

ROMAN BOCHDALEK, JERZY NOWACKI, TADEUSZ SOBIECH

Zachowanie się odczynu hemaglutynacyjnego (OHA) u buhajów sztucznie zakażonych *Mycobacterium phlei*

Katedra Epizootiologii Wydziału Weterynarii WSR we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr T. SOBIECH

Odpowiedzią immunologiczną organizmu zwierzęcego na wprowadzenie prątków gruźlicy w celach doświadczalnych lub przy zakażeniu naturalnym jest powstanie w organizmie przeciwciał. Janowiec (3) podaje, że pojawienie się przeciwciał nie jest uwarunkowane istnieniem swoistych zmian tkankowych, ponieważ wprowadzenie prątków niechorobotwórczych również powoduje ich powstanie.

Założeniem pracy było zbadanie poziomu hemaglutynin wykrywanych odczynem hemaglutynacyjnym (OHA) w surowicy buhajów przed i po sztucznym zakażeniu *Myc. phlei*.

Materiał i metoda

Materiał doświadczalny obejmował buhaje rasy n.c.b. w gospodarstwie doświadczalnym „P” WSR we Wrocławiu w liczbie 14 sztuk. Wiek zwierząt wahał się od 12 miesięcy do 18 miesięcy. Zwierzęta przez cały okres badań przebywały w oborze i nie otrzymywały paszy zielonej. Podstawową karmę w okresie doświadczalnym stanowiła: sruła z grochu i rzepaku, kiszonka z liści buraczanych, wytloki suche, siano i słoma pszenna. Klinicznie u zwierząt nie stwierdzono odchyłań od normy, a przeprowadzona tuberkulinizacja przy użyciu alergenu typu PPD z *Myc. phlei* oraz tuberkuliny PPD ssaków i ptaków dała wynik ujemny. Badania przeprowadzono w miesiącach od kwietnia do października. Oznaczanie poziomu hemaglutynin przeprowadzono na początku kwietnia przed zakażeniem, a następnie po zakażeniu w odstępach miesięcznych. Zakażenia dokonano w połowie kwietnia wprowadzając doustnie 5 mg prątków *Myc. phlei* na kg wagi ciała. Krew do badań pobierano z żyły szyjnej każdorazowo przed dokonaniem tuberkulinizacji. Materiał doświadczalny podzielono na 2 grupy po 7 zwierząt w każdej, w zależności od wyniku badań alergicznych przeprowadzonych po zakażeniu.

Poziom hemaglutynin określano za pomocą OHA wg metody Heira (1) z użyciem trypsynowych krwinek baranich, alergenu homologicznego, tuberkuliny PPD ptaków i ssaków w rozcieńczeniu surowic 1:2 do 1:512. W zależności od typu użytego antygeny do opłaszczania krwinek w OHA poziom hemaglutynin oznaczono w 3 wariantach:

wariant I — alergen homologiczny typu PPD z *Myc. phlei* (0,8 mg białka w 1 ml),

wariant II — tuberkulina PPD ptaków (0,8 mg białka w 1 ml),

wariant III — tuberkulina PPD ssaków (1,0 mg białka w 1 ml).

Wyniki i omówienie

Wyniki badań serologicznych (OHA) z uwzględnieniem poszczególnych wariantów oraz grup przedstawiono w tabeli 1, podając tylko miana graniczne bez uwzględniania natężenia reakcji.

Hemaglutyniny w wariantie I w badaniach przed zakażeniem stwierdzono u 1 buhaja reagującego w odczynie tuberkulinowym (OT)

Tab. 1. Zachowanie się OHA przy użyciu antygeny z *Myc. phlei* tuberkuliny PPD ptaków i ssaków, u buhajów przed i po sztucznym zakażeniu *Myc. phlei*

