

Opracowanie wspomnianego klucza pozwoliło Nicholsowi przeanalizować i poddać krytyce opisy licznych autorów dotyczące przypadków robaczyc larwalnych u ludzi. Posługując się wnikliwą analizą kliniczną i anatomo-patologiczną wielu znanych w literaturze przypadków, rekonstrukcją larw i ich biometrią Nichols wykazał, że liczne opisy inwazji larw nicieni u ludzi, inwazji dotyczących wątroby, gałki ocznej, mózgu i wielu innych narządów, są błędne. Bardzo często bowiem autorzy takich opisów nie zadawali sobie trudu aby dokładnie, systematyczno-zoologicznie określić przynależność gatunkową znalezionych przez siebie larw. Znając w ogólnym zarysie cykle rozwojowe glist tęgoryjców i węgorka, autorzy ci zupełnie dowolnie, często błędnie „określali” owe larwy najczęściej jako młodociane postacie glist, rzadziej ale równie bezpodstawnie, jako larwy tęgoryjców lub węgorka ludzkiego. Tymczasem w znacznej liczbie tych przypadków ich obserwatorzy mieli do czynienia z inwazjami larw *Toxocara sp.*

Tak więc dzisiejsza znajomość problemu robaczyc larwalnych człowieka wymaga dokonania licznych korektur w dotychczasowych opisach tych chorób, oraz zwraca uwagę na nicienie z rodzaju *Toxocara* jako na szczególnie ważny czynnik etiologiczny chorób inwazyjnych człowieka.

#### Piśmiennictwo

- 1) Beaver P. C. i inni: Chronic eosinophiladue to visceral larva migrans. *Pediatrics*, 9, 7—19, 1952.
- 2) Belding D. L.: *Clinical parasitology*. New York, 1956.
- 3) Brill R., Churg J. and Beaver P. C.: Allergie granulomatosis associated with visceral larva migrans. *Am. J. Clin. Path.*, 23, 1208—1215, 1953.
- 4) Dent J. H. and Carrera G. M.: Eosinophilia in childhood caused by visceral larva migrans. *J. La. State Med. soc.*, 105, 275—280, 1953.
- 5) Fülleborn F.: Ascariisinfektion durch Verzehren eingekapselter Larven und über zellulogene intrauterine Ascariisinfektion. *Arch. f. Schiffshygiene*, 25, 367—375, 1921.
- 6) Hoepfli i inni: Histological reactions in liver of mice due to larvae of different *Ascaris* species. *Peking Nat. Hist. Bull.*, 18, 119—132, 1949.
- 7) Milburn C. L. and Ernst K. F.: Eosinophilia hepatomegaly syndrome of infants and young children: report of a case due to invasion of liver by nematode larvae. *Pediatrics*, 11, 358—357, 1953.
- 8) Nichols R. L.: The etiology of visceral larva migrans. I. Diagnostic morphology of infective second-stage *Toxocara* larvae. II. Comparative larval morphology of *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus*, *Strongyloides stercoralis* and *Ancylostoma caninum*. *The Journal of Parasitology*, 42 (4), 349—362; 42 (4), 361—399, 1956.
- 9) Sprent J. F. A.: On the migratory behavior of the larvae of various *Ascaris* species in white mice. I. Distribution of larvae in tissues. *J. Inf. Dis.*, 90, 165—176, 1952.

WOJCIECH RADOMIŃSKI, ANDRZEJ BOSKI

## Badania nad zastosowaniem odczynu wiązania dopełniacza w rozpoznawaniu niedokrwistości zakaźnej koni.

### II. Próby zniesienia własności antykomplementarnych badanych surowic końskich

Z Pracowni Chorób Koni Instytutu Weterynarii  
Kierownik: WOJCIECH RADOMIŃSKI

Na podstawie wyników badań, będących przedmiotem poprzedniego doniesienia (1) wysunięto wnioski, które — zdaniem autorów — należy wziaść pod uwagę w dalszych pracach nad adaptacją odczynu wiązania dopełniacza (o.w.d.) do rozpoznawania niedokrwistości zakaźnej koni (nzk). Jeden z tych wniosków dotyczy zredukowania lub zniesienia własności antykomplementarnych surowic używanych do odczynu jako przeciwciała. Surowice końskie posiadają własności te szczególnie wysokie i nierówne. Metoda inaktywacji zalecana przez Altara i współpr. (1,5% -ym NaCl) okazała się niedostateczna, gdyż znosi własności te w stopniu znikomym, a wg niektórych autorów (Sebetic — 2; Böhm — 4) w ogóle nie posiada zdolności inaktywowania, a tym samym nie zapobiega występowaniu zahamowań nieswoistych. Z drugiej strony inaktywacja cieplna nie nadaje się do tego odczynu z uwagi na to, że przeciwciała nzk wiążące dopełniacz są szczególnie ciepłochwienne i przy działaniu temperatury 56°C przez 30 min. giną. Trautwein (5) próbował inaktywować za pomocą kaoliny. Jednak surowice takie utraciły nie tylko swe własności hamujące, ale niezależnie

od tego, czy pochodziły od koni zdrowych czy chorych na niedokrwistość zakaźną, w odczynie wiązania dopełniacza zawsze dawały wyniki ujemne. Także nie powiodły się temu autorowi próby stopniowego przedłużania (o 1 minutę) czasu inaktywacji cieplnej począwszy od 2 minut, gdyż wraz ze zniknięciem własności antykomplementarnych występowało zniszczenie przeciwciał swoistych. Dlatego rozwiązania należało szukać — naszym zdaniem — na innej drodze.

