

Piśmiennictwo

1. Bang H., Georg J.: Acta Pharmacol. Toxicol. 7, 321, 1951.
2. Billion K.: Dtsch. med. J. 8, 214, 1954.
3. Burgener F. A., Fischer H. W.: British J. Radiol. 49, 769, 1976.
4. Clerc E.: Ärtzl. Wschr. 10, 1156, 1955.
5. Langecker H., Harwart A., Junkmann K.: Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 220, 195, 1953.
6. Łazęcki L., Perkowski E., Szyszko E.: Pol. Tyg. Lek. 27, 701, 1972.

7. Moss A. A., Amberg J. R., Jones R. S.: Invest. Radiol. 7, 11, 1972.
8. Moss A. A., Kaufman L., Nelson J. A.: Invest. Radiol. 7, 335, 1972.
9. Perkowski E., Szyszko E., Zagórski Z. P.: Dissert. Pharm. Pharmacol. 23, 75, 1971.

Adres autora: doc. dr hab. Janusz Wierciński, ul. Sowińskiego 8/31, 20-040 Lublin.

ANDRZEJ MAZUR

Wykrywanie HRP (Hemoglobin Reactive Protein) w surowicach i serwatkach bydła prostą elektroforezą w agarze

Z Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt
Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

W czasie toczącego się procesu zapalnego, w surowicy krwi bydła pojawia się białko wiążące hemoglobinę (HRP-Hemoglobin Reactive Protein). Białko to nie występuje w surowicy bydła zdrowego.

Do wykrywania HRP w surowicach przystosowano metodę podwójnej dyfuzji w agarze. Metoda taka została opracowana przez Spoonera (2, 3), podają ją także Balbierz i wsp. (1). Podwójnej dyfuzji zostają poddane surowice i roztwór hemoglobiny, a powstały po 24 godz. kompleks HRP-Hb wykazywany jest reakcją benzydynową.

Przydatność tego łatwego do wykonania, ale dającego wynik po 24 godz. testu, jako nieswoistej próby w diagnostyce schorzeń bydła, skłoniła do poszukiwania takiej techniki, która skróciłaby okres oczekiwania na wynik. Wybór padł na metodę elektroforezy w żelu agarowym. Jest to wprawdzie metoda wymagająca aparatury, ale taki zestaw urządzeń posiadają standardowo wyposażone pracownie i laboratoria terenowe.

Celem pracy było:

- opracowanie optymalnych warunków do elektroforetycznego rozdzielenia HRP w żelu agarowym,
- dokonanie wyboru dla tego celu agaru, z rodzajów dostępnych w kraju.

Materiał i metody

Do badań użyto 91 surowic krwi krów i cieląt oraz 50 serwatek mleka standardowo przygotowanych do badań laboratoryjnych.

Podwójną dyfuzję w agarze prowadzono według metody podanej przez Spoonera (2, 3) oraz Balbierza i wsp. (1). Użyto hemolizatu bydłeczego o stężeniu 0,5 g w 100 ml. Dla rozwinięcia dyfuzji w żelu przyjęto 24 godzinną inkubację w komorze wilgotnej, w temperaturze pokojowej.

Elektroforeza prosta w agarze. Rozdzielenie dokonywano na szkiełkach podstawowych powleczonych żelazem agarowym:

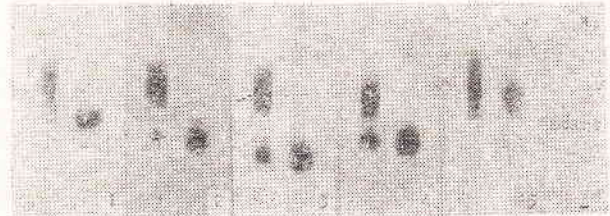
- Bacto-Agar Difco 498426 1,2%
- Bacto-Agar Oxoid Nr 1 SN 1,2%, 0,9%, 0,7%
- Davies Agar 1%
- „Baker” Grade Agarose 0,8%

Stosowano bufor weronalowy o pH 8,2, sile jonowej 0,025 (4). Czas rozdzielania 1 godz. 15 min. W dółki startowe wkraplano surowicę lub serwatkę z dodanym w równych częściach hemolizatem krwi bydłeczej o stężeniu 0,05 g w 100 ml. Do wybarwienia użyto odczynnika benzydynowego o składzie: benzydyna 200 mg, kwas octowy lodowaty 0,5 ml, woda destylowana 100 ml, perhydrol 0,1 ml. Szkiełka, na których dokonywano porównania trasy migracji kompleksu HRP-Hb w różnych żelach agarowych (ryc. 1), wybarwiano dodatkowo — w celu uwidocznienia migracji pozostałych białek surowicy — czernią amidową 10 B (ryc. 2).

