

16. Browne, J. C. Symposium on Non-toxaemic Hypertension in Pregnancy, Morris-Browne, London, 1958.
17. Watson, H. i dr.: Lancet, 2:523, 1960.
18. Middleton, G. D.: J. Obstetr. a. Gynecol. Brit. Comm., 71:951, 1964.
19. Becker, F. F., Taube, H.: New Engl. J. Med., 266:2, 1962.
20. Brigden, W.: Lancet, 2:1179, 1957.
21. Schneppenheim, P. J. i dr.: Geburtsh. Frauenhik., 3:251, 1962.
22. Jensen, J.: The Heart in Pregnancy, St. Louis C. V., Mosby Co., 1938.
23. Stander, H. J., Kuder, K.: J. A. M. A., 108:2092, 1937.
24. Sutherland-Bruce: J. Obstetr. Gynecol., 64:1, 1964.
25. Erneszt, J.: Zbl. Gynäk., 64:1, 1964.
26. Plavšić, Č.: Zbornik II kongr. ginekologa i akušera Jugoslavije, Beograd, 1953.
27. Mac Rae, D. J.: Obstetr. a. Gynec. Brit. Emp., 60:356, 1953.
28. Sigler, D. H.: Cardiovascular diseases, Grune Stratton, New York, 1959.
29. Jevtić, Ž. i sur.: Med. arh., 17:23, 1963.
30. Ehrenfeld, E. V. i dr.: Obstetr. a. Gynecol., 23:233, 1964.

Klinika za infektivne bolesti Medicinskog fakulteta u Rijeci
Predstojnik: Prof. dr Valter Rukavina

Regionalni centar za brucelozu u Rijeci
Šef centra: Prof. dr Valter Rukavina

ETIOLOGIJA BRUCELOZE U ISTARSKOJ EPIDEMIJI

V. RUKAVINA, M. CEZNER, A. WOLF

Otkako je po E. Evansovoj dokazana srodnost bakterija *micrococcus melitensis*, *bacillus abortus* i *bacillus suis*, koje čine tri vrste jednog roda bakterija — *brucella*, nastoji se pronaći što uspješniju metodu za međusobno razlikovanje tih vrsta. Kako mikrobiološke i biohemijske metode ne daju suglasne rezultate, uvedena je serološka metoda, aglutinacija monospecifičnim serumima.

Nesuglasni rezultati u dokazivanju vrsta, pojava mnogih »varijanta«, dali su povoda Komitetu eksperata za brucelozu pri SZO da preporuči Međunarodnom odboru za bakteriološku nomenklaturu sastav pododbora eksperata za brucelozu koji bi proučili problematiku mikrobiološke dijagnostike kao i taksonomiju vrsta *brucella*.

Na VIII međunarodnom kongresu za mikrobiologiju u Montrealu 1962. godine (18. VIII 1962) članovi pododbora, uzimajući u obzir rezultate konvencionalnih testova za identifikaciju pojedinih vrsta roda *brucella*, te najnovijih metoda, kao fago-tipizaciju, test oksidacije aminokiselina i ugljikohidrata — zaključuju da svi sojevi *brucella* spadaju u tri dobro definirane vrste, a preporučuju da se zadrže dosadašnji nazivi: *brucella melitensis*, *br. abortus*, *br. suis* (1). Zadržavanje ovih klasičnih naziva za tri antigeno različita tipa *brucella* ne opravdava ujedno i epidemiološke patogenetske i kliničke postavke uvriježene u toj podjeli.

