

sem szczawiowym na podłożu Nemoto, a w drugiej kolejności na podłożu SAN.

4. Najszybsze wzrosty prątków Johne'a z materiałów zakażonych uzyskiwano na podłożach Stuarta i SAN po homogenizacji kwasem szczawiowym.

Piśmiennictwo

1. Cameron J.: J. Path. Bact. 71, 223, 1956.
2. Francis J., Mc Turk, H., Midinaveitia J., Snow G. A.: Biochem. J., 55, 596, 1953.
3. Hole N. H.: Adv. Vet. Sci. vol. IV, 341, 1958.
4. Karpiński T.: Życie wet. 45, 3, 1972.
5. Kosirzeński W., Paklerska-Pobratyn H.: Gruzlica 39, 987, 1971.
6. Levi M. L.: Vet. Rec. 62, 336, 1948.
7. Merkal R. S., Larsen A. B.: Am. J. vet. Res. 23, 1307, 1962.
8. Merkal R. S., Kopecky K. E., Larsen A. B., Thurston J. R.: Am. J. vet. Res. 25, 1290, 1964.
9. Merkal R. S., Larsen A. B., Kopecky K. E., Ness R. D.: Am. vet. Res. 29, 1533, 1968.
10. Nemoto H., Hatakeyama H., Yougi H.: Nath. Inst. Anim. Hlth. Qrt. Tokio, 5, 105, 1965.
11. Oktaba W.: Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalnictwa, PWN, 1963.
12. Ramisz A., Cakala S., Szańkowska Z., Hoffman H., Damm A., Zahaczewski J., Danilczuk K., Jaremski A.: Medycyna wet. 26, 203, 1970.
13. Rzućciło L.: Zeszyty Probl. Nauki Polskiej, PAN, Warszawa 1957.
14. Smith H. W.: J. Path. Bact. 66, 375, 1953.
15. Smith H. W.: J. Path. Bact. 80, 440, 1969.
16. Stuart P.: Brit. vet. J. 12, 289, 1955.
17. Szymaczek-Meyer L.: Gruzlica, 36, 1103, 1963.
18. Taylor A. W.: J. Path. Bact. 62, 64, 1950.
19. Taylor A. W.: J. comp. Path. 63, 355, 1955.
20. Weiss A.: Antibiotics and Chemotherapy 7, 374, 1957.

Adres autora: lek. wet. Tadeusz Karpiński, Puławy, Al. Partyzantów 57, Instytut Weterynarii.

Autor składa podziękowanie dr Van Os za przesłanie do badań antybiotyku Pimaricin prod. Royal Netherlands Fermentation Industries Ltd, Delft oraz dr G. Slavin z Central Veterinary Laboratory Wenbridge za przestany szczep prątków Johne'a Nr 1305.

HANNA LEWKOWICZ

Odczyn antyglobulinowy w rozpoznaniu brucelozy bydła

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Poznaniu
Kierownik: dr T. ŁOSIŃSKI

Wielu autorów (1, 2, 4, 5, 7, 11) zwraca uwagę na braki serologicznych odczynów stosowanych dotychczas rutynowo w serodiagnostyce brucelozy bydła, postulując uzupełnienie jej za pośrednictwem odczynu antyglobulinowego Coombsa. Wykazuje on zdaniem większości autorów, największą liczbę wyników dodatnich.

W Polsce prowadzone są przez Wiśniewskiego i wsp. (13) prace nad standaryzacją odczynu antyglobulinowego (OAG) przy brucelozie bydła. Postanowiono więc sprawdzić jego wartość rozpoznawczą w rutynowych badaniach w porównaniu z dotychczas stosowanymi tj. odczynem aglutynacyjnym (OA) i odczynem wiązania dopełniacza (OWD).

