

powalo po 18—32 godzinach. Najdłużej trwający okres agonii wynosił 48 godzin.

Różnice w obrazach anatomo-patologicznych zależały od wieku zwierząt oraz czasu przebiegu schorzenia. U młodych lisów u których choroba przebiegała w formie nadostrej, poza przekrwieniem i pojedynczymi wybroczynami w oponach mózgowych i mózgu zmian chorobowych nie stwierdzono. W miarę przedłużania się czasu trwania choroby obraz zmian anatomo-patologicznych stawał się bogatszy. Na skórze stwierdzono opisane już uprzednio ubytki i rany darte w okolicy głowy, przednich kończyn, grzbietu i brzucha. U niektórych sztuk dorosłych zauważono wypływ śluzowy z nosa. Błona śluzowa spojówek była przekrwiona.

Ogledziny wewnętrzne: rozpulchnienie i przekrwienie błony śluzowej dna żołądka i początkowego odcinka jelit cienkich. Tylko w trzech przypadkach na 11 w błonie śluzowej jelita cienkiego znajdują się plamiste wybroczyny. Wątroba obrzękła, krucha, koloru rdzawo-żółtego, „pstra“ ze względu na nierównomierne rozmieszczenie zabarwienia. Śledziona lekko obrzękła i przekrwiona.

W kilku przypadkach błona śluzowa nosa i krtani jest rozpulchniona i przekrwiona, powleczona surowiczo krwawą wydzieliną. Płuca są obrzękłe. W pojedynczych przypadkach stwierdzono wybroczyny pod opłucną płuc.

Sekcja mózgu wykazywała czynne przekrwienie opony twardej i miękkiej oraz przekrwienie mózgu i nieliczne drobne wybroczyny w tkance mózgowej. Posiewy bakteriologiczne wykonane z wszystkich narządów wewnętrznych oraz krwi i mózgu padłych lisów dały wynik ujemny. W preparatach rozartych rogów Ammona nie stwierdzono obecności ciałek Negriego.

Rozcierem sporządzonym z narządów wewnętrznych i mózgu dwu padłych lisów zakażo-

no podskórnice dwa króliki, u których już po upływie 12 godzin zaobserwowano posmutnienie. Po czym szybko następowało porażenie kończyn tylnych, zupełna niezdolność ruchów, postępujące porażenie kończyn przednich i śmierć po 48 godzinach. Zmiany sekcyjne u obu doświadczalnych królików ograniczały się do żółtego zabarwienia wątroby, obrzęku śledziony oraz przekrwienia opony twardej mózgu. Badanie histopatologiczne jednego mózgu królika wykazało obecność zmian charakterystycznych dla nieropnego zapalenia. Rozcierem z narządów wewnętrznych i mózgow obu padłych królików zaszczepiono dwa następne króliki. Jeden z nich padł po dwóch, drugi po dwóch i pół dniach choroby, wykazując analogiczne objawy kliniczne i zmiany anatomo-patologiczne jak poprzednie. Badanie bakteriologiczne wspomnianych rozcierów dało wynik ujemny.

Identyczne badanie przeprowadzono z materiałem otrzymanym z dwu dalszych padłych lisów, przy czym wynik badań był taki sam. Ogółem do próby biologicznej użyto 8 królików, u których obraz kliniczny, zmiany anatomo-patologiczne, obraz histopatologiczny mózgu oraz wynik badania bakteriologicznego przemawiały za tym samym we wszystkich przypadkach.

Z powodu trudności technicznych nie przeprowadzono badań wirusologicznych, jednak dane epizootologiczne, kliniczne i laboratoryjne zdają się być wystarczające do postawienia rozpoznania choroby Aujeszky.

Niewątpliwym powodem zakażenia się lisów były odpady poubojowe świńskie. Należy więc zwrócić uwagę na tę jednostkę chorobową wśród świń, zwłaszcza że choroba Aujeszky przebiega u nich nietypowo i może ujść uwadze lekarza praktyka, względnie zostać mylnie zdiagnozowaną.

