

# MEDYCYNA WETERYNARYJNA

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CZASOPISMO POSWĘCONE NAUCIE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ  
ZAŁOŻONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE

REDAKCJA: Redaktor naczelny: Prof. Dr T. Żuliński (Lublin), zastępcy redaktora naczelnego: Prof. Dr H. Szwejkowski (Warszawa), Prof. Dr G. Staśkiewicz (Lublin), Redaktor naukowy: Prof. Dr E. Prost (Lublin), Członkowie Komitetu Redakcyjnego: Prof. Dr B. Gancarz (Wrocław), Dr K. Morawski (Piaseczno), Dr Z. Wojtatowicz (Warszawa).

WSPÓŁPRACOWNICY: Prof. Dr W. Bielański (Kraków), Prof. Dr J. Brill (Warszawa), Prof. Dr M. Cena (Wrocław), Prof. Dr A. Chodkowski (Lublin), Prof. Dr E. Domański (Warszawa), Prof. Dr Z. Finik (Lublin), Prof. Dr R. Harnach (Brno — CSRS), Prof. Dr R. Hoppe (Warszawa), Prof. Dr H. Janowski (Puławy), Prof. Dr T. Jastrzębski (Lublin), Doc. Dr T. Kobusiewicz (Zduńska Wola), Prof. Dr S. Koeppel (Warszawa), Dr F. Kozłowski (Puławy), Prof. Dr S. Krauss (Puławy), Dr J. Lipnicki (Warszawa), Lek. wet. mgr praw W. Lutyński (Warszawa), Dr S. Majdan (Puławy), v-Dyr. S. Mastalerz (Warszawa), Dr K. Millak (Warszawa), Prof. Dr S. Nyrek (Warszawa), Dyr. Dr H. Oberfeld (Warszawa), Prof. Dr W. Pezacki (Poznań), Dr T. Pustówka (Katowice), Prof. Dr H. Röhrer (Riems — NRD), Dyr. S. Ryszkowski (Warszawa), Prof. Dr A. Senze (Wrocław), Dr S. Spiewak (Piotrków), Prof. Dr J. Szaflarski (Katowice), Prof. Dr E. Szyfelbejn (Warszawa), Prof. Dr A. Stryszak (Warszawa), Dr S. Wadowski (Olsztyn), Dr M. Wistocki (Piotrków Kuj.), Doc. Dr J. Wiśniowski (Bydgoszcz), Prof. Dr A. Zakrzewski (Wrocław), Dyr. J. Zuberbier (Warszawa), Prof. Dr E. Zarnowski (Warszawa), Doc. Dr A. Zebracki (Wrocław).

## CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

JERZY WIŚNIEWSKI, MARIAN KRÓLAK

### Formułowanie wyników serologicznego badania bydła na brucelozę w jednostkach międzynarodowych — a obowiązujące w Polsce zasady interpretacji

Zakład Higieny Zwierząt IW w Bydgoszczy  
Kierownik: doc. dr JERZY WIŚNIEWSKI

Wojewódzki Zakład Higieny Wet. w Gdańsku-Oliwie  
Kierownik: dr ADAM CZARNOWSKI

W międzynarodowym handlu poważnym działem jest obrót zwierzętami użytkowymi i produktami zwierzęcymi. W związku z tym występuje zagrożenie przenoszenia się chorób, co jest szczególnie groźne dla tych krajów, które się już ich pozbyły. Tak jest między innymi i z brucelozą bydła, która może być zawleczona tym łatwiej, że mogą istnieć poważne różnice w metodach ustalania rozpoznania przez danych partnerów wymiany handlowej. Problem ten jest oczywiście szerszy niż sprawa jednej choroby, dlatego też w trosce o ujednoczenie metod rozpoznawczych i kryteriów oceny uzyskanych wyników, a zatem i stworzenia większych możliwości kontroli powołano przed kilku laty przy Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization — WHO) Komitet do spraw normalizacji biologicznej (WHO-Expert Committee on Biological Standardization). Komitet ten zajmuje się m. in. standaryzacją metod rozpoznawczych. W odniesieniu do brucelozy Komitet zatwierdził w 1954 r. surowicę zawierającą p-ciała (aglutyniny) dla *Brucella abortus* — opracowaną przez *Stableforth* w Weybridge — jako międzynarodowy wzorzec odczynu zlepnego (International Standard anti-*Brucella abortus* Serum — ISS).

Przyjęto, że 1 ampulka tej surowicy (tj. 1 ml) zawiera 1000 międzynarodowych jednostek aglutynacyjnych (m. j. agl.) oraz, że miano diagnostyczne tj. kryterium oceny dodatniej wynosi 1/10 wzgl. 1/12 części przeciwał obecnych w ISS. Innymi słowy, jeżeli surowica badanego zwierzęcia zawiera 100 m. j. agl./ml, to wynik ten uważa się za dodatni.

Pewien zapas surowicy standardowej (ISS) przechowywany jest w stanie zliofilizowanym w Instytucie Serologii w Kopenhadze i w Instytucie Weterynarii w Weybridge. Mogą z niego korzystać te kraje, które pragną ustalać wyniki aglutynacji w jednostkach. Stwarza to wspólny układ odniesienia i umożliwia porównywanie wyników w skali międzynarodowej.

