

posmutnienie, biegunkę i wyciek śluzowo-ropny z nosa. Część królików chorowało kilka dni, inne padły nagle bez widocznych objawów klinicznych. Próby leczenia Polzomycyną i preparatami wapniowymi dały wynik negatywny. Na fermie zachorowały i padły wszystkie młode króliki.

Badaniem anatomopatologicznym stwierdzono następujące zmiany: u wszystkich badanych królików niezbyt jelit, zapalenie płuc, nieznaczny obrzęk śledziony, ponadto u jednego włóknikowe zapalenie otrzewnej. Parazytologicznie stwierdzono w kale średnią ilość oocyst i kokcydii i jaja nicienia *Trichostrongylus retortaeformis*. W bezpośrednich posiewach bakteriologicznych z narządów wewnętrznych (wątroba, serce, nerka, śledziona) padłych królików, na podłożu stałym agar-Endo uzyskano czystą obfitą hodowlę pałeczek Gram-ujemnych, nie fermentujących laktozy.

Po przeprowadzeniu badania serologicznego oraz biochemicznego określono wyosobniony szczep jako serotyp *Salmonella pullorum*. Szczep ten nie wykazywał ruchu (20°C), fermentował glukozę, nie rozkładał laktozy, maltozy, dulcitolu, fenylalaniny i nie wy-

twarzał indolu i siarkowodoru. Wyniki oznaczenia szczepu potwierdził Krajowy Ośrodek Salmonella w Gdańsku. Wyosobniony szczep okazał się *in vitro* wrażliwy na chloramfenikol i oxytetracynę, był natomiast oporny na streptomycynę, neomycynę i sulfatiazol.

Nie udało się ustalić źródła zakażenia, króliki żywione były głównie paszą roślinną a znajdujący się w zagrodzie drób nie chorował.

Opisano pierwszy w województwie katowickim wypadek salmonelozy na tle *Salmonella pullorum* u królików. Wydaje się, że czynnikiem uspasabiającym do wystąpienia tej choroby oraz jej przebiegu w formie posocznicy mogło być zakażenie stada kokcydiozą oraz nicieniem *Trichostrongylus retortaeformis*.

Piśmiennictwo

1. Dräger H.: Salmonellosen-ihre Entstehung und Verhütung, Akademie-Verlag, Berlin 1971.
2. Herman W.: Poradnik hodowcy królików, PWRiL, 1963.

Adres autora: lek. wet. Renata Wachowicz, Katowice, ul. Brynowska 27.

PRAKTYKA LABORATORYJNA

ZBIGNIEW POMORSKI

Wykrywanie mocy histaminopeptycznej w surowicy psów, za pomocą szkiełkowego testu aglutynacji lateksowej

Z Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynarii AR w Lublinie

Testy lateksowe zastosowane po raz pierwszy w 1956 r. przez Singera i Plotza (21) mają w chwili obecnej w diagnostyce laboratoryjnej stałą i ugruntowaną pozycję. Współczesna medycyna prawie na codzień posługuje się nimi w rutynowej diagnostyce wielu chorób, używając do tego celu gotowych, fabrycznie, opłaszczonych antygenami lub przeciwciałami testów. Między innymi są to: RA-test, LE-test, TA-test, FG-test, GG-test, GR-test i wiele innych (5, 21, 22). Wszystkie one cechują się dużą swoistością i poza pewnymi wyjątkami prostotą techniki wykonania, co niewątpliwie ma duże znaczenie w przeprowadzaniu badań masowych. Testy lateksowe znalazły również zastosowanie w rozpoznawaniu schorzeń alergicznych skóry i różnicowaniu ich od innych jej chorób, przebiegających z podobnymi objawami (20) co jak wiadomo, w praktyce łączy się poważnymi trudnościami.

Rozpoznawanie schorzeń tej grupy opiera się jak dotychczas głównie na drobiazgowo przeprowadzonym wywiadzie, pełnym badaniu klinicznym oraz wykonaniu całego szeregu skórnych testów alergicznych (naskórnych, śródskórnych, itp.) co w wypadku, jeśli dotyczy to zwierząt z reguły staje się rzeczą niewykonalną.