Nr buhajka	Miesiące badania - miana																							
	IV		IV		V		VI		VII		VIII		IX		X									
	ph	ss	ph	ss	ph	ss	ph	ss	ph	ss	ph	ss	ph	ss	ph	ss								
1	-	-	2	2	8	-	4	4	-	4	-	2	8	-	8	8	4	4	4	8	-			
2	2	-	2	4	8	4	4	8	2	8	4	-	-	2	4	4	-	4	4	8	-			
3	-	4	16	8	8	16	4	8	8	2	4	4	2	8	16	16	16	4	8	16	-			
4	-	4	16	-	4	8	-	8	4	-	8	2	8	8	16	8	8	4	16	8	-			
5	-	-	4	4	4	4	4	4	16	8	2	2	2	16	16	4	4	4	4	4	-			
6	2	-	4	16	8	4	2	8	8	4	4	8	-	4	8	16	8	8	8	4	8			
7	-	-	-	2	4	8	2	8	16	4	4	8	-	4	8	16	-	4	4	4	-			
8	2	-	4	4	16	8	4	16	8	2	4	2	4	2	4	16	8	16	8	4	16			
9	-	-	2	-	4	2	-	8	4	2	-	2	2	16	16	4	4	4	4	4	+			
10	-	-	4	2	4	4	2	4	4	2	16	4	2	-	4	8	4	2	2	4	8			
11	-	4	4	-	8	8	-	8	16	4	-	4	2	4	16	16	8	16	-	8	16			
12	-	-	2	8	8	4	4	4	4	2	4	2	4	8	16	16	8	2	8	8	+			
13	-	-	-	2	2	2	-	-	4	4	-	-	4	4	-	16	16	2	4	4	+			
14	-	-	-	2	16	4	4	4	4	-	8	8	2	8	-	4	8	4	4	16	4			

dotąd i u 2 niereagujących. W miesiąc po zakażeniu przeciwciała pojawiły się w 4 surowicach zarówno u reagujących jak i niereagujących w OT. U 3 buhajów (nr 4, 9 i 11) hemaglutyniny wystąpiły w okresie 3 do 4 miesięcy po zakażeniu.

W wariantie II w okresie przed zakażeniem w grupie zwierząt reagujących w OT hemaglutyniny stwierdzono u 1 sztuki, natomiast u niereagujących w OT w 2 przypadkach. W miesiąc po zakażeniu wszystkie badane surowice w obu grupach zwierząt wykazały obecność przeciwciał. Zarówno w wariantie I jak i II w całym okresie badań uzyskane miana były niskie i wahały się od 1:2 do 1:16, niekiedy miano zanikało zupełnie, a najwyższe jego wartości dały się zauważyć w 5 miesiącu po zakażeniu.

Hemaglutyniny w wariantie III zarówno u buhajów tuberkulinoujemnych, jak i dodatnich w badaniach przed zakażeniem stwierdzono w 5 surowicach. W miesiąc po zakażeniu wszystkie badane surowice reagowały w OHA. W przebiegu całego doświadczenia u poszczególnych sztuk miana wahały się w granicach od 1 do 2 rozcieńczeń. Ponadto obserwowano okresowy zanik mian.

W miesiąc po zakażeniu w wariantie I stwierdzono wystąpienie, względnie wzrost poziomu przeciwciał w większej ilości badanych surowic w stosunku do okresu przed zakażeniem. Obserwowane różnice wysokości mian na ogół były nieznaczne i w związku z tym trudno jest określić czy ich wzrost był wynikiem zakażenia. Jedynie u 3 sztuk (nr 3, 6 i 12) zaobserwowano w miesiąc po zakażeniu wzrost mian o 3 rozcieńczenia.

Obserwacje nasze mogą być potwierdzeniem badań Hejliczka (2), który u prosiat doustnie zakażonych *Myc. phlei*, *Rabinowitsch* i *smegmatis* nie uzyskiwał zdecydowanego wzrostu przeciwciał. Natomiast przy podskórnym zakażeniu obserwował wyraźny wzrost hemaglutynin 14 dnia po infekcji i ich utrzymywanie się przez cały okres badań. Sobiech i Wachnik (7) uzyskiwali wysokie miana w OHA przy użyciu antygeny tuberkuliny z *Myc. phlei* w surowicach pochodzącego zarówno z terenów nawadnianych jak i nienawadnianych ściekami. Autorzy tłumaczą to szeroko rozpowszechnionym w przyrodzie występowaniem *Myc. phlei* i stąd istnieje możliwość częstych zakażeń tymi prątkami, co z kolei może powodować powstawanie przeciwciał. Średnie miana dla *Myc. phlei* u bydła z terenów nawadnianych ściekami były wyższe niż z terenów nienawadnianych. Ponadto autorzy obserwowali wyższe miana w okresie jesienno-zimowym, tłumacząc to większą możliwością zakażeń bydła prątkami atypowymi w czasie wypasu na pastwiskach niż w czasie chowu alkierzowego. Za takim przypuszczeniem przemawiają również obserwacje Wachnika (8), który u jałówek wypasanych na pastwisku nawadnianym wodami ściekowymi stwierdził w OHA narastanie mian dla *Myc. phlei* pod koniec wypasu. Wyniki badań własnych mogą potwierdzać spostrzeżenia Sobiecha i Wachnika (7), że u zwierząt pozostających w chowie alkierzowym nie uzyskuje się wysokich mian w OHA dla prątków saprofitycznych.

