

nośnego alergenu dowodzą, że wszystkie one zareagowały dodatnio.

Na podstawie wykonanych badań można stwierdzić, że przygotowany z brodawek alergen tkankowy wykazuje u zwierząt chorych na brodawczycę swoistą autoalergię, którą można wykorzystać przy rozpoznawaniu u zwierząt brodawczycy błon śluzowych.

Piśmiennictwo

1. Woznienskaja I. A., Rogozina I. W.: Zbadanie roli autoalergii przy rozwoju brodawczycy dróg oddechowych. Materiały II Sjazdu otolaringologów RSFSR 1967.
2. Woznienskaja I. A.: Papiłomy dychańnych putiej. Awtoriefierat dissertacji 1968.

Adres autora: Wardapietjan Sz. S, Erewań 62 Nor — Mark., II Mikroraion dom 84 kw. 34.

Tłumaczył: T. Jastrzębski

ELŻBIETA SOBIECH, TADEUSZ RUSS, TOMASZ SAWICKI

Test zmętnieniowy w oznaczaniu poziomu gamma-globulin w surowicy cieląt

Z Pracowni Immunopatologii i Immunogenetyki Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej we Wrocławiu

Szybki rozwój i nowa technologia chowu zwierząt zmuszają do wczesnego odsadzania noworodków od matki, co powiększa możliwość popełnienia błędów żywieniowych, sprzyjających wystąpieniu chorób młodego wieku. Dodatkową komplikacją jest fakt, że cielęta rodzą się zupełnie lub prawie zupełnie pozbawione efektywnej, immunologicznej obronności, co — jak wiadomo — związane jest z budową łożyska, którego ściany stanowią barierę nie pozwalającą na przechodzenie immunoglobulin (1, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 14, 19, 22).

Przyczyną dużych i gwałtownych zmian w spektrum białek surowicy krwi cieląt, po ich dopuszczeniu do matki, jest szybkie wchłanianie się w przewodzie pokarmowym noworodka wielkocząsteczkowych białek (immunoglobulin) przyjętych wraz z siarą. Johnson (7) podaje, że 51,6% białka ogólnego, krążącego we krwi cieląt, przypada w tym okresie na immunoglobuliny; podobne wyniki otrzymali także inni autorzy (3, 4, 15, 24). Można zaobserwować rów-

nież korelację między wzrostem poziomu przeciwciał, a zwiększeniem się ilości gamma-globulin w organizmie (14, 21, 25). To spostrzeżenie decyduje o tendencji wiązania prognozy odporności cieląt z poziomem krążących wielkocząsteczkowych frakcji białek; jest również przesłanką dla szukania metod ilościowego oznaczania tych białek, możliwych do wykorzystania w masowej hodowli (5, 17).

Immunoglobuliny nie są jedynymi wykładnikami gotowości obronnej ustroju; uwzględniając jednak faktyczną korzyść stosowania w klinice badań dodatkowych, podjęliśmy próbę sprawdzenia przydatności testu oznaczania poziomu immunoglobulin polecanego w piśmiennictwie angielskim. Jest on stosunkowo prosty w wykonaniu, a jednocześnie wystarczająco dokładny (23).

Celem tej pracy jest przyjsięcie z pomocą terenowej służbie weterynaryjnej, której w najbliższym czasie przypadnie podejmowanie decyzji o zdrowotności nowo narodzonych zwie-

Tab. 1. Wartości białka całkowitego i jego frakcji w surowicy cieląt w poszczególnych grupach wieku