WOJCIECH RADOMIŃSKI

Zastosowanie surowicy odpornościowej uzyskanej na zwierzętach laboratoryjnych do odczynu wiązania dopełniacza w rozpoznawaniu niedokrwistości zakaźnej koni. I. Rozdział przeciwciał wg metody Castellani'ego*)

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

Spośród wielu metod, zmierzających do rozwiązania zagadnienia przyżyciowego rozpoznawania niedokrwistości zakaźnej koni (n.z.k.), jedną z najbardziej popularnych jest ostatnio

odczyn wiązania dopełniacza (o.w.d.), opracowany przez Altara, Serra, Guarini w 1953 r. Miarą zainteresowania się tą metodą jest III Sesja Komisji O.I.E. (w 1955 r. w Turynie), poświęcona specjalnie temu zagadnieniu. Nie wnikając w szczegóły krańcowo sprzecznych opinii odnośnie wartości tej metody w jej formie pierwot-

*) Praca wygłoszona w streszczeniu na I Zjeździe Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych (Warszawa, 17—19.IV. 1958).

nej, należy podkreślić zgodność wypowiedzi co do celowości kontynuacji prac w tym kierunku, co znajduje swój wyraz w stale pojawiających się na ten temat publikacjach (ostatnio *Palyusik 8, Ulbrich 13*). Od czasu ogłoszenia „klasycznej” już obecnie techniki autorów włoskich uległa ona szeregu modyfikacjom, dotyczącym zarówno przygotowania i ilości antygen (*Serra i wsp. 12*), jak również sposobu inaktywizacji surowic (tzw. metoda hipertonicznej czasowej, wprowadzona przez *Radomińskiego i Boskiego 11*) oraz techniki miareczkowania dopełniacza (w obecności surowic badanych, *Radomiński i Boski 10*). Jedno jednak pozostało w tym odczynie niezmiennione, a mianowicie to, że tak antygen jak i przeciwciała są związane z komponentami homologicznych tkanek (wspólne źródło-organizm koński), co zdaniem wielu autorów *Mohlmann, Schoop, Zaharija, Bohm i i.*) jest jedną z poważniejszych przyczyn zakłóceń w prawidłowym przebiegu tego odczynu, a więc zagadnieniem wymagającym w pierwszym rzędzie wyjaśnienia. Najprostszym sposobem rozwiązania tego byłoby znalezienie innego źródła hodowli i namnażania wirusa poza organizmem zwierząt koniowatych i sporządzenie antygeny uwolnionej w jak największym stopniu od obcych składników. Jednak, jak dotychczas, wyniki prób skutecznego zakażenia zwierząt doświadczalnych oraz hodowli na tkankach wyosobnionych nie są całkowicie pewne i jednobrzmiące i nie mogą — w każdym razie w obecnym stanie badań — stanowić podstawy do zmiany techniki odczynu. Przyjmując, że w układzie odczynu wiązania dopełniacza przy n.z.k. składnikiem szukanym (badanym) jest przeciwciała, a wiadomym — antygen, można by, w przypadku trudności w uzyskaniu czystego antygeny, zmienić układ o tyle, żeby przyjąć jako znany składnik — przeciwciała, a niewiadomy — antygen. Dało by się to osiągnąć przez uzyskanie surowicy odpornościowej drogą hiperimmunizacji wirusem n.z.k. zwierząt laboratoryjnych i zastosowaniem jej w odczynie jako przeciwciała z pozostawieniem antygeny pochodzenia końskiego. Takie jest założenie niniejszej pracy. Na marginesie założenia podstawowego, wynik pozytywny doświadczenia oświeciłoby może także dokładniej zagadnienie swoistości tego odczynu w ogóle.