Kraje, które pragną formułować wyniki aglutynacji w m. j. agl. muszą posiadać nie tylko ISS, lub tzw. krajowy jej odpowiednik, tj. surowicę o tej samej ilości aglutynin ale także standaryzowany antygen, tzn. o tak dobranej gęstości (ilość bakterii w ml) i o takim składzie antygenowym (dobór szczepów), aby można było przy określonym sposobie wykonania aglutynacji uzyskiwać zawsze to samo miano. W przypadku dysponowania tak dobranym antygenem, który by z ISS dawał miano aglutynacyjne 1/1000++ uzyskany wynik byłby wyrażony od razu w m. j. agl. (bez przeliczania).

Wysokość miana uzyskiwanego z ISS jest miarą czułości danego antygeny i techniki przeprowadzania odczynu. W 1954 roku WHO/FAO zaleciło przeprowadzanie aglutynacji z tak dobranym antygenem, aby z ISS uzyskiwać miano 1/500++. W wielu krajach zdecydowano się na sporządzenie takiego antygeny w oparciu o zalecone szczepy standardowe. Stosując taki antygen do badania nieznanych surowic należy uzyskane miano przeliczać, aby wyrazić zawartość aglutynin w m. j. agl. Przeliczenia dokonuje się stosując wzór Willemsa

$$\frac{1000 \cdot A}{B}$$

= ilość m. j. agl./ml, w którym 1000 oznacza ilość jednostek w 1 ml ISS, „A” — miano uzyskane z badaną surowicą, „B” — miano uzyskane z ISS (w obu przypadkach, tj. A i B, z antygenem stosowanym w danej pracowni, czy kraju). W przypadku dysponowania tak dobranym antygenem, przy którym z ISS otrzymuje się miano 1/500, całe przeliczenie — przy zastosowaniu cytowanego wzoru — ogranicza się do pomnożenia dzielnika miana uzyskanego z badaną surowicą (A) przez 2.

Jak wynika z instrukcji (1964) obowiązującej przy wykonywaniu aglutynacji w WZHW w Polsce, antygen, który będzie rozprowadzany (niniejszy tekst piszą autorzy w czerwcu 1965 r.) aglutynuje z ISS do miana 1/500, gdyż zgodnie z zaleceniem uzyskane miano

należy mnożyć przez 2 celem wyrażenia wyników w m. j. agl.

Zasada standaryzacji jest prosta o ile będzie spełniony warunek, jakim jest posiadanie przez każdą pracownię odpowiedniego antygeny oraz surowicy standardowej (ISS), lub jej krajowego odpowiednika a kontrola wykaze, że w danych warunkach wykonywania aglutynacji miano ISS osiąga zawsze tę samą wartość, tzn. 1:500 ++. Istnieje wówczas pewność, że każda badana surowica będzie jednakowo oceniona we wszystkich laboratoriach, które standard przyjęły. Zapewnia to bardziej wnikliwą kontrolę sprawowaną przez laboratorium nadrzędne oraz kontrolę ze strony eksportera i importera.

Pomimo tego, że standard odczynu zlepnego w oparciu o ISS zatwierdzony jest od 1954 r., wiele krajów stosowało nadal własne antygeny, wychodząc z założenia, że standaryzacja może położyć kres dalszym ewentualnym usprawnieniom aglutynacji np. w postaci opracowywania nowych antygenów jeszcze bardziej czułych lub swoistych. Dla tych krajów, które nadal eksperymentują nie zadowolając się standaryzowanym, jakby już raz na zawsze ustalonym antygenem, istnieje zawsze możliwość przeliczenia wyników na m. j. agl., czyli uczestniczenia, w sposób pośredni, w standaryzacji aglutynacji. W takich przypadkach stosuje się przeliczenie wg cytowanego wzoru. Tak właśnie przez kilka lat przeliczono wyniki w Niemczech nie wycofując wypróbowanego antygeny, który z ISS dawał miano 1:640. Ponieważ Niemcy przy stosowaniu tego antygeny za miano diagnostyczne uznają 1:20 (wątpliwe) i 1:40 (dodatnie), można po odpowiednim przeliczeniu przekonać się, że miana te odpowiadają 31,25 i 62,5 m. j. agl. Jeżeli porówna się te miana z mianami innych krajów np. polskimi, które wynoszą odpowiednio 1:25 i 1:50 i po rozproszczeniu standaryzowanego antygeny równe będą 50 i 100 m. j. agl., to można od razu zorientować się, że Niemcy stosują znacznie ostrzejsze kryteria oceny niż Polacy (wynik dodatni czy wątpliwy, przy mniejszej zawartości aglutynin w badanej surowicy). Na tym chociażby przykładzie można zilustrować przydatność wspólnego układu odniesienia jakim jest ISS i wyższego sposobu podawania wyników badania w jednostkach zamiast w formie mian.