Poza ww. czynnikami w diagnozie laboratoryjnej dość często wykorzystano również badanie krwi na zawartość histaminy, która obok acetylocholino, 5-hydroksytryptaminy, bradykininy, heparyny i SRS-A (słów reacting substance in anaphylaxis) uważana jest za jeden z najbardziej istotnych mediatorów we wczesnych odczynach alergicznych (4, 18, 19, 23, 24). Przekonano się bowiem, że histamina towarzyszy przebiegowi licznych schorzeń np.: dyshawicy oskrzelowej, migrenie, pokrzywce itp. których przynależność do grupy chorób alergicznych nie nasuwa w chwili obecnej żadnych wątpliwości. Poza wzrostem zawartości histaminy w krwi, w przebiegu niektórych chorób alergicznych, w licznych pracach doświadczalnych stwierdzono niespecyficzne zjawisko zwane histaminopeksją (6—17). Polega ono na zdolności wychwytywania i wiązania histaminy przez surowicę zdrowego, bądź chorego niealergicznie osobnika, czego brak jest u osobników chorujących z objawami alergii.

Spostrzeżenia te, poczynione przez badaczy francuskich, zostały następnie przez nich potwierdzone doświadczalnie i to w warunkach *in vivo* jak i *in vitro* (6—17). Autorzy ci zaproponowali wprowadzenie w diagnostyce alergologicznej nowego określenia klinicznego — tzw. „terenu alergicznego” (terrain allergique) (1, 13). Terminem tym określają oni stan organizmu,

który cechuje się brakiem mocy histaminopeptycznej, co równoznaczne jest ze znacznie silniejszym działaniem histaminy na organizm zwierzęcia. Technika pomiaru mocy histaminopeptycznej, początkowo stosowano wyłącznie metodą farmakologiczną (biologiczną), polegała na dodawaniu do roztworu histaminy, w którym został zanurzony końcowy odcinek jelita biodrowego świnki morskiej, dializowanej surowicy badanego osobnika i obserwowaniu wykresu kreślonego na walcu kimografu (3). Inne stosowane techniki były również skomplikowane i wymagały wielokrotnego dializowania, ultraprzesączania i ultrawierowania.

Począwszy od 1960 r. autorzy francuscy (8, 16) opracowali nowy sposób pomiaru, który znalazł zastosowanie w medycynie ludzkiej. Polega on na opłaszczaniu w odpowiednich warunkach cząstek lateksu polistyrenowego histaminą i następnie użycia ich jako antygeny. Stwierdzono, że surowica ludzi chorych alergicznie nie daje aglutynacji z opłaszczonymi cząsteczkami lateksu (brak zdolności wiązania histaminy czyli histaminopeksja równa zeru). Zaobserwowano natomiast aglutynację w przypadkach badania surowic pochodzących od ludzi zdrowych lub chorych na schorzenia niealergiczne. W celu stwierdzenia swoistości i dokładności ww. odczynu przeprowadzili pomiary mocy histaminopeptycznej tych samych surowic dwiema technikami i stwierdzili całkowitą ich korelację (16).

Technika pomiaru mocy histaminopeptycznej z użyciem cząstek lateksu w klasycznym opracowaniu autorów francuskich, jest aglutynacją probówkową i przy zastosowaniu odpowiednich rozcieńczeń służy do dokładnego, określenia wielkości mocy histaminopeptycznej (8, 16). Z punktu widzenia klinicysty w wielu wypadkach bardzo korzystnym i całkowicie wystarczającym jest stwierdzenie czy surowica chorego zwierzęcia w ogóle ma lub też nie posiada zdolność histaminopeksji. Chodzi więc o próbę jakościową na podstawie której możnaby wypowiadać się co do istnienia mocy histaminopeptycznej, a co się z tym wiąże za wystąpieniem procesu alergicznego opartego na mechanizmie reakcji natychmiastowych.

Celem niniejszej pracy była adaptacja techniki podanej przez autorów francuskich do potrzeb weterynaryjnych i jej modyfikacja, polegająca na opracowaniu odpowiednich warunków do przeprowadzenia algutynacji szkiełkowej. Poza tym przesledzono jej wyniki na niewielkiej grupie psów z alergicznymi chorobami skóry, leczonych w tut. Klinice w przeciągu 1970/71.