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły surowice pochodzące od 219 krów z 4 różnych z punktu widzenia epizootycznego środowisk, a mianowicie:

a) z obory przewlekłe zakażonej brucelozą, określonej urzędowo jako „izolator bangowy” — 90 krów, z

Karpiński T. — **Попытки изолирования и выращивания штаммов *Mycobacterium johnei*.**

Сравнивали пригодность яичных сред по Taylor и по Nemoto и сывороточно-агаровой среды по Stuarta, а также модифицированной среды SAN для выращивания чистой культуры *Myc. johnei*, а также для изолирования этих микробов из образцов кала и тканей организма. Сравнивали также результаты гомогенизации материала 5% щавелевой кислотой и 3% стеринолом. Установили что пригодность всех сред для выращивания субкультур *Myc. johnei* была почти одинакова. Положительные результаты изолирования *Myc. johnei* из кала получили после гомогенизации 5% щавелевой кислотой в 80% посевов а 3% стеринолом в 89,9%. Самый большой процент положительных результатов посевов из тканей (92%) получили на яичной среде по Nemoto после гомогенизации материала 5% щавелевой кислотой.

Karpiński T. — **Isolation and cultivation of Johne's bacilli.**

The value of Taylor's and Nemoto's egg-media, as well as Stuard's and modified SAN serum-agar media were compared for the cultivation of Johne's bacilli in pure culture, and for isolation of the organism from an infected material. Simultaneously, two methods of homogenization, e.g. by the use of 5.0% oxalic acid and 3.0% sterinol were compared. It was found that all the examined media had almost the same value for secondary cultivation of Johne's bacilli. The greatest number of cultures from faeces were obtained on Stuard's medium after homogenization with oxalic acid (80.0%) and sterinol (89.0%). Serum-agar medium named SAN showed the similar value. The greatest number of cultures from the samples of tissue (92.0%) were obtained on Nemoto medium after treatment with 5.0% oxalic acid.

których 39 było uodpornione szczepionką S-19 (36 sztuk przed 2, 4 sztuki przed 4 i 1 sztuka przed 6 latami);
b) z 2 obór o ostrym przebiegu brucelozy, gdzie po wyeliminowaniu sztuk roniących pobierano krew do badań od 77 krów. Wszystkie one były uodpornione szczepionką S-19 w różnym czasie (1 sztuka przed 3 lata, 19 sztuk przed 4 lata, 4 sztuki przed 5 latami i 35 sztuk przed 7 latami);

c) z obory uznanej za wolną od brucelozy i zabezpieczonej szczepionką S-19 — 40 krów (zaszczepione S-19 4 lata wcześniej);

d) z obory wolnej od brucelozy — 12 krów (nieszczepionych przeciw brucelozie).

Wszystkie krowy były rasy mizinno-czarno-białej w wieku 3—8 lat i ujemnie reagowały na tuberkulinę. Badaniem parazytologicznym u żadnej z nich nie stwierdzono jajeczek motylicy wątrobowej, a tylko u kilku sztuk z „izolatora bangowego” — pojedyncze nicienie żołądkowo-jelitowe.

OA i OWD nastawiano zgodnie z przepisami obowiązującymi w ZHW (8), przy uwzględnieniu zaleceń Wiśniewskiego i Królalka (10) odnośnie kontroli czułości OWD. Antygenem do OA były standaryzowana zawiesina pałeczek *Brucella abortus* (Brucellognost — Puławy) a jako antygen do OWD służył lizat brucelli produkcji Wydziału Rozpoznawczego IWet w Puławach. Wszystkie próby w OA nastawiano w rozcień-

czeniu od 1/12,5 do 1/25000, a w wyjątkowych przypadkach do 1/102400. W OWD badano surowice w szeregu rozcieńczeń*) od 1/25 do 1/25600. OAG nastawiano w oparciu o poprzednio wykonany OA (13). Probówki ze wszystkimi rozcieńczeniami badanych surowic, w których nie wystąpiło zjawisko aglutynacji 3-krotnie wirowano z siłą równą 1300 g, przemywając pozostały na dnie probówki osad roztworem 0,9% NaCl, a następnie do każdej probówki dodawano rozcieńczoną surowicę antyglobulinową w ilości zgodnej z uprzednio określonym mianem. Po zmieszaniu zawartości probówki ponownie wstawiano do cieplarki o temperaturze 37° na przeciąg około 18 godzin. Bezpośrednio po wyjęciu odczytywano wyniki przez porównanie z wzorcem przygotowanym do odczynu standardowego OA.

