

(15 mg/kg) привело к прекращению эпизоотии. Дальнейшего заболевания животных не наблюдалось. Серологическими исследованиями 238 взрослых животных определено 42,48% положительно реагирующих а с 239 молодёжи — 0,5% и к этому в niskich титрах. В 10 месяцев позже серологический контроль выявил с 265 исследованных животных только 2 положительно реагирующих животных в титре 1:30.

JÓZEF ZWIERZ & JAN ZWIERZCHOWSKI

CONTROL OF THE EPIZOOTIC DISEASE LEPTOSPIROSIS OF SILVER FOXES BY THE USE OF SERUM, VACCINE AND ANTIBIOTICS

Summary

The authors' observations of the epizootic disease leptospirosis caused by *L. icterohaemorrhagiae* in a farm of silver foxes. The disease run an acute course and was manifested by disturbances of the alimentary tract, distinctly marked jaundice and hae-

morrhages from the mucous membranes. The temperature was normal. All females affected by the disease were at that time in the last days of pregnancy and all aborted. The duration of the disease 2—3 days. Post-mortem findings: general jaundice, subcutaneous haemorrhages and haemorrhages in the internal organs, mucous and serous membranes and haemorrhagic infarcts in the lungs. The epizootic course of the disease increased rapidly and on the 6th day following the appearance of the first pathological manifestations 25 per cent of the animals were affected. In the course of 6 days 44 foxes died. The spreading of the disease was inhibited by the administration of the serum „leptospirin“, the vaccine „leptospirovac“ and the simultaneous treatment with penicillin (100.000 I. U.) and aureomycin (30 mg./kg.). Pregnant females were treated with aureomycin (15 mg./kg.). Following the treatment no more cases of the disease were recorded. Serologic examinations of all animals revealed, that in 233 silver foxes, 42.48 per cent reacted positively. In 739 young foxes there were 0,5 per cent of positive results even at low titres. Control serologic examination of the flock performed after 10 months following the outbreak of the disease proved that in 265 animals there were only 2 positively reacting foxes at the titre 1:30.

WOJCIECH RADOMIŃSKI I ANDRZEJ BOSKI

Próby zastosowania odczynu wiązania dopełniacza w rozpoznawaniu niedokrwistości zakaźnej koni

I. Badanie nad specyficznością o.w.d. wg Altara'y, Serra'y, Guarini'ego

Z Pracowni Chorób Koni Instytutu Weterynarii w Puławach
Kierownik: WOJCIECH RADOMIŃSKI

Przyżyciowe rozpoznawanie niedokrwistości zakaźnej koni (n.z.k.) pozostaje nadal sprawą otwartą. Spośród wielu istniejących metod żadnej — jak dotychczas — nie można uznać za całkowicie pewną, poza próbą biologiczną, która jednak ze względu na wysokie koszty i długi czas trwania, nie nadaje się do stosowania na szeroką skalę. Dlatego do tej pory diagnozę przyżyciową opiera się na zespole objawów zestawionych w zależności od obowiązujących w danym kraju przepisów.

I tak np. w Polsce, — zgodnie z instrukcją Min. Rol. — w skład badań wchodzi: wywiad epizootiologiczny, badania kliniczne (stan odżywienia, ciepłota wewnętrzna, wybroczyny na błonach śluzowych, wskaźnik pobudliwości serca, stan ogólny zwierzęcia (badania laboratoryjne krwi i kału) oraz — za zgodą Min. Rol. — próba biologiczna. Pozostałe obowiązujące badania jak anatomo — i histopatologiczne dotyczą już diagnozy pośmiertnej. W Japonii, gdzie n. z. k. stanowi bardzo poważny problem epizootiologiczny, a rozpoznanie jest tym trudniejsze, że schorzenie to przez swój epizootyczny charakter przebiega po największej części wśród nieznacznych objawów klinicznych, diagnoza przyżyciowa opiera się na czterech podstawowych objawach: 1. febris recurrens, 2. anemia, 3. niewydolność narządu krążenia, określaną wskaźnikiem pobudliwości serca i 4. pojawienie się syderocytów we krwi krążącej. Jeżeli u konia podejrzanego stwierdza się dwa z trzech pierwszych objawów, a próba z syderocytami wypada pozytywnie, to rozpoznanie uważa się za zdecydowanie pewne. Jeżeli ta ostatnia próba wypada negatywnie, dodatkowo przeprowadza się badanie histologiczne bioptrycznie pobranych skrawków wątroby (Ishii, 12).