Materiał i metodyka. Jako zwierząt doświadczalnych użyto królików o wadze 2—3 kg. Przed przystąpieniem do właściwych zabiegów zwierzęta poddano 2-tygodniowej obserwacji oraz kontrolnym badaniom hematologicznym, serologicznym (o.w.d. z antygenem n.z.k. i wyciągiem śledziony konia zdrowego) oraz koprologicznym. Poza tym 2 razy dziennie mierzono ciepłotę wewnętrzną.

Wirus-szczep „K-4” o cechach ustalonych stanowił 4-ty pasaż wirusa terenowego przez własne konie doświadczalne, reagujące pod

względem klinicznym, serologicznym, hematologicznym i histologicznym (biopsja wątroby) typowo. Dla zapewnienia jednolitości warunków doświadczenia surowicę konia zakażonego pobrano jednorazowo na szczycie drugiego napadu gorączkowego, zliofilizowano i liofilizaty, po uprzednim rozpuszczeniu płynem fizjologicznym do objętości początkowej, używano do hiperimmunizacji.

Jako stymulatorów (adiuwantów) używano gliceryny, zawiesiny *Mycobacterium phlei* oraz tzw. stymulatora olejowo-bakteryjnego. Ilość gliceryny wynosiła 5% ilości wprowadzanej surowicy wirusowej. Zawiesinę bakteryjną przygotowywano w ten sposób, że 5-dniową hodowlę *M. phlei* na agarze skośnym zmywano 10 ml fizjologicznego roztworu NaCl, a następnie spłóczyne inaktywowano w łaźni wodnej przy 60°C przez 30'. Stymulator olejowo-bakteryjny wg. Freund'a (6) znajduje bardzo szerokie zastosowanie przy hiperimmunizacji zwierząt (*Dubowska 4, Koshland 7, Contreras i Melnick 2*) jednak wobec braku właściwych składników przygotowane go wg. modyfikacji własnej, a mianowicie przez roztrarcie 50 mg wysuszonych w próżni prątków *M. phlei*, przygotowanych z zawiesiny j.w., z 20 ml. oleju parafinowego, a następnie dodanie 10 ml ogrzanej do stanu płynnego lanoliny (*Adeps Lanae anhydricus*); Tak przygotowany stymulator, po dokładnym roztrzcieniu na jednolitą masę, zlewano do jałowego naczynia i przechowywano w chłodni, a przed każdorazowym użyciem podgrzewano i rozcierano w moździerzu z równą ilością surowicy (rozpuszczonego liofilizatu).

Drogi wprowadzania wirusa (łącznie z odpowiednim adiuwantem) były różne: dożylna, domięśniowa, dootrzewnowa oraz na przemian dożylna i domięśniowa. Glicerynę podawano tylko dożylnie. Okresy pomiędzy poszczególnymi zabiegami również były różne i wynosiły odpowiednio 3, 7 i 10 dni.

Przebieg doświadczeń. Króliki podzielono na pięć grup w zależności od drogi wprowadzenia wirusa oraz stosowanego adiuwantu. Zanim rozpoczęto właściwą hiperimmunizację zwierzęta poszczególnych grup otrzymały 3-krotnie w odstępach 3, 7 i 10 dniowych odpowiednie stymulatory bez wirusa dla sprawdzenia ich wpływu na stan zdrowia oraz odczynu serologiczne i hematologiczne. Nie stwierdzono żadnych odchyżeń od normy, wobec tego przystąpiono do uodparniania. W grupie I wirus wprowadzano dożynie z dodatkiem 5% gliceryny; zabiegi powtarzano co 3 i 7 dni; rozpoczynano od 1 ml surowicy, zwiększając stopniowo ilość do 5 ml. Grupą II otrzymywała domięśniowo wirus z *M. phlei* co 7 dni w ilości 4 ml surowicy + 1 ml zawiesiny (również zaczynając od dawek mniejszych). W grupie III wirus podawano z *M. phlei* na przemian dożylnie i domięśniowo co 3 dni (dawki jak w