Wszystkie badania wykonywane były w 2 powtórzeniach i brano pod uwagę jedynie wyniki, identyczne w obu wersjach.

Kontrolę stanowiły odczyny nastawiane każdorazowo z surowicami wzorcowymi produkcji Pracowni Badania Brucelozy IWet. w Puławach (Tymczasowy Standard Bakteriologii — seria R167) oraz własnej. W ostatnim przypadku surowice przed przystąpieniem do badań, były porównane z surowicami wzorcowymi: dla OAG metodą opisaną przez Wiśniowskiego i wsp. (13), a dla OWD przez Wiśniowskiego i Królaka**) (10). Miana surowic wzorcowych, we wszystkich badaniach potwierdzały się i wynosiły: dla OA — 1/50++, dla OAG — 1/1600++, dla OWD — 1/400++, a miano Tymczasowego Standardu Bakteriologii — 1/200++.

Surowicę antyglobulinową, potrzebną do OAG, wyprodukowano we własnym zakresie, przez immunizację królików pełną surowicą, względnie frakcją globulinową surowicy bydłej (6). Miano surowicy antyglobulinowej określono miareczkowaniem wobec bru-

2 rozcieńczenia od uzyskanych w OA, przy minimalnym poziomie przeciwciał niekompletnych 1/50++ dla krów nieudopornionych przeciw brucelozie i od 1/200++ dla szczepionych dawniej niż przed dwoma laty. Za reakcje wątpliwe w OAG przyjęto wyniki, które wykazywały różnice w stosunku do OA o 1 rozcieńczenie (minimum++++). Należy podkreślić, że oceny uzyskanych reakcji dokonywano indywidualnie dla każdej krowy konfrontując uzyskane wyniki badania z ewentualną datą szczepienia S-19.

W środowisku z przewlekłą brucelozą istotność statystyczną różnic pomiędzy liczbą wyników dodatnich, ujemnych i wątpliwych uzyskanych za pośrednictwem poszczególnych metod badania, ustalono przy pomocy testu „chi kwadrat” (9); natomiast zmienność statystyczną różnic pomiędzy wykrywanym poziomem przeciwciał przez stosowane odczyny serologiczne, wykazano przez porównanie z najmniejszą różnicą udowodnioną wynikającą z analizy wariancji z dwoma cechami (9).

Wyniki i omówienie

W tab. 1 przedstawione są wyniki badań serologicznych w poszczególnych oborach. Z danych tabeli wynika, że w środowisku wolnym od brucelozy i nieszczepionym S-19 mogą występować pojedyncze pozytywne reakcje w OA, które nie zmieniają intensywności, po zadziałaniu surowicy antyglobulinowej, bardziej niż o jeden + różnicy. Zarówno w OA jak i OAG nie stwierdzono mian, które mogą sugerować dodatnią ocenę odczynu.

Tab. 1. Zestawienie wyników badań

S ₁₉	Środowisko	Metoda	Liczba prób	Wynik ujemny %	Odsetek surowic o mianie 1:												
					12,5	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200
nie-szczepione	przewlekłe zakażenie	OA	51	11,8	17,6	15,7	19,6	15,7	7,8	7,8	3,9	0	0	0	0	0	0
		OAG	51	13,7	5,9	7,8	9,8	3,9	3,9	3,9	11,8	5,9	9,8	5,9	3,9	9,8	3,9
		OWD	51	43,1	—	0	2,0	0	7,8	5,9	9,8	7,8	11,8	9,8	2,0	0	0
szczepione	przewlekłe zakażenie	OA	39	2,6	5,1	28,2	30,8	10,3	15,4	2,6	5,1	0	0	0	0	0	0
		OAG	39	2,6	5,1	7,7	10,3	17,9	5,1	5,1	7,7	12,8	7,7	7,7	7,7	2,6	0
		OWD	39	38,5	—	0	2,6	2,6	5,1	12,8	10,3	5,1	17,9	5,1	0	0	0
	świeższe zakażenie	OA	77	28,6	36,4	23,4	6,5	1,3	2,6	1,3	0	0	0	0	0	0	0
		OAG	77	28,6	29,9	24,4	9,1	0	0	0	1,3	5,2	0	1,3	0	0	0
		OWD	77	93,6	—	0	0	0	0	0	2,6	1,3	2,6	0	0	0	0
	wolne od brucelozy	OA	40	75,0	15,0	10,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		OAG	40	67,5	15,0	12,5	5,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		OWD	40	100,0	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
nie-szczepione	wolne od brucelozy	OA	12	75,0	25,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		OAG	12	75,0	25,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		OWD	12	100,0	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

