

JERZY WIŚNIEWSKI

## Zastosowanie barwionych antygenów w masowych badaniach krwi odczynem wiązania dopełniacza

Państwowy Instytut Weterynaryjny — Z Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Krakowie  
Kierownik: dr A. RATOMSKI

Pracując w laboratorium rozpoznawczym miałem możliwość w ciągu kilku lat wykonywać i obserwować masowe badania odczynem wiązania dopełniacza.

Badania te wykonują pracownicy naukowcy i pomocnicze siły techniczne. Na laboratoriach spoczywa część techniczna wykonania odczynu, a więc przygotowanie surowicy, następnie jej napipetowanie, rozlewanie dalszych składników i inne czynności aż do przedłożenia lekarzowi prób do odczytania. Większa część tych czynności jest pracą w dużej mierze mechaniczną (np. pipetowanie), a zatem jednostajną i nużącą. Dowiedzonym jest, że takie zmechanizowane zajęcia wykonuje się stosunkowo dużym nakładem energii (zmuszanie się do uwagi i dokładności), co sprawia iż praca ta jest męcząca. Ze zmęczeniem idzie w parze osłabienie pamięci, rozproszenie myśli itp., które to stany zwiększają możliwości popełnienia błędów.

Rozważając błędy, które zdarzają się przy masowych badaniach, wyklucza się nieudolność pracownika, zakładając, że jest on kwalifikowany i wykonuje swoje obowiązki rzetelnie, a jego niedociągnięcia spowodowane są bądź przeciążeniem pracą, bądź swoistymi stanami psychicznymi.

Przy badaniu krwi odczynem wiązania dopełniacza, przywiązuje się stosunkowo najwięcej uwagi do wkraplania antygeny i dopełniacza. Są to płyny bezbarwne, a w próbkach o różnym przekroju trudno czasem po wysokości poziomu cieczy stwierdzić czy dany składnik został wkroplony ze względu na możliwość otrzymania fałszywego wyniku, kwestia ta nabiera szczególnego znaczenia.

Lekarze przeprowadzający badania masowe asekurowają się jeżeli chodzi o tego rodzaju błędy, w ten sposób, że albo sami rozlewają antygen, albo jeżeli to jest niemożliwe ze względu na inne zajęcia, powierzają tę czynność zaufanemu i wypróbowanemu laborantowi. Nie zmienia to jednak postaci rzeczy, gdyż tak lekarz jak i laborant nie są nieomylni.

Mając to na względzie zastosowałem antygeny zabarwione, a nie znajdując w dostępnym mi piśmiennictwie żadnych wzmianek o podobnym uproszczeniu pracy, przeprowadziłem szereg badań w celu stwierdzenia czy antygeny przeze mnie zabarwione wpływają na wynik wykonanego odczynu. Zastosowanie barwionych antygenów daje prostą i łatwą kontrolę, odciąża w dużej mierze pracownika, dając mu możliwość swobodniejszej pracy i zmniejszając jego wysiłek umysłowy. Wkrapając antygen zabarwiony, można w każdej chwili przerwać pracę, by wykonać jakieś inne zajęcie, wymagające natychmiastowego spełnienia, bez obawy że po powrocie do pipetowania zapom-

ni się, do której próbowki ostatnio wkroplono antygen. W ten sposób ogranicza się niemożliwość błędnych wyników.

Oдноśne badania wykonałem przy użyciu antygenów wodnego i alkoholowego zarazy stadniczej, nosaciznowego i brucelozę do wykonania aglutynacji oraz wyciągu do wiązania dopełniacza, uzyskane z Wydziału Rozpoznawczego P.I.W. Ponadto orientacyjnie przebadłem antygen Mc Intosh'a do odczynu Wassermana produkcji P.Z.H. Badania przeprowadzałem porównawczo, stosując do każdej surowicy dwa antygeny, jeden normalny, drugi zabarwiony.

Sposób zabarwienia antygeny jest następujący: do 50 ml normalnie sporządzonego antygeny dodaje się 16 — 20 kropli rozcieńczonej fuchsiny karbolowej (jak do barwienia metodą Grama).

