

Tab. 5. Województwa, na terenie których w latach 1987—1991 zarejestrowano największą liczbę przypadków brucelozy

Województwo	Liczba (%) przypadków	
elbląskie	10 (2,4)	357 (84,4)
gorzowskie	72 (17,0)	
gdańskie	17 (4,0)	
koszalińskie	10 (2,4)	
legnickie	29 (6,9)	
pilskie	11 (2,6)	
poznańskie	59 (13,9)	
szczecińskie	11 (2,6)	
toruńskie	31 (7,3)	
wrocławskie	13 (3,1)	
wrocławskie	30 (7,1)	
zielonogórskie	64 (15,1)	
pozostałe: 37 województw	66 (15,6)	

naryjny, oborowy. Obserwacje te zestawiono w tab. 3. Najwyższy odsetek przypadków brucelozy zarejestrowano w dwóch grupach wiekowych: 50—59 lat (42,3) oraz 40—49 lat (30,0). Zwraca uwagę dosyć wysoki odsetek przypadków w grupie wieku 30—39 lat (tab. 4).
 Spośród 423 zarejestrowanych przypadków 357 odnotowano na terenie 12 województw, a pozostałe 66 na terenie 37 województw (tab. 5).

Uzyskane wyniki badań pozwoliły na sformułowanie wniosku, iż lekarze-technicy-sanitariusze weterynaryjni oraz pracownicy oborowi w dalszym ciągu powinni pozostawać pod kontrolą serologiczną. Dotyczy to przede wszystkich 12 województw (elbląskie, gorzowskie, gdańskie, koszalińskie, legnickie, pilskie, poznańskie, szczecińskie, toruńskie, wrocławskie, wrocławskie, zielonogórskie).

Piśmiennictwo

1. Alton G. G., *Plommet M.*: WHO Chronicle 40, 19, 1996.
2. Anon: *Ochrona Pracy* 37, 18, 1983.
3. Anon: WHO Chronicle 61, 73, 1983.
4. Bilecki S.: *Brucelozja zwierząt*. PWRiL, Warszawa 1985.
5. Indulski J., Starzyński Z., Szeniawa-Dąbrowska M., Szymborski L., Wosik K., Wilczyńska U.: *Med. Pracy* 29, 507, 1978.
6. Łazuga K., Stroczyńska-Sikorska M., Prażmo Z.: Instrukcja dotycząca wykonania odczynu aglutynacyjnego Wrighta i odczynu wiązania dopełniacza (pismo Ministerstwa Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 22.XI.1973, ES. 4410/A-20/73).
7. Stroczyńska-Sikorska M., Stojek N.: Instrukcja dotycząca wykonania odczynu aglutynacji (obowiązująca w służbie zdrowia w Polsce). Instytut Medycyny Wsi, Lublin 1983.
8. Stroczyńska-Sikorska M., Stojek N., Prażmo Z.: *Med. Pracy* 32, 129, 1981.
9. Stroczyńska-Sikorska M., Prażmo Z., Stojek N.: *Med. Wiejska* 16, 27, 1981.
10. Stojek N.: *Wiad. Lek.* 37, 572, 1985.
11. Stroczyńska-Sikorska M., Stojek N., Prażmo Z.: *Medycyna Wet.* 42, 654, 1986.
12. Stroczyńska-Sikorska M., Stojek N.: *Med. Wiejska* 23, 233, 1988.

Adres autora: prof. dr hab. Maria Stroczyńska-Sikorska, ul. Wieniawska 10/4, 20-071 Lublin

JAN F. ŻMUDZIŃSKI, MARCIN SMRE CZAK,
 DANUTA SKULMOWSKA-KRYSZKOWSKA, JERZY ROLA

Koniugat CENTOCOR FITC w diagnostyce wścieklizny. I. Badania myszek zakażonych szczepem Flury LEP