Wyniki i omówienie

W prostej elektroforezie wykorzystano różnice w migracji poszczególnych białek — dokatodową wędrowkę wolnej hemoglobiny i doanodową kompleksu HRP-Hb. Kompleks HRP-Hb lokalizuje się w rejonie alfa-globulin, gdzie można go łatwo wykazać reakcją benzydynową, co jest zgodne z wynikami otrzymanymi poprzednio w naszej pracowni (1).

W poszczególnych żelach agarowych, porównywanych pod względem właściwości rozdzielania, uzyskano podobną wędrowkę kompleksu HRP-Hb pochodzącego z surowicy krwi bydła z wyjątkiem agarozy, w której wędrowka kompleksu była szybsza ze względu na doanodową również wędrowkę hemoglobiny w tym żelu (ryc. 1). Natomiast trasa i kierunek migracji pozostałych białek surowicy i wolnej hemoglobiny różniły się znacznie (ryc. 2).



Ryc. 1. Elektroforegramy surowicy bydłeczej zawierającej HRP, po dodaniu hemolizatu krwi bydłeczej, w różnych żelach agarowych, wybarwione odczynnikiem benzydynowym. Od lewej na kolejnych fotogramach: 1) Davies 1%, 2) Noble 1,2%, 3) Difco 1,2%, 4) Oxoid 1,2%, 5) Agarosa 0,8%. W dółkach startowych na każdym fotogramie po lewej kompleks HRP-Hb, po prawej Hb



Ryc. 2. Elektroforegramy jak na ryc. 1, po dodatkowym wybarwieniu białek surowicy czernią amidową 10 B

W serwatkach mleka krów wykazano również obecność HRP tworzącego kompleks z hemoglobiną. Kompleks ten po rozdzielaniu elektroforetycznym lokalizuje się, podobnie jak kompleks HRP-Hb surowicy, to jest w strefie alfa-globulin.

We wszystkich przypadkach uzyskano zgodność ocen wyników z podwójnej dyfuzji z rezultatami otrzymanymi w elektroforezie prostej.

Obraz kompleksu HRP-Hb w elektroforezie prostej był bardziej przejrzysty niż w podwójnej dyfuzji. Szczególnie łatwo można to było zauważyć w surowicach ze znacznym stopniem hemolizy oraz w serwatkach ze znaczną aktywnością peroksydazową, w których to ośrodkach nadmiar hemoglobiny lub peroksydaz nakłada się na kompleks HRP-Hb. Powoduje to zaciemnienie efektu reakcji barwnej, uzyskanej po zadziałaniu odczynnikami benzydynamy.

Dużą zaletą wykrywania HRP przy pomocy prostej elektroforezy jest krótki czas otrzymania wyników. W diagnostyce terenowej (na fermie, w oborze) nadal korzystniejsze może okazać się stosowanie podwójnej dyfuzji, bo nie wymaga ona dodatkowej aparatury. Natomiast w przypadkach, które wymagają szybkiego potwierdzenia wynikami badań laboratoryjnych, wykorzystanie rozdzielu elektroforetycznego do ujawniania HRP jest bardzo przydatne.

Wnioski

1. Wykrywanie HRP można znacznie przyspieszyć wykorzystując do jego ujawniania rozdziel elektroforetyczny w żelu agarowym.

2. Rozdziel elektroforetyczny pozwala na bardziej precyzyjną ocenę obecności HRP w surowicach i serwatkach, szczególnie przy ich dużej aktywności peroksydazowej.

3. Żele agarowe użyte do wykazywania obecności HRP metodą rozdzielu elektroforetycznego mogą być stosowane zamiennie.

4. Obecność HRP wykazano również w serwatkach mleka krów.

Piśmiennictwo

1. *Balbiere H., Nowacki W., Russ T.*: Pol. Arch. wet. 20, 87, 1977.
2. *Spooner R. L.*: Res. vet. Sci. 14, 90, 1973.
3. *Spooner R. L., Miller J. K.*: Vet. Rec. 88, 2, 1971.
4. *Wieme R. J.*: Agar Gel Electrophoresis. Elsevier Publ. Co. Amsterdam 1965.

Adres autora: lek. wet. Andrzej Mazur, pl. Grunwaldzki 40, 50-366 Wrocław.