Wg Rapp'a, Gneš'a i Gordona (7) dobre wyniki można uzyskać przez absorpcję niespecyficznych przeciwciał na odpowiednio spreparowanych tkankach zwierzęcych. Metodę tę stosowano w odczynie wiązania dopełniacza przy chorobach wirusowych i rickettsiowych. Trumić (8) używał w o.w.d. przy zarazie stadniczej koni jako dopełniacza surowicy psa, która posiada własności hemolizowania krwinek baranich bez obecności amboceptora hemolizacyjnego. Postępowanie takie — jego zdaniem — nadaje próbie głównej cechy większej czułości i swoistości. Nordberg i Schjerning-Thiesen (9) zastosowali w odczynie wiązania dopełniacza przy przyszczyce metodę tzw. cza-

sowej hipertoniczacji polegającą na tym, że początkowo surowice badane rozcieńczano hipertonicznym roztworem NaCl, a po kilku godzinach, przez dodanie roztworu hipotonicznego doprowadzano do izotonii i w tym środowisku wykonywano cały o.w.d.

Przyjmując, że mechanizmy działania wymienionych powyżej trzech metod odpowiadają założeniom poszukiwanego rozwiązania, na ich zasadzie oparto niniejszą pracę.

### Materiał i metodyka

Badania podzielono na dwa etapy. W części pierwszej, wprowadzającej, postanowiono adaptować wymienione trzy metody do odczynu wiązania dopełniacza przy nzk, wykorzystując posiadany materiał, natomiast w drugim etapie, w wypadku otrzymania wyniku pozytywnego, zastosować wybraną adaptację do prób na materiale terenowym. Do wszystkich prób wprowadzających używano materiału pochodzącego od koni doświadczalnie zakażonych, u których bez wątpliwa stwierdzono niedokrwistość zakaźną (klinicznie, sekcyjnie, histologicznie\* i biologicznie) oraz od koni zupełnie zdrowych, będących pod stałą obserwacją. Surowice dodatnie używano w postaci sprawdzonych liofilizatów wzgl. pobierano bezpośrednio od koni chorych i gorączkujących, — surowice ujemne (kontrolne) w postaci świeżej. Antygeny ze śledzion koni doświadczalnie zakażonych (dodatnie) i wyciągi ze śledzion koni zdrowych (kontrolne) przygotowywano wg metody Serra i współpr. (11).

Do próby pierwszej przygotowywano surowice w sposób następujący (na podstawie metody Rapp'a i współpr.): Wątroby 30—40 normalnych, zdrowych i dorosłych myszek krajano, po usunięciu tłuszczu i tkanki łącznej, na drobne kawałki i homogenizowano z destylowaną wodą w stosunku 100 g wątroby/30 ml wody. Homogenizat wirowano i uzyskany osad — po usunięciu supernatantu — przemywano 3-krotnie wodą destylowaną, następnie 1 raz płynem fizjologicznym i wreszcie 2 razy w 4-ch częściach acetonu. Pozostały po odwirowaniu aceton usuwano przez suszenie w ciągu 24 godz. w temp. pokojowej i 24 godz. w eksykatorze próżniowym nad chlorkiem wapnia. Uzyskany w ten sposób proszek przechowywano w naczyniu hermetycznie zamkniętym i używano do przygotowania surowic badanych. Surowicę mieszano z proszkiem wątrobowym w stosunku 200 mg proszku na 1 ml surowicy i wstrząsano w ciągu 1 godz. Następnie mieszaninę wirowano przez 30 min. przy 2500 obr./min. i supernatant zbierano delikatnie pipetą pasterowską. Z uzyskaną w ten sposób surowicą nastawiano o.w.d. w trzech wariantach:

1) po uprzednim rozcieńczeniu 1/10 płynem fizjologicznym, 2) po inaktywacji wg metody Altara tzn. 1,5%-ym NaCl w stosunku 1/10 oraz 3) po inaktywacji w 56°C przez 1/2 godz. w rozcieńczeniu płynem fizjolog. 1/10. Równocześnie dla kontroli tak samo postępowano z surowicami świeżymi, nie poddanymi działaniu proszku wątrobowego.

W ten sposób przebadano 28 surowic pochodzących od 7 koni (zdrowych i doświadczalnie zakażonych). Z każdą surowicą nastawiano odczyn kilkakrotnie w odstępach czasu ok. 10-0 dniowych. Tabela I przedstawia średnie wartości uzyskanych we wszystkich próbach najniższych hemolizujących mian dopełniacza miareczkowanego w obecności poszczególnych surowic.