W Szwecji walka z n.z.k. polega na wybijaniu sztuk podejrzanych o chorobę, przy czym jako podstawę uzasadniającą podejrzenie przyjmuje się dodatni wynik badań histologicznych próbek wątroby pobranych bioptrycznie wraz ze stwierdzeniem tak zwanych „punktów podjęzykowych“ (Alegren, 18).

Wartość wyżej wymienionych metod jest oceniana różnie; żaden z objawów stanowiących ich podstawę nie jest dla n.z.k. patognomiczny, a poza tym, albo zależy od okresu i formy schorzenia, względnie występuje również w wielu innych stanach chorobowych. Przykłady: syderocyty we krwi krążącej pojawiają się także m. in. przy grypie koni, w zakażeniach ogniskowych, żoźlach, niezbytach górnych dróg oddechowych i in., poza tym zanikają one w okresach międzygorączkowych (Schützler — 14), a t. zw. punkty podjęzykowe, których znaczenie diagnostyczne podkreślone jest przez wielu autorów między innymi przez Steck'a (17) Alegren'a (18) Müller'a i Schützler'a (27) stosownie do wyników badań Shoop'a (19) w największej ilości (ponad 200) wystąpiły u koni z posocznicą bakteryjną wywołaną przez *Streptococcus zoepidemicus* względnie *Micrococcus aureus*, na podstawie czego autor uznaje tę metodę jako dopuszczającą, a nie determinującą n.z.k. Również i inne zalecane przez niektórych autorów próby oceniane są w sposób sprzeczny. Można by tu wymienić stwierdzenie nieobecności zimnych hemaglutynin w surowicy koni chorych (Zebrowski i współpr. — 15, 16), tworzenie się t. zw. ciałek wewnętrznych (Heinz'a) w erytrocytach koni chorych (Matthias — 24, 25, określenie wskaźnika myelopoezy w obrazie szpiku kostnego (Pehl) i in.

Wobec tej niepewności wymienionych metod przyżyciowego rozpoznawania n.z.k. jest rzeczą zupełnie zrozumiałą, że ogłoszona przez włoskich uczonych Altara'ę, Serra'ę i Guarini'ego (1) metoda adaptacji odczynu wiązania dopełniacza (o.w.d.) do

diagnozy n.z.k. zainteresowała wszystkich badaczy zajmujących się problemem n.z.k. w ogóle. Tak samo oczywisty jest fakt, że została ona oceniona przez badaczy różnych krajów w sposób jak najbardziej sprzeczny. Specjalne posiedzenie Komisji O. I. E., które odbyło się w Turynie w dniach 3—5 listopada 1955 r. (6) dostarczyło wiele bardzo cennego materiału dotyczącego tej próby. Nie postawiło ono jednak przysłowiowej „kropki nad i” w tej materii. Przeciwnie stwierdzając z jednej strony sprzeczność opinii, co do przedmiotu sprawy, z drugiej strony słuszność samego założenia kierunku serologicznego, zgłosiło apel o prowadzenie dalszych badań w tym zakresie.

Badania własne

Założeniem niniejszej pracy są próby zastosowania do diagnozy n.z.k. odczynu wiązania dopełniacza w ogóle, a w szczególności w oparciu o modyfikację tego odczynu wg Altara'y, Serray i Guarini'ego. Pragniemy jednak podkreślić, że nie chodzi nam o dokładne powtórzenie i odtworzenie odczynu Altara'y gdyż było to przedmiotem pracy wielu badaczy m. in. w Polsce Brilla i Woyciechowskiej (5), a przyjmując odczyn Altara'y za etap wyjściowy pragniemy — zgodnie z zaleceniem Komisji O.I.E. — podjąć próby wyszukania metod, które nadałyby odczynowi wiązania dopełniacza w zastosowaniu do n.z.k. większą specyficzność. Dlatego w pierwszym rzędzie zajęliśmy się badaniem specyficzności próby włoskiej, a ściślej biorąc stwierdzeniem o ile i w jakim stopniu, odczyn ten będzie wypadał podobnie przy zastosowaniu jako antygeny wyciągu ze śledzion koni chorych jak i zdrowych oraz jak dalece wyniki odczynu będą pokrywały się z wynikami badań kontrolnych w kierunku n.z.k.

Materiał i metodyka

Antygen: przygotowywano według przepisu podanego przez autorów włoskich używając śledzion koni sztucznie zakażonych i pewnie klinicznie, hematologicznie i histopatologicznie reagujących oraz koni całkowicie zdrowych. Do odczynu głównego używano antygeny wg jego miana.