Wiek (dni życia)	Ilość zwierząt	Białko całkowite	Albuminy	Globuliny		
				α	β	γ
10-20	69	6,99 ^{*)}	3,91	1,03	1,25	0,98
		1,28 ^{**)}	0,66	0,72	0,35	0,66
		6,68 - 7,30 ^{***)}	3,75 - 4,07	0,86 - 1,20	1,17 - 1,33	0,82 - 1,14
21-30	69	6,19	3,86	0,79	0,89	0,64
		0,69	0,33	0,18	0,24	0,31
		6,02 - 6,36	3,78 - 3,94	0,75 - 0,83	0,83 - 0,95	0,57 - 0,71
31-40	36	6,11	3,77	0,83	0,86	0,67
		0,67	0,38	0,18	0,19	0,24
		5,88 - 6,34	3,54 - 3,90	0,77 - 0,89	0,79 - 0,93	0,59 - 0,75
41-50	37	5,83	3,53	0,84	0,82	0,64
		0,52	0,40	0,12	0,15	0,25
		5,65 - 6,01	3,39 - 3,67	0,80 - 0,88	0,77 - 0,87	0,56 - 0,72
51-60	33	6,40	3,87	0,89	0,86	0,69
		0,72	0,47	0,24	0,19	0,26
		6,14 - 6,66	3,70 - 4,04	0,81 - 0,97	0,79 - 0,93	0,59 - 0,79

Objaśnienia: * = średnia, ** = odchylenie standardowe; *** = przedział ufności.

rząt oraz przewidywanie możliwości ich prawidłowej adaptacji w nowym, wymagającym środowisku.

Material i metody

Do badań użyto surowice od 256 cieląt w wieku od 10 do 60 dni życia, pochodzących z gospodarstw sektora państwowego (206 cieląt) i prywatnego (50 cieląt). Cielęta przebywały w ogólnie przyjętych w naszym kraju warunkach wychowu.

Zgodnie z założeniem pracy w przeprowadzonych badaniach oznaczano poziom gamma-globuliny w surowicy cieląt testem zmętnieniowym SSTT, przy użyciu 36% $\text{Na}_2\text{SO}_3 \times 7\text{H}_2\text{O}$. Ten test wykonano wg Stone i wsp. (23), stosując wizualną ocenę zmętnienia w zakresie od (—) do (+++).

Wykonanie testu: Do 0,1 ml surowicy wkroplonej do cienkościennej probówki o wymiarach 6×100 mm dodawano 1,9 ml 36% $\text{Na}_2\text{SO}_3 \times 7\text{H}_2\text{O}$ i trzykrotnie przewracano probówkę dla wymieszania zawartości; utworzony precypitat (prawie natychmiast) był zapisany jako (±) dla drobnych precypitatów oraz (+, ++, +++) stosownie do grubości kłaczków precypitatu.

Dla zweryfikowania obiektywności odczytu stopnia zmętnienia zastosowano dodatkowo odczyt nefelometryczny, wykorzystując do tego celu spektrofotometr Spekol z dostawką typu TK, przy długości fali 600 nm, przyjmując umownie wartości odczytu w skali — za jednostkę (2).

Nadto w surowicy oznaczano poziom białka całkowitego i jego frakcji. Całkowitą ilość białka oznaczano metodą biurową (12), wyrażano w g/100 ml; frakcje białka oznaczano po rozdziale elektroforetycznym, używając bibuły Whatman 1, buforu weronałowo-medynałowego pH 8,6 o sile jonowej 0,06 a wartość ich wyrażano również w g/100 ml.

Uzyskane wyniki poddano ocenie statystycznej, wykorzystując do tego celu test Duncana oraz współczynnik korelacji i kowariancji.

