

Tabela 3. Wyniki szczepień przeciw salmonelozowym

	Ilość sztuk szczepionych	Zachorowało na salmonelozę Ogółem	Zachorowało między I a II szczepieniem	Zachorowało po II szczepieniu
Tuczarnie wolne od salmonelozy				
Chudów Nowe	1.446	—	—	—
Chudów Majątek	1.425	—	—	—
Razem:	2.871	—	—	—
Tuczarnie zakażone dobre warunki bytowe				
Czernica	1.300	61	1	3
Lasowice	677	42	21	5
Czechowice	746	40	19	12
Razem:	2.723	143 (5,3%)	41 (1,5%)	20 (0,7%)
Tuczarnie zakażone złe warunki bytowe				
Chudów Szałas	522	70	4	4
Strumień	1.350	80	28	41
Razem:	1.872	150 (8,0%)	32 (1,7%)	45 (2,4%)

(gorsza karma, podmokłe i bagniste wybiegi, brak ściółki, długotrwałe zimna i słoty), szczególnie w jednej z nich (Strumień). Przeszczepiono w tych tuczarniach 1.872 warchlaki. Zapadalność na salmonelozę dochodziła tu do 8%. Po I-szym szczepieniu stwierdzono 1,7% upadków na salmonelozę, a po II-gim przełamanie odporności w ciągu trzech-miesięcznej kwarantanny wystąpiło u 2,4% warchlaków.

Wnioski

Wyciągając wnioski z tej akcji można uznać, że wskazane jest szczepienie warchlaków w

okresie kontumacyjnym w tuczu przemysłowym przeciw salmonelozie. Szczepionka bowiem jeżeli nie chroni całkowicie pogłowia przed tym schorzeniem to przynajmniej zmniejsza do minimum straty przez nie wywołane. Należy tutaj przypomnieć, że salmonelozą jest schorzeniem przede wszystkim młodzięży, a odporność nabyta po zastosowaniu szczepionki wynosi około 3-ch miesięcy co praktycznie wystarcza na przetrwanie krytycznego okresu wzrostu warchlaków.

Autorzy pragną podziękować kol. kol. zatrudnionym w Tuczni Przemysłowej dr Kostrzewskiemu J. i dr Jel.ńskiemu J. za wykonanie szczepień terenowych.

M. DOLEŻAŁ, R. LUTYŃSKI, J. WIŚNIEWSKI

Zastosowanie obcogatunkowej surowicy antyglobulinowej do odczynu Coombsa przy brucelozie bydła

Z Woj. Zakładu Higieny Wet. I.W. i Zakładu Mikrobiologii A.M. w Krakowie

W ostatnich latach badania nad przeciwciałami niekompletnymi, występującymi w surowicy osobników chorych na niektóre choroby zakaźne znajdują coraz większe zastosowanie praktyczne.

Wykazano istnienie przeciwciał niekompletnych w przebiegu brucelozy (1, 3, 7, 8, 12), duru brzuszego, duru wysypkowego, gorączki Q (9) i innych. Najdokładniej stosunkowo zbadano występowanie przeciwciał niekompletnych u ludzi chorych na brucelozę. Analogiczne zagadnienie w przebiegu brucelozy u bydła wymaga jeszcze bardziej szczegółowych studiów.

Jednym z odczynów służących do wykrywania przeciwciał niekompletnych jest odczyn Coombsa (2), przystosowany odpowiednio jako

tak zwany odczyn pośredni, przy czym sprawa konieczności stosowania w nim surowicy skierowanej przeciw gatunkowo homologicznym globulinom nie jest jeszcze przesądzona (1, 3).

W związku z pracami prowadzonymi w zakresie serodiagnostyki brucelozy (5, 6, 11, 13), których celem było i jest udoskonalenie metod, nasunęło się zagadnienie rozszerzenia kompleksu stosowanych prób i na odczyny wykazujące obecność przeciwciał blokujących czy niekompletnych (7, 8). Jednym z takich opracowań jest niniejsze doniesienie, które prócz przyczynku do rozważań natury ogólnej—mianowicie do problemu swoistości względnie nieswoistości gatunkowej globulin przeciw-

ciał — stanowi również praktyczne rozwiązanie laboratoryjne.