Fuchsyna rozcieńczona:	10 ml fuchsiny karbolowej
	90 ml wody destylowanej
Fuchsyna karbolowa:	10 ml macierzystego (alkoholowego) roztworu fuchsiny
	5 ml kwasu karbolowego ch. cz.
	100 ml wody destylowanej.

Przebadłem ogółem 100 surowic koni, 350 surowic bydła i 26 surowic ludzi. W badaniach na zarazę stadniczą, z braku dodatnich surowic, ograniczyłem się tylko do stwierdzenia, że antygeny zabarwione nie wpływają na wyniki przy surowicach ujemnych. Jeżeli chodzi o nosaciznę to rozporządzałem tylko jedną surowicą dodatnią, przyczem niewielkie różnice w wynikach i to tylko przy bardzo dużych rozcieńczeniach przepisuję błędem technicznym przy sporządzeniu samych rozcieńczeń. Z surowicami ujemnymi otrzymałem zupełną zgodność wyników. Nieliczne badania surowic kiłowych ludzi (4 dodatnie i 22 ujemne), w których również nie wykazałem wpływu barwika na wyniki, mają znaczenie raczej orientacyjne. Stosowanie zabarwionych antygenów przy masowych badaniach krwi ludzi nie jest celowe, ponieważ wykonywanie każdego badania kilkoma różnymi metodami, jak to jest praktykowane w PZH, daje dostateczną kontrolę wyniku.

Badania na brucelozę są oparte na stosunkowo większym materiale. 300 surowic ujemnych dało zupełną zgodność wyników. Surowice dodatnie (50) badałem w rozcieńczeniach od 1/25 (tj. dawka sur. 0,05 ml) do 1/128000. W badaniu porównawczym obydwoma antygenami stwierdzałem pewne nieznaczne różnice, które jak wykazałem następnie, wynikały jedynie z błędów technicznych sporządzania rozcieńczeń. Różnice te polegające na uzyskiwaniu niejedna-

kowego miana i to tylko przy wielkich rozcieńczeniach, nie mają znaczenia praktycznego w badaniach masowych, w których używa się dawki 0,05. ml.

Technika wykonania badań porównawczych polegała na sporządzeniu z każdej badanej surowicy dodatniej trzech rzędów rozcieńczeń od 1/25 — 1/12800. Do pierwszego i drugiego rzędu dodawano jednakowego antygeny normalnego, do trzeciego rzędu antygeny zabarwionego. Różnice w wysokości miana występowały tylko przy bardzo dużych rozcieńczeniach; nie są one następstwem wpływu barwika zawartego w antygenie, gdyż spotyka się je również przy stosowaniu tego samego normalnego antygeny (rzędy I i II), lecz są spowodowane niedoskonałością sporządzania tak wielkich rozcieńczeń.

Sposób uzyskiwania rozcieńczeń był następujący: 1-sza próbówka 0,1 ml surowicy + 0,4 ml płynu fiz-

jol., 2-ga próbówka i następnie po 0,25 ml płynu fizjol. Przenosząc pipetą 1 ml — trową z pierwszej próbówki 0,25 ml wymieszanej z płynem surowicy do próbówki drugiej, a następnie po wymieszaniu znów 0,25 ml do następnej itd. otrzymuje się wzrastające rozcieńczenia.

Reasumując dotychczasowe spostrzeżenia dochodzę do wniosku, że w masowych badaniach na brucelozę można dla zwiększenia dokładności w pracy, eliminacji fałszywych wyników i odciążenia pracowników, stosować zabarwiony antygen, który nie wpływa na wynik samego badania. Należy zwrócić uwagę na nieznaczny zmianę zabarwienia z normalnie czerwono-ceglastego (krwinki) na lekko amarantowo ceglaste (krwinki i fuchsyna). — Badania na nosaciznę i zarzęć stadniczą wymagają dalszego uzupełnienia na większej ilości dodatnich surowic.