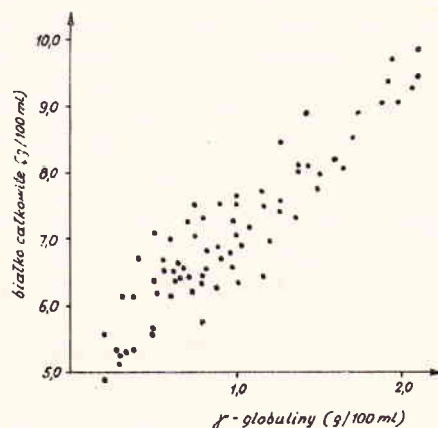
Wyniki

W tab. 1 przedstawiono średnie wartości białka całkowitego oraz poszczególnych frakcji białkowych wyrażone w g/100 ml dla 5 grup zwierząt w wieku od 10 do 60 dnia życia. Analiza wariancji przy stopniu istotności $\alpha=0,05$, wykazała dla wszystkich wartości proteinogramu w grupach zwierząt uszeregowanych wg wieku, że średnie tych wartości różnią się między sobą istotnie. Jak z tabeli wynika, istotnie wyższe średnie wartości białka całkowitego, beta i gamma-globulin stwierdzono w grupie I, to znaczy u cieląt najmłodszych. Albuminy wykazywały różnicę istotną między grupą IV a pozostałymi, natomiast alfa-globuliny wykazały różnicę między grupami II, III, IV i V a grupami I, IV i V.

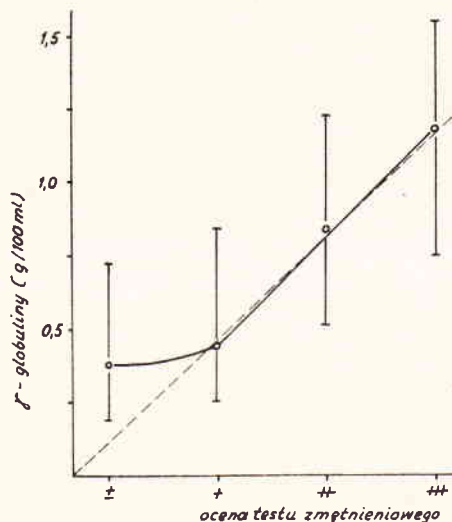
Analiza poziomu białka całkowitego oraz gamma-globulin wykazała ich proporcjonalną zbieżność. Przedstawiono to na ryc. 1, z której wynika, że niewątpliwie udział we wzroście poziomu białka całkowitego w tym okresie życia cieląt ma frakcja gamma-globulinowa. Zależność tę potwierdzono badaniami statystycznymi, obliczając współczynnik korelacji, który dla tego układu wynosi $r = 0,912$. Współczynnik kowariancji dla obydwu wartości wynosi 0,524.

Na ryc. 2. zestawiono uzyskane ilości gamma-globulin z wizualnymi wynikami testu zmętnieniowego. Jak z ryc. tej wynika, istnieje proporcjonalna zależność między obydwo oznaczeniami. Szczególnie wyraźną zbieżność obserwuje się w zakresie od (+) do (+++) uzyskaną w teście zmętnieniowym.

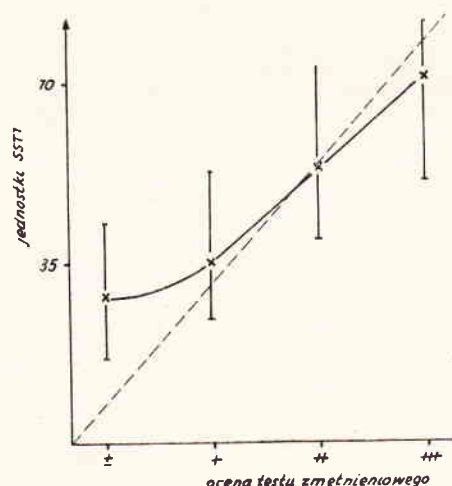
Poziom gamma-globulin odpowiadający wartości (±) testu zmętnieniowego nie spełnia tej zależności; dlatego też wyniki testu zmętnieniowego w zakresie poniżej 0,4 g/100 ml gamma-globulin, co odpowiada oz-



Ryc. 1. Zależność między poziomem białka całkowitego i frakcji gamma-globulinowej



Ryc. 2. Zestawienie ilości gamma-globulin uzyskanych po rozdziale elektroforetycznym z wynikami testu zmętnieniowego



Ryc. 3. Zestawienie ilości gamma-globulin otrzymanych w teście zmętnieniowym i wyników z odczytu nefelometrycznego

naczeniu ($\pm$), mogą być niewiarygodne, a przydatność testu w tym zakresie wątpliwa. Podobnie zestawiono ilości gamma-globulin określone wizualnie w teście zmętnieniowym oraz w odczycie nefelometrycznym; przedstawiono to na ryc. 3. Uzyskane wyniki potwierdzają przedstawioną na ryc. 2 i 3 zależność w zakresie od (+) do (+++).