Odczyn Coombsa (pośredni), dający cenne usługi, zwłaszcza w przewlekłym przebiegu brucelozy (12), jest mianowicie odczynem, który ze względu na trudności techniczne, nie nadaje się do badań masowych. Nie przesądza to jednak potrzeby zastosowania go w pewnych szczególnych przypadkach, gdy mimo uzasadnionego podejrzenia o brucelozę odczyn zlepnny i wiązania dopełniacza wypadają ujemnie. Ponieważ na razie trudniej o odpowiednią surowicę antyglobulinową skierowaną przeciw globulinom bydłęcym, a można zawsze mieć do dyspozycji taką surowicę skierowaną przeciw globulinom człowieka (używana w stacjach krwiodawstwa), należało się przekonać doświadczalnie, czy można ją stosować w odczynie Coombsa do rozpoznawania surowic bydłęcych.

Badania własne

Materiał doświadczalny stanowiły surowice bydłęce, mianowicie takie surowice, w których ze względu na pochodzenie zwierzęcia i wyniki pozostałych odczynów można się było spodziewać zahamowania reakcji w odczynie zlepnym. W związku z tym zestawione wyniki nie będą informowały o zjawisku zahamowania odczynu zlepnego, w sensie częstości jego występowania w przebiegu brucelozy u bydła. Część zbadanych surowic pochodziła od bydła ze środowisk na pewno wolnych od brucelozy, a więc stanowiły one kontrolę swoistości odczynu. Część surowic pochodziła od bydła z kilku obór zakażonych brucelozą. Wśród tego bydła były zwierzęta szczepione szczepionką Buck-19 i zwierzęta zakażone brucelozą. Co do pewnej ilości zwierząt posiadaliśmy jedynie dane środowiskowe, natomiast brak było bliższych danych osobniczych.

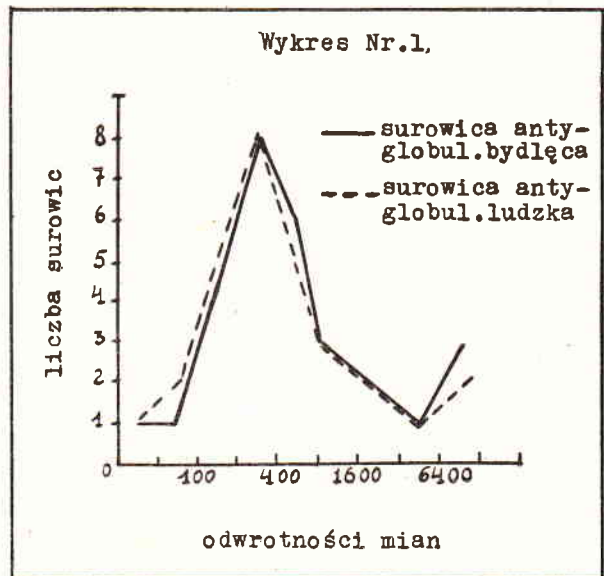
Każdą surowicę badano odczynem zlepnym próbówkowym, odczynem wiązania dopełniacza (14) i odczynem Coombsa (7, 8). Większą część surowic badano ponadto odczynem na przeciwciała blokujące (1, 3), i szybkim odczynem zlepnym (13). W odczynach stosowaliśmy antygeny Instytutu Weterynarii. Surowicę skierowaną przeciw globulinom bydłęcym (10) otrzymano z Instytutu Zootechniki (mgr Rapacz), a surowicę skierowaną przeciw globulinom człowieka wyprodukowano we własnym zakresie (4). Surowice te miareczkowano w Stacji Krwiodawstwa (mgr J. Bleinert).*