Spostrzeżenia nasze dotyczące wahania poziomu hemaglutynin względnie okresowego ich zaniku pokrywają się z obserwacjami innych autorów (5, 6).

Trudno wytłumaczalnym pozostaje fakt uzyskania najwyższych mian w 5 miesiącu po zakażeniu.

Porównując wyniki w OHA w wariacie I i II należałoby podkreślić, że jakkolwiek w okresie przed zakażeniem na 14 badanych sztuk, serologicznie reagowało po 3, to w okresie po zakażeniu w wariacie II dało się zaobserwować wcześniejsze pojawianie się przeciwciał w zestawieniu z wariantem I. W wariacie II w całym okresie badań stwierdzono wyższe wartości mian niż w wariacie I.

W okresie przed zakażeniem w OHA wykonanym przy użyciu krwinek opłaszczonych tuberkuliną ssaków wykazane hemaglutyniny u 10 na 14 badanych sztuk, w przeciwieństwie do OHA z krwinkami opłaszczonymi antygenem z *Myc. phlei* i tuberkuliną gdzie wystąpiły przeciwciała tylko u 3 sztuk.

W wariacie III podobnie jak w II stwierdzono wyższe miana niż w wariacie I. Nie zauważono natomiast różnic w zachowaniu się mian między wariantem III i II. Uzyskanie wyższych mian w wariacie II i III w stosunku do wariantu I pozostaje w sprzeczności

z wynikami podanymi przez Sobiecha i Wachnika (7). Lipanowicz (4) natomiast określając poziom hemaglutynin i hemolizyn w surowicach bydła przy użyciu jako antygeny w OHA i OHL tuberkuliny PPD ssaków i ptaków, stwierdził występowanie wyższych mian przy użyciu tuberkuliny ssaków niż ptaków w większej ilości badanych surowic.

Stwierdzenie przeciwciał w większej ilości badanych surowic w OHA przy użyciu jako antygeny tuberkuliny ssaków w okresie przed zakażeniem można tłumaczyć jej większą aktywnością, wynikającą między innymi z wyższej koncentracji białka w stosunku do dwóch pozostałych tuberkulin. Obserwowane w całym okresie badań nieznaczne wahania poziomu hemaglutynin w wariacie III przemawiają raczej za tym, że wzrost przeciwciał jakkolwiek minimalny dający się zaobserwować w OHA przy użyciu antygeny z *Myc. phlei* i tuberkuliny ptasiej nie był uchwytany przy użyciu tuberkuliny ssaków.

W 5 miesiącu po zakażeniu zaobserwowano w OHA najwyższe wartości mian zarówno w wariacie I i II, natomiast nie obserwowano tego zjawiska w wariacie III.

W zakresie wszystkich 3 wariantów nie zauważono wyraźnych różnic w wysokości poziomu hemaglutynin między buhajami reagującymi i niereagującymi w OT.

Uzyskanie podobnych wyników w wariacie I i II można by tłumaczyć pokrewieństwem antygenowym pomiędzy *Myc. phlei* i *Myc. avium*.

Trudności serologicznego potwierdzenia zakażenia w naszym materiale badawczym być może wynikają również, podobnie jak przy zakażeniu prątkami gruźlicy z niskiego poziomu przeciwciał przy tych zakażeniach i słabej aktywności serologicznej.

Wnioski

1. U buhajów sztucznie zakażonych *Myc. phlei* w OHA przy użyciu antygeny homologicznego, tuberkuliny ssaków i ptaków nie zaobserwowano wyraźnego wzrostu hemaglutynin w okresie po zakażeniu zarówno u sztuk reagujących jak i niereagujących na tuberkulinę.