Zakład Wirusologii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

CENTOCOR FITC anti-rabies monoclonal globulin in rabies diagnostic. I

The monoclonal CENTOCOR FITC conjugate produced by CENTOCOR, Malvern PA 19355, USA has been used for detection of rabies virus in brain impression slides from mice inoculated with Flury LEP strain MICLD₅₀ titer log 5.32. The conjugate has been used at the dilutions 1:10, 1:20, 1:40. For comparison same brain impression slides have been treated with anti-rabies polyclonal conjugate made by czechoslovakian company Bioveta (working dilution 1:8). The control slides have comprised the impressions of normal (non-inoculated with rabies) mouse brain labeled with either CENTOCOR undiluted or Bioveta conjugate diluted 1:8. The same complexes emitting bright apple green fluorescence have been found out in impressions labeled with either Centocor or Bioveta conjugates. The CENTOCOR has given the positive reaction in the dilution up to 1:20. The background staining has been markedly reduced in impressions treated with CENTOCOR (contains Evans blue counterstain). The CENTOCOR lot No. 9C0011 may be used in the dilution 1:2 to provide 10-fold excess of antibody recommended by the company.

strukcje Departamentu Zdrowia USA z 1981 r. i Instytutu Pasteura, Francja z 1991 r. na pierwszym miejscu wymieniają test immunofluorescencji (1, 2, 3, 4). Instrukcja Instytutu Pasteura pomija w ogóle wykrywanie ciała B-N. Również instrukcja amerykańska wskazuje, że najbardziej wiarygodnym i zalecanym jest test immunofluorescencji i próba biologiczna.

W Polsce Zakłady Higieny Weterynaryjnej stosują próbę immunofluorescencji od przeszło 20 lat, używając koniugatu FITC do diagnostyki wścieklizny produkcji czecho-słowackiej (Bioveta, Ivanovice na Hané). Koniugat ten nie cieszy się dobrą opinią ze względu na występowanie strąków, które utrudniają w znacznym stopniu rozpoznanie.

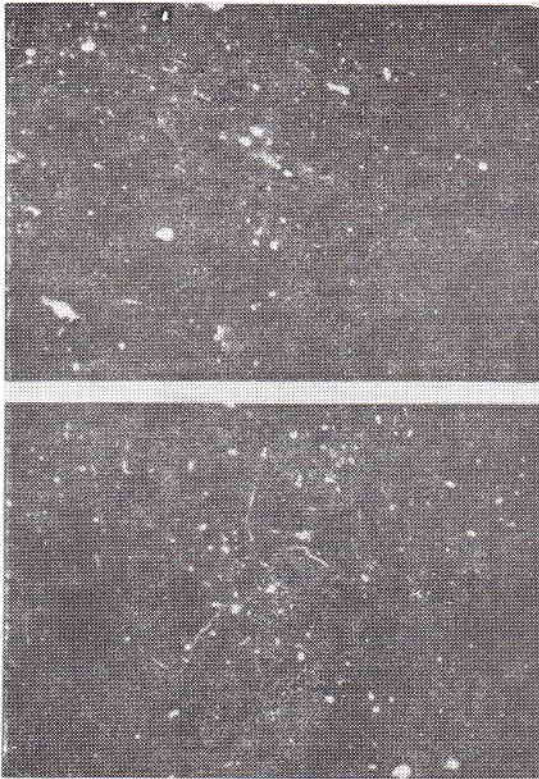
Celem badań była ocena wartości diagnostycznej koniugatu monoklonalnego CENTOCOR FITC produkcji USA przy użyciu preparatów odciskowych mózgowia myszek zakażonych szczepem Flury LEP wirusa wścieklizny wobec koniugatu polikonalego produkcji Bioveta, Czecho-Słowacja.