Material i metody

Przygotowanie zawiesiny cząstek lateksu polistyrenowego i opłaszczenie ich.

Do badań użyto lateksu firmy Difco-Bacto-Latex 0,81, którego 1 ml rozpuszczono w 5 ml buforu glicynowego o pH 8,2 otrzymując mieszaninę macierzystą (można ją przechowywać w temp. +4°C przez okres do trzech tygodni).

Bufor glicynowy o pH 8,2 zawiera:

| | | |
|--------------------------|----|-----------|
| glicyna 0,1 molekul. | — | 975 ml |
| NaOH 1 n | — | 2,5 ml |
| NaCl czda. | — | 10,0 g |
| H ₂ O redest. | ad | 1000,0 ml |

Aby opłaszczyć lateks histaminą bierzemy 2 ml roztworu macierzystego, 5 ml buforu glicynowego i dokładnie mieszamy przez około 10 min. (mieszadło skośne) i dodajemy 0,5 ml wodnego roztworu dwuchlorowodoru histaminy w stężeniu 2/1000,0. Zawiesinę mieszamy przez 30 min. i odstawiamy na około 50–60 min. do łaźni wodnej o temp. pokojowej na 24 godz. Po tym okresie czasu opłaszczony lateks przechowy-

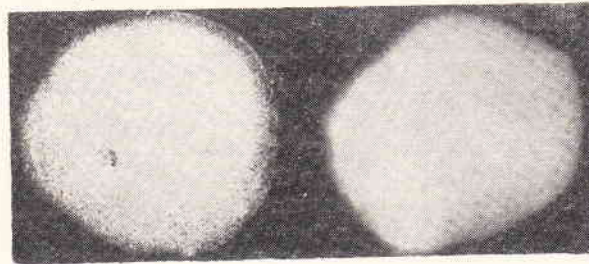
wany był w temp. +4°C i w przeciągu 7 dni po uprzednim doprowadzeniu go do temp. pokojowej, nadawał się do natychmiastowego użytku.

Sposób przeprowadzenia reakcji.

Na płytkę szklaną umieszczoną na ciemnym tle (np. czarny papier lub tektura) nakraplamy kroplę badanej surowicy, rozcieńczonej uprzednio w buforze glicynowym w stosunku 1:10 surowica musi być poddana dializie, co jest warunkiem koniecznym do usunięcia inhibitora histaminopeksji — najprawdopodobniej potasu (3, 6, 17), a tuż obok niej kroplę opłaszczzonego lateksu, po czym obie krople łączymy przez skośne ustawienie płytki lub mieszając cienką szklaną bagietką. Następnie na 15 min. wstawiamy płytkę do cieplarki o temp. 37°C. Po wyjęciu przechylając miarowo szkiełko (od 5 do 10 razy) odczytujemy wynik, który uważany jest za dodatni w przypadku wystąpienia wyraźnej ziarnistości (aglutynacja). Każdorazowo obok badanej surowicy ustawiamy kontrole którymi są:

- kropla surowicy dającej wynik dodatni + opłaszczony lateks
- kropla buforu glicynowego + opłaszczony lateks

Ryc. 1. Szkiełkowa aglutynacja lateksowa



a. wynik dodatni;

b. wynik ujemny.

Badania własne przeprowadzono łącznie na 24 psach różnych ras, obojga płci w wieku od 6 miesięcy do 7 lat. Badane psy zestawiono w dwie grupy z których pierwsza kontrolna, obejmowała 12 klinicznie zdrowych psów, druga natomiast — doświadczalna, 12 psów chorych, z objawami alergicznych schorzeń skóry, u 2 spośród tych ostatnich rozpoznano pokrzywkę a u pozostałych 10 wyprysk ostry (8 przypadków) i przezwleki (2 przypadki). Krew do badań w obydwu grupach pobierano z żyły udowej w ilości 5 ml, w grupie kontrolnej jednorazowo, zaś w doświadczalnej trzykrotnie, po raz pierwszy przed przystąpieniem do leczenia, następnie zaś w odstępach dwudniowych w trakcie podawania leków. Po skrzepnięciu wirowano ją w celu otrzymania surowicy (3000 obr/min. przez 20 min.) i w dalszym etapie poddawano 48 godz. dializie, po czym przechowywano w zamrażarce.