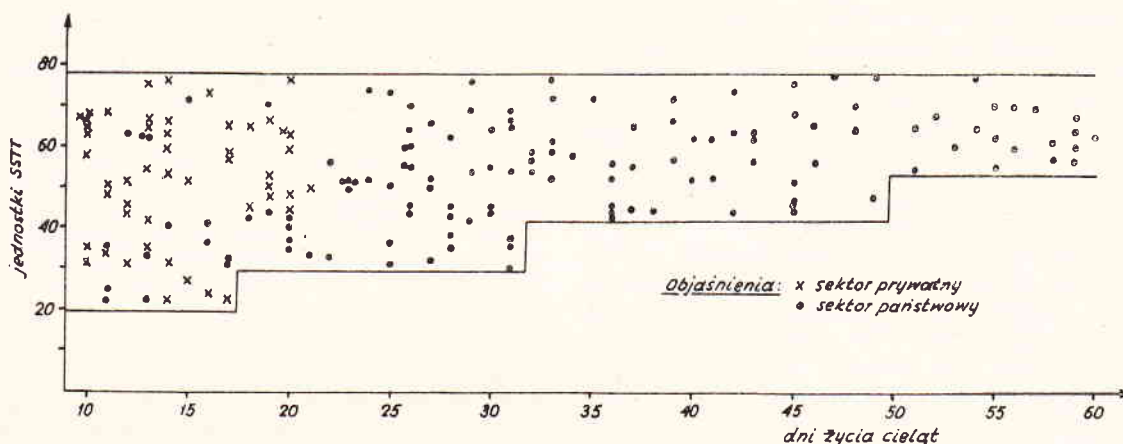
Wartości gamma-globulin oznaczone metodą nefelometryczną dla poszczególnych przedziałów wieku zwierząt, przedstawiono na ryc. 4. Z ryciny tej wynika, że w grupie zwierząt najmłodszych (grupa I) stwierdza się wartości o największym rozrzucie — od 22 do 78 jednostek SSTT, zaś w pozostałych grupach rozrzut maleje; w grupie cieląt starszych (grupa V) wynosił od 42 do 78 jednostek SSTT.

Omówienie wyników

U cieląt tuż po urodzeniu, a przed przyjęciem siary stwierdza się prawie dwukrotnie niższy

istnieniem nieswoistej odporności, która także w istotny sposób rzutuje na zdrowotność zwierząt. Badania przeprowadzone w naszym laboratorium potwierdziły możliwość zastosowania testu zmętnieniowego jako jednej z metod wstępnej oceny przystosowania immunologicznego młodych zwierząt.

Niewątpliwą zaletą przedstawionego testu SSTT jest spora prostota i możliwość łatwego zastosowania w praktyce. Uzyskane wyniki wyraźnie wykazały istnienie zgodności pomiędzy szacunkowym odczytem wizualnym zastosowanego testu, a poziomem frakcji gamma-globulinowej po elektroforetycznym rozdziale białek surowicy. Dlatego też test SSTT może być wykonany w praktyce terenowej także w tych



Ryc. 4. Wartości gamma-globulin oznaczone w jednostkach SSTT w surowicy cieląt z gospodarstw sektora państwowego i prywatnego

poziom białka całkowitego w porównaniu z osobnikami dorosłymi oraz bardzo niski poziom gamma-globuliny (10, 15), zwłaszcza nieobecność IgM i IgG (9, 16).