U epizotskom promatranju postaviti kao utvrđenu činjenicu da su ovca i koza stalni rezervoar *b. melitensis*, odnosno, da je govedo domaćin *b. abortus* i svinja *b. suis*, može dovesti do potpuno krivih etioloških tumačenja humanih oboljenja od bruceloze. Tako *Massetti* (2) smatra da su u sjevernoj Italiji jedini stvarni izvor bolesti za ljude i krupnu stoku ovce i koze, čime poistovetuje, a bez bakteriološke obrade, etiološki agens humane bruceloze sa *b. melitensis*. Obrnuto, *W. W. Spink* (3), identificirajući *b. suis* kao patogeni agens humane bruceloze kod 13 osoba, izvodi zaključak da su izvor zaraze za sve bolesnike morale biti bolesne svinje. Opisujući, međutim, detaljno svih 13 slučajeva, naglašuje da je 11 oboljelih radilo u klaonici, gdje su dolazili u kontakt i bili izloženi infekciji preko svih, veoma raznih domaćih životinja koje su tamo klane. Dvanaesti bolesnik bio je laborant, koji je upravo u to vrijeme

radio sa kunićima inficiranim b. suis. Posljednji u toj grupi bio je poštar za kojeg autor doslovce kaže: »On je pio nepasterizirano mlijeko na raznim farmama duž svojega puta«.

Bruceloza svinja je u mnogim evropskim zemljama, kao i u zemljama Sjeverne Amerike, jako proširena. U našoj zemlji detaljno je obrađena epizootija svinja u Sloveniji po Böhm i Spilleru (4), gdje je kao patogeni agens označena b. suis američke varijante, koja je za razliku od danske znatno patogenija. Ipak obolijevanja među ljudima nisu primijećena. Ruski autori (5) izričito tvrde da unatoč velikoj raširenosti bruceloze svinja u SSSRu profesionalna obolijevanja među izloženim ljudima nisu zapažena. Mi smo za vrijeme epizootije svinjske bruceloze na uzgajalištu svinja ekonomije Opće bolnice Rijeka izvršili pregled i kontrolu osoba koje su bile u kontaktu sa oboljelim svinjama. Nismo mogli naći nikakve kliničke znakove oboljenja, a svi pregledani su testirani brucelargen testom i ostali su test-negativni.

Podaci iz SAD i sjeverne Evrope (3) ukazuju na bovinu brucelozu kao glavni, a često i jedini izvor humanih infekcija. Mazzetti (2) napominje da je bruceloza goveda u Lombardiji jako proširena, ali izričito naglašuje da je nekontagiozna za ljude. Sličan podatak iznosi D'Allesio, koji navodi da je u milanskoj oblasti oko 67% goveda inficirano brucelozom, ali da pojave oboljenja među izloženim osobama nema (6).

Mi smo promatranjem autohtone bruceloze goveda na području Tolmina došli do sličnih rezultata (7).

Ekološki faktori koji uslovljavaju razvoj i opstanak stanovitih vrsta životinja razlikuju se prema geografskim širinama, klimi, geoformaciji, ishrani i mnogim drugim internim i eksternim faktorima koji sudjeluju u stvaranju bitnih odlika jedne životinjske vrste. Uzročnik brucele, kao biološka jedinica, uključen je u ta zbivanja u ekološkim prilikama zemalja Sredozemlja gdje izgleda da pasaža kroz organizam koza i ovaca djeluje na bilo koju vrstu brucele u smislu stjecanja patogenih osobina za čovjeka ili drugi životinjski organizam. Na sjeveru Evrope, pod drugim ekološkim uvjetima, takvo svojstvo pripada govedu. Pojavu bruceloze u Istri i Slovenskom krasu ne možemo promatrati sasvim izdvojeno od bruceloze Apeninskog poluotoka, koja je u krajnjoj liniji samo dio bruceloze Sredozemlja. Naša Istra i Slovensko primorje nalazili su se preko 20 godina u geopolitičkim granicama Italije. Iz Italije je regeneriran njen stočni fond, a odande su unesene i stočne zaraze (8). Geografska povezanost, isti rezervoar (ovca i koza), izrazita patogenost, visoki indeks kontagioznosti, teški klinički oblici uz visoku smrtnost, iz početka su jasno upućivali na b. melitensis kao etiološki agens naše istarske epidemije. Prva mikrobiološka ispitivanja sojeva, izoliranih od naših bolesnika za vrijeme istarske epidemije, potvrdila su to kliničko mišljenje. Ispitivanja (tabela 1) su izvršena u laboratorijima našeg centra za brucelozu, SES Rijeka, SVIZ Zagreb, Saveznom institutu za brucelozu Beograd, Veterinarskom zavodu Ljubljana, te u centru u Kopenhagenu. Metode indentifikacije bile su: nast na baktotriptoza agaru s Thioninom i s Basić-Fuchsinom, Petragnani-metodom i produkcijom H₂S. Od 48 sojeva, koje smo uspjeli održati na životu, dvadeset i osam ih je identificirano kao b. melitensis, 12 kao b. abortus i 8 kao b. suis. Ove metode upotrebljavane su do 1956. godine kada smo dobili monospecifične serume. 1956. godine izvršene su ponovne identifikacije sojeva metodom monoaaglutinacije m-M 1