Sprawa standaryzacji aglutynacji nabrała w ostatnim czasie większej aktualności. Standaryzowana aglutynacja obowiązuje urzędowo, np. w krajach zorganizowanych w Europejskiej Wspólnocie Gospodarczej. Nasuwa się więc potrzeba przyjęcia tych samych zasad przez wszystkie te kraje, które chciałyby prowadzić handel bydlęm z EWG.

W standaryzacji metod serologicznego rozpoznawania brucelozy zwierząt jest jeszcze pewna luka. Jest nią m. in. brak standardu odczynu wiązania dopełniacza (owd). Odczyn ten — wprawdzie od lat stosowany, między innymi i w Polsce — uważany jest od niedawna za szczególnie cenne źródło informacji o zakażeniu. Przez długie lata owd był jednakże niedoceniany i nie stosowany w wielu krajach, m. in. w krajach anglosaskich. Dotychczas też nie doczekał się standaryzacji. Obecnie od czasu ukazania się kilku prac doświadczalnych na temat roli owd w diagnostyce brucelozy i rozpoznawaniu reakcji poszczepiennych, pojawiło się kilka publikacji poświęconych ujednoczeniu metody owd i standardu surowicy. Z doniesień różnych autorów wynika, że ostatnio sprawą standaryzacji owd zajmuje się zespół ekspertów działający w porozumieniu z FAO/WHO/OIE. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa można wywnioskować, że również w owd ISS przyjęta zostanie jako międzynarodowy układ odniesienia. Okazało się, że ISS, prócz aglutynin, zawiera także wystarczającą ilość przeciwciał wiążących dopełniacz i z powodzeniem może być również międzynarodowym standardem dla owd. Pod tym względem wśród autorów zajmujących się tym problemem panuje jednomyślność. Pozostaje natomiast nadal sprawa otwarta, ile międzynarodowych

jednostek wiązania dopełniacza (m. j. wd.) zawierać ma 1 ml ISS. *Ulbrich i Scheibner* (5) oraz *Hill* (3) opowiadają się za przyjęciem 1000 jednostek, a więc analogicznie do zawartości jednostek aglutynacyjnych, *Bürki* (2) natomiast wylicza, że przy jego metodzie wykonywania owd surowica standardowa (ISS) zawiera 600 m. j. wd./ml.

Propozycje *Hilla* (3) dotyczące standaryzacji owd zasługują na szczególną uwagę, gdyż wprowadzają uporządkowanie niektórych pojęć i zmierzają do ujednoczenia wartości miana diagnostycznego. *Hill* uważa, że przy standaryzacji owd wskazane jest korzystanie z doświadczeń autorów, którzy ujednoczili aglutynację i proponuje zastosowanie cytowanego wzoru *Willemsa* do przeliczania mian owd na jednostki. *Hill* proponuje przeto, aby w standaryzacji owd przyjmując również dwa pojęcia wprowadzone przez *Willemsa* dla aglutynacji a mianowicie tzw. indeks i stałą. Tak więc wg *Hilla* indeks dopełniacza (Complement Index — CI) jest to najmniejsza ilość surowicy standardowej (ISS), która w danej metodzie owd daje jeszcze reakcję dodatnią o określonej sile wiązania dopełniacza. Indeks ten wyrażony jest liczbą całkowitą stanowiącą dzielnik rozcieńczenia (miana) sprowadzonego do obojętności 1 ml. Przykład z danych *Bürkiego*: miano ISS = 1:120 ++, ale uzyskano je z dawką surowicy 0,2 ml, czyli 1/5 częścią 1 ml, stąd CI =  $120 \times 5 = 600$ . Stała dopełniacza (Complement Constant = CC) stanowi część wartości CI, którą przyjęto za kryterium rozpoznawcze. Stała wyrażona jest liczbą ułamkową, która wskazuje na stosunek CI do miana diagnostycznego (Diagnostic Titre — DT) wyrażonego częścią CI. Przykład z danych *Bürkiego*: CI = 600, DT = 25, stąd  $600:25=24$ , CC = 1/24 wartości CI. To samo można wyrazić wg *Altona i Jonesa* (1) wychodząc z miana ISS uzyskanego w danej metodzie i miana diagnostycznego. Przykład z *Bürkiego*: miano ISS = 1/120, miano diagnostyczne 1/5, stąd  $CC=1/120:1/5=1/24$ .

*Hill* proponuje dalej, aby przyjmując, że 1 ml ISS posiada 1000 m. j. wd i wartość CC dla bydła wynosi 1/25 CI. Propozycja ta stwarza zasadnicze ujednoczenie kryterium diagnostycznego, które w takim przypadku zawsze, a więc niezależnie od metody wykonywania owd, wynosić będzie 40 m. j. wd. Wynika to z wzoru *Willemsa*

$$\frac{1000 \cdot CC (1/25 CI)}{CI} = DT \text{ w jednostkach.}$$

Przykład z danych *Bürkiego*:

$$\frac{1000 \cdot 24}{600} = 40 \text{ m. j. wd.}$$

Propozycja *Hilla* odnośnie wartości CC wynika z praktyki i badań doświadczalnych wielu autorów, którzy zastanawiali się nad określeniem wartości miana diagnostycznego w owd przy rozpoznawaniu brucelozy u bydła. *Bürki*, który jak się wydaje poczynił tu najdokładniejsze i najobszerniejsze badania, uważa, że przy jego metodzie wykonywania owd miano 1:5 należy uznać za wątpliwe, wyższe za dodatnie. Miano to po odpowiednim przeliczeniu wg propozycji *Hilla* równe jest 41,7 m. j. wd., a więc jest bardzo bliskie 40 jednostkom proponowanym przez *Hilla*.