celi uczulonych surowicą o znanym poziomie przeciwciał niekompletnych (6), stosując probówkową metodę wg Hajdu (3).

Oceny wyników OA i OWD dokonano w myśl obowiązujących przepisów (8), natomiast za dodatnią reakcję OAG, przyjęto miana wyższe o co najmniej

*) Rozcieńczenie surowicy podawano w stosunku do końcowej objętości wszystkich komponentów w probówce.

**) Autorem dzięki serdecznie za umożliwienie wykonania badania porównawczego.

W środowisku wolnym od brucelozy, lecz szczepionym S-19 uzyskano wyższe miana OA i OAG, jednak w żadnym przypadku, przy zachowaniu urzędowej oceny w stosunku do OA jak i przyjętej dla OAG nie uznano wyników za dodatnie. Różnica bowiem pomiędzy wartościami miana OA i OAG nie przekroczyła +++. OWD w obu wymienionych oborach dał

ze wszystkimi surowicami wyniki ujemne począwszy od rozcieńczenia 1/25.

W oborach świeżo zakażonych brucelozą zarówno za pośrednictwem OA jak OWD wykryto po 5 dodatnich reakcji, przy czym zgodność wyników dotyczyła tylko 4 krów. Natomiast za pośrednictwem OAG uzyskano 6 wyników dodatnich pokrywających się z wynikami uzyskiwanymi za pośrednictwem OA i OWD, lub jednego tylko z wymienionych odczynów. Mimo ogólnie uzyskanej małej liczby pozytywnych wyników badania — wskazuje to na specyficzność OAG, który okazał się bardziej czuły niż OA i OWD.

U krów w izolatorze bangowym stwierdzono istotną statystycznie różnicę ($\chi^2 = 8,1$ i $\chi^2 = 6,2$ i $\chi^2_{0,05} = 5,99$) pomiędzy liczbą wyników dodatnich w OAG i OWD, a między liczbą wyników dodatnich w OA. Jest to dowodem przewagi OAG i OWD nad OA przy rozpoznaniu przewlekłej brucelozы bydła. Ze względu natomiast na brak istotnej różnicy ($\chi^2 = 0,26$ przy $\chi^2_{0,05} = 5,99$) pomiędzy liczbą wyników dodatnich w OAG i OWD należy przyjąć ich równą wartość diagnostyczną w tej postaci choroby.

nów — uzyskano wzrost wykrywalności sztuk zakażonych o 6,7%.

Dla zilustrowania stosunków w wysokości wykrywanego poziomu przeciwciał za pośrednictwem poszczególnych odczynów serologicznych — obliczono średnie miana wyników od wszystkich krów z izolatora bangowego. Średnie miano w: OA — 1/50++++, OAG — 1/400++++, OWD — 1/200++.

Wymienione wartości potraktowano jako punkt wyjściowy do analizy wariancji. Poniżej przedstawiono jej końcowy fragment (porównanie z najmniejszą różnicą udowodnioną, równą w tym przypadku 146,32), pozwalający na wyciągnięcie wniosków:

	OA	OAG	OWD
OA	0	<u>668,25</u>	<u>332,75</u>
OAG		0	<u>335,50</u>
OWD			0

Liczby podkreślone oznaczają, że występująca różnica jest istotna statystycznie.