grupie II). Podgrupę stanowiły tu króliki, które otrzymywały surowicę z *M. phlei* tylko dożylnie. Grupę IV uodparniano dootrzewnowo co 10 dni ze stymulatorem olejowo-bakteryjnym, w ilości 3 ml surowicy + 3 ml stymulatora. Wreszcie grupa V, jako kontrolna, otrzymywała wirus bez stymulatorów, wprowadzany odpowiednio dożylnie, domięśniowo, dootrzewnowo i na przemian (dożylnie i domięśniowo). W celu zapobiegnięcia szokom anafilaktycznym wszystkim zwierzętom podawano domięśniowo — począwszy od 2-go zabiegu — na 30' przed wprowadzeniem surowicy po 1 ml „Neoanterganu“ (Specia — Paris).

Zakładano, że w surowicy uodparnianych w ten sposób królików winno wytworzyć się przynajmniej dwa rodzaje przeciwciał, a mianowicie 1) obcobiałkowe (skierowane przeciwko białku końskiemu) oraz 2) antywirusowe (przeciw wirusowi n.z.k.). W pierwszej fazie doświadczenia chodziło o ustalenie wpływu poszczególnych stymulatorów na wysokość miana przeciwciał, na razie bez względu na ich rodzaj. Zastosowano metodę aglutynacji oraz odczyn wiązania dopełniacza. Jako antygenów użyto surowic (1:10) oraz wyciągów alkoholowych śledzion (antygen wg. Serra i wsp. — 12) koni zdrowych i chorych na n.z.k. (doświadczalnie zakażonych). Badania rozpoczęto po upływie ok. 1—1½ mies. od pierwszej hiperimmunizacji powtarzano co 7—10 dni. Najwyższy poziom, utrzymujący się przez dalszy okres, osiągnęły miana po 3—3½ miesięcznym uodparnianiu, z tym, że najwyższe miano zarówno w aglutynacji jak i odczynie wiązania dopełniacza wykazały surowice królików uodparnianych dootrzewnowo co 10 dni ze stymulatorem olejowo-bakteryjnym, a następnie (w kolejności wysokości mian): domięśniowo co 7 dni przy użyciu jako stymulatora zawiesiny *M. phlei*, na przemian domięśniowo i dożylnie (co 3 dni) również z zawiesiną *M. phlei*. Stosunkowo wysokie miano (aczkolwiek wyraźnie niższe od wyżej wymienionych) posiadała surowica królików hiperimmunizowanych co 7 dni domięśniowo bez stymulatora. Najniższe miana wykazały surowice po wprowadzeniu dożylnym ze stymulatorem glicerynowym lub dożylnym i dootrzewnowym bez adiuwanta. Jest rzeczą znamioną, że surowice królików, uodparnianych przy użyciu stymulatorów olejowo-bakteryjnego i zawiesiny *M. phlei* posiadały w odczynie wiązania dopełniacza wyższe miano przynajmniej o 1 rząd, jeśli antygenem była surowica lub wyciąg śledziony konia chorego na n.z.k. W celu dalszego zwiększenia odczynowości serologicznej przeprowadzono próby pobudzenia układu przywspółczulnego. W tym celu królikom z każdej grupy (po jednym) podano podskórną a 2 ml *Sol. Pilocarpini hydrochlorici* 1/1000, a następnie pobierano krew do badań w odstępach 4, 12, 24, 48 i 96 godzin. Stwierdzono

wzrost miana (o 1 rząd) zarówno w aglutynacji jak i w o.w.d. tylko w surowicach królików uodparnianych dootrzewnowo ze stymulatorem olejowo-bakteryjnym i to dopiero po upływie 24 (?), 48 i 96 godzin. U pozostałych zwierząt nie zaobserwowano szczególnych różnic. Z kolei przystąpiono do rozdziału dwóch (hipotetycznie) rodzajów przeciwciał — konkretnie do uwolnienia przeciwciał antywirusowych od obco-białkowych (skierowanych przeciwko białku końskiemu). Wybrano dwie metody: serologiczną (wg Castellani'ego) oraz elektroforezę. Niniejsze doniesienie odnosi się do badań nad zastosowaniem metody absorpcji serologicznej.