T a b. I

Nr surowicy przygotowanie surowicy		2	4	6	7	8	L <sub>1</sub>	L <sub>3</sub>	
		badana śledziona puzu młaburago		1/10 z płyn. fizj.	0,45	0,4	0,4	0,45	0,35
		1/10 z 1,5% NaCl	0,45	0,35	0,35	0,4	0,3	0,3	0,3
		56° C przez 30'	0,15	0,1	0,1	0,15	0,05	0,1	0,1
nie traktowana		1/10 z płyn. fizj.	0,3	0,35	0,4	0,4	0,35	0,35	0,35
		1/10 z 1,5% NaCl	0,35	0,3	0,3	0,35	0,25	0,3	0,3
		56° C przez 30'	0,15	0,1	0,1	0,15	0,05	0,1	0,1

Z zestawienia wynika, że nie ma zasadniczych różnic pomiędzy mianami dopełniacza miareczkowanego w obecności surowic zwykłych i poddanych działaniu proszku wątrobowego. U tych ostatnich można zaobserwować raczej ieznaczny wzrost własności antykomplementarnych. Surowice inaktywowane w wyższej temperaturze wykazują we wszystkich przypadkach wartości takie same.

W drugiej serii prób użyto jako dopełniacza surowicy psa (wg Trumica). W tym celu świeżą krew psa, pobraną z *v. jugularis* odstawiano na 24 godz. dla wydzielenia surowicy, a następnie rozcieńczano płynem fizjologicznym w stosunku 1:1. Do odczynu używano krwinek baranich bez amboceptora hemolitycznego. Równocześnie jako kontrolę nastawiono próbę z tymi samymi surowicami i z dopełniaczem świnki morskiej oraz zespołem hemolitycznym. Surowice przygotowywano wg metody Altara, tzn. rozcieńczano 1/10 1,5% NaCl, a dla kontroli drugą część surowicy inaktywowano „na ciepło” (56°C — 30'). Przebadano 16 surowic pochodzących od koni zdrowych i doświadczalnie zakażonych. Uzyskane wyniki wskazują na brak jakichkolwiek różnic w wartościach najniższych mian hemolitycznych przy użyciu jako dopełniacza surowicy psa (bez amboceptora hemoli-

\*) Badania histologiczne wykonano w Zakładzie Anatomii Patologicznej Instytutu Weterynarii.

tycznego) lub surowicy świnki morskiej (z zespołem hemolitycznym).

Trzecią serię badań laboratoryjnych podjęto w celu stwierdzenia możliwości zastosowania tzw. hipertoniczacji czasowej surowic używanych do o.w.d. (wg Nordberga i Schjerning-Thiesena). Technika postępowania przedstawiała się następująco: 2 ml surowicy badanej mieszano z 2 ml świeżo przyrządzonego 2,15%-go roztworu NaCl i mieszaninę pozostawiano w temperaturze pokojowej przez 3 godziny, po czym do 4 ml mieszaniny dodawano 4 ml 0,2% roztworu NaCl, aby uzyskać znowu roztwór izotoniczny, a następnie, po upływie 30 min., dodawano do otrzymanych 8 ml mieszaniny 12 ml płynu fizjologicznego, otrzymując w ten sposób końcowe rozcieńczenie surowicy 1/10, które stanowiło materiał wyjściowy do nastawienia odczynu. Równocześnie — jako kontrolę — każdą surowicę przygotowywano również wg metody Altara (1/10 1,5% NaCl). Obie próby zawsze nastawiano razem. Jako dopełniacza używano surowicy świnki morskiej. Wyniki miareczkowania dopełniacza odczytywano bezpośrednio po łaźni wodnej, wyniki próby głównej — po 5 min. i po 24 godz.

Początkowo próby miały na celu sprawdzenie, czy istnieją różnice w wysokości mian przy miareczkowaniu dopełniacza. Przebadano 22 surowice i we wszystkich przypadkach stwierdzono znaczne (od 0,1 do 0,25) obniżenie najniższego hemolizującego miana dopełniacza miareczkowanego w obecności surowic poddanych czasowej hipertoniczacji w porównaniu z takim mianem dopełniacza miareczkowanego z surowicą rozcieńczoną 1,5% NaCl. Z kolei przeprowadzono miareczkowanie antygeny z surowicami dodatnimi również przygotowanymi w dwojaki sposób wprowadzając nadto dla kontroli znaną surowicę ujemną (Nr 2). Wyniki przedstawia tabela II.

Tab. II

Surowica (nr i sposób przygotowania)	a n t y g e n						
	1/1	1/2	1/3	1/4	1/5	1/10	Kontr.
Nr 7 z 1,5% NaCl	+	—	—	—	—	—	—
Nr 7 czas. hipert.	+++	++	+	+	+	—	—
Nr L <sub>1</sub> z 1,5% NaCl	+	—	—	—	—	—	—
Nr L <sub>1</sub> czas. hipert.	+++	+++	+++	+	+	—	—
Nr 2 (ujemna) z 1,5% NaCl	—	—	—	—	—	—	—
Nr 2 czas. hipert.	—	—	—	—	—	—	—

Otrzymane wyniki wskazują, że surowica poddana czasowej hipertoniczacji reaguje z wyższymi rozcieńczeniami antygeny, a w rozcieńczeniach tych samych daje pełniejsze zahamowanie hemolizy niż surowica inaktywowana 1,5% NaCl.