Wyniki

W grupie kontrolnej we wszystkich przypadkach otrzymano wyraźną aglutynację, zaś otrzymane wyniki w grupie doświadczalnej przedstawione zostały w tab. 1.

Omówienie wyników

W grupie pierwszej we wszystkich przypadkach obserwowano wystąpienie wyraźnej aglutynacji (opłaszczony histaminą lateks został związany przez surowicę — moc histaminopeptyczna +). W grupie drugiej, podczas pierwszego pobrania we wszystkich przypadkach wystąpił brak aglutynacji (opłaszczony histaminą

lateks nie został związany przez surowicę — moc histaminopektyczna —). W drugim pobraniu w 2 przypadkach (pokrzywka) zaobserwowano wystąpienie aglutynacji (+) w 4 zaś otrzymano wynik wątpliwy (\pm), (trzy przypadki ostrego wyprysku i jeden przewlekły). W trzecim pobraniu aglutynacja wystąpiła w sześciu przypadkach (poprzednie dwa dodatnie i cztery wątpliwe), wynik wątpliwy otrzymano w pięciu przypadkach, w jednym zaś wynik był ujemny (wyprysk przewlekły).

Tab. 1. Wyniki pomiaru mocy histaminopektycznej w grupie psów chorych

| Psy chore | Pokrzywka | | Ostry wyprysk | | | | | | | | | | Przewlekły wyprysk | |
|--------------|-----------|---|---------------|---|---|---|---|---|---|----|----|----|--------------------|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | | |
| Pobranie I | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| Pobranie II | + | + | — | ± | — | — | — | ± | ± | — | — | ± | ± | |
| Pobranie III | + | + | ± | ± | ± | ± | ± | + | + | ± | — | + | + | |

Objaśnienie: (+) wynik dodatni; (—) wynik ujemny; (\pm) wynik wątpliwy.

Otrzymane za pomocą testu informacje w większości wypadków pokrywały się z wynikami obserwacji klinicznych. W sześciu bowiem przypadkach, podczas trzeciego pobrania krwi (szósty dzień leczenia) obserwowano całkowite lub prawie całkowite ustąpienie objawów klinicznych choroby, w pięciu następnych (dających wyniki wątpliwe) znaczną, bądź częściową poprawę, w jednym zaś przypadku brak dostrzegalnego efektu leczniczego.

Wnioski

Zbyt mała liczba przebadanego materiału doświadczalnego nie daje podstaw do wysuwania daleko idących wniosków, odnośnie współzależności w zachowaniu się testu ze zmianami w stanie klinicznym, w alergicznych chorobach skóry. Tym nie mniej już w chwili obecnej nie wydaje się budzić wątpliwości fakt, że wyżej opisany test z powodzeniem może znaleźć zastosowanie w weterynaryjnej diagnostyce laboratoryjnej, jako czuła próba jakościowa, wykazująca histaminopeksję, a tym samym pośrednio przyczyniająca się do zakwalifikowania danego schorzenia do grupy chorób alergicznych, powstałych w oparciu o mechanizm typu natychmiastowego.

Piśmiennictwo

1. Benda R.: Presse Méd. 60, 1937, 1952.
2. De Gara P. F.: J. Allergy 22, 429, 1951.
3. Geelen M. J. H.: Histamine and histaminopenia in cattle and rats, in connection with nutrition tetany (Grass tetany). Praca doktorska, Utrecht, 1970.
4. Halpern B.: Alergia, PZWL, 1968.
5. Kardaszewicz E.: Pol. Tyg. Lek. 34, 1287, 1965.
6. Laborde C., Parrot J. L., Urquía D. A.: Presse Méd. 57, 1151, 1953.
7. Laborde C., Parrot J. L., Georges Sandor.: C. r. Séanc. Soc. Biol. Paryż 248, 3069, 1959.
8. Micol C., Renoux M., Merklein F. P.: Bull. Soc. Med. Hop. Paryż 12, 441, 1961.
9. Parrot J. L., Urquía D. A., Laborde C.: C. r. Séanc. Soc. Biol. Paryż 145, 385, 1951.