Ogółem zbadano 151 surowic bydłęcych, w tym 10 od bydła ze środowisk wolnych od brucelozy. Badanie porównawcze, obejmujące prócz innych odczynów również odczyn Coombsa, przeprowadzany równoległe z surowicami skierowanymi przeciw globulinom bądź bydłęcym

bądź ludzkim, obejmowało 60 surowic (10 od bydła niezakażonego, 50 od narażonego na zakażenie). Pozostałe surowice (od 91 sztuk bydła) badano prócz wyżej wymienionych odczynów, odczynem Coombsa, jednak tylko z surowicą skierowaną przeciw globulinom ludzkim.

Ze względów technicznych przyjmujemy w tekście kilka skrótów: agl. = odczyn zlepnny, owd = odczyn wiązania dopełniacza, oC = odczyn Coombsa, blok. = odczyn na przeciwciała blokujące, sur. antygl. L. = surowica skierowana przeciw globulinom ludzkim, sur. antygl. B. = surowica skierowana przeciw globulinom bydłęcym.

Zasadniczym tematem pracy były badania porównawcze nad zachowaniem się odczynu Coombsa przy użyciu obydwu wymienionych wyżej surowic antyglobulinowych (Tab. I, wykres nr 1). W badaniach tych uzyskano następujące wyniki: z 31 surowicami (w tym 10 surowic od bydła niezakażonego) nie uzyskano dodatnich wyników, w 21 przypadkach oC wykonany w obu wariantach wypadł dodatnio, a uzyskane miana były jednakowo wysokie. Z po-



zostałymi 8 surowicami oC wypadł dodatnio, lecz miano różniło się w zależności od użytej surowicy antyglobulinowej, a mianowicie: oC z sur. antygl. B. dał z 7 surowicami miano wyższe o 1 stopień rozcieńczenia i z 1 surowicą o dwa stopnie rozcieńczenia. Z powyższego wynika, że zarówno z surowicami bydła niezakażonego jak i bydła pochodzącego z obór zakażonych uzyskano wyniki tak dalece zgodne, że w większości przypadków (72,5%) uzyskano równe wartości miana, a różnice w wartości miana jakie zanotowano z pozostałymi surowicami nie przekroczyły dwóch stopni rozcieńczenia. Wyższą wartość otrzymano w oC z sur. antygl. B. Ponieważ różnice te występowały w zakresie mian stosunkowo wysokich, przy

* Za wspomnianą pomoc poczuwamy się do miłego obowiązku podziękować Pani mgr Bleinert i Panu mgr Rapaczowi.

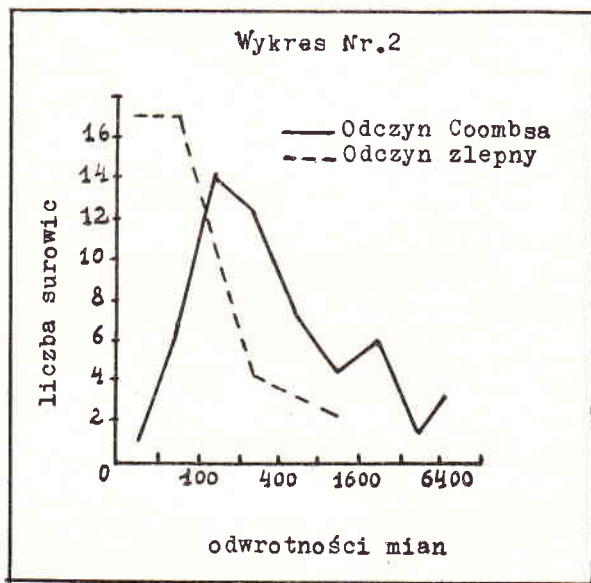
ewentualnym rutynowanym badaniu diagnostycznym nie wpłynęłoby to na ostateczną ocenę wyniku. Warto zaznaczyć, że w oC używano w zakresie wyników dodatnich przeważnie zdecydowanie wysokie miana, nie naruszające wątpliwości interpretacyjnych. Poniższe zestawienie uwidacznia, że stosunkowo niskie miano wystąpiło tylko z 1 surowicą, a większość surowic reagowała w zakresie rozcieńczeń 1:100 do 1:800.

