wykazano trychinoskopią w kompresorze.

Doświadczenia terenu wskazują, że mimo dokładnego badania trychinoskopijnego mięsa ubitych świń w zakładach mięsnych oraz w gospodarstwach domowych i wykluczenia na tej podstawie obecności larw włośni w tuszach mięsnych, mogą się zdarzać przypadki inwazji larw niedostępnej przy trychinoskopii, szczególnie w razie ich usadowienia w innych miejscach niż przewiduje odnośne zarządzenie. W praktyce chodzi o stosowanie takiej metody, która zabezpieczałaby w zupełności konsumenta przed możliwością spożycia mięsa, zarażonego larwami włośni. Zadanie to spełniają metody serologicznego (odczyn wyklaczania i odczyn wiązania dopełniacza na obecność swoistych przeciwciał pasożytniczych w surowicy krwi pobranej w czasie uboju świń) oraz alergicznego badania (odczyn śródskórny na obecność swoistych antytoksyn i sensybilizyn).

Pasożyty zwierzęce, w danym przypadku larwy włośni, dostawszy się do organizmu zwierzęcego, powodują — podobnie jak pasożyty roślinne (bakterie) — produkcję swoistych przeciwciał, których stwierdzenie wymienionymi metodami umożliwia rozpoznanie zarażenia. Do wykonania obu odczynów jest niezbędny swoisty antygen włośniowy, przygotowywany w rozmaity sposób według Ströbla (r. 1911), Romanovitcha (r. 1912), Ducasa (r. 1921), Fülleborna (r. 1926), Bachmana (r. 1928), Theilera i Millera (r. 1932), McCoya Kilduffego i Friedlandera (r. 1923) oraz Trawińskiego (r. 1934) cyt. wg Trawińskiego — 5).

Uzyskanie jednak antygeny w większej ilości do wykonania wspomnianych odczynów jest połączone z mozolną pracą techniczną (5), a nadto samo wykonanie odczynów nie nadaje się do masowego badania, ponieważ wymaga zbyt wiele czasu oraz dużego doświadczenia w odczytywaniu wyników. W badaniach moich (5) i współpracowników jak Ceny (1), Gauguscha (2), Maternowskiej (4) okazało się, że odczyn wyklaczania daje dobre wyniki w początkowym okresie zarażenia, zaś odczyn wiązania dopełniacza i odczyn alergiczny w okresie późniejszym. Ponieważ świnię bije się z reguły w wieku młodym (przeważnie do jednego roku) należy stosować odczyn wyklaczania. Wykonanie jednak tego odczynu w masowych badaniach bitych świń, obejmujących jednorazowo po kilkaset, a nawet więcej sztuk, jest

praktycznie nie do zrealizowania tak ze względów technicznych, mianowicie potrzebnego czasu przygotowania i wystąpienia reakcji i sposobu odczytania wyników, jako też konieczności użycia dużej ilości antygeny (0,3 ml na 0,5 ml surowicy na każdą sztukę).

Sposób wykonania odczynu wykłaczania w żelu.

Do jałowej płytki Petriego, o średnicy 10 cm, wlewa się rozpuszczony agar 1,75% z zawartością 2,25 ml wyciągu antygeny włośniowego w rozcieńczeniu 1:100 na 10 ml agaru, o pH — 7,4. Po zastygnięciu agaru wycina się otworem probówki Uhlenhutha poszczególne krążki agaru, jedno obok drugich i usuwa je igłą preparacyjną. W ten sposób otrzymuje się w jednej płytce ponad 50 wgłębień, o średnicy około 0,5 cm, oznaczonych stałą, kolejną numeracją na odwrotnej stronie płytki (rys. 1), służących do wykonania tyleż prób. Wycięte krążki agaru, zawierające wyciąg antygeny włośniowego, przenosi się po rozpuszczeniu do osobnej płytki Petriego, o mniejszych rozmiarach, i postępuje w analogiczny sposób jak wyżej, uzyskując dodatkowo około 25 wgłębień. Tak więc 2,5 ml wyciągu antygeny włośniowego służy do wykonania około 80 prób, co w porównaniu z makroskopowym odczynem wykłaczania daje dużą oszczędność, mianowicie ponad 20 ml antygeny.