Odnosi się wrażenie, że omówione propozycje *Hilla*, jako proste i praktycznie przydatne znajdują zastosowanie w standaryzacji owd. Natomiast jeżeli chodzi o badania i propozycje *Bürkiego* istnieje duże prawdopodobieństwo, że komitet standaryzacji przyjmie, jako standardową, technikę wykonania owd wg tego autora i zatwierdzi tym samym wartość CI na poziomie 600, jako poziom czułości owd wystarczający dla rozpoznawania brucelozy u bydła i różnicowania reakcji poszczepiennych od zakażenia.

Technika wykonania owd odgrywa bardzo istotną rolę przy opracowywaniu standardu odczynu, ze względu na to, że na ostateczny wynik ma wielki wpływ wiele czynników zewnętrznych (czas, temperatura) i wewnętrznych (zawartość poszczególnych aktywnych komponentów). Przy opracowywaniu stan-

dardu zachodzi więc potrzeba ustalenia sposobu wykonywania samego odczynu, sposobu miareczkowania składników i zasady wyboru stężeń roboczych tych składników. Propozycje *Bürkiego* w tym zakresie wydają się najlepsze. Szczegółowo omówiono je w innej pracy (11), w której wykazano, że metoda owd stosowana w Polsce oraz otrzymywane przy jej użyciu wyniki są zbliżone do metody i wyników *Bürkiego*. Istnieje natomiast w metodzie polskiej w stosunku do propozycji międzynarodowego standardu owd pewna różnica — merytorycznie nieistotna, ale ważna praktycznie — polegająca na innym sposobie formułowania miana badanej surowicy. Dla ułatwienia dalszego rozumowania można przyjąć, że są dwie formuły definiowania miana w owd: jedna, nazwijmy ją „zagraniczna”, w której miano wyrażone jest stosunkiem dawki użytej surowicy do jej rozcieńzalnika oraz druga „polska”, w której za taki stosunek przyjmuje się użytą dawkę surowicy względem sumy objętości wszystkich składników owd. Tak więc w pierwszej próbowce rzędu rozcieńczeń dawka surowicy 0,05 ml w formule zagranicznej uznawana jest za miano 1:5, gdyż taki jest właśnie stosunek tej dawki do rozcieńczalnika użytego w objętości 0,2 ml. Formuła polska, ustalona umownie, a podyktowana względami praktycznymi (o czym będzie jeszcze mowa w dalszym tekście) dla tej samej dawki surowicy przyjmuje stosunek rozcieńczenia (miano) 1:25, gdyż bierze pod uwagę sumę wszystkich dodanych komponentów 1,2 ml. Wobec tego miano owd definiowane w Polsce mają wartość liczbową (dzielnik) pięciokrotnie wyższą niż miano przyjęte za granicą. Przeliczenie mian obu formuł jest proste. Ze względów porównawczych w tabeli I miano polskie z surowicą ISS i kryteria rozpoznawcze definiujemy wg formuły zagranicznej.

Tabela I obrazuje jak — niekiedy w sposób zasadniczy — różnią się poszczególne metody wykonywania owd stosowane przez poszczególnych autorów (a) i jak w związku z tym przy użytych dawkach surowicy (b) uzyskuje się różne miano z ISS. Miano ISS (c), podobnie jak wartość CI (d) — tj. miano ISS sprowadzone, w celu przeliczenia na jednostki, do objętości 1 ml — jest miarą czułości danej metody. Różnica w ocenie wyników uzyskiwanych przez poszczególnych autorów wynika także z różnej wartości miana przyjmowanego za dodatnie (e). Wpływ obu tych

czynników (czułość metody i miano diagnostyczne) na ocenę wyników, uwidacznia się wyraźnie po odpowiednich przeliczeniach (f i g). Wartość kol. f wyliczona zgodnie z propozycją *Altona* i *Jonesa* (1), aby zilustrować jakiej części przeciwciał zawartych w ISS odpowiada miano diagnostyczne stosowane przez poszczególnych autorów. Jest to zarazem, wg propozycji *Hilla*, wartość CC (danego autora). Dane w kol. g wynikają z przeliczeń wg *Hilla* przy założeniu, że ISS zawiera 1000 m. j. wd/ml. W ten sposób można określić ilu jednostkom odpowiada miano diagnostyczne stosowane przez danego autora, przy przyjętej przez niego wielkości CC (f). Kol. h podaje jaką wartość powinno mieć miano diagnostyczne, przy zachowaniu obecnie stosowanej przez danego autora techniki wykonywania owd, aby odpowiadało 40 m. j. wd, które *Hill* proponuje jako ujednolicone kryterium diagnostyczne.