		o d c z y n C o o m b s a									
miano		1:25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	Razem
sur. antygl.											
bydłęca		1	1	4	8	6	3	2	1	3	29
ludzka		1	2	5	8	5	3	2	1	2	29

Zestawieniu powyższemu odpowiada wykres 1.

Po stwierdzeniu, że odczyn Coombsa przy zastosowaniu obu rodzajów surowic antyglobulinowych daje zupełnie zgodne wyniki i to zarówno z surowicami bydła zakażonego, szczepionego jak i wolnego od brucelozy, dalszych 91 surowic zbadano stosując prócz innych odczynów odczyn Coombsa jedynie z sur. antygl. L.

W oparciu o spostrzeżenia dokonane w trakcie badania 151 surowic wspomnianym kompleksem prób diagnostycznych, porównać należało przede wszystkim wyniki odczynu zlepnego probówkowego i odczynu Coombsa, aby przekonać się o wartości tego ostatniego. Wyniki te (tab. 2, wykres 2) przedstawiają się



następująco: Zgodność agl. z oC wystąpiła w zakresie wyników dodatnich z 54 surowicami, w zakresie wyników ujemnych z 49 surowicami. Razem więc wyniki zgodne uzyskano z 103 surowicami (68,2%). Wyniki niezgodne w postaci ujemnie przebiegającego odczynu zlepnego

go przy dodatnim odczynie Coombsa stwierdzono w 46 surowicach pochodzących od bydła z obór zakażonych. Odwrotną niezgodność spostrzeżono w 2 przypadkach. Pod pojęciem zgodności mamy na myśli ogólną zgodność, natomiast same miana przy wynikach dodatnich różniły się znacznie w zdecydowanej większości przypadków. Omówione wyniki podano w tabeli 2, oraz poniższych zestawieniach tabelarycznych i wykresie 2.

Porównanie wyników (ogólne)

odczyn zlepny	o d c z y n C o o m b s a		
	ujemny	dodatni	razem
ujemny	49	46	95
dodatni	2	54	56
R a z e m	51	100	151

Porównanie wysokości miana

miano		1:25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	Razem
odczyn											
Coombsa		1	6	14	12	7	4	6	1	3	54
zlepny		17	17	11	4	3	2	—	—	—	54

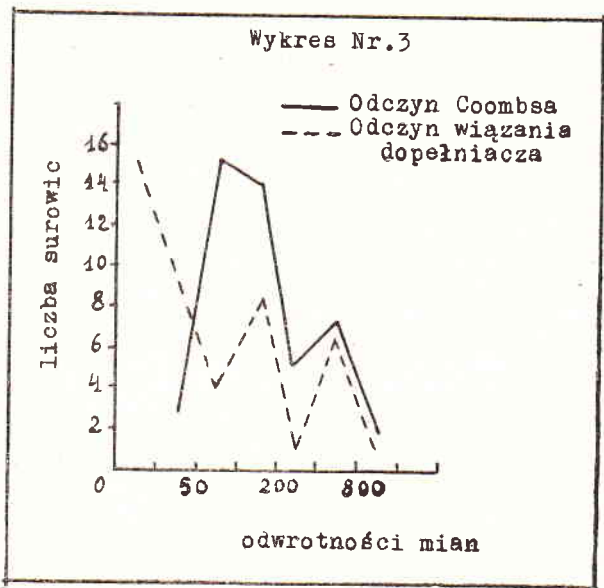
Odchylenia wartości miana w stopniach rozcieńczenia

odchylenie o C względem agl.	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	Razem
ilość surowic	1	2	13	25	7	4	—	1	1	54

Z zestawień powyższych wynika, że oC daje w zdecydowanej większości przypadków (96,3%) w wynikach dodatnich miana o kilka rozcieńczeń wyższe, tym samym niejednokrotnie zmienia wynik z wątpliwego na dodatni. Takie zaostrożenie oceny wyniku zastosowano w 17 przypadkach (dane w tab. 2).