Założenie było następujące: absorbując za pomocą aglutynacji z surowicami koni zdrowych przeciwciała tylko obco-białkowe, winno się oszczędzić przeciwciała antywirusowe. Natomiast używając jako antygeny do aglutynacji surowicy konia chorego na n.z.k., należałoby uzyskać stojąc na stanowisku jednorodności przeciwciał (Zabłocki 14), supernatant pozbawiony obu rodzajów przeciwciał. W tym celu do 3 ml odpornościowej surowicy króliczej (nierozcieńczonej) dodawano 3 ml antygeny, tzn. surowicy (1/10) konia zdrowego wzgl. chorego na n.z.k., wstrząsano, wstawiano do cieplarki na 4—6 godz., a następnie po wytworzeniu się zmętnienia wzgl. osadu — przenoszono do chłodni do dnia następnego, wirowano przy 3000 obr./min. przez 15' i płyn nad osadem zbierano bardzo uważnie pipetą pasterowską do jałowych probówek. Uzyskiwano w ten sposób około 4—5 ml supernatantu, z którego częścią (0,5 ml) nastawiano powtórnie aglutynację dla sprawdzenia, czy wszystkie aglutyniny p. białku końskiemu zostały wyabsorbowane. W przypadku stwierdzenia w aglutynacji kontrolnej choćby śladu zmętnienia całą surowicę badaną poddawano absorpcji po raz wtóry. Zwykle wystarczało 2—3 krotne wysycanie, aby otrzymać supernatant wolny od aglutynin obco-białkowych, z którym z kolei nastawiano odczyn wiązania dopełniacza. W tym celu wysyconą surowicę inaktywowano sposobem tzw. hipertoniczacji czasowej (*Radomiński* i *Boski* 11) bacząc, by końcowe rozcieńczenie wynosiło zawsze 1/10 w stosunku do surowicy czystej. W związku z tym należało za każdym razem uwzględnić ilość przeprowadzonych uprzednio aglutynacji, przyjmując, że każda próba rozcieńcza surowicę w stosunku 1/2. Technika odczynu przyjęto wg. *Altara* i wsp. z tym, że dopełniacz miareczkowano w obecności surowic badanych (*Radomiński* i *Boski* 10). Wyniki odczynu były następujące: wszystkie surowice królicze wysycane surowicami koni chorych na n.z.k. reagowały ujemnie bez względu na to, czy antygen (surowica wzgl. wyciąg śledziony) pochodził od konia zdrowego czy chorego. W grupie surowic króliczych, wysycanych surowicami koni zdrowych, wynik słabo dodatni

(ok. 50% zahamowania hemolizy) stale obserwowano w przypadku królików, uodparnianych dootrzewnowo ze stymulatorem olejowo-bakteryjnym, przy użyciu jako antygeny surowicy lub wyciągu śledziony koni chorych. Antygeny „zdrowe“ dawały wyniki ujemne. Z innych grup królików wynik wątpliwy (ok. 25% zahamowania) otrzymywano jeszcze po domięśniowym wprowadzeniu wirusa z adiuwantem — zawiesiną *M. phlei*. Wyniki odczynu z surowicami pozostałych królików były albo w pełni ujemne, względnie wątpliwe ale niestałe. Należy zaznaczyć, że w stosunku do przeciwciał anty-wirusowych nie zaobserwowano wyraźnego wpływu podrażnienia układu przywspółczulnego pilokarpiną. Na podstawie otrzymanych wyników do dalszych prac wybrano metodę uodparniania drogą dootrzewnową ze stymulatorem olejowo-bakteryjnym. Założeniem następnego etapu badań jest, po przeprowadzeniu rozdziału elektroforetycznego białek surowicy krwi królików hiperimmunizowanych, uzyskanie drogą elucji czystych frakcji tylko anty-wirusowych i użycie eluatu (po zliofilizowaniu) do odczynu wiązania dopełniacza jako przeciwciała. Będzie to tematem następnego doniesienia.