Z tabeli I widać, że wyniki uzyskiwane przez autorów europejskich i stosowane przez nich miano diagnostyczne są do siebie zbliżone. Gdyby przyjęto propozycję *Hilla* tzn. niezależnie od wartości CI danej metody zawartość p-ciał w 1 ml ISS = 1000 jednostek, a wartość CC = 1/25 CI, oraz propozycję *Bürkiego* odnośnie do wykonywania owd — wówczas kryteria oceny autorów europejskich nie ulegną większym zmianom (kol. g). Natomiast Amerykanie a szczególnie *Hendricks*, tak różnią się wynikami, że w przypadku gdyby chcieli zbliżyć się rezultatami do wyników europejskich, muszą albo dokonać zasadniczych zmian kryteriów oceny, albo po prostu muszą przejść do europejskich metod wykonania owd, np. metodę *Bürkiego*. Jeżeli chodzi o metodę owd stosowaną w Polsce oraz obowiązujące kryteria oceny wyników, to w przypadku przyjęcia standardu opartego na propozycjach *Bürkiego* i *Hilla* zasadniczo można by żadnych korekcy nie przeprowadzać. Z przeliczeń bowiem wynika, że należałoby stosować miano diagnostyczne 1:6,4 (tabela 1 kol. h), a więc nieznacznie różniące się od stosowanego obecnie miano 1:5 dla wyników wątpliwych. Obowiązujące obecnie w Polsce miano diagnostyczne, tj. 1:5 dla wyniku wątpliwego i 1:10 dla wyniku dodatniego (wartość miano podano wg formuły zagranicznej) odpowiadają 31,25 i 62,5 m. j. wd (tabela I, kol. g) wobec proponowanych przez

Tab. 1. Miano ISS uzyskane przez poszczególnych autorów, miano diagnostyczne oraz przeliczenia tych wartości na jednostki wiązania dopełniacza

Autor kraj	Dawka rozcieńczonej surowicy	Miano ISS wg autora	Indeks danej metody (CI)	Miano diagnostyczne wg autora	Miano diagnostyczne odpowiada:		Miano w danej metodzie owd równe 40 m. j. wd. wg propozycji <i>Hilla</i>
					części p-ciał zawartych w 1 ml ISS (=CC)	ilość m. j. wd. wg propozycji <i>Hilla</i>	
a	b	c	d	e	f	g	h
Alton, Malta	0,25 ml	1:160 ++	640	1:5 (±) 1:10 (+)	1/32 1/16	32 (31,25) 62 (62,5)	1:6,4
Bürki, Szwajcaria	0,20 „	1:120 ++	600	1:5 (±) 1:5 (+)	1/24	42 (41,7)	1:4,8
Hendricks, USA	0,60 „	1:40 ++++	66,6	1:20 (+)	1/2	500	1:1,6
Hill, Holandia	0,10 „	1:25 ++++	250	1:1 (+)	1/25	40	1:1
Jones et al., USA	0,50 „	1:80 ++	160	1:20 (+)	1/4	250	1:3,2
Mc. Kinnon, Anglia	0,20 „	1:120 ++	600	1:2 (±) 1:5 (+)	1/48 1/24	21 (20,8) 42 (41,2)	1:4,8
Ulbrich, Scheibner, NRF	0,50 „	1:320 ++	640	1:5 (±) 1:5 (+)	1/64	16 (15,6)	1:12,8
Wyniki własne, Polska	0,25 „	1:160 +++	640	1:5 (±) 1:10 (+)	1/32 1/16	31 (31,25) 62 (62,5)	1:6,4

Objaśnienia: kol. b, c i e — wartości wzięte z prac oryginalnych, kol. d — Indeks dopełniacza (CI) = dzielnik miana ISS (c) pomnożony przez liczbę wskazującą jaką część 1 ml stanowi użyta dawka rozcieńczonej surowicy (b), kol. f. = c : e (wg *Altona* i *Jonesa*), kol. g. =  $\frac{1000 \times CI}{CI}$  (DT = CI : CC), kol. h. =  $\frac{e \times 40}{g}$  w kol. e znak (±) znaczy „wątpliwe”, znak (+) — „dodatnie”.

Hilla 40 jednostek przy jednostopniowym kryterium rozpoznawczym.

W związku z przewidywaną standaryzacją owd wyłania się sprawa formułowania wyników w jednostkach. Sprawa ta jest szczególnie istotna, gdyż w Polsce stosuje się komentarz diagnostyczny interpretujący wyniki dla celów praktyki na podstawie porównania wysokości mian dwóch odczynów, tj. aglutynacji i wiązania dopełniacza. W Polsce owd stanowi od lat odczyn urzędowo obowiązujący, ale stosowało się dotychczas miana wg formuły polskiej. Ponadto w obowiązującym schemacie interpretacji nie przewidziano podawania wyników aglutynacji w jednostkach. Ponieważ można przypuszczać, że w niedalekiej przyszłości zostanie opracowany standard owd i wyniki owd będą także formułowane w jednostkach należy zaznaczyć się o ewentualnościami formułowania wyników w jednostkach w obu odczynach. Należy też omówić jakie praktyczne konsekwencje — w sensie znieszczenia interpretacji — może mieć wprowadzenie innych niż obecnie stosowanych zasad podawania wyników dla praktyki terenowej.