Materiał i metody

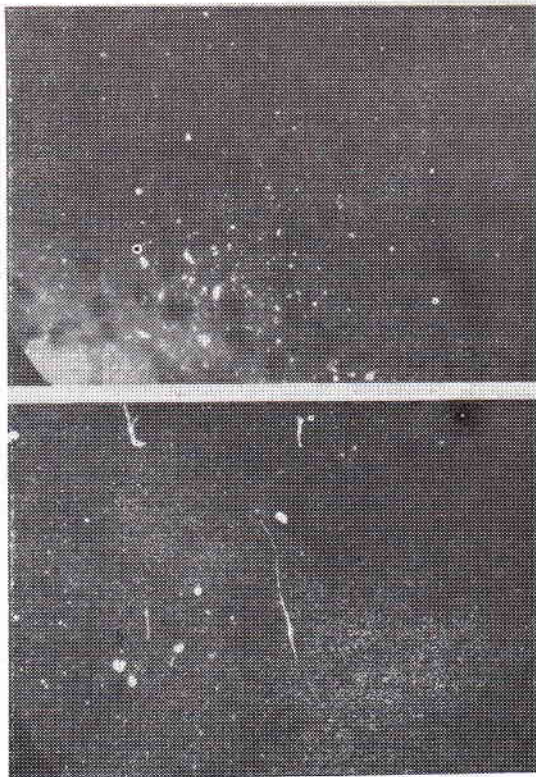
Myszki o masie 12—16 g zakażano domózkowo dawką 0,03 ml wirusa wścieklizny szczepu Flury LEP o mianie MICLD₅₀ log 5.32. Osowiałość występowała od 7 dnia po zakażeniu, następnie 8—9 dnia stwierdzono porażenia i zejścia śmiertelne. Z mózgowia porażonych i padłych myszek przygotowano szereg preparatów odciskowych i utrwalono stosownie do przepisu dla koniugatu CENTOCOR przez 4 godz. w acetonie schłodzonym do -20°C oraz w płomieniu stosownie do przepisu dla koniugatu Bioveta. Koniugat

Instrukcja nr 27 Ministerstwa Rolnictwa Departamentu Weterynarii z dnia 16 kwietnia 1973 r. (6) w sprawie laboratoryjnego rozpoznawania wścieklizny u zwierząt przewiduje następujące laboratoryjne badania diagnostyczne: wykrywanie ciała B-N, próbę immunofluorescencyjną, próbę biologiczną.

Publikacje Światowej Organizacji Zdrowia oraz in-

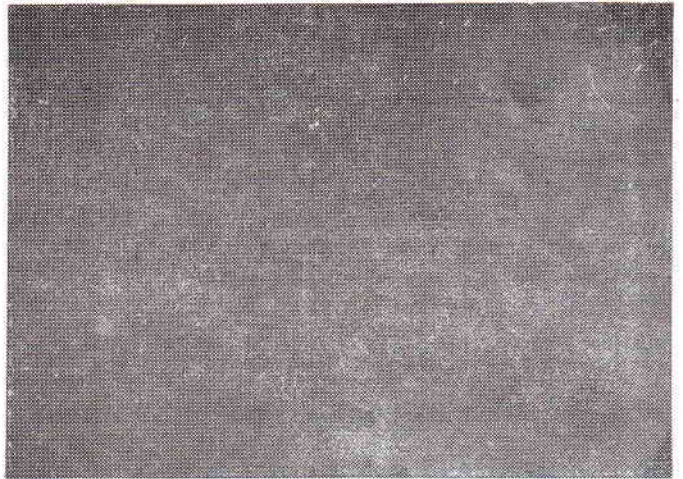


Ryc. 1. 2. Preparaty odciskowe mózgowia myszek zakażonych wirusem wścieklizny szczep Flury LEP, koniugat Centocor 1 : 10, pow. 40×15

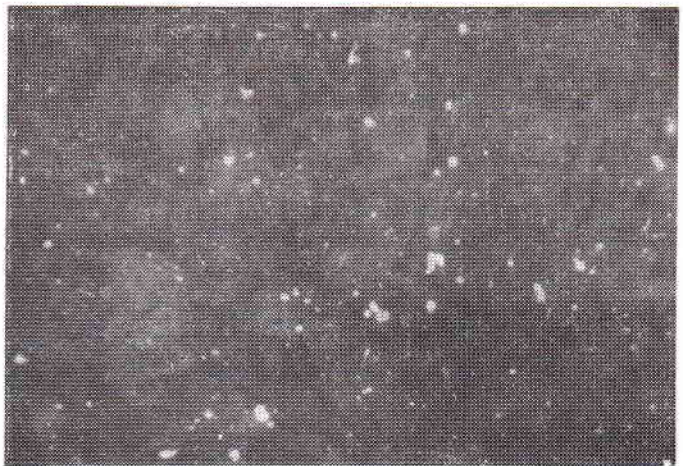


Ryc. 3. 4. Preparaty odciskowe jak 1, 2, koniugat Centocor 1 : 20, pow. 40×15

rekonstruowano wodą redestylowaną, a następnie przygotowano rozcieńczenia dla Centocoru 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40. Koniugatu Bioveta używano w rozcieńczeniu 1 : 8 stosownie do zalecenia producenta. Koniugat CENTOCOR rozcieńczano, aby dokonać mianowania. Charakter i jasność świeceń porównano w preparatach traktowanych koniugatem CENTOCOR i Bioveta. Jako kontrole służyły preparaty od-