Omówienie wyników. Jedną z zasadniczych koncepcji, odnoszących się do techniki odczynu wiązania dopełniacza w zastosowaniu do rozpoznawania n.z.k. jest przełamanie „bariery“ homologiczności kompleksu antygen-przeciwciała, przez co — być może — odczyn ten nabrałby cech większej swoistości i czystości zachodzących powiązań. Jest rzeczą zrozumiałą, że kierunki badań zmierzały w pierwszym rzędzie ku znalezieniu innego źródła antygeny, czyli innych sposobów hodowli i namnażania wirusa poza organizmem konia. Jak dotychczas, jednak, zgodnie z dostępną literaturą i własnymi doświadczeniami nie można zanotować w tym zakresie konkretnych osiągnięć. Wprawdzie Arakawa i wsp. (1) donoszą o pozytywnych wynikach o.w.d., używając jako antygeny zawiesiny mózgu zakażonego wirusem n.z.k. myszek, jednak przeciwciałem w tym odczynie była surowica królików uodparnianych tą zawiesiną (możliwość powiązań nieswoistych), nie nastawiano natomiast prób z surowicami koni. Trudności kierunku przyjętego przez autora niniejszej pracy odnosiły się do dwóch zasadniczych zagadnień: 1) czy w ogóle i w jakim stopniu wirus n.z.k. posiada własności antygenowe, oraz 2) jeśli uda się uzyskać przeciwciała anty-wirusowe — w jaki sposób uwolnić je od przeciwciał obco-białkowych. Odnosnie pierwszego zagadnienia, wyniki doświadczeń wstępnych, polegających na hiperimmunizacji królików bez użycia adiuwantów, przemawiały raczej za brakiem tych własności, względnie ich znikomym potencjałem. Wykonane bowiem próby z uzyskanymi w ten sposób surowicami, po wysyceniu dawały