W tym celu w tabeli II zestawiono miana aglutynacji obowiązujące w myśl standaryzacji i stosowane w Polsce (a) oraz podano ilu m. j. agl. miana te

Tab. 2. Porównawcze zestawienie mian aglutynacji i wiązania dopełniacza oraz odpowiadające im jednostki międzynarodowe

Aglutynacja		Odczyn wiązania dopełniacza			
miana	odpowiadające im ilości m. j. agl.	miano wg formuły zagranicznej	odpowiadająca mu ilość m. j. wd. wg propozycji Hilla	miano wg formuły polskiej	odpowiadająca mu w przybliżeniu ilość m. j. wd.
a	b	c	d	e	f
1:25	50	1:5	40	1:25	30
1:50	100	1:10	80	1:50	60
1:100	200	1:20	160	1:100	120
1:200	400	1:40	320	1:200	240
itd.					

Objaśnienia:

- kol. a. — miana aglutynacji przyjęte w standardzie odczynu
- „ c. — miana owd przyjęte za granicą
- „ e. — miana owd przyjęte w Polsce
- „ b. — jednostki aglutynacji przyjęte w standardzie odczynu
- „ d, f — jednostki wiązania dopełniacza przewidywane

odpowiadają zgodnie z wymaganiami standaryzacji tego odczynu (b). Obok tego w tabeli umieszczono, dla dotychczas niestandardyzowanego owd, wartości miana wg formuły zagranicznej (c) oraz wartości jakie miana te posiadają w proponowanych przez Hilla jednostkach (d). Przeliczenia te wykonano wychodząc z założenia, że: 1. za standardową zostanie przyjęta metoda owd o odpowiedniej wartości CI, w której rząd rozcieńczeń surowicy rozpoczynać się będzie od 1:5 i rozcieńczenie to uznane zostanie za diagnostyczne, 2. przyjmie się, że ISS zawiera 1000 m. j. wd/ml oraz, że  $CC = 1/25$  CI. Ponadto tabela II zawiera te same miana owd wyrażone wg formuły polskiej (e) i odpowiadające im (po zaokrągleniu) ilości m. j. wd., które wyliczono wg propozycji Hilla, przyjmując dla miana wyjściowego 1:25 wartość  $CC = 1/32$  CI (obecnie przyjmowana dla wyniku wątpliwego) (f).

Z tabeli II wynika, że istnieją znaczne różnice pomiędzy liczbami obecnie służącymi w obowiązującym w Polsce sposobie formułowania wyników (kol. a i e), a liczbami jakie należałoby stosować zgodnie z wprowadzonymi ostatnio instrukcjami dla WZHW (kol.

a, b, c). W Polsce przyjął się w praktyce terenowej — w oparciu o urzędowe wytyczne — komentarz diagnostyczny, w którym wyniki aglutynacji i wiązania dopełniacza interpretuje się na podstawie danych sformułowanych jak w kol. a i kol. e. Wprowadzenie sposobu podawania wyników wg kol. a i kol. c wraz z dodatkowym wyrażaniem wyniku aglutynacji w jednostkach (kol. b) uczyni nieprzydatnym obowiązujący komentarz diagnostyczny. Zachodzi nawet obawa, że zmiany te mogą doprowadzić w terenie do błędnej interpretacji uzyskanych z laboratorium wyników. Nasuwa się też przypuszczenie, że podawanie wyników w podwójnych wartościach (o czym wspomina instrukcja do agl.), tj. w postaci miana i jednostek, stworzy dla lekarza wet. praktyka dodatkowe trudności, zwłaszcza wówczas gdy i w owd będą obowiązywały jednostki. Jeżeli jeszcze zachowałoby się podawanie natężenia reakcji w postaci krzyżyków — co jest potrzebne wyłącznie dla celów laboratoryjnych, a nie dla lekarzy wet. praktyki — sposób opisywania wyniku byłby zbyt skomplikowany.

Obawa, że komentarz może stać się nieaktualny, albo nawet prowadzić do mylnej interpretacji jest uzasadniona tym, że opiera się on na dwóch odczynach tj. aglutynacji i owd, w których bierze się pod uwagę wysokość miana i wzajemny stosunek wysokości tych mian. W komentarzu więc mian odnośnie do sztuk szczepionych S-19 lek. wet. praktyk opiera się np. na tym, że miano w owd jest wyższe niż miano w agl. i zgodnie ze schematem interpretuje, że takie ukształtowanie się obu odczynów względem siebie nasuwa podejrzenie zakażenia.