Mazur A. — **Обнаруживание HRP (Hemoglobin Reactive Protein) в сыворотках крупного рогатого скота простым электрофорезом в агаре.**

Был применен простой электрофорез в агаровом геле для обнаруживания HRP (Hemoglobin Reactive Protein) в сыворотках крупного рогатого скота и было получено сходство результатов с полученными в двойной диффузии. Через применение простого электрофореза было достигнуто очень краткое время обнаруживания HRP. Была сравнена миграция комплекса HRP-Hb в различных агаровых гелях.

Mazur A. — **Determination of HRP (Hemoglobin Reactive Protein) in sera and why of cows by a simple agar-electrophoresis.**

There was applied a single agar-electrophoresis for the determination of HRP (Hemoglobin Reactive Protein) in sera and why of cows. The obtained results were in a good agreement with a double diffusion method. By the method of a single electrophoresis it was possible to determine HRP in a relatively short period of time. The author also compared the migration of HRP-Hb complex in various agar-gels.

Z HISTORII WETERYNARII

ZENON WACHNIK

„...O Wścieklicznie czyli Wodowstręcie tak ludzi jako i innych zwierząt” w dziele F. Wenera z 1800 r.

Ferdynand Werner — doktor medycyny i chirurgii, fizyk cyrkułu raciborskiego, adiunkt Collegii Medici et Sanitatis departamentu wrocławskiego na przełomie XVIII i XIX wieku, opracował „Dzieło doręczne dla Ekonomów i Wieśniaków o Zarazie i innych zwycajnych chorobach rogatego bydła, owiec, koni i świń Z krótkim Dodatkiem o Wścieklicznie czyli Wodowstręcie tak ludzi jako i innych zwierząt”. Dzieło to zostało wydane we Wrocławiu w 1797, a następnie w 1826. Po raz trzeci wydano je w Suwałkach w roku 1826.

Wydanie z 1800 r. ma 15 stron wstępu, 298 stron tekstu (wiadomości zawodowych), 13 stron spisu treści oraz 3 urzędowe wykazy dotyczące akcji zwalczania księgosuszu. W Bibliotece Ossolineum we Wrocławiu znajduje się egzemplarz tego wydania zachowany w doskonałym stanie.

A oto wyjątki z przedmowy („Przestrogi”) tego dzieła:

„Tak łaskawe przyjęcie mego dziełka przekonało mnie u użytku i usłudze dla mey Ojczyzny Śląska, i wzbudziło oraz we mnie chęć nową daley moię usługę rozszerzyć. Obróciłem nayprzód uwagę na poblizsze Prowincye, i dałem moiem dzieło na czystą Polszczyznę światłemu w nauce i w ięzyku mężowi wytłumaczyć, prosiłem potym o pozwolenie IW Hrabiego de Vofs Dyrekcyjnego w Prusach południowych Ministra, aby z równą pomocą iak w Śląsku, w tey Pro-

wincyi mogło się rozeyść; co też z szczególney IW Hrabiego dla mnie dobroci otrzymałem”.

„Zrobiłem na koniec przydatek o wodowstręcie, czyli ukaszeniu psa wściekłego w ludziach i bydłach. Ta mała uwaga dla tych iedynie okolic służy, gdzie dla znaczney odległości iako np. w dawney Polsce lekarza łatwo sprowadzić niemożna. I dla tego to dzieło na czystą Polszczyznę iest przełożone”.

„Ziemianie Śląscy i Prus południowych, którzy tego dziełka w Języku Polskim lub Niemieckim żadaią, udaiąc się po niego do podatkowych Urzędow, dostaną go bez opłaty Poczty za 20 dobrych groszy czyli za pięć Złotych Polskich...”.

Wydanie tego dziełka w języku polskim wynikało więc z konieczności zaznajomienia rdzennej ludności polskiej zamieszkującej wschodnie tereny ówczesnego państwa niemieckiego. O polskości tych ziem świadczą takie nazwiska właścicieli gospodarstw, umieszczone w wykazach urzędowych: Mateusz Baran, Bogumił Zaiąc, Ignacy Ploch, Henryk Pokors, Józef Nosek, Jan Santok, Marcin Spok. Merytoryczna ocena tego dzieła została trafnie przedstawiona przez Perencę w „Historii lecznictwa zwierząt w Polsce”, dlatego też ograniczyć się tylko do poglądów Wenera na temat wściekliczny.

Uważa on, że wściekliczna powstaje „sama z siebie” u psów, wilków i lisów, natomiast inne zwierzęta zarażane są za pomocą śliny wściekłych zwierząt. Bar-