Ryc. 5. Preparat odciskowy jak 1, 2, koniugat Centocor 1 : 40, pow. 40×15



Ryc. 6. Preparat odciskowy jak 1, 2, koniugat Bioveta 1 : 8, pow. 40×15

ciskowe z mózgow normalnych, nie zakażonych wirusem wścieklizny, traktowane oddzielnie koniugatem Bioveta w rozcieńczeniu 1 : 8. Preparaty przeglądano w mikroskopie UV Jenalumar z lampą HBO 202 przy powiększeniu $25 \times 6,3$ i $50 \times 6,3$. Zdjęcia wykonywano za pomocą mikroskopu MŁ3 z lampą Drsz250 przy powiększeniu 40×15 .

Wyniki i omówienie

Wyniki przedstawiono w postaci dokumentacji fotograficznej. Ryc. 1, 2 przedstawiają fluorescencję 2 różnych preparatów odciskowych mózgowia myszek zakażonych szczepem Flury LEP wirusa wścieklizny (miano $\log 5,32$, rozcieńczenie 10^{-8}). Do znakowania użyto koniugatu CENTOCOR w rozcieńczeniu 1 : 10. Preparaty na rycinach 3 i 4 znakowano również koniugatem CENTOCOR w rozcieńczeniu 1 : 20, a 5 w rozcieńczeniu 1 : 40. W preparatach 1—4 widoczna jest silna, jasna fluorescencja ciałek wtępowych. Mają one różną wielkość, kształt okrągły lub owalny, brzości gładkie. Długie, pasmowate twory na ryc. 2 i 4 stanowią prawdopodobnie nagromadzenie antygenów wirusa wścieklizny układające się w powyższy sposób na przekroju tkanki mózgowej. W preparacie 5 można zaobserwować podobne twory jak w preparacie 1, jednakże intensywność fluorescencji jest bardzo słaba. Jest to wynik dużego rozcieńczenia koniugatu CENTOCOR, gdyż dla znakowania tych preparatów użyto go w rozcieńczeniu 1 : 40. Fotografia 6 przedstawia preparat odciskowy mózgowia



Ryc. 7. Preparat odciskowy mózgowia myszy nie zakażonej, koniugat Centocor nie rozcieńczony, pow. 40×15



Ryc. 8. Preparat odciskowy jak 6, koniugat Bioveta 1:8, powiększenie 40×15

myszek zakażonych wścieklizną znakowany koniugatem Bioveta w rozcieńczeniu 1:8. Na preparacie tym widać analogiczne twory jak w preparatach 1 i 3, jednakże tło jest nieco jaśniejsze, gdyż w przeciwieństwie do koniugatu CENTOCOR koniugat Bioveta nie zawiera błękitu Evansa, który znamienne zmniejsza jasność tła. Ryciny 7 i 8 przedstawiają preparaty kontrolne — od-

ciski mózgowia myszki nie zakażonej traktowane nie rozcieńczonym koniugatem CENTOCOR (ryc. 7) i Bioveta w rozcieńczeniu 1:8 (ryc. 8).

Koniugat CENTOCOR zawiera panel przeciwciał monoklonalnych znakowanych izotiocyanianem fluoresceiny do wykrywania wścieklizny w mózgowiu i śliniankach podżuchwowych. Badania wykazały, że test immunofluorescencji z użyciem tego koniugatu wykrywa wirusy uliczne wścieklizny i szczepy ustalone (serotyp I) oraz Lagos (serotyp II), Mokola (serotyp III), Duvenhage (serotyp IV). Brak jest potwierdzenia eksperymentalnego, czy CENTOCOR wykrywa nie sklasyfikowane serotypy izolowane od nietoperzy w Europie, a oznaczone jako EBL 1 i EBL 2. Jako zestaw przeciwciał monoklonalnych przeciwko wirusowi wścieklizny koniugat CENTOCOR powinien być wysoce specyficznym preparatem diagnostycznym nie dającym reakcji niespecyficznych z antygenami tkanki nerwowej, glejowej, elementami morfotycznymi krwi mogącymi znajdować się w mózgowiu i następnie preparatach odciskowych (5). Wstępna ocena tego koniugatu wydaje się potwierdzać te jego zalety, przynajmniej w stosunku do szczepu laboratoryjnego wirusa wścieklizny Flury LEP. Również uzyskane miano graniczne 1:20 dla preparatu serii 9C0011 sugeruje, iż można byłoby rozcieńczać koniugat 1:2 dla uzyskania zalecanego przez producenta co najmniej 10-krotnego nadmiaru przeciwciał w rozcieńczeniu roboczym, a jednocześnie maksymalnie wykorzystać zawartość fiołki. Koniugat dostarczany jest w stanie zliofilizowanym, zawiera błękit Evansa znamienne obniżający jasność tła, co można zaobserwować porównując preparaty 1—4 z 6. Jedna fiołka koniugatu CENTOCOR kosztuje 320 USD.