Na konkretnym przykładzie można prześledzić jak komentarz jest nierozłącznie związany z obecnie obowiązującym sposobem formułowania wyników owd i aglutynacji. Przykład: wynik przekazany przez WZHW opiewa — Aglutynacja 1:200, owd — 1:800 (obecnie obowiązujące miana). Wynik taki komentuje się (upraszczając) następująco: ponieważ miano owd jest wyższe niż miano aglutynacji zachodzi podejrzenie zakażenia. Ten sam wynik sformułowany w jednostkach aglutynacji i w owd w postaci miana wg formuły zagranicznej (tak przewidują wspomniane instrukcje) brzmiałby: Aglutynacja 400 m. j. agl., owd 1:160 (co wynika z tabeli II). Wynik taki może być mylnie skomentowany następująco: ponieważ miano owd jest niższe niż aglutynacji (należy przewidzieć, że wyniki komentuje lekarz wet. praktyk i łatwo o pomylenie miana z jednostkami) — zachodzi przypuszczalnie reakcja poszczepienna. Rozumowanie jest celowo uproszczone dla uwypuklenia potrzeby dokonania zmiany obowiązującego komentarza diagnostycznego lub zdecydowania o pozostaniu na razie przy dotychczasowym sposobie formułowania wyników do czasu kiedy zostanie ostatecznie ustalony standard owd. Wówczas bowiem można będzie podawać wyniki tylko w jednostkach (tabela II, kol. b, d). Stworzy to bardzo zbliżony do obecnego stosunek wartości liczbowych opisujących wyniki (tabela II, kol. a, e) i komentarz nie straci swego praktycznego znaczenia przy ustalaniu rozpoznania w terenie.

Rozważania powyższe można by streścić następująco:

1) Wprowadzenie międzynarodowych jednostek aglutynacyjnych oraz dążność do wprowadzenia jednostek wiązania dopełniacza jest konsekwencją standaryzacji tych odczynów, która zapewni wyniki porównywalne. Istnieje w związku z tym możliwość formułowania wyników albo w postaci miana, tj. ułamka, będącego wyrazem rozcieńczenia badanej surowicy, albo w formie jednostek, tj. liczby całkowitej, świadczącej o zawartości p-ciał w 1 ml badanej surowicy. Wydaje się niecelowe dla praktyki terenowej podawanie wyników w obu formach równocześnie, gdyż przy zastosowaniu obydwóch odczynów lekarz-praktyk otrzyma wynik opisany przy pomocy 4 wartości, tj. w postaci miana i jednostek.

2) Opisywanie wyniku w jednostkach międzynarodowych może nastąpić wówczas, gdy dana pracownia dysponować będzie surowicą standardową lub jej krajowym odpowiednikiem oraz standardowym antygenem. Ponieważ odczyn zlepný doczekał się międzynarodowej standaryzacji, a odczyn wiązania dopełniacza jej jeszcze nie posiada, oba zaś te odczyny w Polsce są obowiązujące i stanowią podstawę do praktycznego, terenowego komentarza diagnostycznego, zachodzi potrzeba takiego ujednoczenia sposobu podawania wyników, aby do czasu zatwierdzenia międzynarodowego standardu owd nie wprowadzać do praktyki zbyt często zmieniających się wytycznych.

3) Obowiązujące obecnie wytyczne urzędowe i aktualnie przyjęte w praktyce terenowej komentarz diagnostyczny wyników serologicznych opiera się na podawaniu wyników w postaci miana. Miana owd w Polsce są formułowane odmiennie niż przyjęto za granicą. Ten sposób opisywania wyników owd ma znaczenie praktyczne. Wydaje się, że do czasu zatwierdzenia międzynarodowego standardu owd i wprowadzenia jednostek, celowe jest stosowanie dotychczasowego sposobu formułowania wyników owd. Podawanie przez WZHW wyników aglutynacji w jednostkach a wyników owd w mianach wg formuły zagranicznej (tj. od 1:5) przekreśliłoby możliwość stosowania wymienionego komentarza, a więc zdezaktualizowałoby wszystkie obowiązujące wytyczne urzędowe mówiące o dokonywaniu rozpoznania na podstawie wzajemnego stosunku wysokości miana jednego odczynu względem drugiego.

4) Prace doświadczalne wykazały (11), że metoda owd przyjęta od lat w Polsce jest bardzo zbliżona do metody jaka prawdopodobnie będzie uznana za standardową, przy czym międzynarodowy wzorzec surowicy do owd. jakim najprawdopodobniej będzie ISS, daje w metodzie polskiej wyniki, które wskazują, że w razie zatwierdzenia standardu, metoda polska ulegnie nieznacznym zmianom lub w ogóle nie zaistnieje taka potrzeba.

5) W przypadku zatwierdzenia międzynarodowego standardu owd oraz przyjęcia zasady, że standardowa surowica zawierać będzie 1000 m. j. wd./ml, a kry-

terium rozpoznawcze wynosić będzie 1/25 tej wartości, tj. 40 m. j. wd. — polski komentarz diagnostyczny stosowany w terenowej pracy lekarzy wet. nie zatraci aktualności, jeżeli wyniki będą formułowane w obu odczynach tylko przy pomocy jednostek aglutynacyjnych (od 50) i wiązania dopełniacza (od 40).

6) Na okres przejściowy wydaje się celowe ograniczyć formułowanie wyników (nawet po wprowadzeniu antygeny standaryzowanego do aglutynacji) do sposobu dotychczas przyjętego, tj. podawać wyniki w obu odczynach w postaci mian rozpoczynających się od 1:25.