Podobnie i miareczkowanie surowicy dodatniej w obecności antygeny nzk dało wyższe miana dla surowic poddanych hipertoniczacji czasowej. (Tab. III).

Tab. III  
Miareczkowanie surowicy

miano surowicy nr i przyg.	1/10	1/20	1/30	1/40	1/50	1/100	Kontr.
	Nr. 7 z 1,5 NaCl	+	—	—	—	—	—
Nr 7 hipert. czas.	+++	+	—	—	—	—	—
Nr L <sub>1</sub> 1,5% NaCl	+	—	—	—	—	—	—
Nr L <sub>1</sub> hipert. czas.	+++	+	+	—	—	—	—
Nr 2 (ujemna) z 1,5% NaCl	—	—	—	—	—	—	—
Nr 2 hipert. czas.	—	—	—	—	—	—	—

Ponieważ wyniki doświadczeń wprowadzających wykazały, że metoda tzw. czasowej hipertoniczacji nie tylko obniża własności antykomplementarne surowic, ale jednocześnie podwyższa ich miana, a więc zwiększa czułość odczynu, postanowiono sprawdzić jej wartość na materiale terenowym. Badania przeprowadzono w punkcie izolacyjnym nzk w Ch., znajdującym się pod naszą ścisłą obserwacją od roku. Przyjęto następujący schemat badań: Od wszystkich koni znajdujących się w izolatorze pobrano krew do odczynu wiązania dopełniacza, przy czym każdą surowicę przygotowywano w dwojaki sposób, tj. przez rozcieńczenie 1,5% NaCl oraz przez poddanie czasowej hipertoniczacji. Konie reagujące dodatnio w obu próbach względnie tylko w próbie 2-iej (u tych ostatnich wykonywano jeszcze biopsję wątroby) poddawano — za zgodą i na zarządzenie Departamentu Weterynarii — zabiciu z urzędu i wyniki badań serologicznych porównywano z wynikami oględzin posmiertnych oraz badań histologicznych. W przypadkach wątpliwych przeprowadzono powtórne badania serologiczne. Ogółem przebadano 107 surowic od 73 koni. Tab. IV zawiera zestawienie wyników badań u koni reagujących serologicznie dodatnio i zabitych z urzędu. Pozostałe konie reagowały w obu szeregach o.w.d. ujemnie.

Z powyższego zestawienia można wyciągnąć następujące wnioski: W 19-tu przedstawionych przypadkach tylko 4 razy uzyskano zgodność wyników badań serologicznych w próbach z surowicą traktowaną 1,5% NaCl i poddaną czasowej hipertoniczacji. Na ogół surowica hipertoniczowana czasowo wykazywała większą „czułość” próby, przy czym skala różnicy w wynikach nie zawsze była jednakowa. Przyjmując jako podstawę kontroli badania anatomo- i histopatologiczne można uznać w 13 przypadkach, a mianowicie odnośnie koni pod poz. poz.