Surowice: początkowo używano do odczynu jednocześnie surowice pełne oraz ich frakcje proteinowe (pseudoglobuliny) otrzymane drogą precypitacji siarczanem amonu. Jednak wobec braku wyraźnych różnic pomiędzy wynikami reakcji, dalsze próby wykonywano jedynie z surowicami pełnymi. Kontrolę stanowiły surowice dodatnie pochodzące od koni sztucznie zakażonych, konserwowane (merthiolatem, chloroformem, chinozolem i karbolem) i liofilizowane.

Jako dopełniacza używano świeżą surowicę świnki morskiej, a następnie — po stwierdzeniu braku różnic w przebiegu odczynu — konserwowaną *ana partes* płynem Witte'go.

System hemolityczny: jak zwykle w o.w.d.

Wykonanie odczynu

Początkowo odczyn wykonywano ściśle wg techniki podanej przez autorów włoskich. Jed-

nakże wysokie i różne własności antykomplementarne surowic końskich przy normalnym miareczkowaniu dopełniacza, zaciemniały właściwy przebieg reakcji i nie pozwalały na precyzyjne odczytywanie i interpretację wyników. Próby zniesienia tych własności za pomocą inaktywacji nie powiodły się, gdyż surowice ogrzewane w temperaturze 56°C przez pół godziny utraciły wprawdzie zdolność samorzutnego wiązania dopełniacza, ale równocześnie stały się całkowicie nieczynne w odczynie głównym, niezależnie od tego czy pochodziły od koni zdrowych, czy chorych, oraz czy wchodziły w reakcję z wyciągiem śledziony koni chorych czy zdrowych. Pod tym względem spostrzeżenia nasze pokrywają się z wynikami, uzyskanymi przez Trautwein'a (6), natomiast niezgodne są z obserwacjami Likara (6), który twierdzi, że surowice inaktywowane dają te same wyniki, co traktowane 1,5% roztworem NaCl. Również użycie podwójnej, minimalnej, hemolizującej dawki dopełniacza (zgodnie z zaleceniem Likara) nie pozwoliło na uzyskanie zadowalających wyników.

Wobec tego postanowiono miareczkować dopełniacz w obecności surowicy, i to indywidualnie dla każdej surowicy badanej. Postępowanie to pozwoliło raz jeszcze stwierdzić wysokie i nierówne własności antykomplementarne surowic końskich, gdyż np. jeśli najniższe miano hemolizujące dopełniacza wynosiło przy miareczkowaniu normalnym (bez surowicy) 0,05 (dopełniacza 1:10), to w obecności surowic wzrastało do 0,2, 0,25, 0,3 a nawet 0,4 i 0,5 (różnie dla poszczególnych surowic). Do odczynu głównego używano dopełniacz w najmniejszej ilości hemolizującej, miareczkowany jak podano.

Odczyn główny nastawiano dla każdej surowicy równocześnie z dwoma wyciągami śledziony: konia z n. z. k. (sztucznie zakażonego) oraz koni wolnych od n.z.k. Uwzględniano kontrole dla każdej surowicy (bez antygeny) oraz kontrolę antygenów (bez surowic). Jednocześnie obydwie wyciągi kontrolowano liofilizowanymi lub konserwowanymi surowicami dodatnimi oraz surowicami koni zdrowych. Wyniki odczynu interpretowano tylko jako dodatnie (pełne zahamowanie hemolizy) oraz ujemne (pełna hemoliza lub nieznaczne zmętnienie) gdyż przekonano się, że tzw. wyniki wątpliwe po pewnym czasie „przejaśniają się” do pełnej hemolizy względnie są skutkiem usterek technicznych przy miareczkowaniu dopełniacza i stąd przy powtórzeniu próby dają wynik ujemny.

Ogółem przebadano 221 surowic od 186 koni. Konie pochodziły z różnych środowisk należących do 5-ciu grup: 1. konie wg wszelkiego prawdopodobieństwa wolne od n.z.k., pochodzące z jednostki wojskowej (60 koni), 2. konie produkujące surowicę normalną, należące do zakładów produkcyjnych (20 koni), 3. produkujące surowice odpornościowe, a w szczególności surowicę p/różycową, p/zołzową i p/tęczową,

również należące do zakładów produkcyjnych (15 koni), 4. konie robocze, należące do różnych właścicieli; krew pobierano okazjonalnie (10 koni) i wreszcie 5. konie chore oraz podejrzane o chorobę i zarażenie się, znajdujące się w izolatorze n.z.k. (81 koni).