7) W pracach naukowych, oraz przy podawaniu wyników dla celów eksportowych, czy importowych należałoby wyniki aglutynacji formułować w jednostkach przyjętych wg standaryzacji międzynarodowej a wyniki owd w postaci mian rozpoczynających się od 1:5.

#### Piśmiennictwo

1. Alton G. G., Jones, L.: Laboratory techniques in brucellosis, Anim. Health Branch Monogr. Nr. 7, FAO, 1963.
2. Bürki F.: Standardization of the complement fixation test for brucellosis, WHO/Bruc. 227, 1964.
3. Hill W. K. W.: Standardization of the complement fixation test for brucellosis, Bull. OJE, 60 (401—417), 1963.
4. Instrukcja Dep. Wet. Min. Rol. o wykonywaniu w WZHW aglutynacji i odczynu wiązania dopełniacza, 1964.
5. Ulbrich F., Scheibner E.: Standardisierung der Komplembindungsreaktion zum Nachweis der Brucellose, Berl. u. Münch. Wschr., 76, 4, (61—66), 1963.
6. Stableforth A. W.: The complement fixation test in bovine brucellosis, WHO/Bruc. 275, 1963.
7. Standardization of the complement fixation test, Vet. Publ. Health Unit WMO/Bruc. 232, 1963.
8. Strauch D.: Zur Frage der Beurteilung von Brucellose — Agglutinationstestern im Rahmen der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft, Tierärztl. Umschau, 13, 9, (481—5), 1963.
9. Wiśniowski J.: O możliwościach zwalczania brucelozą bydła w świetle nauki i obecnie obowiązujących przepisów, Med. Wet., 20, 11, (641—9), 1964.
10. Wiśniowski J., Królak M.: Uwagi na temat odczynu wiązania dopełniacza stosowanego w serologicznym rozpoznawaniu brucelozą bydła, Zvcie Wet. 40, 2, (42—7), 1965.
11. Wiśniowski J., Królak M.: Ocena metody odczynu wiązania dopełniacza stosowanej w Polsce przy rozpoznawaniu brucelozą bydła w świetle propozycji standaryzacji międzynarodowej (w druku w Pol. Arch. Wet., 1965).

Adres autora: doc. dr Jerzy Wiśniowski, Bydgoszcz, ul. Świerczewskiego 35.

FELIKS ANCZYKOWSKI, PELAGIA MURAT, LECHOSŁAW WAŁKOWSKI

## Wartość diagnostyczna aglutynacji próbówkowej ze śluzem pochwowym krów w rozpoznawaniu brucelozą\*)

Zakład Chorób Bydła IW w Puławach  
Kierownik: doc. dr F. ANCZYKOWSKI

Zakład Sztucznej Inseminacji i Zwalczania Bezpłodności  
IW w Bydgoszczy

Kierownik: prof. dr L. JAŚKOWSKI

W ocenie jakiegokolwiek próby rozpoznawczej bierze się zwykle pod uwagę tego rodzaju elementy jak składowe odczynu (komponenty), wyposażenie, technikę, swoistość wyników, praktyczną wartość metody i inne. W danym wypadku przedmiot rozważań można by schematycznie ująć w czterech głównych punktach, a mianowicie: 1. materiał rozpoznawczy, 2. technika próby, 3. wartość rozpoznawcza próby, i 4. ogólna ocena metody.

Ad 1. *Materiał rozpoznawczy.*

a) *Jednorodność materiału.* Śluz szyjkowy stanowi zmienną pod względem proporcji mieszaninę wydzieliny błony śluzowej macicy oraz błony śluzowej okolicy szyjki macicznej. Nie ma dotychczas żadnego dowodu, że poziom aglutynin anty-Brucella jest w obu wydzielinach zawsze jednakowy. Przeciwnie, można w

sposób uzasadniony domniemywać, że ilość tych przeciwciał bywa różna zależnie od okresu płciowego, fazy cyklu, w zdrowiu i w przebiegu schorzeń dróg rodnych itp. Między innymi wykazaliśmy regularny spadek, lub nawet zanik miana aglutynacyjnego poczynając od 1—3 przed wystąpieniem rui, w czasie rui i jeszcze w ciągu 1—5 dni po rui. Zależnie od miana surowicy krwi i stopnia domieszki krwi wzrasta odpowiednio miano śluzu w okresie krwawienia poronowego oraz po porodzie. W stanach chorobowych istnieje dodatnia korelacja pomiędzy występowaniem i nasileniem procesów zapalnych dróg rodnych a występowaniem i poziomem miana anty-Brucella śluzu pochwowego krów, których krew zawiera swoiste aglutyniny względem tej pałeczki. Ale wzmoczone wydzielanie rzadkiego śluzu wskutek podrażnienia śluzówki może powodować względny spadek miana, zwłaszcza, jeśli miano surowicy krwi nie jest wysokie. Zageszczanie śluzu sprzyja zwykle miana aglutynacyjnego tej wydzieliny (utrata wody). Duża wchłaniałość błony śluzowej i wysoka dynamika zaostrza-

\*) Niniejsze doniesienie stanowi podsumowanie wyników badań własnych. Szczegółowy materiał dowodowy w postaci 7 odrębnych doniesień przekazano do opublikowania w Pol. Arch. Wet.