zawsze wyniki ujemne. Zaistniało więc zagadnienie dodatkowe, a mianowicie doboru adiuwantu oraz drogi wprowadzenia wirusa. Okazało się, że nie są to sprawy obojętne, gdyż najlepsze wyniki uzyskano metodą iniekcji dootrzewnowych ze stymulatorem olejowo-bakteryjnym oraz domięśniowych z zawiesiną *M. phlei*. Poza tym tylko te dwie metody, a ściślej biorąc najpewniej tylko pierwsza, pozwoliły na uzyskanie przeciwciał anty-wirusowych, wprawdzie o nie wysokim mianie, ale widocznych i utrzymujących się na stałym poziomie przez czas dalszego uodparniania. Nasuwa się pytanie, czy otrzymane wyniki przemawiają za swoistością odczynu. Ostatnio Ulbrich (13) całkowicie odrzuca koncepcję specyficzności odczynu wiązania dopełniacza wg. autorów włoskich, przyrównując go co do istoty z reakcją Wassermann'a, a nawet na podstawie swoich badań stwierdza wyższość antygeny kardiolipidowego („Cardiolipine“ — używany do rozpoznawania kiły) nad wyciągiem alkoholowym śledziony koni chorych. Można by w takim razie dopatrywać się sprzeczności co do istoty zagadnienia. Sprzeczność tą wydaje się być tylko pozorna. Jeżeli bowiem przyjąć, że w „klasycznym“ odczynie autorów włoskich, zasadniczy, podstawowy antygen nie posiada cech swoistych, to można by również przyjąć istnienie obok tego powiązań specyficznych (wirus-przeciwciała), które w tym układzie zostają być może jako znacznie słabsze, przytłumione przez dominujący układ nieswoisty. Użycie w opisywanych badaniach jako antygeny nie tylko wyciągu śledziony lecz również surowicy koni chorych i otrzymanie — aczkolwiek nie pełnego — zahamowania hemolizy, przemawiało by raczej za tą hipotezą. Odnosnie praktycznego zastosowania wyników przedstawionych badań można by wysunąć zastrzeżenia, że stopień „pozytywności“ próby będzie zależny i wprost proporcjonalny do ilości wirusa we krwi krążącej, a więc najpewniejsze wyniki otrzyma się tylko w okresach napadów gorączkowych, natomiast w czasie remisji lub w formie przewlekłej lub latentnej będą one niewyraźne i niemięrodajne. Drugim, równie poważnym, jest zagadnienie trwałości mian przeciwciał odpornościowych surowic króliczych w stanie zliofilizowanym. I wreszcie istnieje problem bardziej precyzyjnego rozdziału przeciwciał obcogatunkowych od anty-wirusowych. Niniejsze badania zostały przeprowadzone w skali laboratoryjnej i celem ich było w pierwszym rzędzie znalezienie odpowiedzi na pytanie zasadnicze, a mianowicie, czy w ogóle istnieje możliwość uzyskania przeciwciał anty-wirusowych n.z.k. drogą hiperimmunizacji i wykrywania ich odczynu wiązania dopełniacza przy użyciu jako antygeny surowicy krwi koni chorych. Wydaje się, że odpowiedź w tym wypadku jest twierdząca. Sprawą dalszych badań będzie rozstrzygnięcie poruszonych zagadnień. W każdym razie otrzy-

mane dotychczas wyniki pozwolą być może wyjaśnić to tak aktualne, ważne i do tej pory ostatecznie nie rozwiązane zagadnienie, jakim jest przyżyciowe rozpoznawanie niedokrwistości zakaźnej koni.

Piśmiennictwo

1) Arakawa S., Kaneko T., Seki T., Muto S.: Wien. tierarztl. Mschr. 40/6 (1953), s. 321. 2) Contreras G., Melnick J. L.: J. Immunol. 70/5 (1953), s. 484. 3) Dreguss M. N., Lombard L. S.: Experimental studies in equine infectious anemia, Philadelphia 1954. 4) Dubowska A.: Postepy Hig. i Med. Dośw. 10/4 (1956), s. 359. 5) Fortner J., Ulbrich F.: Bull. O. I. E. 45/3-4 (1956), s. 309. 6) Freund J., Jefferson Thomson K., Hough H. B., Sommer H. E., Pisani F. M.: J. Immunol. 60/3 (1948), s. 383. 7) Kshland M. E.: J. Immunol. 70/40 (1953), s. 359. 8) Palyusik M.: Acta. Vet. Acad. Scient. Hung. 6/1 (1956), s. 1. 9) Pearson C. M.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 91/1 (1956), s. 95. 10) Radomiński W., Boski A.: Med. Wet. 13/6 (1957), 325. 11) d-tto: Med. Wet. 13/10 (1957), s. 582. 12) Serra A., Itikawa O., Guarini H., Milone M., Ambrosino C., Liberatori J.: XXIV Session du Comité de l'O.I.E. 46 (1956), s. 626. 13) Ulbrich F.: Zbl. Med. 5/3 (1958), s. 245. 14) Zabłocki B.: Immunologia — P.W.N. Łódź, 1955.

B. RAДОМИНСКИ

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУННОЙ СЫВОРОТКИ ПОЛУЧЕННОЙ ОТ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ДЛЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЛОШАДЕЙ.