Tab. IV

Lp.	Rodzaj badania		Wyniki badań przyżyciowych		Wyniki badań pośmiertnych	
	Nazwa konia	Data	Wyniki odcz. z zastosowaniem surowicy inaktywowanej		Wynik badania sekcyjnego	Wynik badania histopatologicznego
			1,5% NaCl	metody hipertunizacji czasow.		
1	Szwecja	10.4.57	+	++	Rozrost podścieliska łącznotkankowego śledziony. Liczne zawały blade m. sercowego. Niedokrwistość nerek.	Liczne syderocyty w wątrobie. Cechy zwyrodnienia mięszonego wątroby. Skąpe nacieki limfoidalne, około-zrazikowe w wątrobie. Hyposyderoza śledziony.
2	Edzia	„	+	+	Bez widocznych zmian.	Nieliczne ogniska nacieków limfoidalnych w tkance łącznej międzyzrazikowej wątroby.
3	Hałonka	„	+ -	+++	Wybroczyny pod torebką śledziony. Zwyrodnienie mięszone wątroby.	Liczne syderocyty w wątrobie. Cechy zwyrodnienia mięszonego wątroby. Zmniejszona ilość żelaza w śledzionie.
4	Jasnota	„	+	+	Wybroczyny podotrzewnowe. Zwyrodnienie mięszone mięśnia sercowego. Niedokrwistość nerek.	Brak zmian
5	Milutka	„	+	+	Bez widocznych zmian	Mierne nacieki limfoidalne w tkance łącznej międzyzrazikowej wątroby.
6	Sędziwa	„	+	++	Liczne wybroczyny i podbiegnięcia krwawe podsurowicze. Obrzęk śledziony. Zwyrodnienie ęme mięśnia sercowego. Zwyrodnienie ęme wątroby.	Cechy zwyrodnienia mięszonego wątroby. Nieliczne komórki limfoidalne rozsiane w naczyniach włosowatych wątroby.
7	Hałaśliwa	„	+	++	Obrzęk rozrostowy śledziony (śledziona „malinowata“). Liczne zawały śledziony. Wybroczyny podsurowicze.	Skąpe nacieki limfoidalne w tkance łącznej międzyzrazikowej wątroby.
8	Gruboskórna	„	- +	++	Zwyrodnienie tłuszczowe wątroby. Niedokrwistość nerek i mięśnia sercowego.	Liczne syderocyty w wątrobie. Nacieki limfoidalne okołozrazikowe. Cechy zwyrodnienia tłuszczowego wątroby. Hyposyderoza śledziony.
9	Dograna	„	- +	++	Zwyrodnienie tłuszczowe wątroby. Rozrost podścieliska łączno-tkankowego śledziony.	Liczne syderocyty w wątrobie. Rozpad komórek wątrobowych. Pojedyncze ogniska nacieków limfoidalnych okołozrazikowych.
10	Lipna	30.4.57	-	++	Wybroczyny podsurowicze i pod torebką śledziony. Nieznaczne powiększenie śledziony.	Liczne syderocyty w wątrobie. Nieliczne nacieki histiocytarne w tkance międzyzrazikowej wątroby.
11	Zółtana	„	+	+++	Bardzo liczne wybroczyny podsurowicze oraz pod torebką śledziony. Przerost i zwyrodnienie ęme mięśnia sercowego. Niedokrwistość nerek i m. serc.	Bardzo liczne syderocyty w wątrobie. Hyposyderoza śledziony.
12	Sprzeczna	„	+	++	Obrzęk rozrostowy śledziony (śledziona „malinowata“). Wybroczyny pod torebką śledziony. Zwyrodnienie tłuszczowe wątroby.	Bardzo liczne syderocyty w wątrobie. Ogniska nacieków limfoidalnych okołozrazikowych wątroby. Cechy rozpadu komórek wątrobowych. Hyposyderoza śledziony.
13	Szwedka	18.5.57	-	++	Obrzęk rozrostowy śledziony (śledziona „malinowata“). Obrzęk i przekrwienie węzłów chłonnych śledziony. Zwyrodnienie ęme wątroby.	Bardzo liczne syderocyty w wątrobie. Bardzo liczne nacieki limfoidalne w tkance międzyzrazikowej wątroby. Cechy zwyrodnienia mięszonego wątroby. Przekrwienie i hyposyderoza śledziony.
14	Joranta	„	-	+	Zwyrodnienie mięszone wątroby.	Zatarcie budowy zrazikowej i beleczkowej wątroby. Cechy zwyrodnienia mięszonego wątroby. Liczne nacieki limfoidalne okołonaczyniowe w wątrobie.

Ciąg dalszy tab. IV

15	Milka	18.5.57	—	+	Krwawe zawały śledziony. Stan zapalny torebki śledziony.	Nacieki limfoidalne okołonaczyniowe w wątrobie. Zatarcie budowy zrazikowej i beleczkowej wątroby.
16	Junette	„	+-	+++	Galaretowate nacieki tk. łącznej podskórnej w okolicy podbrzusza i przedpiersia. Zawały brzeżne śledziony. Obrzęk śledziony. Wybroczyny podopłucnowe i podotrzewnowe. Obrzęk nerek. Zatarcie budowy istoty korowej nerek.	Bardzo liczne syderocyty w wątrobie. Bardzo liczne nacieki limfoidalne w tkance międzyzrazikowej wątroby. Wybroczyny w beleczkach śledziony. Rozrost tkanki podścieliskowej śledziony. Hyposyderoza śledziony.
17	Volma	„	+	+	Bardzo liczne wybroczyny i podbiegnięcia krwawe pod błonami surowiczymi, szczególnie wzdłuż naczyń wieńcowych. Rozrost podścieliska łącznotkankowego śledziony.	Rozsiane ogniska nacieków limfoidalnych w tkance międzyzrazikowej wątroby. Zatarcie budowy zrazikowej i beleczkowej wątroby. Rozrost tkanki podścieliskowej śledziony.
18	Bezkarina	„	+-	++	Znaczny obrzęk rozrostowy śledziony (śledziona „malinowata“). Obrzęk i przekrwienie węzłów chłonnych śledziony. Liczne blizny pozawałowe w m. sercowym. Zapalenie wsierdzia na zastawkach dwudzielnych. Niedokrwistość nerek i m. sercowego.	Liczne syderocyty w wątrobie. Cechy daleko posuniętych zmian wstecznych aż do rozpadu komórek wątrobowych. Nacieki limfoidalne okołonaczyniowe w wątrobie. Hyposyderoza śledziony.
19	Etyczny	„	-+	+	Zawały brzeżne śledziony. Powiększenie węzłów chłonnych śledziony. Zwyródnienie 6me wątroby.	Cechy zwyrodnienia mięszowego wątroby.