Jako zasadę przyjęto, że w przypadku otrzymania wyniku dodatniego odczynu, próbę powtarzano, a jeśli i powtórna reakcja wypadła pozytywnie, wówczas konia poddawano badaniom kontrolnym (o czym poniżej).

Wyniki: Na 221 wykonanych prób w żadnym wypadku nie otrzymano, ani całkowitego, ani częściowego zahamowania hemolizy przy użyciu antygeny wyciągu śledziony koni zdrowych, natomiast zawsze kontrola nastawiona z liofilizowaną lub konserwowaną surowicą dodatnią oraz z wyciągiem śledziony koni chorych, wykazywała pełne zahamowanie hemolizy.

Wyniki w zakresie poszczególnych grup koni, przedstawiają się następująco:

W grupie 1 obejmującej konie wg wszelkiego prawdopodobieństwa wolne od n.z.k. (konia wojskowe) w pierwszej kolejności badań otrzymano na 60 surowic badanych — 3 wyniki dodatnie. Powtórne badanie tych trzech koni wykonane po upływie jednego miesiąca dało we wszystkich przypadkach wynik ujemny. Ponieważ za pierwszym razem, krew pobierano w krótki czas po dość intensywnym wysiłku (jazda w terenie) natomiast po raz drugi po nocnym wypoczynku, dodatnie wyniki uzyskane w próbie pierwszej przypisano zahamowaniom niespecyficznym, występującym u koni zmęczonych, co byłoby zgodne ze spostrzeżeniami M ö h l m a n n' a (6).

Grupa 2: W skład tej grupy weszło 20 koni produkujących surowicę normalną. Otrzymano dwa wyniki dodatnie, które utrzymały się w dwóch następnych odczynach wykonanych w odstępie jednego miesiąca. Ponieważ obserwacje kliniczne i badania hematologiczne nie uzasadniały podejrzeń o n.z.k. przeprowadzono biopsję wątroby i badanie histologiczne pobranych w ten sposób próbek. Również i w tym wypadku, otrzymano wyniki negatywne. Wobec tego, konie te wyeliminowano z produkcji i poddano dalszej obserwacji, a wyjaśnienie przyczyny tego zjawiska pozostawiono z konieczności na razie jako sprawę otwartą.

Grupa 3 obejmowała 15 koni produkujących surowicę odpornościową, hyperimmunizowanych włoskowcem różycy, paciorkowcem zółtym i laseczką tęcza. W grupie tej nie uzyskano ani jednego wyniku dodatniego.

W grupie 4, do której zaliczono konie robocze różnego pochodzenia z różnych środowisk, „wychwytywane“ zupełnie przypadkowo — również nie uzyskano ani jednego wyniku dodatniego.

Grupa 5, najliczniejsza, stanowiła zasadniczy obiekt naszych badań. Obejmowała ona, 81 koni znajdujących się w izolatorze n.z.k.

w Ch. Sytuacja epizootologiczna w izolatorze przedstawia się następująco: pierwsze upadki koni w ówczesnej stadninie stwierdzono w końcu 1953 i z początkiem 1954 roku. Wśród objawów klinicznych na pierwszy plan wysuwały się zaburzenia ze strony serca oraz ogólne osłabienie. Badaniem sekcyjnym stwierdzono zwyrodnienie m. sercowego oraz zapalenie miąższowe nerek. Badań histopatologicznych w tym okresie nie przeprowadzano. Pierwszy przypadek stwierdzonej klinicznie, sekcyjnie i histologicznie niedokrwistości zakaźnej miał miejsce w dniu 30. III. 1954 r. i od tej pory stadnina ta została uznana za zapowietrzoną. Od tego czasu przypadki zachorowań i padnięć zdarzały się permanentnie, tak, że do obecnej chwili nie można było uznać zarazy za wygasłą. Ogółem od marca 1953 padło względnie zgładzono 30 koni. Nasze badania w stadninie Ch. rozpoczęliśmy z początkiem lipca 1956 roku i od tego czasu padło względnie zostało zgładzonych 8 koni (wyniki sekcji i badań histologicznych podano poniżej).