W grupie surowic, które dały zgodnie ujemne wyniki w odczynach agl. i oC, równolegle wykonywany odczyn wiązania dopełniacza wypadł dodatnio z 8 surowicami z obór zakażonych. Uzyskane miana wynosiły: z jedną surowicą 1:25, z dwoma 1:50, z dwoma 1:100, z jedną 1:400 i z dwoma 1:800. Tego rodzaju przebieg reakcji, tj. brak aglutynin a obecność przeciwciał wiążących dopełniacz spotykany jest przy brucelozie (5). Podane rozbieżności dotyczą surowic od bydła eksponowanego na zakażenie, co przemawia za swoistością wyników uzyskanych za pomocą owd.

W grupie surowic natomiast, w której uzyskano rozbieżności między agl. i oC szczególnie interesujące są przypadki ujemne w agl. i równocześnie dodatnie w oC, gdyż to daje pewien pogląd na błędy rozpoznania, które popełniałoby się stosując sam odczyn zlepny.



W tabeli 3 poniższych zestawień i wykresie 3 opisano przypadki, w których odczyn zlepnym próbówkowym wypadł ujemnie, odczyn Coombsa dodatnio, a odczyn wiązania dopełniacza wypadł różnie. W tego rodzaju zestawieniach mieliśmy na celu wykazanie w jakim odsetku surowic owd „popierał” rozpoznanie dokonane odczynem Coombsa.

Zestawienie ogólne

	Odczyn wiązanie dopełniacza		
	ujemny	dodatni	razem
Odczyn Coombsa dodatni	17	29	46

Porównanie wysokości miana

odczyn	miano							razem
	0	1:25	50	100	200	400	800	
Coombsa	—	3	15	14	5	7	2	46
wiąz. dop.	17	9	4	8	1	6	1	46

Z zestawień wynika, że na 46 surowic, które reagowały tylko w oC w 29 przypadkach uzyskano potwierdzenie wyniku w owd (63%).

Przemawia to za swoistością wyników odczynu Coombsa. Jeżeli zatem weźmiemy pod uwagę całość materiału z obór zakażonych (141 surowic) to wyniki odczynu Coombsa dodatnie w liczbie 46, przy równocześnie ujemnym odczynie zlepnym wskazują, że oC może aż w 32,6% przypadków umożliwić rozpoznanie wówczas gdy odczyn zlepnym wypada ujemnie.

Z dwoma surowicami uzyskano niezgodność innego typu, mianowicie ujemny wynik oC przy dodatnim odczynie zlepnym. W przypadkach tych miano agl. wynosiło 1:50 i 1:100, przy czym owd z obiema surowicami był dodatni w mianach 1:25 i 1:100. Niezgodność tę

rozstrzyga owd, wskazując na to iż w tych przypadkach oC dał wynik fałszywie ujemny (mając w dwu klasycznych odczynach wyniki dodatnie nie ma uzasadnienia podważać ich swoistości, ujemny oC uznać przeto można za błędny).

Jeżeli chodzi o spostrzeżenia dotyczące czułości i swoistości szybkiego odczynu zlepnego, wyników fałszywie ujemnych w porównaniu z odczynem zlepnym próbówkowym nie wykazano, natomiast w 3 przypadkach (2%) odczyn szybki dał wynik dodatni przy ujemnym próbówkowym. Z tymi trzema surowicami oC i owd dały również wyniki dodatnie. Spostrzeżenia tego rodzaju są potwierdzeniem ogłoszonych już wyników (13), że szybki odczyn zlepnym, może jako próba czuła i swoista, oddawać dobre usługi jako odczyn orientacyjny.