10. Parrot J. L., Urquía D. A., Laborde C.: C. r. Séanc. Soc. Biol. Paryż 145, 885, 1951.
11. Parrot J. L., Urquía D. A., Laborde C.: C. r. Séanc. Soc. Biol. Paryż 145, 1045, 1951.
12. Parrot J. L., Urquía D. A., Laborde C.: J. Physiol. 44, 310, 1952.
13. Parrot J. L., Laborde C.: Presse Méd. 64, 1765, 1956.
14. Parrot J. L., Laborde C.: J. Physiol. 46, 492, 1954.
15. Parrot J. L., Mordelet-Dambrine M., Laborde C.: Presse Méd. 67, 451, 1959.
16. Parrot J. L., Laborde C., Lebel B.: Revue Française D. Allergie 1, 31, 1963.
17. Rostafinska J.: Wiad. lek. 17, 1, 1964.
18. Rudzki E.: Alergia, PZWL, 1961.
19. Rudzki E.: Podstawy alergologii klinicznej, PZWL, 1970.
20. Sidi F., Reinberg G.: Presse Méd. 16, 343, 1958.
21. Singer J. M., Plotz C. M.: Am. J. Med. 21, 888, 1956.
22. Singer J. M., Plotz C. M.: Arthr. Rheum. 1, 142, 1958.
23. Stegawski T.: Pol. Tyg. Lek. 18, 569, 1954.
24. Voit M.: Polski Tyg. lek. 10, 1, 1954.

Adres autora: lek. wet. Zbigniew Pomorski, Lublin 8, Al. Kraśnicka 89 a.

Поморски З. — Определение гистаминопектической активности сыворотки собак при помощи латексовой агглютинации на стекле.

Для определения гистаминопектической активности сыворотки собак автором модифицирован метод пробирочной латексовой агглютинации разработанный французскими авторами для обнаружения гистаминопексии в сыворотках людей. Модификация позволяет на проведение теста на предметном стекле и состоит в введении соответственного нового буфера, на разработке условий сенсibilизации латекса гистаминой и техники самой агглютинации. Разработанный тест подвергли проверке на 12 собаках больных аллергическими заболеваниями кожи и на 12 здоровых контрольных собаках. Полученные результаты в большинстве случаев совпали с результатами клинических исследований. Автор полагает, что описанный тест может найти применение в ветеринарной лабораторной диагностике в качестве чувствительной качественной пробы выявляющей гистаминопексию в сыворотках собак.

Pomorski Z. — Detection of histamine-pectic strength in sera of dogs by the use of latex-agglutination test.

There was adapted latex-agglutination test, which had been worked by French authors, to detect histamine-pectic strength in sera of men. The method was modified by the use of different buffer solutions and by altering the conditions of latex covering with histamine. In addition the technique of agglutination was worked out. In order to verify the usefulness of the test there were examined 12 dogs with the signs of allergic changes of the skin and 12 normal dogs (controls). The findings were in most cases in good accordance with clinical observations, therefore the test may be used in veterinary diagnostics as a sensitive, qualitative test to detect histamine-pectic strength in sera of dogs.

KIMMERLE G., EBEN A.: Metabolizm, wydalanie i toksykologia trójchloroetyleny po inhalacji. I. Badania doświadczalne na szczurach. (Metabolism excretion and toxicology of trichloroethylene after inhalation. I. Experimental exposure on rats). Arch. Toxikol. 30, 115—126, 1973 (2).

W badaniach przeprowadzonych z trójchloroetylenem szczury eksponowano na stężenia 49 ppm, 175 ppm i 330 ppm trójchloroetyleny w powietrzu przez okres 4 godzin, oraz na stężenie 54 i 3160 ppm i określono stężenie trójchloroetyleny (TRI), trójchloroetanolu (TCE) i wodnika chloralu (CH) we krwi i wydalanie z moczem TCE i kwasu trójchloroocetowego (TCA). Obecność TCE i CH wykrywano we krwi myszek po eksponowaniu na stężenie TRI 3160 ppm jak również na bardzo niskie stężenia — 54 ppm. Stwierdzenie we krwi wodnika chloralu stanowi potwierdzenie hipotezy która zakłada, że TRI ulega w organizmie utlenieniu na CH, zaś CH jest utleniany na TCA lub redukowany na TCE. Wydalanie TCE i TCA z moczem zależy od stężenia TRI w powietrzu. Z.