1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18 — wyniki badań serologicznych wykonanych z surowicą hipertemizowaną czasowo za potwierdzone bez zastrzeżeń (70%). Natomiast odczyn wykonany z surowicami inaktywowanymi 1,5% NaCl dał 6 (31,6%) wyników dodatnich, 5 wątpliwych (— + lub + —) i 2 ujemne. Warto jeszcze podkreślić, że wyniki dodatnie nie mogły być oceniane wyżej jak na jeden + (w 24 godz. po łaźni wodnej). Wydaje się, że — odnośnie pozostałych 6-u przypadków — jakkolwiek zmiany sekcyjne i histopatologiczne nie upoważniają w pełni do zakwalifikowania ich jako dodatnie, jednak wyniki badań kontrolnych należało by interpretować z pewną ostrożnością mając na uwadze to, że w formie chronicznej z długimi okresami bezgorączkowymi wzgl. w formie latentnej zmiany sekcyjne i histologiczne mogą być wyrażone bardzo słabo, lub może ich w ogóle brakować. A prawie wszystkie konie wymienione w tab. IV za wyjątkim kl. Junette (poz. 16) nie wykazywały nigdy żadnych objawów klinicznych, wzgl. chorowały stosunkowo dawno (ok. 12 mies.) temu. Kl. Junette nie zdradzała żadnych objawów chorobowych w chwili pobierania krwi do o.w.d. (dn. 29.IV.57) i nigdy zresztą nie chorowała. Na podstawie wyniku owd (+++) oraz biopsji wątroby również została przeznaczona do zgładzenia z urzędu. W dniu likwidacji (17.V.57.) można było stwierdzić u niej zespół zmian klinicznych typowych dla n.z.k.: temp. 40,5°C, tętno (w spokoju) 68/min., wskaźnik pobudliwości serca 2,4, zażócenie spojówek, obrzęki na podbrzuszu i przedpiersiu, stan ogólnego osłabienia i wyniszczenia. Badanie sekcyjne i histopatologiczne potwierdziło rozpoznanie.

## Omówienie wyników

Zjawisko antykomplementarności surowic badanych stanowi jedną z poważniejszych trudności w odczynie wiązania dopełniacza w ogóle, a w szczególności w zastosowaniu tego odczynu do rozpoznawania niedokrwistości zakaźnej koni. Istnieje wprawdzie cały szereg metod obniżających wzgl. znoszących własności antykomplementarne, jak np. ogrzewanie do temp. 56—58°C, zamrażanie w granicach temperatur od — 15 do — 70°C, działanie środkami chemicznymi jak CO<sub>2</sub>, weronal, kaolina itp., jednak żadna z tych metod — jak wykazały liczne doświadczenia — nie nadaje się do odczynu przy n.z.k. z uwagi na szczególną ciepłochliwość i wrażliwość na środki chemiczne swoistych przeciwciał (podobnie przedstawia się sprawa z przeciwciałami pryszczycowymi). Koncepcja Rapp'a i współpr., polegająca na poddaniu surowic badanych działaniu sproszkowanych tkanek zwierzęcych jest zabiegiem prostym i teoretycznie przekonywującym. Jednak w naszych doświadczeniach metoda ta spodziewanego efektu nie dała, przeciwnie, w pewnych nawet przypadkach miano miareczkowanego dopełniacza nieznacznie wzrosło, co zresztą przypisaliśmy drobnym usterkom technicznym. Podobnie nie uzyskaliśmy pozytywnego rezultatu przez zastosowanie jako komplementu surowicy psa — jak to zaleca Trumieć. Metodę tę postanowiliśmy wypróbować wychodząc z założenia, że — jeśli pomiędzy dopełniaczami poszczególnych gatunków zwierząt istnieją różnice nie tylko ilościowe ale i jakościowe — surowica końska okaże być może w stosunku do dopełniacza psa mniejsze powinowactwo nieswoiste, niż do dopełniacza

świnki morskiej. Udało nam się, natomiast, uzyskać dodatnie wyniki przez zastosowanie w stosunku do badanych surowic tzw. hipertonicznej czasowej. Badania wstępne wykazały, że metoda ta z jednej strony znacznie zmniejsza najniższą dawkę hemolizującą dopełniacza miareczkowego w obecności poszczególnych surowic, czyli obniża własności antykomplementarne, a jednocześnie podwyższa miano tych surowic zarówno w stosunku względnym (przy miareczkowaniu antygenem) jak i bezwzględnym (przy miareczkowaniu surowic). Badania terenowe przeprowadzone na 107 surowicach (73 koniach) potwierdziły wyniki badań laboratoryjnych. Nastawione próby równocześnie z surowicami inaktywowanymi 1,5% NaCl i poddawanych czasowej hipertoniczacji we wszystkich przypadkach wykazały większą czułość tych ostatnich. Na 19 koni reagujących dodatnio (od + do +++) w szeregu hipertoniczacji czasowej u 13-u rozpoznanie serologiczne zostało bez zastrzeżeń potwierdzone badaniem sekcyjnym i histologicznym. Natomiast w szeregu inaktywowanym 1,5% NaCl wśród tych 13-u było tylko 6 wyników dodatnich, 5 wątpliwych i 2 ujemne. Gdybyśmy badając konie izolatora Ch. oparli się na wynikach o.w.d. wykonanych tylko z surowicami inaktywowanymi 1,5% NaCl, prawdopodobnie 5 „wątpliwych”, a na pewno 2 „ujemne” (poz. 10 i 13) konie pozostawiono by przy życiu i w ten sposób utrzymano by nadal pewne źródło wirusa. Z drugiej strony można by mieć zastrzeżenie co do koni pod poz. 14 i 15 u których o.w.d. z surowicą inaktywowaną 1,5% NaCl dał wynik ujemny a z hipertoniczowaną czasowo-dodatni (+) natomiast wynik zarówno sekcji jak i badania histologicznego nie upoważnia do postawienia rozpoznania n.z.k. Wydaje się jednak, że pomijając konieczność ostrożnego w tych wypadkach interpretowania wyników badań kontrolnych (o czym mowa powyżej) — można by wyniki o.w.d. z surowicami hipertoniczowanymi czasowo oceniane na jeden + traktować jako wątpliwe, gdyż u wszystkich koni „dodatnich” wyniki te wyrażają się ++ lub +++.