KAZIMIERZ ŁAZUGA

## Badania nad leukergią u bydła i świń

Z Zakładu Mikrobiologii i Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego Uniw. Marii Curie - Skłodowskiej  
Kierownik: Prof. Dr JÓZEF PARNAS

Podstawowym zjawiskiem leukergii jest występująca w różnych chorobach gorączkowych skłonność leukocytów do zlepiania się we krwi cytrynianowej w mniejsze lub większe zespoły komórek. Jeśli leukergia jest wybitna widać zlepy natychmiast po pobraniu krwi i proces ten obejmuje 60—80% leukocytów, w innych wypadkach krew musi stać kilka godzin. Prawidłowa krew tego zjawiska nie wykazuje. Przeważnie zlepiają się tylko neutrofile i cechą zmienną jest, że istnieje wyraźna tendencja do powstawiania zlepy cytotologicznie jednorodnych, zlepy wyłącznie granulocytarne lub wyłącznie limfocytarne. Także trombocyty biorą udział i zlepiają się one w duże aglomeraty, często zmieszane z granulocytami. W czasie badań okazało się, że leukergiczne ciała białe są zarówno pod względem swojej ruchliwości, jak i czynności żernej bardziej aktywne niż nieleukergiczne, wobec czego słowo leukergia należy rozumieć jako aktywacja aparatu leukocytarnego. Leukergia czyli zwiększona lepkość i skłonność do aglomeracji białych ciałek występuje przy każdej przyspieszonej leukopoezie.

Mysłą przewodnią moich badań było zbadanie przydatności próby leukergicznej, jako próby pomocniczej w wykrywaniu chorób zwierzęcych przed ubojem. Krew pobierałem pipetą z przeciętych naczyń szklanych w trakcie uboju. Wszystkich prób wykonałem 212 z tego 40 u świń, u 109 sztuk bydła, u 60 sztuk cieląt, jednego konia i jednej owcy oraz kozy. Na 40 prób przeprowadzonych u świń u trzynastu sztuk (32,5%) wypadła wybitna leukergia u reszty ujemnie. U świń, które dały dodatnią leukergię od ++ do ++++ stwierdzano zlepy granulocytarne, po 10 i więcej komórek. Sztuki wykazujące dodatnią próbę leukergiczną badaniem klinicznym przed ubojem jak również badaniem sekcijnym żadnych objawów chorobowych nie wykazywały. Zatem należy przypuszczać, że istniała jakaś infekcja utajona

lub też w pierwszych stadiach rozwojowych, względnie u świń występuje leukergia fizjologicznie. Jednak tego zagadnienia u świń nie mogłem kontynuować dalej ponieważ w rzeźni spotykałem się ze sztukami dużymi a nie wiadomo jak się zachowuje odczyn leukergiczny u prosiąt. Występowanie leukergii u świń w tak dużym procencie, możemy sobie wytłumaczyć poniekąd ich sposobem bytowania, który sprzyja do wystąpienia u nich schorzeń w formach latentnych. Ze 109 sztuk bydła, 9 sztuk wykazało dodatnią leukergię od + do +++, reszta ujemną. Z dodatnich odczynów leukergicznych 2 sztuki były poddane ubojowi z konieczności i na sekcji wykazano u jednej zapalenie otrzewnej na tle ciała obcego, leukergia +++, u drugiej pericarditis traumatica, leukergia ++; u innej sztuki stwierdzono obrzęk wątroby i zapalenie torebki wątrobowej oraz sekwester w płucach o zawartości bryjowatej, śmietanowatej, leukergia ++; u następnej sztuki stwierdzono zapalenie płuc i opłucnej, leukergia ++; u innej znów spotkano ropień wielkości pięści w okolicy zatoki Highmora z prawej strony, leukergia ++; u pozostałych 4 sztuk dodatnich, nie stwierdzono zmian makroskopowych anatomo-patologicznych. Dalej u jednej sztuki na sekcji stwierdzono gruźlicę płuc, jelit oraz otrzewnej, leukergia wypadła ujemnie; u drugiej stwierdzono promienicę kości lewego ramienia żuchwy, leukergia również wypadła ujemnie. Z 60 sztuk cieląt wynik dodatni leukergii dały 4 sztuki, u których stwierdzono w 3 wypadkach zapalenie stawów i pewnością, leukergia wypadła od ++ do ++++; w jednym wypadku stwierdzono żółtaczkę o nieustalonej przyczynie, leukergia ++. U konia, który został zabity z urzędu, podejrzenie nosacizny, na sekcji stwierdzono guzki nosacizowe wielkości ziarna prosa, do grochu, w płucach, wątrobie, śledzionie oraz jelicie ślepym, leukergia ++.