W pierwszej fazie doświadczeń, przebadano serologicznie (odczynnem wiązania dopełniacza) wszystkie konie, a następnie u koni reagujących dodatnio (w liczbie 20), o ile w między czasie nie padły względnie nie zostały poddane likwidacji — wykonano o.w.d. w pewnych odstępach czasu (2—4 miesięcznych) jeszcze dwukrotnie. Ponieważ wszystkie z tych koni za każdym razem reagowały dodatnio, wykonano u nich jako kontrolę histologiczne badania wycinków wątroby pobranych drogą biopsji (instrumentarium i technikę zabiegu przyjęto wg Jędrzejewskiego — 21). Poza tym u koni tych oznaczono wskaźnik pobudliwości serca. W ten sposób wyniki badań serologicznych zestawiono z wynikami oględzin pośmiertnych i badań histopatologicznych w odniesieniu do koni padłych lub zgładzonych, względnie z wynikami badań histologicznych próbek wątroby pobranych bioptycznie i wskaźnikiem pobudliwości serca — odnośnie koni pozostałych przy życiu. Zestawienie wyników ilustruje tabela Nr 1. Z tabeli tej wynika, że w 9 przypadkach, rozpoznanie histopatologiczne przeprowadzone drogą nekropsji lub biopsji, potwierdziło bez zastrzeżeń rozpoznanie serologiczne. Klacz „Etażerka“ (lp. nr 1) pomimo, że badaniem serologicznym zaliczona została do grupy koni chorych, w wyniku badania histologicznego została uznana za wolną od n.z.k. Jednakże zarówno wynik sekcji (przerost follikułów śledziony, wybroczyny podtorebkowe) jak i fakt, że rozpoznanie histopatologiczne zostało postawione bez uwzględnienia procesów reparacyjnych, sprawę ostatecznej interpretacji pozostawia otwartą. Wiadomo jest bowiem, że w okresach bezgorączkowych, szczególnie długotrwałych ilość syderocytów w wątrobie może ulec znacznej redukcji, względnie żelazo może całkowicie zniknąć, a na plan pierwszy wy-

TABELA 1

L. P.	Rodzaj badań Nazwa konia	Wyniki badań przyżyciowych										Wyniki badań pośmiertnych			
		Odczyn wiązania dopełniacza						Wskaźnik pob. serca		Biopsja wątroby		Data padn. zabicia	Wynik badań histopatologicznych wątroby	U w a g i	
		Data	Wynik	Data	Wynik	Data	Wynik	Data	Wynik	Data	Wynik badania histo. pat. skrawków wątroby				
1	Etażerka	7.7 1956	+										8.8.56		Sekcyjnie stwierdzony obrzęk rozrostowy śledziony i wybroczyny podtorbikowe
2	Ofiarna	"	+										"	+	
3	Kornik	"	+										"	+	
4	Zoltana	"	+	10.11 1956	+	4.1 1957	+	10.11 1956	1,8	4.1 1957	Nieliczne syderocyty. Nacieki komórkowe				
5	Bystra	"	+										8.8.56	+	
6	Hałaśliwa	"	+	10.11 1956	+	4.1 1957	+	10.11 1956	2,17	10.11 1956 4.1 1957	Skąpe nacieki komórkowe. Nieliczne syderocyty				
7	Elastyczna	"	+	"	+			"	1,67				3.1.57	-	Histo-pat. stwierdzona zwrodnienie mięszone skąpe nacieki drobno-krańko-komórk., śledziona przerosła łącznotk.
8	Sędziwa	"	+	"	+	4.1 1957	+	"	2,0	4.1 1957	Brak zmian				
9	Milutka	"	+			"	+	"	1,8	10.11 1956	Pojedyncze syderocyty, procesy reparacyjne				
10	Jasnota	17.8 1956	+	10.11 1956	+	"	+	"	1,9	4.1 1957	Skąpe nacieki komórkowe				
11	Vera	"	+	"	+	"	+	"	1,75	10.11 1956	"				
12	Szwecja	"	+	"	+	"	+	"		"	Skąpe ogniskowe nacieki komórkowe pojed. syderocyty				
13	Wolma	"	+	"	+	"	+	10.11 1956	1,75	"	Nacieki komórk. w centrach zrazików zmiany wsteczne aż do rozpadu komórek. Pojed. syderocyty				
14	Liryczna	11.9 1956	+										17.10 1956	+	
15	Ugodowy	"	+										9.10 1956	+	
16	Nida	"	+										17.10 1956	+	
17	Edzia	"	+	10.11 1956	+	4.1 1957	+	10.11 1956	1,6	10.11 1956	Procesy reparacyjne, koło vena centralis				
18	Sprzecznna	"	+			"	+			4.1 1957	Bardzo liczne syderocyty. Nacieki komórkowe				
19	Eterychny	"	+			"	+	10.11 1956	1,6	"	Nacieki śródmiąższowe ogniskowe obfite nacieki w tkance łącznej. Pojed. syderocyty				
20	Hardy	"	+	10.11 1956	+	"	+	"	1,8	"	Skąpe nacieki histiocytarne. Pojed. syderocyty				

