

## 2. Epizootologia, choroby inwazyjne i epidemiologia porównawcza

Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires — Alfort, France.

Kierownik J. P. THIERY

DR CZESŁAW MAĆKOWIAK

### Reakcje serologiczne w diagnostyce zarazy stadniczej\*)

Les Réactions sérologiques dans le diagnostic de la Dourine

Tematem pracy jest diagnostyka serologiczna zarazy stadniczej w związku z epizootją, której istnienie zostało stwierdzone na terenie Francji w listopadzie 1945. Obserwacje dotyczą okresu od 1 grudnia 1945 do 15 grudnia 1946.

Pierwszym zagadnieniem, dla władz sanitarnych było przeprowadzenie przy pomocy badań serologicznych „inwentarza” koni dotkniętych zarazą, by móc je odizolować, a równocześnie, by zdać sobie sprawę z rozmiaru epizootcji.

Powierzono nam wówczas w Centralnym Laboratorium Badań Weterynaryjnych zorganizowanie tego działu, co umożliwiło nam wykonanie pracy.

W tym okresie żadne laboratorium europejskie ani północno afrykańskie nie rozporządzało antygenem specyficznym dla przeprowadzenia reakcji wiązania dopełniacza.

Już pierwsze próby wykazały, że antygeny alkoholowe wykonane według metody Dahmena, czy Zottnera, są o wiele mniej czułe, niż antygen sporządzony według metody klasycznej Watsona, zmodyfikowanej przez Van Goldsenhovena. Polega ona na oddzieleniu świdrowców, przez wirowanie frakcjonowane, z krwi białych szczurów, zakażonych *Trypanosoma equiperdum* i skrwawionych po 96—120 godz., to znaczy w szczytowym punkcie rozwoju pasożytów. Otrzymaną w ten sposób masę świdrowców, odizolowaną od krwinek, miesza się z podwójną ilością płynu Mohlera (roztwór fizjologiczny, gliceryna aa) lub Watsona (roztwór fizjologiczny 90, gliceryna 10, formalina 0,1).

Ujemną stroną tego antygeny jest jego nietrwałość. Przy starannym oddzieleniu krwinek można go przechowywać w chłodni i w ciemności najwyżej miesiąc, miareczkując co 8 dni wartość antygenową. Przesyłanie antygeny jest wskutek tego niemożliwe. Używanie białych szczurów okazało się dość skomplikowane i kosztowne, rozpoczęto więc przygotowanie antygeny na psach z wyciętą śledzioną. Zakażając takiego psa w miesiąc po operacji, można otrzymać po skrwawieniu dużą ilość świdrowców. Antygen przygotowany w ten sam sposób

jest również czuły co i poprzedni, przyczym pies o wadze około 12 kg może dać tę samą ilość antygeny, co 200 szczurów.

Opierając się na doświadczeniu belgijskim z epizootji w latach 1920—1922 zastosowano przy wykonywaniu reakcji metodą uproszczoną, polegającą na użyciu dla każdej surowicy dwu próbek, jednej przeznaczonej dla reakcji i drugiej kontrolnej.

Proporcje są następujące:

	Próbówka I	Próbówka kontr
surowica do zbadania	0,15 cm	0,15 cm
antigen	0,15 cm	—
Komplement wg miareczkowania wykonywanego codziennie	0,35 cm	0,35 cm

roztwór fizjologiczny dla uzupełnienia do 2,5 cm.

Próbki umieszcza się na 20 min. w łaźni wodnej o temperaturze 40°, poczym dodaje się 1 cm zespołu hemolitycznego, co pozostawia się jeszcze 20 min. w łaźni wodnej, a następnie odczytuje się wyniki.

Metoda ta prosta i łatwa do wykonania w badaniach seryjnych okazała się wystarczająco czułą i dała bardzo dobre wyniki. W przypadkach wątpliwych robi się dodatkową próbę przy pomocy metody klasycznej, Calmette-Massol.

Godnym uwagi jest drobny szczegół techniczny, mogący jednak mieć duży wpływ na wyniki reakcji. Chodzi mianowicie o ogrzewanie surowicy.

Watson, a następnie Bessemans wykazali, że surowica normalna konia zawiera pewną ilość substancji natury białkowej, które mogą w obecności antygeny zarazy stadniczej wiązać komplement, dając niespecyficzne zahamowanie hemolizy. Wpływ tych substancji znika niekompletnie przy ogrzewaniu do 58—59°, dopiero ogrzanie do 60° przez co najmniej 30 min. niszczy je zupełnie. Przy badaniu surowicy osłów trzeba ją ogrzewać nawet do 62°. W na-

\*) Referat z pracy doktorskiej przyjętej w marcu 1947 i przedstawionej do nagrody. Imprimerie R. Foulon, Paris 1947. 80 stron.

szym doświadczeniu mieliśmy możność stwierdzić w 10 przypadkach wystąpienie reakcji niespecyficznej spowodowanej niewystarczającym ogrzewaniem. Po ogrzaniu do 60° te same surowice dały wyniki negatywne.