m-B i metodom rasta na baktotriptoza agaru s Thioninom, Basic-Fuchsinom i Pyroninom te produkcijom H₂S. Te metode su pokazale znatne razlike između prve i druge identifikacije sojeva (tabela 2). Metoda monoaaglutinacije, kojom smo ispitali 45 sojeva (u jednoj kulturi zagađenje, a dva soja u R fazi), dala je 21 varijantu b. suis, 19 varijanti b. abortus, 3 varijante b. intermedia i samo jednu varijantu b. melitensis, dok je jedna kultura ostala neidentificirana. Ovakve razlike su nas ponukale da jedan dio naših kultura pošaljemo na ispitivanje prof. Cruickshanku J. u London (9), a drugi dio prof. dr Reneuxu u Tunis. Nalazi ovih istaknutih stručnjaka i njihovih laboratorija prikazani su na tabeli 3. i 4. Ti nalazi su gotovo u potpunosti potvrdili naše kontrolne nalaze i jednom preciznijom serološkom metodom identificirali do tada smatrane sojeve varijante melitensis kao varijante suis i abortus. Odmah nam se nametnula misao o eventualnoj mutaciji sojeva pasažom, ali smo tu misao odbacili nakon usmenog saopćenja prof. Renouxu da je najveći broj sojeva primljenih iz Italije (rezervoar ovca i koza) mogao identificirati kao b. suis i b. abortus (10). Logičan je dakle zaključak da je potpuno neispravno poistovetiti rezervoar u prirodi s odgovarajućim sojem, kao što i izolacija određene varijante kod bolesnog čovjeka ne opravdava zaključak da je određena životinjska vrsta nosilac. Opravdano je mišljenje da pojedine životinjske vrste u raznim uvjetima preuzimaju ulogu nosioca za čovjeka patogenih sojeva, bez obzira na njihovu varijantu. Isto tako da sve varijante u danim prilikama izazivaju podjednako teške kliničke slike bolesti kod čovjeka. Za identifikaciju i precizniju etiološku dijagnosu potrebno je kombinirati, prema citiranom zaključku komiteta eksperata za brucelozu, konvencionalne testove sa serološkim metodama.

Zaključak

Autori ukazuju da je veoma teško potpuno difrencirati pojedine vrste brucele konvencionalnim mikrobiološkim pretragama i naglašuju nužnost istovremenog serološkog testiranja u epidemiji Istre. Tek završeni rezultati pretraga kombiniranim konvencionalnim mikrobiološkim i modernim serološkim metodama razjasnili su pravu prirodu patogenih agensa. Rezervoar i izvor zaraze u istarskoj epidemiji bila je sitna stoka Istarskog i Slovenskog krasa, dok su najčešće zastupljene varijante brucele bile b. suis i b. abortus. Ispitivanja endemične bruceloze Apeninskog poluotoka otkrila su jednake izvore i iste uzročnike koji kroz stoljeća održavaju zooantropozu u istočnom dijelu Mediterana. S obzirom na postojeće okolnosti potrebno je i našu istarsku epizootiju i epidemiju smatrati epizodom tog dijela Sredozemlja.