Mikroskopowy odczyn wykłaczania — jak wykazały odnośne badania — nie daje pewnych wyników i wymaga dłuższego czasu wykonania i odczytania wyniku.

Wykonanie masowych badań bitych świń przedstawia się następująco. Od poszczególnych świń pobiera się w czasie uboju krew do oddzielnych, numerowanych probówek w ilości po około 10 ml i umieszcza je w łaźni wodnej lub w naczyniu z ciepłą wodą o temperaturze około +40° na 30 min. W tym czasie krew ulega krzepnięciu i wydziela się nieco surowicy, wystarczającej do wykonania badania. 3 do 4 krople surowicy przenosi się za pomocą kapilary, każdorazowo oddzielnej, do poszczególnych wgłębień agaru w płytce Petriego, a do dwu ostatnich wgłębień tę samą ilość surowicy normalnej i pasożytnej swoistej (kontrola), po czym wstawia się do ciepłarki w temp. +37° na 10 min. lub w temperaturze pokojowej na 20 min. W tym czasie odczyn dodatni objawia się wystąpieniem delikatnych kłaczek strąconego białka antygeny włośniowego, początkowo na obwodzie wgłębienia, w którym mieści się badana surowica, widocznych przy użyciu lupy około 10 × powiększającej, po czym po upływie dalszych 10 do 20 min. gołym okiem (rys. 2).

W ten sposób można w przeciągu około godziny, wliczając czas pobierania krwi, przebadać około 80 świń przy użyciu małej ilości antygenu włośniowego.

Dalsze badania porównawcze z trychinoskopią oraz użyciem antygenów różnych gatunków pasożytów zwierzęcych są w toku.

PIŚMIENNICTWO

1. Cena M.: Przegl. Wet., nr 5, r. 1935.
2. Gaugusch Z.: Med. Wet., nr 1, r. 1949.
3. Lőrincz P., Nemeséri L.: Acta Vet. Acad. Scienc. Hungariae, t. IV, r. 1954.
4. Trawiński A., Maternowska I.: Ztbl. Bakt., t. 131, r. 1934.
5. Trawiński A.: Z. Fleisch u. Milchhygiene, t. 45, r. 1935.

Р Е З Ю М Е

Трихинеллоскопия в компрессоре, применяемая при официальном исследовании свиных мясных туш, не всегда дает положительные результаты, особенно когда личинки трихинелл внедряются в другие, как это бывает обыкновенно, мышцы (ножки диафрагмы). Гораздо лучшие результаты уже дает метод вытравливания при помощи жидкости, содержащей 0,04% пепсина и 0,25% соляной кислоты отрезков мышечной части диафрагмы. Однако наиболее положительные результаты получаются, применяя серологический (реакция осаждения и реакция связывания комплемента) или аллергический метод (интрадермальная реакция). Реакция осаждения является удобной в случаях раннего заражения свиней, предназначенных на убой в молодом возрасте, преимущественно не старше одного года, реакции связывания комплемента и аллергическая пригодны в случае позднейшего заражения свиней, возрастом даже несколько лет. Эти реакции мало пригодны для массовых исследований в скотобойнях в техническом отношении, ибо проведение их требует слишком много времени и большого опыта в установлении результата реакции. Проведение макроскопически реакции осаждения с сывороткой крови убойных свиней в массовых исследованиях требует более продолжительной подготовки, а также использования значительного количества трихинеллезного антигена (0,3 мл на одну штуку), приготовление которого является весьма кропотливым и дорогостоящим, так как для получения 1 мл антигена нужно использовать около 8 000 личинок трихинелл, извлеченных из мышц зараженных искусственно опытных животных (кролики, морские свинки).