Содержание

Автор, стараясь разбить гомологический до настоящего времени комплекс антиген-антитело в реакции связывания комплемента (Р.С.К.) при диагностике инфекционной анемии лошадей (И.А.Л.), сделал попытку получить иммунную сыворотку от лабораторных животных (от кроликов). В качестве вируса он применил лиофилизат сыворотки лошади экспериментально инфицированной И. А. Л., а в качестве адьювантов: 5% глицерин, эмульсию *M. phlei* и бактериинно — маслянистый и стимулятор (б. м. с. = *M. phlei* + ланолин + жидкий парафин). Антиген вводили интравенозно интраартериально, интраперитонеально и попеременно в вену и в мышцы с интервалами между инъекциями в 3, 7 и 10 дней; гипериммунизацию вели 3—3.5 месяца. Самый высокий титр антител установлен в сыворотках от кроликов иммунизированных интраперитонеально

через каждые 10 дней антигеном смешанным с адьювансом б.м.с. Антитела против чужому белку адеорбировались по методу Кастеллани, применяя в качестве антигена сыворотки лошадей здоровых и больных И.А.Л. Поставленная с примененным в качестве антигена экстрактом селезенки лошади больной И. А. Л. — реакция связывания комплемента дала позитивные результаты с сыворотками истощенными по методу Кастеллани антигеном — сывороткой здоровых лошадей, а негативные с сыворотками истощенными антигеном — сывороткой лошадей больных И. А. М. Исследования по электрофорозу полученных иммунных сывороток и выделению отдельных фракций — в работе.

W. RADOMIŃSKI

THE USE OF IMMUNE SERA PRODUCED IN LABORATORY ANIMALS FOR COMPLEMENT FIXATION TEST IN THE DIAGNOSIS OF EQUINE INFECTIOUS ANEMIA.

I. SEPARATION OF THE SERA BY COSTELLANI'S METHOD*)

Summary

Investigating the possibility of the separation of the complex antigen-antibody in the complement fixation test (CFT) for the diagnosis of equine infectious anemia (EIA) the immune serum was produced in rabbits. As the source of the virus the lyophilized sera of artificially infected horses were used and as the adjuvant-glycerine suspension of *M. phlei* and the so called oil-bacterial stimulant. The virus was introduced by intravenous, intramuscular, intraperitoneal and alternate injections. Time intervals of inoculations were 3, 7 and 10 days accordingly. Time of the whole immunization 3 — 3.5 months. Sera of rabbits immunized intraperitoneally every 10 days together with oil bacterial stimulant showed the highest titer. Antibodies against horse proteins were precipitated by Castellan's method using an the antigen sera of normal and anemic horses. Rabbit sera thus prepared were used in CFT with serum and spleen extract of a sick horse-as the antigen. Positive results have been received by the „healthy“ normal antigen, and negative-when the EIA-antigen was used for agglutination. Investigations are conducted on electrophoretic separation of immune rabbit sera and elution of corresponding fractions.

*) This work was recapitulated on the I Congress of the Polish Association of Veterinary Science (Warszawa, April 17—19 th, 1958).

JAN ZADURA

Wartość diagnostyczna zmian w śledzionie przy pomorze trzody chlewnej*)

Z Zakładu Anatomii Patologicznej Instytutu Weterynarii w Puławach
Kierownik: Prof. dr TADEUSZ ŻULIŃSKI

Trudności na jakie napotyka anatomopatolog w diagnozowaniu makroskopowym pomoru trzody chlewnej o atypowym obrazie zmian sekcyjnych skłoniły do bardziej wnikliwych badań histologicznych narządów wewnętrz-

nych, celem ustalenia charakterystycznych zmian, umożliwiających w takich przypadkach rozpoznanie. Badania te mają istotne znaczenie wobec niepowodzeń metod serologicznych i kosztownych prób biologicznych. W badaniach histologicznych zwrócono szczególną uwagę na naczynia w narządach wykazujących zmiany makroskopowe. Największe nasilenie zmian

*) Praca w całości ukaże się w Rocznikach Nauk Rolniczych S. E.