2. Miana uzyskane w OHA przy użyciu tuberkuliny ptaków i ssaków były wyższe niż przy użyciu antygeny z *Myc. phlei*.

Piśmiennictwo

1. Hein H.: Tierärztl. Umschau 10, 10, 1955.
2. Hejliczek K.: Veterinarni Medicina 7, 59, 1962.
3. Janowiec M.: Postępy Hig. i Med. Dośw. 14, 271, 1960.
4. Lipanowicz J.: Biul. III Zjazdu PTNW, Lublin 1966.
5. Lipanowicz J., Sobiech T., Pawłowski A.: Biul. II Zjazdu PTNW, Wrocław 1962.
6. Romaniukowa K.: Bydg. Tow. Nauk., SA, 3, 3, 1963.
7. Sobiech T., Wachnik Z.: Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin 20, 901, 1966.
8. Wachnik Z.: Wiadomości IMUZ 5, 107, 1954.

Adres autora: dr Roman Bochdalek, Wrocław, Plac Grunwaldzki 45, WSR.

Bochdalek P., Nowacki E., Sobiech T. — Реакция гемагглютинации (РГА) у молодых быков искусственно зараженных *Mycobacterium phlei*.

Исследовали 14 шт. 12—18-месячных бычков зараженных перорально *Myc. phlei*. Уровень гемагглютининов определяли перед и после заражения по методу Hein'a применяя антигены: *Myc. phlei* туберкулин PPD птиц и туберкулин PPD млекопитающих. У животных реагирующих и не реагирующих на туберкулин не наблюдали после заражения отчетливого роста титра гемагглютининов. Все время титры РГА с туберкулинами были выше титра РГА с антигеном *Myc. phlei*.

Bochdalek R., Nowacki J., Sobiech T. — The behaviour of the hemagglutination test (OHA) in bull calves artificially infected with *Mycobacterium phlei*.

The investigations were carried out on 14 bull calves, 12—18 months old, infected orally with *Myc. phlei*. The hemagglutinine titre was defined before and after the infection with the use of the antigen of *Myc. phlei*, and avian and mammal PPD tuberculin. In both reacting and non-reacting to tuberculin specimens no evident increase of hemagglutinines was observed in the post-infection period. During the whole period of the observation the titres received in OHA with the use of avian and mammal tuberculin were higher than with the use of *Myc. phlei* antigen.

EDMUND BURDZIAK

Sulechów

Zmiany hematologiczne w przebiegu ciąży u krów zakazanych i wolnych od gruźlicy*)

Badania hematologiczne w weterynarii zajęły wśród innych badań laboratoryjnych czołowe miejsce. Ich znaczenie wzrasta szczególnie w ostatnich latach w związku z masowymi badaniami bydła w kierunku białaczki (1, 2, 3, 5). W tych ostatnich badaniach oceny hematologiczne — obok histopatologicznych — są bowiem podstawowymi kryteriami rozpoznania. Przy ocenie wyników badań hematologicznych prowadzonych wg tzw. „kluczy białaczkowych” pojawiać się mogą wątpliwości, czy obserwowaną leukocytozę przypisać białaczce, czy też innym czynnikiem zakaźnym lub niezakaźnym.

W piśmiennictwie ostatniego okresu pojawiło się wiele publikacji podnoszących wartość badań hematologicznych dla różnych stanów fizjologicznych (6, 8, 10, 11, 13), jak i patologicznych u bydła (4, 7, 12). Zmiany ilościowe i jakościowe zachodzące we krwi stanowią ważny czynnik zarówno diagnostyczny, jak i prognostyczny. Z piśmiennictwa wynika, że obraz krwi w przebiegu gruźlicy jest dość różnorodny i zależy od postaci klinicznej schorzenia i czasu trwania procesu.

Niektórzy badacze, w tym Kudriawcew (9), Patyra (11) i Wirth (14) skłaniają się do poglądu, że w przewlekłych procesach gruźlicy bydła, zjawiskiem charakterystycznym jest limfocytoza z eozynofilią. Leukocytoza z neutrofiliją wg Kudriawcewa świadczy o zaostrzeniu się procesów chorobowych i powikłaniach.