Piśmiennictwo

1. Bourny H., Sureau P.: Methodes de Laboratoire pour le Diagnostic de la Rage. Institut Pasteur, Rabies Unit, National Reference Centre for Rabies, WHO Collaborating Centre for Rabies, Paris, 1991.
2. Debbie J. G., Andrusonis J. A., Abelseth M. K.: Infect. Immun. 5, 902, 1972.
3. Kaplan M. M., Koprowski H.: Laboratory Techniques in Rabies, WHO Geneva, 1973.
4. McQueen J. L., Lewis A. L., Schneider N. J.: Am. J. publ. Hith 50, 1743, 1960.
5. Wiktor T. J., Flamand A., Koprowski H.: J. Virol. Methods 1, 33, 1980.
6. Instrukcja Nr 27 Min. Rol. Dep. Wet. z dn. 16.04.1973 (Wet-L-640/1/73).

Adres autora: doc. dr habil. Jan F. Zmudziński, ul. Norwida 27 m. 9, 24-100 Puławy

NELSEN R. W.: Postępowanie dietetyczne w cukrzycy. (Dietary management in diabetes mellitus). J. Small Anim. Pract. 33, 213—217, 1992 (5)

Celem diety jest wspomaganie terapii insulinowej i poprawna regulacja glikemii u psów i kotów z cukrzycą. U kotów i psów z cukrzycą insulinozależną dieta nie eliminuje terapii insulinowej. Badania wstępne wykazały, że odpowiednio dobrana dieta w zupełności wystarcza do kontrolowania glikemii u kotów, u których istnieje podejrzenie występowania cukrzycy niezależnej od insuliny. Zaleca się pokarm bogaty we włókno, dietę zawierającą złożone węglowodany, co pozwala na kontrolowanie utrzymania masy ciała na odpowiednim poziomie.

G.

SALMON D. D., FERRIER G. R.: Wąglik poszczepienny u bydła. (Post vaccination occurrence of anthrax in cattle). Vet. Rec. 130, 140—141, 1992 (7)

Szczepionka przeciwwąglikowa oparta o zarodniki *Bacillus anthracis* jest stosowana powszechnie w celach profilak-

tycznych u bydła w Australii. Jedna dawka szczepionki, która zawiera 2—10 mil. spor *B. anthracis* wystarcza do stymulacji solidnego działania ochronnego. Jednakże po stosowaniu też żywej szczepionki wystąpiły przypadki wąglika poszczepiennego. W jednym stadzie szczepionym wąglikiem potwierdzony badaniem sekcijnym i bakteriologicznym wystąpił u jednej krowy, w drugim przypadku u 3 z 43 szczepionych krów. Wystąpienie wąglika poszczepiennego mogło być następstwem niewystąpienia dobrego działania ochronnego, względnie zakażenia dużymi dawkami zarazka. U dwóch krów szczepionych, miano swoistych przeciwciał określonych testem ELISA było identyczne jak u sztuk nie poddanych szczepieniu. Niskie miano przeciwciał po jednorazowym podaniu szczepionki i ustanie padania krów na wąglika po rewakcytacji wskazuje na niskie działanie ochronne pierwszej dawki szczepionki. Przyczyny niepełnego działania ochronnego pierwszej dawki szczepionki mogą być różnorodne np. nieodpowiednie przechowywanie szczepionki, złe jej wymieszanie przed szczepieniem, nieodpowiednie podanie, zaburzenia w mechanizmach odpowiedzi immunologicznej zwierząt szczepionych.

G.