W ten sposób na podstawie średnich wykazano, że zarejestrowane różnice pomiędzy wartościami miana OAG i OA oraz OAG i OWD

Tab. 2. Zestawienie wyników badań krów, u których stwierdzono rozbieżności w ocenie wyników OAG i OWD

Nr krowy	Miano			Dane o szczepieniu S19
	OA	OAG	OWD	
221	1/50+	1/100++	1/400+++	szczepiona
289	1/50+	1/50++	1/800+++	szczepiona
20	1/50+	1/100+++	1/400++	szczepiona
108	1/25++	1/100+	1/200+++	szczepiona
259	1/25++	1/25++	1/100+++	nieszczepiona
346	1/25+	1/100++	ujemny	nieszczepiona
16	1/200+	1/25600+++	ujemny	nieszczepiona
161	1/100+	1/400+	ujemny	szczepiona
206	1/100+	1/400++	ujemny	szczepiona
304	1/12,5++	1/200++	ujemny	nieszczepiona
359	1/12,5++	1/100++	ujemny	nieszczepiona

Analizując wyniki badań w odniesieniu do poszczególnych krów — wykazano jednak pewne rozbieżności w ocenie tych samych sztuk na podstawie OAG i OWD (tab. 2). W grupie badanej 5 krów, które w OWD ocenione były jako dodatnio reagujące, nie osiągnęły w odczynach opartych na zjawisku aglutynacji, mian miarodajnych diagnostycznie. Fakt ten wskazuje na trudności interpretacyjne niskich mian, szczególnie w zestawieniu z reakcjami poszczepiennymi uzyskanymi w oborze wolnej od brucelozы z krowami uodpornionymi szczepionką S-19. Odwrotną z kolei sytuację stwierdzono w 6-ciu próbach, w których w momencie badania, zawodnym okazał się OWD. Tym samym istnieje wskazanie dla równoczesnego stosowania OAG obok OWD, pomimo ich równej wartości diagnostycznej.

W podsumowaniu analizy należy stwierdzić, że dzięki równoczesnemu zastosowaniu OAG, obok dotychczas stosowanych rutynowo odczy-

sa istotne statystycznie. Potwierdzają one celowość stosowania uzupełniającego badania za pomocą OAG w przypadku zawodności wyników OA i OWD, w przewlekłej postaci brucelozы.

Następnie zestawiono jednakowo ocenione wyniki w OAG i OWD u tych samych krów, ze wszystkich obór zakażonych brucelozą:

OWD	OAG			Razem
	+	±	-	
+	31,7%	0	3,0%	34,7%
-	4,2%	1,2%	59,9%	65,3%
Razem	35,9%	1,2%	62,9%	100%

Z przedstawionych danych wynika, że zgodność OAG i OWD przy rozpoznaniu brucelozы bydła dotyczy 91,6% rozpatrywanych przypad-

ków, a tym samym dokumentuje wysoką specyficzną OAG — równą w tym zakresie OWD.

Ze względu na wykazaną specyficzną OAG w oborach zarówno wolnych od brucelozы jak i zakażonych, a także na uzyskanie istotnie statystycznie większej liczby wyników dodatnich w przewlekłym zakażeniu w stosunku do OWD, stosowanie OAG jest wskazane. Aktualne jest to głównie w przypadkach trudności diagnostycznych na podstawie wcześniej zastosowanych OA i OWD.

Wnioski

1. Odczyn antyglobulinowy okazał się dostatecznie specyficznym w rozpoznawaniu brucelozы bydła.

2. Odczyn antyglobulinowy zastosowany obok rutynowych metod badania serologicznego w kierunku brucelozы bydła daje w efekcie wzrost wykrywalności sztuk zakażonych.

Piśmiennictwo

1. Gaumont R.: Bull. Off. int. Epizoot. 63, 7—8, 1047, 1965.
2. Goyñ M.: Recl. Med. vet. 7, 587, 1966.
3. Hajdu S.: Arch. exp. Vet. Med. 4, 883, 1964.
4. Hill W. K. W.: Zentbl. Vet. Med. 10, 127, 1963.
5. Le Pennec J.: Bull. Soc. vet. prat. Fr. 6, 52, 1968.
6. Lewkowicz H.: Badania nad zastosowaniem kilku odczynów serologicznych w rozpoznawaniu brucelozы bydła. Praca doktorska, Wrocław, 1970 (maszynopis w WSR).
7. Lipnicki J.: Życie wet. 44, 228, 1969.
8. Przepisy o zwalczaniu brucelozы bydła, PWRiL, 1968.
9. Schmidt S.: Zastosowanie metod statystycznych w zootechnice, PWRiL, 1964.