Zadaniem niniejszej pracy było prześledzenie niektórych wartości hematologicznych w przebiegu ciąży u krów zakazanych i wolnych od gruźlicy (tuberkulino-dodatnich i ujemnych).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 52 krowach, rasy nizinnej czarno-białej, należących do jednego zespołu go-

spodarczego w pow. Sulechów woj. zielonogórskie. Krowy były klinicznie zdrowe, uznane za wolne od motylicy i brucelozy. Wiek krów wynosił 5—12 lat, zwierzęta były dobrej kondycji, przeciętna wydajność mleka 10—12 litrów dziennie. 27 krów pochodziło z obory wolnej od gruźlicy, 25 zaś z obory zakażonej (tuberkulino-dodatniej).

Krew pobierano od każdej sztuki 10-krotnie w odstępach jednego miesiąca. Pierwsze pobranie miało miejsce w dniu pokrycia, ostatnie bezpośrednio po porodzie. Krew do badań hematologicznych pobierano z żyły jarzmowej w godzinach rannych przed karmieniem. Badanie ilościowe przeprowadzono według ogólnie przyjętych zasad w komorze Bürkera. Zawartość hemoglobiny określano metodą Sahliego. Liczenie krwinek czerwonych i białych oraz określanie hemoglobiny przeprowadzono w przybliżeniu 2—3 godziny po pobraniu krwi. Rozmazy krwi barwiono metodą panchromatyczną Pappenheima. Wyniki badań zestawiono w tab. 1 oraz rys. 1 i rys. 2.

Tab. 1. Hemogram w przebiegu ciąży u krów tuberkulino-ujemnych i tuberkulino-dodatnich

Grupa	Krowy	Miesiące ciąży									
		0	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Liczba erytrocytów	średnia	5,02	5,15	5,18	5,21	5,26	5,21	5,12	5,15	5,19	5,18
	łacz.	3,08	5,27	5,38	5,38	5,29	5,16	5,20	5,23	5,27	5,25
Liczba leukocytów	średnia	8,11	7,91	7,41	7,39	7,59	7,74	7,53	7,02	6,95	8,45
	łacz.	8,28	9,02	9,18	9,05	9,40	9,70	9,31	10,28	9,49	11,69
Hemoglobina w krowach	średnia	57,4	60,9	61,7	65,6	66,5	69,0	67,5	64,6	62,2	65,3
	łacz.	39,8	59,4	61,3	64,0	65,7	67,3	66,9	66,0	66,3	66,3
Eozynocyty %	średnia	9,7	10,0	9,5	8,8	9,6	10,0	8,9	11,3	9,6	6,1
	łacz.	11,3	8,6	11,7	11,3	12,4	9,6	10,1	10,4	10,2	6,3
Bazocyty %	średnia	1,1	1,0	0,9	0,8	1,1	1,2	1,3	1,3	1,3	1,0
	łacz.	1,1	1,1	1,0	0,8	1,2	1,5	1,0	1,2	0,8	0,6
Neutrocyty %	średnia	31,2	31,1	27,5	32,6	31,1	26,8	30,5	25,0	34,6	36,3
	łacz.	26,6	27,8	32,6	26,0	26,9	27,4	22,4	24,7	30,4	
Limfocyty %	średnia	53,8	52,9	60,1	55,8	53,6	57,4	55,2	58,4	52,1	54,7
	łacz.	58,9	60,9	54,2	59,6	58,2	60,9	57,7	64,4	61,7	52,6
Monocyty %	średnia	4,7	3,4	3,0	3,0	3,3	3,2	3,2	3,0	3,2	1,5
	łacz.	4,7	4,3	2,2	2,6	1,9	1,1	2,6	1,6	1,7	1,1

Omówienie wyników

W przebiegu ciąży nie stwierdzono istotnych różnic w ilości krwinek czerwonych i hemoglobiny pomiędzy grupą krów zakazanych i wolnych od gruźlicy. Uzyskane wielkości, w porównaniu z innymi badaczami — mieszczą się w granicach dopuszczalnych błędów. Ilość hemoglobiny w krwi obwodowej od początku ciąży w obu grupach wykazywała tendencje wzrostowe. Najwyższy poziom hemoglobiny stwierdzono pomiędzy 4—7 miesiącem ciąży.

Różnice indywidualne w ilości czerwonych krwinek w początkowym okresie badań

*) Praca wykonana pod kierunkiem doc. dr H. Balbierza z Pracowni Immunopatologii Katedry Położnictwa Wydz. Wet. WSR we Wrocławiu.