Na podstawie przeprowadzonych badań uważamy, że wprowadzenie do odczynu wiązania dopełniacza przy rozpoznawaniu n.z.k. metody tzw. czasowej hipertoniczacji surowic badanych jest celowe z tego względu, że metoda ta obniżając własności antykomplementarne surowic „uczula” niejako samą próbę. Być może chodzi tu o to, że na skutek hipertoniczacji przeciwciała n.z.k. wiążące dopełniacz zostają „oderwane” od inhibitora blokującego ich własności wiązania z homologicznym antygenem. W każdym ra-

zie metoda ta pozwala — jak to wykazały nasze badania — w pewnych przypadkach wykryć n.z.k. tam, gdzie „klasyczny” odczyn daje wyniki ujemne.

#### Piśmiennictwo

- 1) Radomiński W., Boski A.: Med. Wet. 13/6, 325—330 (1957).
- 2) Šebetic A.: Bull. O.I.E. 45/3—4, 271—278 (1956).
- 3) Möhlmann H.: ibid. s. 182.
- 4) Böhm O.: ibid. s. 279.
- 5) Trautwein A.: ibid. s. 292.
- 6) Fortner J., Ulbrich F.: ibid. s. 309.
- 7) Rapp F., Gnesch G. M., Gordon I.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90/2, 335.
- 8) Trumić P.: Zbl. Vet. Med. 3/8 (1956).
- 9) Nordberg B. K., Schjerning-Thiesen K.: Journ. Infect. Dis. 5/6 t. 98, 266—269 (1956).
- 10) Dubowska A.: Post. Hig. Med. Dośw. 10/4, 359 (1956).
- 11) Serra A., Itikawa O., Guarini H., Milone M., Ambrosino C., Liberatori J.: Bull. O.I.E. 46 (XXIV Session) 626—664 (1956).
- 12) Stein C. D., Mott L. O., Gates D. W.: Journ. Am. Vet. Med. Ass. 126/937, 277—287 (1955).
- 13) Zuliński T.: Diagn. Sekcyjna Chor. Zwierz. Dom. PWRiL 1956.

В. РАДОМИНСКИ, А. БОСКИ

### ИЗУЧЕНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА ДЛЯ ДИАГНОЗА ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЛОШАДЕЙ. II. ПОПЫТКИ СНЯТИЯ ПРОТИВОКОМПЛЕМЕНТНЫХ СВОЙСТВ ЛОШАДИНЫХ СЫВОРОТОК

Большой трудностью в применении реакции связывания комплемента (РСК) применяемой для диагноза инфекционной анемии лошадей (и. а.) является наличие в лошадиной сыворотке так называемых противокomплементных свойств. Авторы пытались снять эти нежелательные свойства путём: 1) абсорбции неспецифических противотел на порошкообразных тканях животных (по Раппу), 2) применения в качестве комплемента сыворотки собаки (по Трумику) и 3) временной гипертонизации (по Нордбергу и Шернинг-Тайсену). Первые два метода не привели к положительным результатам. Применение метода временной гипертонизации привело к резкому снижению накопления противокomплементных свойств сывороток и к большей чувствительности реакции, РСК провели с 107 сыворотками от 73 лошадей с изолятора и. а. Одновременно ставили а) реакцию с сыворотками инaktivированными 1,5% NaCl (по Альтару) и б) реакцию с сыворотками временно гипертонизированными. Положительно реагирующих животных убивали экспериментально. Для контроля вели также исследования чисто патолого-анатомические. При реакции временной гипертонизации получено 19 положительных результатов из которых 13 (70%) нашло безсомнительное утверждение в контрольных исследованиях. Реакция по Альтару дала из этого только 6 положительных результатов, 5 сомнительных и 2 отрицательных. По мнению авторов метод временной гипертонизации пригоден к выявлению носителей вируса даже тогда, когда при обыкновенной РСК получают отрицательные результаты и потому метод временной гипертонизации должен найти применение для диагноза и. а. лошадей.