suwają się natomiast procesy reparacyjne. (Żuliński — 9, 28, Dreguss — 8). Podobnie przedstawia się sprawa w przypadkach 7, 9, 10, 11, 12, 13, 17, 19, 20, gdzie pojedyncze tylko syderocyty względnie nawet ich brak przy obecności zmian komórkowych, przemawiałyby za formą chroniczną względnie latentną schorzenia. Poważne i istotne zastrzeżenia budzi natomiast klacz „Sędziwa“. Zarówno trzykrotny dodatni wynik o.w.d. jak i stosunkowo wysoki indeks pobudliwości serca, wskazywałyby na istnienie procesu chorobowego, natomiast wynik badania histologicznego jest negatywny zarówno przez brak syderocytów jak i odczynu komórkowego. Można by tu jedynie wziąć pod uwagę przypadek bezobjawowego nosicielstwa przy którym brak jest jakichkolwiek zmian anatomo- i histopatologicznych (Dreguss). W tym wypadku jedynym potwierdzeniem lub zaprzeczeniem rozpoznania serologicznego byłaby próba biologiczna, której ze względów technicznych nie mogliśmy przeprowadzić. Klacz ta pozostaje pod obserwacją i będzie przedmiotem dalszych badań.

Omówienie wyników

Odczyn wiązania dopełniacza wg Altara'y, Serra'y i Guarini'ego był przedmiotem badań specjalistów tych krajów, gdzie n. z. k. stanowi problem epizootologiczny. Zdania co do wartości tej próby są podzielone i krańcowo sprzeczne. Podczas gdy wielu badaczy, uznaje o.w.d. wg Altara'y jako cenną metodę w rozpoznawaniu n. z. k., inni zarzucają mu brak specyficzności, albo wręcz próbę tę odrzucają. Jednym z najczęściej powtarzających się zarzutów przeciwników tej metody jest to, że wyniki jej są identyczne przy zastosowaniu jako antygeny wyciągu ze śledziony koni chorych jak i zdrowych. W naszych badaniach na 221 wykonanych prób nie otrzymaliśmy w żadnym przypadku zahamowania hemolizy, stosując wyciąg ze śledziony koni zdrowych. Wydaje się słuszne stanowisko Ramon'a jak i Guarini'ego, że efekty uzyskane przez stosowanie tej próby zależą przede wszystkim od precyzji jej wykonania. W pierwszym rzędzie chodzi tu o bardzo dokładne miareczkowanie dopełniacza, co z uwagi na wysokie i nierówne własności antykomplementarne surowic końskich ma znaczenie decydujące. Jak wynika z naszych doświadczeń miareczkowanie winno być wykonywane tylko w obecności surowic i to dla każdej surowicy badanej oddzielnie. Co do samych surowic, to nasze spostrzeżenia nie pokrywają się z wynikami autorów włoskich, którzy, używając frakcje proteinowe surowic, uzyskali większą czułość próby. Różnic tych nie zaobserwowaliśmy i dlatego w dalszym ciągu doświadczeń używaliśmy jedynie surowic pełnych. Bezsprzecznie ważną sprawą dla odczynu jest zredukowanie względnie zniesienie własności antykomplementarnych surowic badanych. Inaktywacja