Pierwsze godziny życia oraz zastosowany w nich reżim wychowu i żywienia (szybkie podanie siary), a także stan błony śluzowej jelit noworodka rzutują na jego dalszy rozwój (1, 3, 10). Wielu autorów (11, 15, 21, 25), badając dynamikę zmian frakcji białkowych surowicy noworodka stwierdzało maksymalny poziom gamma-globulin po 24 godz. życia. W okresie późniejszym, mimo pojenia mlekiem, zawartość gamma-globulin w surowicy cieląt obniża się; może pociągnąć to za sobą okresowe obniżenie odporności. Dodatkowo na zmniejszenie obronności mogą wpływać bloki resorpcyjne w jelicie, spowodowane uszkodzeniem błony śluzowej w następstwie niedoborów paszowych oraz czynniki stressowe związane w odłączeniem od matki i transportem do miejsca wychowu (7, 10, 15, 18, 20).

W praktyce znane są jednak przypadki, że cielęta posiadające niski poziom gamma-globulin w surowicy nie chorowały, natomiast u osobników z wysokim poziomem immunoglobulin obserwowano wzmożoną podatność na zachorowania (8). Fakty te można by tłumaczyć

przypadkach, gdy lekarz nie dysponuje fotokolorymetrem.

Podobną szacunkową ocenę i wnioski o przydatności w praktyce testu zmętnieniowego z siarczanem cynku podała Majewska (13).

Piśmiennictwo

- Balbierz H., Nikolaiczuk M.: Arch. Immn. Ther. 16, 51, 1968.
- Boyd J. W.: Vet. Tec. 90, 645, 1972.
- Czakała S.: Medycyna Wet. 27, 360, 1971.
- Finday C. R.: Vet. Rec. 92, 530, 1973.
- Gilber M., Stone S. S.: Br. Vet. J. 125, 458, 1969.
- Hejłasz Z.: Medycyna Wet. 28, 543, 1972.
- Johnson P.: J. Hyg. Camb. 57, 3, 309, 1959.
- Kaczmarek A., Balbierz H., Nikolaiczuk M., Jankowski M.: Pol. Arch. wet. 16, 7, 1973.
- Klaus G. G. B., Bennert A., Jones E. W.: Immunology 16, 1969.
- Kwiatkowski T.: Medycyna Wet. 28, 547, 1972.
- Logan E. F., Penhale W. W., Jones R. A.: Res. Vet. Sci. 14, 394, 1972.
- Loiseleur J.: Techniques de Laboratoire T. II, Masson et Cie Editeurs, Paris 1963.
- Majewska B.: Medycyna Wet. 10, 619, 1974.
- Mazurczak J.: Medycyna Wet. 21, 325, 1965.
- Nagórski F.: Pol. Arch. wet. 13, 26, 1970.
- Penhale W. J., Christie H., McEvan A. D., Fischer E. W., Selman J. E.: Brit. Vet. J. 30, 126, 1970.
- Pitterson D. S. P.: Vet. Rec. 80, 280, 1967.
- Radomiński W., Zmudziński I.: Medycyna Wet. 29, 233, 1973.
- Sitarska E.: Medycyna Wet. 21, 449, 1965.
- Sitarska E., Waśniewski A.: Medycyna Wet. 23, 462, 1967.
- Sitarska E., Waśniewski A., Pytowski S.: Pol. Arch. wet. 11, 623, 1969.
- Stech F. T.: Schweizer Arch. Tierheilk. 104, 525, 1962.
- Stone S. S., Sitter M.: Br. Vet. J. 125, 68, 1969.
- Zieliński J.: rękopis dys. dokt. Wrocław 1974.
- Zimmermann G.: Mh. Vet. Med. 15, 414, 1960.

Adres autora: lek. wet. Elżbieta Sobiech, ul. Olszewskiego 65/4, 51-642 Wrocław.