WOJCIECH RADOMIŃSKI and ANDRZEJ BOSKI

STUDIES ON THE USE OF THE COMPLEMENT FIXATION TEST FOR THE DIAGNOSIS OF EQUINE INFECTIOUS ANAEMIA. II. EFFORTS OF REDUCING THE ANTICOMPLEMENTARY PROPERTIES OF THE EXAMINED EQUINE SERA

S u m m a r y

One of the greater difficulties to use the complement fixation test (C. F. T.) for the diagnosis of Equine infectious anaemia is the high anticomplementary property of equine sera. The authors of the present work tried to reduce this property by the use of three methods: 1) non specific adsorption of antibodies on pulverized animal tissues according to Rapp's and collab. method, 2) the use as the complement instead of the guinea pig serum, the serum of a dog according to Trumic, and 3) the so called temporary hypertonicisation according to Nordberg and Schjerning-

Thiesen. The first two methods failed to give positive results. By using the temporary hypertonicisation method the anticomplementary properties of the examined sera were considerably reduced and the test became „sensitized“. The C.F.T. was performed with 107 sera collected from 73 horses grouped in an isolation centre of Equine infectious anaemia. Two rows of tests were arranged: I with inactivated sera by the use of 1,5% sol. of NaCl (Altara's method) II with sera temporary hypertonicized. Horses positively reacting (in doubtful cases a liver biopsy was performed) were killed according to regulations. As controls served post-mortem and histopathological examinations. Nineteen horses reacted positively (two plus to three plus) in the II row, of them 13 (70%) were confirmed by control examinations. In the 13 positive cases the row I gave the C. F. T. positive reaction in only 6 cases (one plus). 5 were doubtful and 2 negative. On the basis of these results the authors conclude, that the use of temporary hypertonicisation can serve as a method for an accurate detection of carriers of the virus, in certain cases even when the classic C. F. T. is negative. According to the authors this method should be introduced to the complement fixation test for the diagnosis of Equine infectious anaemia.

Dr BRONISŁAW HAUPTMAN

Legnica

W odpowiedzi na artykuł kandydata nauk wet. W. I. Mutowina „Kilka uwag w sprawie kulawki zanokcicowej owiec”

Artykuł kandydata nauk wet. W. I. Mutowina pt. „Kilka uwag w sprawie kulawki zanokcicowej owiec” zamieszczony w Nr 2/57 Medycyny Weterynaryjnej wnosi do zagadnienia k.z.o. wiele cennych uwag. Autor pracuje nad tym schorzeniem długi czas i ogłosił wiele ciekawych prac. Dysponuje olbrzymim materiałem doświadczalnym i posiada rozległe doświadczenie. Niesposób jednak przyjąć wszystkich tez Kolegi Mutowina bez żadnych zastrzeżeń i wobec nich jak również wobec zarzutów postawionych w związku z artykułem moim ogłoszonym pod tym samym tytułem w Nr 4/56 Med. Wet. pragnę pokrótce zająć stanowisko.

Wypowiedź kandydata nauk wet. Mutowina przypisująca niewielką rolę zakażeniu w przebiegu k.z.o. jest słuszna tylko częściowo. W odniesieniu do każdej choroby można wyróżnić trzy czynniki: chorobotwórczy, ekspozycyjny i predysponujący. W wypadku k.z.o. obydwa ostatnie czynniki mają istotnie znaczenie podstawowe, gdyż zapewnienie stadu owiec zgodnych z zasadami zoohigieny warunków bytowych uniemożliwia powstanie i szerzenie się kulawki. Skoro jednak warunki takie zaistnieją to o charakterze (nekrobaciloza — gnilec racie) i przebiegu schorzenia jeśli nie w większym to przynajmniej w równym stopniu decyduje flora bakteryjna. Chore zwierzęta rozsiewając zjadliwe zarazki powodują przesylenie nimi podłoża a tym samym stwarzają dalszy warunek do szerzenia się choroby. Zmiana środowiska i czynników bytowych nie wnosi poprawy w przebiegu k.z.o. a nieodzownym warunkiem uzdrowie-

nia stada jest przede wszystkim wyleczenie lub usunięcie sztuk chorych. Mimo zresztą jakby się zdawało kategorycznego twierdzenia o podrzędnej roli zakażenia (w przebiegu k.z.o.) w praktyce poświęca Kolega Mutowin temu czynnikowi wiele uwagi skoro: 1) podkreśla, że w niektórych gospodarstwach nie udało się wyleczyć chorujących na k.z.o. stad wskutek nieprzeprowadzenia odkażenia owczarni (Weterynaria Nr 1/57 str. 28).

2) przywiązuje tak dużą wagę do zapobiegawczego stosowania zawiesiny penicylinowo-tranowej.

Wывody kandydata nauk wet. Mutowina na temat większej wrażliwości na k.z. owiec cienkorunnych są słuszne i nie podlegają żadnej dyskusji. Nie mogę natomiast zrozumieć dlaczego zarzuca mi pochopne uogólnianie większej odporności owiec ras grubowłnistych skoro w artykule swym wyraźnie pisałem o owcach ras prymitywnych a do takich przecież wszystkich owiec grubowłnistych zaszeregować nie można. W dalszym ciągu artykułu podałem przykład, że w pozostających pod moją kontrolą owczarniach najmniej odporne na k.z.o. okazały się karakuly, które przecież pod względem jakości wełny należą do owiec grubowłnistych.

Niektóre wypowiedzi Kolegi Mutowina pozwalają wysnuć wnioski, że analizując mój artykuł korzystał bądź z pobieżnego tylko referatu bądź też z bardzo dowolnego przekładu. Zacytowane przez Autora zdania „niektórzy autorzy (Mutowin) wypowiadają się za związkiem zapalenia skóry szpary międzyraci-