Реакция осаждения в желе особенно удобна для массовых исследований свиней убиваемых на бойне из-за возможности проведения ее в сравнительно короткое время (в течение одного часа около 80 штук) и использования незначительного количества трихинеллезного антигена (2,5 мл на указанное выше количество свиней). Способ проведения исследования следующий: в стерильную чашку Петри, диаметром в 10 см, вливают растворенный 1,75%-ый агар содержащий 2,25 мл экстракта трихинеллезного антигена (1:100), pH = 7,4. Когда агар застынет вырезают кружки диаметром около 0,5 см, которые затем можно еще добавочно использовать во второй чашке, меньшей размерами. Таким образом в большей размерами чашке получается свыше 50, а в меньшей около 25 ямочек, в которые наносят при помощи капилляра 3—4 капли сыворотки крови свиней, взятой во время убоя. После 10 минутного пребывания чашек в термостате в температуре +37° или 20 минутного в комнатной температуре положительная реакция проявляется выступлением сначала на периферии, а затем во всей сыворотке в углублении агара нежных хлопьев осажденного белка трихинеллезного антигена, хорошо заметных при употреблении лупы увеличивающей 10 х, а затем спустя 10 минут даже невооруженным глазом. В два углубления наносят 3—4 капли в каждое нормальной сыворотки и специфической паразитической сыворотки (контроль). Дальнейшие сравнительные исследования с трихинеллоскопией и с употреблением различных видов паразитов продолжаются.

Рис. 1. Чашка Петри с углублениями в агаре, содержащими экстракт трихинеллезного антигена.

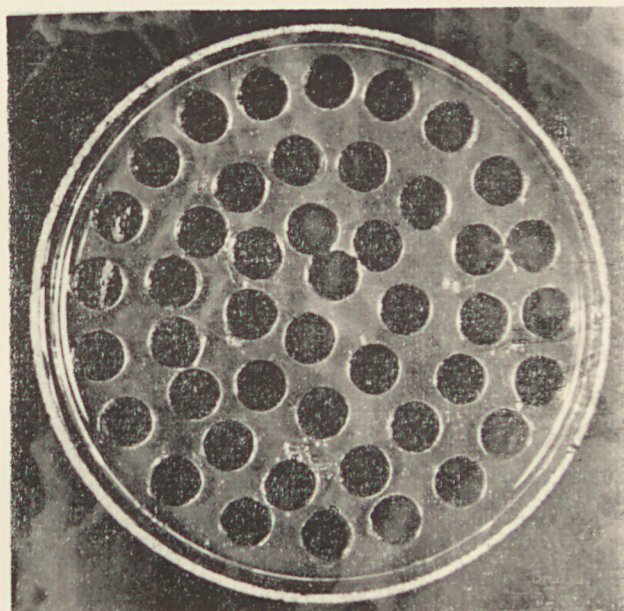
Рис. 2. Реакция осаждения (в виде хлопьев) в желе: а — положительная, в — контроль. Увеличение 28 х. (Микроскоп „Zetopan” с микрофотонасадочной камерой, объектив 4:1, окуляр 5х, пленка-негативный мелкозернистый контрастный микрофильм, время экспозиции 1 сек.).

SUMMARY

Compressive trichinoscopy, used in the official inspection of pig carcasses, does not always yield reliable results, especially when *Tr. spiralis* larvae infest other muscles than the pillars of the diaphragm. Better results are obtained by the digestion of the muscular part of the diaphragm with fluid containing 0.04 per cent of pepsin and 0.25 per cent of hydrochloric acid. The best results can be obtained by means of serological methods (the flocculation test and complement