Przeciwciała specyficzne znoszą ogrzewanie nawet do 64°, tak że nie zachodzi obawa zniszczenia ich. Teoretycznie mogą istnieć surowice, zawierające tak małą ilość przeciwciał, że ogrzewanie do 60° mogłoby je zniszczyć, lecz w praktyce w zarazie stadniczej obawa ta nie znajduje potwierdzenia.

W omawianym okresie przebadano ponad 40.000 koni, uzyskując 174 wyniki pozytywne i 370 wątpliwych. Spośród tych ostatnich po kilku miesięcznej obserwacji tylko 4 okazały się zakażone, reszta została zwolniona spod kontroli. Wiele z koni dających reakcję pozytywną nie przedstawiało żadnych objawów klinicznych zarazy stadniczej w momencie pierwszego badania. Po pewnym jednak czasie, u niektórych wystąpiły objawy potwierdzające słuszność wyników badań serologicznych. Wiązanie dopełniacza raz jeszcze okazało się doskonałą metodą diagnostyczną przy zarazie stadniczej. Tym niemniej trzeba przyjąć, że mimo najstaranniejszej kontroli wszystkich elementów, przeprowadzonej każdorazowo, mogą zajść nieprzewidziane okoliczności, które powodują mylne wyniki. W doświadczeniu wykonanym stwierdziłem możliwość otrzymania dwóch, do trzech procent błędnych wyników.

W związku z tym nasuwała się konieczność szukania drugiej metody, również czulej jak i wiązanie dopełniacza, gdyż jasnym jest, że równoczesne użycie do badania dwu metod zmniejsza do minimum możliwość omyłek w wynikach. Przebadano więc porównawczo dwie reakcje niespecyficzne: formol-żelifikację, i flokulację oraz dwie specyficzne: aglutynację i konglutynację.

Autorzy rumuńscy Ciuca i Cernaianu, opierając się na długoletnim doświadczeniu z wieloma tysiącami koni, propagowali użycie formol-żelifikacji, jako dającej dobre wyniki w diagnozie serologicznej. Jednak zgodnie z oczekiwaniami obie metody niespecyficzne nie dały w naszym doświadczeniu dobrych wyników.

Znaną jest rzeczą, że w wielu chorobach pasożytniczych i bakteryjnych o charakterze chronicznym, zarówno u ludzi jak i u zwierząt, zachodzą w surowicy zmiany koloidalne. Równowaga koloidalna surowicy znajduje swój wyraz we współczynniku — albuminy / globuliny.

Zaobserwowano, że w przebiegu tych chorób wspomniany współczynnik zmniejsza się przez zwiększenie się ilości globulin, a zwłaszcza jednej z nich — euglobuliny. Molekuły globulin, będąc większymi od albumin mają tendencję do wytrącania się. Wystarczy nieraz dolanie do surowicy wody przekroplonej, aby wywołać taką precypitację. Z tej własności wyłonił się cały szereg metod diagnostyki serologicznej wielu chorób, na przykład syfilisu. Na niej też polega formol-żelifikacja, w której dodaje się formalinę, lub flokulacja, według Bennett i Kenny, w której dodaje się sublimatu.

Z obu tych reakcji flokulacja okazała się bardziej czułą, ale daje ona wyniki zbyt niepewne, by można było porównać ją z wiązaniem dopełniacza. Obie metody mogą nieraz wyjaśnić przypadki wątpliwe. Z reakcji specyficznych aglutynacja wprowadzona do diagnostyki zarazy stadniczej przez Langego nastrocza dużych trudności technicznych i nie jest czuła. Jedynie konglutynacja okazała tę samą wartość co i wiązanie dopełniacza.

W doświadczeniu zajęto się również sprawdzeniem wartości leczenia zarazy stadniczej novoarsenobenzolem wg metody Ciuki i wpływem tego leczenia na reakcje serologiczne. Kwestia ta jest omówiona w innym artykule (Med. Wet. 1947, nr 10, str. 651).

Tutaj zaznaczyć jednak trzeba, że novoarsenobenzol zdaje się nie spełniać pokładanych w nim nadziei i mimo wyraźnej poprawy kondycji zwierząt leczonych nie daje kompletnego wyleczenia organizmu, lub daje je stosunkowo rzadko. Dlatego też trzeba być bardzo ostrożnym przy uznawaniu zwierząt za wyleczone.

#### CZESŁAW MAĆKOWIAK

#### SEROLOGICAL REACTIONS IN THE DIAGNOSIS OF EQUINE INFECTIOUS ANAEMIA.

##### Summary

The author studied the possibility of applying for the diagnosis of Equine infectious anaemia the following tests: Formol-gel, flocculation, agglutination and conglutination. The first two tests failed to give any positive results. The agglutination test offered too many technical difficulties and proved to be little sensitive; conglutination test, only, appeared as sensitive as the complement fixation test. There is also a marginal note, stating that the treatment, according to Ciuk's method of the horse with novoarsenobenzol, did not prove satisfactorily.