Odczyn na przeciwciała blokujące wykonany z surowicami reagującymi w próbówkowym odczynie zlepnym ujemnie (surowice bydła niezakażonego i z obór zakażonych) ujawnił w 14 przypadkach zahamowanie reakcji. Hamowanie to w postaci tak zwanej „prozony” wystąpiło w mianach 1:25 (6 surowic), 1:50 (5 sur.), 1:100 (3 sur.). Z surowicami tymi oC dawał wyniki dodatnie. Wydaje się przeto, że zbędne jest stosowanie równoległe oC i odczynu na przeciwciała blokujące, tym bardziej że ten ostatni nie zapewnia tak wyrazistych i łatwych w interpretacji wyników.”).

Na podstawie poczynionych spostrzeżeń — jakkolwiek dotyczą one stosunkowo małego materiału doświadczalnego — można przyjąć, że w odczynie Coombsa, dostosowanym do wykrywania przeciwciał opłaszczających pałeczki *Brucella*, można z powodzeniem stosować surowicę skierowaną przeciwko gatunkowo obcym globulinom. Mianowicie pośrednim odczynem Coombsa można badać na brucelozę surowice bydłace, stosując surowicę antyglobulinową skierowaną przeciw globulinom człowieka. Nieco wyższe miana uzyskiwane z surowicą homologiczną (różnice raczej nieznaczne), ze względu na szczupły materiał doświadczalny, nie pozwalają na uznanie tego zjawiska za znamienne. Ujemny przebieg odczynu Coombsa u bydła niezakażonego, dodatni jego przebieg z surowicami zwierząt zakażonych, przemawiają za dużą jego swoistością. Znacznie większa ilość wyników dodatnich uzyskana w oC (u bydła eksponowanego na zakażenie) w porównaniu z odczynem zlepnym oraz zdecydowanie wyższe miana w oC w porównaniu z agl. wskazują na dużą czułość odczynu Coombsa. Odczyn Coombsa rozszerza więc możliwości rozpoznawcze.

Jakkolwiek zalecane stosowanie w praktyce codziennej obu odczynów agl. i owd. (5) nie straciło na aktualności, to jednak ze wzglę-

*) W opracowywaniu zagadnień statystycznych uzyskaliśmy cenną pomoc ze strony dr Forysia, któremu na tym miejscu autorzy pragną złożyć wyrazy podziękowania.

Tabela 1

Tabela obrazuje zgodność wyników w odczynie Coombsa przy zastosowaniu surowic antyglobulinowych skierowanych przeciw globulinom ludzkim i bydłecym (badane surowice byda z obór zakażonych — 50 i niezakażonych — 10).

Surowica antyglobulinowa * bydłeca *	Miano										Razem
	0	1:25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	
0	31										31
1:25		1									1
50			1		1						2
100				4	1						5
200					6	2					8
400						4	1				5
800							2	1			3
1600								1	1		2
3200										1	1
6400										2	2
Razem:	31	1	1	4	8	6	3	2	1	3	60

Tabela 2

Tabela obrazuje zgodność i rozbieżności w wynikach odczynu Coombsa i próbówkowego odczynu zlepnego.

Miano	odczyn Coombsa										Razem
	0	1:25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	
0	49	3	15	14	5	7	2				95
1:25		6	10	1							17
50	1	1		3	9	2	1			1	18
100	1			1	1	3	2	3		1	12
200					1	2		1			4
400							1	2			3
800									1	1	2
1600											-
3200											-
6400											-
Razem:	51	4	21	28	17	14	6	6	1	3	151

Tabela 3

Tabela ujmuje surowice ujemnie reagujące w odczynie zlepnym, równocześnie dodatnio reagujące w odczynie Coombsa i podaje przy tym wynik odczynu wiązania dopełniacza.