wg metody Altara'y (1,5% NaCl) własności te usuwa w stopniu minimalnym. Próby inaktywacji przez podgrzanie nie powiodły się, gdyż zgodnie zresztą z obserwacjami innych autorów — surowica taka nie wiąże w ogóle dopełniacza w obecności antygeny homologicznego. Sprawa zniesienia własności antykomplementarnych surowic do odczynu wiązania dopełniacza dla rozpoznawania n. z. k. jest m. in. przedmiotem naszych dalszych badań. Wyniki dodatnie próby, uzyskaliśmy nie tylko u koni z grupy podejrzaných o n. z. k. i chorych, lecz również należących do innych grup. W trzech przypadkach otrzymaliśmy takie wyniki w pierwszym badaniu u koni wojskowych, co — wobec negatywnych wyników badania powtórnego — przypisaliśmy zmęczeniu oraz w dwóch przypadkach u koni produkujących surowicę normalną. Na podstawie tego należałoby przypuszczać, że pod wpływem zmęczenia fizycznego oraz na skutek ustawicznych upustów krwi, powstają w surowicy jakieś bliżej nie wyjaśnione zmiany chemiczne prowadzące do powstania niespecyficznych przeciwciał posiadających powinowactwo do użytego antygeny. Być może, chodzi tu o zjawisko tworzenia się tzw. wtórnych przeciwciał w następstwie wzmożonego rozpadu komórek, które to przeciwciała mają z kolei powinowactwo do tkanek homologicznych. Ale w takim razie wiązanie dopełniacza winno nastąpić, nie tylko w obecności wyciągu ze śledziony koni chorych na n. z. k., ale również koni zdrowych. W naszych natomiast badaniach otrzymywaliśmy zahamowanie hemolizy jedynie przy użyciu jako antygeny, wyciągów ze śledziony koni chorych na n. z. k. Tym więc ciekawszy wydaje się fakt, że nie otrzymaliśmy ani jednego wyniku dodatniego w grupie koni produkujących surowicę odpornościowe, co jest sprzeczne z obserwacjami Lehnert'a (6), Hirato (cyt. wg Itikawa — 6) i in. Autorzy niniejszej pracy zdają sobie sprawę z tego, że we wszystkich wypadkach, których wyniki badań serologicznych budzą jakiegokolwiek wątpliwości, lub nie pokrywają się z wynikami badań kontrolnych, szczególnie sekcyjnych i histopatologicznych, rozstrzygającą byłaby próba biologiczna, której jednak ze względów technicznych, nie mogli wykonać. W dalszych naszych pracach w tym zakresie lukę tę będziemy mogli już uzupełnić.

Reasumując, możnaby na podstawie wyników naszych badań sprawę ująć następująco: odczyn wiązania dopełniacza wg Altara'y, Serra'y i Guarini'ego stanowi bardzo cenny przyczynek do przyżyciowego rozpoznawania n. z. k. Wg wszelkich przesłanek, posiada on cechy próby swoistej i jeśli w obecnym stanie techniki odczynu daje — mimo precyzyjnego wykonania — w pewnych wypadkach reakcje nieswoiste, to należałoby — naszym zdaniem — przypisać je stosowaniu antygeny sporządzonego przy użyciu tkanek homologicznych i nie-

oczyszczonego. W każdym razie wydaje się nam, że jest on jedną z najwartościowszych metod, jeśli na razie nie determinującą, to jednak wskazującą na formę chroniczną i latentną n. z. k., które stanowią najniebezpieczniejsze źródło zarazka. Szczególnie w połączeniu z innymi metodami, a przede wszystkim z biopsją wątroby, może oddać cenne usługi w wykrywaniu bezobjawowych nosicieli wirusa. Dla tego uważamy za słuszne stanowisko Komisji O.I.E. zalecające dalsze badania w celu udoskonalenia tej próby. Badania te winny iść — naszym zdaniem — w kierunku znalezienia innego źródła antygeny, poza organizmem konia (co obecnie podjęliśmy), wypracowania metod, uwolnienia antygeny od substancji balastowych (oczyszczenia wirusa) oraz znalezienia skutecznego sposobu zniesienia antykomplementarnych własności surowicy końskiej.

Autorzy poczuwają się do miłego obowiązku podziękowania Panu Profesorowi T. Żulińskiemu oraz Pracownikom Zakładu Anatomii Patologicznej I. Wet. w Puławach za konsultacje oraz życzliwość i chętną pomoc w części histopatologicznej niniejszej pracy.