10. Wiśniowski J., Królak M.: Pol. Arch. wet. 21, 4, 1965.
11. Wiśniowski J.: Medycyna Wet. 22, 472, 1966.
12. Wiśniowski J., Grajewska P., Drożdżyńska M.: Medycyna Wet. 25, 146, 1969.
13. Wiśniowski J., Drożdżyńska M.: Pol. Arch. wet. 11, 1, 1968; cz. II i cz. III — w druku.

Adres autora: dr Hanna Lewkowicz, Poznań, ul. Słowackiego 38 m. 7.

Левкович Х. — Антиглобулиновая реакция в диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота.

При серологическом исследовании бруцеллеза крупного рогатого скота ввели рядом с реакцией агглютинации и реакцией связывания комплемента антиглобулиновую реакцию. Исследовали 219 сывороток коров, из трех зараженных и двух свободных от бруцеллеза скотных дворов (в 73% привитых вакциной S-19). Полученные результаты подтвердили специфичность антиглобулиновой реакции. Кроме того установили, что антиглобулиновая реакция, применяемая добавочно к реакции агглютинации и реакции связывания комплемента увеличилась в коровниках с затяжным течением бруцеллеза процент выявления бруцеллеза на 6,7%.

Lewkowicz H. — The antiglobulin test in diagnosis of brucellosis in cattle.

The antiglobulin test apart from agglutination and complement fixation tests was included in serological examination for brucellosis. All these methods were used to test 219 cows (about 73% of them were immunized with S-19 vaccine) from 3 herds infected, and 2 herds free from the disease. The collected data confirmed the specificity of the antiglobulin test. It was also found that by the use of these three tests there was a 6.7% increase in the detectability of infected animals in the herd suffering from chronic brucellosis.

PATOLOGIA I TERAPIA

ANTONI SCHOLLENBERGER, ADA BAKALARSKA

Procesy autoimmunologiczne w przebiegu niektórych schorzeń zwierząt domowych

Institut Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynarii SGGW w Warszawie
Dyrektor: prof. dr J. MAZURCZAK

Efekt reakcji immunologicznych utożsamiony jest na ogół z działaniem korzystnym dla ustroju, tymczasem nawet w przypadku antygenów pochodzenia egzogenego reakcja organizmu może mieć zarówno działanie korzystne — określane jako filakogenne, jak i niekorzystne — patogenne (6). Przykładami działania patogenego mogą być reakcje nadwrażliwości typu wczesnego jak anafilaksja i alergja, czy reakcje nadwrażliwości typu opóźnionego jak odczyn tuberkulinowy. Istnieją dwa główne rodzaje immunologicznego uszkodzenia tkanek; pierwszy spowodowany jest przez czynniki humoralne i drugi wywołany działaniem komórek immunologicznie czynnych. Pierwszy typ określamy jako

nadwrażliwość wczesną lub bezpośrednią, zmiany bowiem występują w krótkim czasie od zetknięcia się antygeny z przeciwciałem. Połączenie to doprowadza do uwolnienia mediatorów chemicznych, którymi są aminy biogenne, odpowiedzialne za działanie uszkadzające. W obrazie histopatologicznym widoczny jest wysięk w miejscu reakcji i nacieczenie przez leukocyty wielojądrzaste. Drugi typ reakcji określamy jako nadwrażliwość opóźniona charakteryzuje się tym, że zmiany osiągają największe nasilenie 24—48 godzin od zetknięcia się uczulonego organizmu z antygenem. Klasycznym przykładem takiej reakcji jest odczyn miejscowy u zwierzęcia uczulonego na tuberkulinę. W obrazie histologicznym cha-