Miano	odczyn Coombsa								Razem
	0	1:25	50	100	200	400	800		
0		2	9	5	1			17	
1:25		1	2	3	1	1	1	9	
50			1	2	1			4	
100			1	3	1	2	1	8	
200						1		1	
400			2	1	1	2		6	
800						1		1	
Razem:	-	3	15	14	5	7	2	46	

du na wczesne zanikanie przeciwciał wiążących dopełniacz u zwierząt szczepionych szczepionką Buck 19 (6), których liczba w kraju coraz bardziej się powiększa, odczyn zlepnny staje się często testem szczególnie ważnym. Odczyn Coombsa służący do wykrywania aglutynin może więc oddać cenne usługi w tych wszystkich przypadkach, gdy specjalne okoliczności stwarzają potrzebę szczególnie wnikliwego roz-

poznania serologicznego. Dzięki możliwości stosowania w nim łatwo dostępnych surowic antyglobulinowych, zastosowanie go w praktyce nie powinno nastęrczać specjalnych trudności.

Piśmiennictwo

1) Bürki F., Fey H. (1953): Schweiz. Zeitschr. f. Allgem. Path. u. Bakt. Vol. 16, No 6. 2) Coombs R. R. A., Mourant A. E., Race R. R. (1945): Brit. J. exper. Path. No 26, cyt. wg poz. 1. 3) Fey H., Bürki F. (1953): Schweiz. schr. Nr 25. 4) Hausman A. (1954): Konserwacja i przetwarzanie krwi, Warszawa, P.Z.W.L. 5) Kocowicz I., Ratomski A., Wiśniowski J. (1953): Med. Wet. nr 2. 6) Kocowicz I., Ratomski A., Wiśniowski J. (1958): Pamiętnik I Zjazdu P.T.N.W., Warszawa. 7) Lutyński R., Doleżał M. (1956): Med. Dośw. Mikrob. VIII. 8) Lutyński R., Doleżał M. (1956): Przegł. Lek. XII. 9) Lutyński R., Doleżał M. (1957): Med. Dośw. Mikrob. IX. 10) Milgrom F., Dubiski S., Łuszczynski T. (1956): Med. Dośw. Mikrob. VIII. 11) Ratomski A., Wiśniowski J. (1955): Med. Wet. nr 1. 12) Schael E. (1956): D. T. W. nr 15/16. 13) Wiśniowski J., Kocowicz I., Kamińska M. (1954): Met. Wet. 1/2. 14) Wiśniowski J. (1956): Med. Wet. nr 5.

M. DOLEŻAŁ, K. LUTYŃSKI, J. WIŚNIEWSKI

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКОЙ АНТИГЛОБУЛИНОВОЙ СЫВОРОТКИ К РЕАКЦИИ КУМБСА ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Содержание

Авторы провели сравнительное изучение 60 проб сыворотки крови, применяя при реакции Кумбса сыворотки против глобулинов человека и крупного рогатого скота. Во всех случаях (10 сывороток незараженного крупного рогатого скота и 50 из стад зараженных) результаты были идентичны. 91 проб сывороток из зараженных стад исследовано только антиглобулиновой сывороткой человека. Результаты проведенных опытов показывают, что реакция Кумбса с антиглобулиновой сывороткой человека может быть применена в ветеринарной серологической диагностике.

M. DOLEŻAŁ, K. LUTYŃSKI, J. WIŚNIEWSKI

THE USE OF ANTI HUMAN GLOBULIN SERUM IN THE COOMBS TEST ADAPTED TO THE DIAGNOSIS OF BOVINE BRUCELLOSIS

Summary

Comparative studies were conducted on 60 samples of cows sera using in the Coombs test sera anti — human and anti — bovine globulins. In all cases (10 sera of cattle not infected and 50 sera from infected herds), the results were identical. Ninety one samples of sera from infected herds were examined only with the anti human — globulin serum. The results of studies conducted on all 151 sera demonstrate that the Coombs test may be used in the veterinary sero — diagnosis with the anti human — globulin serum.