Piśmiennictwo

- 1) Altara I., Serra A., Guarini G.: Bull. O. I. E. t. XXXIX Nr 11/12 (1953).
- 2) Lehnert E., Viriden P.: Nordisk Vet. Med. Nr 16 str. 707 (1954).
- 3) Ishii, S., Tanaka K., Sonoda A.: Bull. O. I. E. t. XLIII s. 956 (1955).
- 4) Zaharija I.: Veterinarski Arhiv. (Zagreb) Nr 1/2 (1956).
- 5) Brill, J., Woyciechowska St.: R-ki N. Rol. t. 67, ser. E, str. 471 (1956).
- 6) Compte rendu de la IIIe Conférence de la Commission de l' O. I. E. pour l'étude de l'anémie infectieuse des solipèdes Turin 3-5. XI. 1955 — Bull. O. I. E. t. XLV Nr 3-4, str. 166-297 (1956).
- 7) Fortner J., Ulbrich F.: *ibid.*, str. 309.
- 8) Dreguss M. N., Lombard L. S.: Exp. Stud. in Equine Infectious Anemia Univ. of Pennsylvania Press. P-a 1954.
- 9) Żuliński T.: R-ki N. Rol. t. 67, ser. E. z. 3 (1956).
- 10) Burgisser H.: Schw. Arch. f. Tierheilk, T. 94 zesz. 7, (1952).
- 11) Burgisser H.: *ibid.*, t. 97 zesz. 8, (1955).
- 12) Ishii S.: Bull. O.I.E. T. XXXVI s. 282, (1951).
- 13) Sirbu, L.: An. Inst. Pat. Ig. An. (Bucuresti): t. 4 s. 107, (1953).
- 14) Schützler G.: Wien. Tierärztl. Mschr. t. 42, s. 845, (1955).
- 15) Żebrowski L., Radomiński W., Żebrowski T., Grundboeck M., Ganowicz M.: Med. Wet. R. 10, s. 640, (1954).
- 16) Żebrowski L., Grundboeck M., Żórawski C.: Med. Wet. R. 11 s. 339, (1955).
- 17) Steck, W.: Bull. O.I.E., t. XXXVI s. 327, (1951).
- 18) Alegren A.: *ibid.*, s. 312.
- 19) Schoop, G.: Bull. O.I.E. t. XXXIX Nr 11/12, (1953).
- 20) Surdan C., Serbanescu C., Nicolescu, Al.: An. Inst. Pat. Ig. An (Bucuresti) t. 4 str. 85.
- 21) Jędrzejewski W.: Wojsk. Przeg. Wet. t. XIII, nr 3 (1953).
- 22) Potel K., Schmidt D.: Arbeiten Ins. Riems r. 1953.
- 23) Röhrer H., Möhlmann, H.: *ibid.* r. 1952.
- 24) Matthias D.: Dtsch. Tierärztl. Wschr. t. 62 s. 7, (1955).
- 25) Matthias D., Schmidt D.: Arch. exp. Vet. Med. t. 9. s. 104, (1955).
- 26) Matthias D.: *ibid.*, t. 10, s. 442, (1956).
- 27) Müller L. F., Schützler H.: Arch. f. exp. Vet. Med. t. IX z. 3 s. 343, (1955).
- 28) Żuliński T.: Diagnostyka sekcyjna P. W. R. i L. 1956.

V. РАДОМИНСКИЙ, А. БОСКИЙ

ПОПЫТКИ ПРИМЕНЕНИЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА (РСК) В ДИАГНОЗЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЛОШАДЕЙ. I. ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ РСК ПО ALTARA, SERRA И GUARINI

Проведено РСК с 221 сывороткой от 186 лошадей (от 105 здоровых лошадей и от 81 лошади с подозрением инфекционной анемии). РСК проводили согласно метода Altara но комплемент титровали в присутствии отдельных исследованных сывороток. К реакции использовали полные сыворотки или их белковые фракции. Употребляли антиген приготовленный из селезёнки лошадей больных на инфекционную анемию (I) и лошадей здоровых (II). В никаком случае не получено задержки гемализа при применении антигена II тогда как с антигеном I всегда наступала полная задержка гемализа с позитивными сыворотками. В 19 случаях на 24 (80%) результаты подтверждено некропсией и биопсией. Авторы считают возможным применение РСК для диагноза инфекционной анемии лошадей особенно с применением других добовочных исследований. По их мнению надо только улучшить свойства применяемого антигена,

WOJCIECH RADOMIŃSKI & ANDRZEJ BOSKI

TEMPTATIVE APPLICATION OF THE COMPLEMENT FIXATION TEST (CFT) FOR THE DIAGNOSIS OF EQUINE INFECTIOUS ANAEMIA. I. STUDIES ON SPECIFICITY OF THE CFT ACCORDING TO ALTARA, SERRA AND GUARINI.

Summary

The CFT was performed with 221 sera collected from 186 horses (105 normal horses and 81 horses suspected of equine infectious anaemia). The test was performed fundamentally according to Altara, but the complement was titrated in the presence of the separate examined sera. Original sera or their protein fractions were used for the test. Two antigens were used, one (I) was prepared from the spleen of horses with equine infectious anaemia (artificially infected) and the second (II) prepared from the spleen of normal horses. Using antigen II in no case appeared inhibition of haemolysis. Controls, however, performed with lyophilized or conserved positive serum and antigen I caused always inhibition of haemolysis. Horses twice positively reacting were submitted to control examinations either at necropsy or biopsy and the heart-output index was determined. The results were confirmed in 19 out of 24 cases (80 per cent). On this basis the authors suggest the possibility to use the CFT for the diagnosing of equine infectious anaemia, particularly in conjunction with liver biopsy. The antigen should be, however, improved by finding another source of the antigen. The antigen should be also liberated from ballast substances.