Uspoređujući epizootska ispitivanja s Mediterana s onim iz zemalja sjeverne Evrope, vidimo da uz iste tipove uzročnika postoje različiti rezervoari u prirodi. Dok u našim krajevima caprovini izvori imaju osnovno epidemiološko značenje, dotle je u sjevernoj Evropi glavni nosilac i izvor zaraze za čovjeka govedo. Vjerojatno ekološki uvjeti imaju kod nekih vrsta životinja u određenim geografskim područjima stanovitu ulogu, zbog koje brucele pasažom kroz takvu životinju postaju izrazito patogene. Svakako bi problemu domaćina brucele trebalo posvetiti daleko više pažnje i usmjeriti ispitivanja u pojedinim epizootijama ne samo na varijantu brucele nego i na odnos patogenosti brucele prema osnovnom domaćinu, drugim životinjama i čovjeku.

TABELA 3.
BRUCELLA STRAINS FROM YUGOSLAVIA SUBMITTED BY
Prof. R. Cruickshank, August 1956.

No.	Designation as submitted	Necessity for added CO ₂			H ₂ S production on Day			4	Dye Test:			Identification
		1	2	3	Grows in presence of Thio-nin	Basic Methyl Fuchsin violet	Agglutination with mono-specific sera A M					
1	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
2	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
3	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
4	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
6	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
8	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
13	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
14	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
17	Suis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
18	Ab. (bovis)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
20	Ab. (bovis)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
25	Suis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
26	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
32	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
46	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
53	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
54	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
55	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
57	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
58	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
59	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
61	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
65	Mel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	
Control Strains												
Ab		+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. abortus	
Mel		+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. melitensis	
Suis		+	+	+	+	+	+	+	+	+	Br. suis	

Culture was labelled 9

TABELA 4.

INSTITUT PASTEUR
DE TUNIS

IDENTIFICATION DES SOUCHES REÇUES DE YUGOSLAVIE

Notre n ²	Votre n ²	T	F	SH ₂
56 D. 86	1	+	—	—
56 D. 87	2	—	—	—
56 D. 88	3	—	—	—
56 D. 89	5	—	—	—
56 D. 90	6	—	—	—
56 D. 91	9	—	—	—
56 D. 92	13	+	—	+ 2 j.
56 D. 93	14	—	—	—
56 D. 94*	17	+	—	+ 3 j.
56 D. 95*	18 Zagreb	+	—	+ 3 j.
56 D. 96*	20 Zagreb	—	+	+ 1 j.
56 D. 97	22 Angleter.	+	—	+ 4 j.
56 D. 98	25 Zagreb	—	—	+ 1 j.
56 D. 99	26	+	—	+ 3 j.
56 D. 100	27	+	—	+ 3 j.
56 D. 101	28	+	—	+ 3 j.
56 D. 102	30	+	—	+ 3 j.
56 D. 103	31	+	—	+ 3 j.
56 D. 104	32	—	+	+ 3 j.
56 D. 105	33	+	+	—
56 D. 106	43	—	+	+
56 D. 107	44	—	+	+ 2 j.
56 D. 108	45	+	+	+ 2 j.
56 D. 109	46	—	—	—
56 D. 110	48	morte	—	—
56 D. 111	50	—	+	+ 3 j.
56 D. 112	51	—	+	+ 1 j.
56 D. 113	53	—	+	+ 1 j.
56 D. 114	54	—	+	+ 1 j.
56 D. 115	55	—	+	—
56 D. 116	57	—	+	+ 2 j.
56 D. 117	58	—	+	+ 2 j.
56 D. 118	59	+	+	+ 3 j.
56 D. 119	61	—	+	+ 3 j.
56 D. 120	65	+	+	+++ 4 j.
56 D. 121	66 Weybr.	—	+	+ 1 j.
56 D. 122	67 Weybr.	—	+	+ 1 j.
56 D. 123	68 Weybr.	+	—	+++ 4 j.

* Identification après sélection d' une colonie smooth.