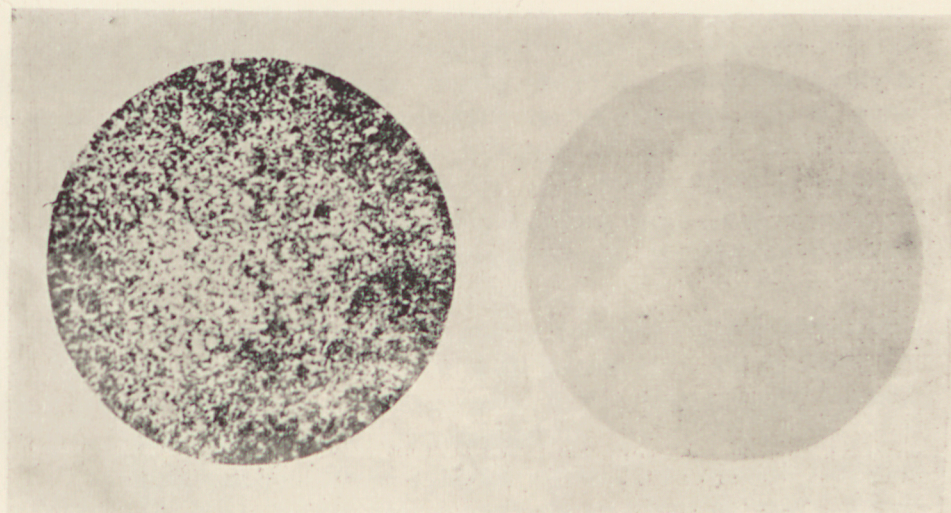
fixation test) and allergic methods (the intracutaneous test). The flocculation test is suitable in the diagnosis of early trichinosis in young pigs which are not older than one year. The complement fixation test and allergic test are used in lately infected pigs even after some years of life. These tests cannot be used in mass examinations of pigs in slaughter-houses for technical reasons. For the performance of these tests much time and great experience in the reading of results are needed. In the mass examinations of pigs for trichinosis the performance of the macroscopic flocculation test with the sera of slaughtered animals requires longer preparations and a great amount of *Tr. spiralis* antigen (0.3 ml per pig). The preparation of the antigen is difficult and expensive. To obtain one ml of the antigen 8000 *Tr. spiralis* larvae are needed. The larvae are obtained by digestion of muscles of experimentally infected laboratory animals (rabbit, guinea-pig).

The gel flocculation test is very suitable for mass examinations of pigs killed in slaughter-houses. The test can be performed in a very short time (80 pigs can be examined within an hour) and the quantity of the antigen needed is very small (2.5 ml for 80 pigs). The test is carried out in the following manner: a 1.75 per cent dissolved agar, of the pH 7.4, containing 2.25 ml of *Tr. spiralis* antigen diluted 1:100, is poured into a sterile Petri dish, 10 cm in diameter. Then small basins, 0.5 cm in diameter, are cut out in the solidified agar. Circular disks of the cut agar are dissolved and used in another Petri dish of smaller size. Thus, the greater dish contains 50 basins and the smaller one — 25 basins. 3—4 drops of serum obtained from a slaughtered pig are dropped into the basin. The test is left for 10 minutes in the thermostat at 37° C, or for 20 minutes at room temperature. If the result of the test is positive, very delicate floccules of precipitated protein of *Tr. spiralis* antigen appear, first in the peripheral part of the serum, and afterwards in the whole serum. These floccules can be seen with a hand lens magnifying 10 times. After a further 10 minutes they are visible to the naked eye. One basin containing the same amount of specific positive serum and another basin containing 3—4 drops of normal pig serum serve as controls. Further comparative investigations by means of trichinoscopy and with various species of parasites are now being carried out.



Ryc. 1. Płytką Petriego z wgłębieniami w agarze zawierającym wyciąg antygeny włośniowego

Petri dishes with basins cut in agar containing the extract of *Tr. spiralis* antigen



a

b

Ryc. 2. Odczyn wyklęzania w żelu; a — dodatni, b — kontrola, pow. $28\times$ (mikroskop „Zetopan” z nasadką mikrofotograficzną, obiektyw 4:1, okular $5\times$, błona mikrofilm negatywny drobnoziarnisty kontrastowy, czas ekspedycji 1 sek.)
The gel flocculation test; a — positive result, b — control (a Zetopan microscope with a microphotographic apparatus, objective 4:1, ocular $5\times$, a fine-grained contrast negative microfilm, exposure time 1 sec.)