Thionie, Fuchsiue: Milieu Albimi Agar contenant 1:80.000 de SH₂
: Milieu gélose au foie (Stafseth) papier au
Observation 4 jours.

Uréase	Acriflavine	Sérologie	Résultate
9	+++		souche »rough«
6	—	A	Br. suis
9	—	A	Br. abortus
3	—	A	Br. suis
4	+++	A	Br. suis
9	—	A	Br. abortus
1	—	A	Br. suis
53	—	A	Br. abortus
5	+++		souche »rough«
8	++		souche »rough«
4	—	A	Br. suis
4	—	A	Br. intermedia
2	+++		souche »rough«
6	—	A	Br. abortus
7	—	A 160. M 20	Br. intermedia
17	—	A	Br. abortus
17	—	A	Br. abortus
8	—	A	Br. intermedia Br. intermedia
6	—	A	Br. abortus
8	—	A	Br. abortus
7	—	A	Br. abortus
6	—	A	Br. abortus
5	—	A	Br. abortus
9	—	A	Br. intermedia
8	—	A	Br. abortus
1	—	A	Br. intermedia (?)
1 h	—	A	Br. abortus
1 h	—	A	Br. abortus
1	—	A	Br. suis

colorant »National Aniline Co.«
sous acétate de plomb changé chaque jour.

SUMMARY
ETHIOLOGY OF BRUCELLOSIS EPIDEMIC IN ISTRIA

V. Rukavina, M. Cezner, A. Wolf

The authors point out that it is very difficult to completely differentiate particular strains of brucella by conventional microbiological methods. Therefore the necessity of simultaneous serological testing. In the epidemic in Istria, only the final results of examinations by combined conventional microbiologic and modern serologic methods cleared the real nature of pathogenic agent. The reservoir and the source of infection was found to be in small domestic animals. The most common types of brucella were brucella suis and brucella abortus. The studies of endemic brucellosis in the Apennin peninsula disclosed the same sources and agents, which through centuries maintain the zoonosis in the eastern parts of the Mediterranean. With regard to existing circumstances it is necessary to consider our istrian epizootic and epidemic as an episode of this part of Mediterranean.

Comparing the epizootic studies in the Mediterranean with those in the North European countries we can see that with the same types of agents exist different reservoirs in the nature. In our parts capro-bovine sources have the basic epidemiological importance, whereas in North Europe the main carriers and the source of infection for humans is the cattle. Probably ecological conditions in some species of animals in determined geographical regions play a certain role, because of which brucellas, when passing through such animals become definitely pathogenic. Anyway, much more attention should be given to the problem of the host of brucellas and direct the investigations in each particular epizootic not only to the sort of brucella, but also to the relation of pathogenicity of brucella for the original host, for other animals and for humans.

LITERATURA

1. WHO (Bruc.): Speciation in the genus brucella, Synopsis, 225, 1962.
2. Massetti, G.: Il problema della rarta della brucellosi da brucecella abortus nei paesi Mediterranei, IV Congresso international De Hygiene y Medicina Mediterranea, Barcelona, 1953.
3. Spink, W., W.: The nature of brucellosis, Univ. of Minnesota, Minneapolis, 1956.
4. Böhm, O. Spiler: Brucella suis kao uzročnik epizootije svinja, Veterinarski arhiv, 25:10, 1955.
5. Cit.: Hopman, J.: Brucellosis in the SSSR, National institute of health, Washington, 1959.
6. Piccinini, D'Allesio, Bol. Ist. Sier. Milanese, 15:390, 1936.
7. Rukavina, V.: Suvremeni pogledi na epidemiologiju bruceloze, Higijena, 13:30, 1961.
8. Rukavina, V.: Malteška groznica u Istri, Naklada Zbora liječnika Hrvatske, Zagreb 1949.
9. Cruickshank, J.: Observation on brucella species based on examination of 800 strains, J. of Hygiene, 1:1954.
10. Renoux, G.: Pismo prof. dr Rukavini od 17. VII 1956.