

DANUTA ROMANOWSKA
Warszawa

Ocena wątpliwości reakcji aglutynacyjnych przy użyciu testu redukcyjnego

Stosowany w serodiagnostyce brucelozy odczyn klasycznej aglutynacji próbówkowej, w którym biorą udział zarówno immunoglobuliny typu IgG, jak i IgM, nie daje możliwości odróżnienia przeciwciał, powstałych w wyniku naturalnego zakażenia zwierzęcia od przeciwciał poszczepiennych, jak również od tych, które powstały w wyniku reakcji organizmu na bodźce niespecyficzne.

Cząsteczki immunoglobulin typu IgM stanowią wielokrotność immunoglobulin typu IgG. Redukcja wiązań —S—S— w cząsteczce IgM prowadzi do rozbicia makroglobuliny na struktury czterohańcuchowe, które pomimo posiadania identycznego ilościowego składu z cząsteczką IgG charakteryzują się różną od nich aktywnością biologiczną (13). Zjawisko to stwarza możliwość stwierdzenia, do jakiego typu immunoglobulin należą przeciwciała występujące w surowicy badanego zwierzęcia. W związku z tym podjęto szereg prób modyfikacji klasycznego odczynu aglutynacji (1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 15).

Najczęściej stosowanym czynnikiem redukującym jest 2-merkaptoetanol (2-ME) (7, 9). Poddanie surowicy działaniu 2-ME w przypadku reakcji nieswoistej lub poszczepiennej prowadzi do obniżenia lub zlikwidowania miana aglutynacji na skutek wyłączenia z reakcji przeciwciał typu IgM. Jeśli w odczynie aglutynacji wykonanym po redukcji nie nastąpi obniżenie miana — dowodzić to będzie faktu, że w reakcji biorą udział przeciwciała typu IgG.

Utrzymanie się miana w OA po redukcji 2-ME świadczyć może jednak nie tylko o zakażeniu zwierzęcia patogennym szczepem *Brucella*. Zjawisko to wystąpić może również w przypadku zakażenia pałeczkami *Yersinia enterocolitica*, stając się przyczyną trudności, a nawet błędnych orzeczeń diagnostycznych (2, 3, 4, 5, 6, 10, 11).

Na wysokość miana w OA wpływać mogą ponadto inne zakażenia, np. gruźlica (prątki typu ptasiego wykazują ok. 10% powinowactwa antygenowego z pałeczkami *Brucella* (8), niektóre serotypy pał. *Salmonella* z grupy N wg Kaufmanna-White'a (6) oraz inne czynniki.

Wątpliwe lub dodatnie reakcje w obrębie OA, nie potwierdzone OWD, szczególnie przy wywiadzie nie budzącym podejrzeń zakażenia zwierzęcia brucelozą, zmuszają pracownie serologiczne do podjęcia prób różnicowania w

badaniach rutynowych mian swoistych od nieswoistych.

Celem obecnej pracy jest eliminacja nieswoistych odczynów aglutynacyjnych w serodiagnostyce brucelozy.

Materiał i metody

Materiał diagnostyczny stanowiły 243 surowice bydłe i 19 świńskich o mianach granicznie wątpliwych, wątpliwych, granicznie dodatnich i dodatnich. Surowice pochodziły od zwierząt ze stad urzędowo uznanych za wolne od brucelozy, ze środowisk zakażonych brucelozą oraz z innych terenów. Do badań używano surowic niekonserwowanych.

Z każdą badaną surowicą, zgodnie z obowiązującą instrukcją, nastawiano odczyn aglutynacji i wiązania dopełniacza. Ponadto wykonywano test redukcyjny z 2-merkaptoetanołem.

Wykonanie testu redukcyjnego. Do 0,45 ml badanej surowicy dodawano 0,05 l M 2-merkaptoetanolu i wstawiano do łaźni wodnej w temp. 37,5° C na 15 min. Następnie wykonywano odczyn aglutynacji zgodnie z instrukcją. Próbę inkubowano w termostacie w temp. 37° C przez 18 godz. Wynik odczytywano po dodatkowym przetrzymaniu próby w temp. pokojowej 36 godz.

Wyniki

Badane surowice podzielono na 3 grupy: I — 27 surowic zwierząt pochodzących z terenów zakażonych brucelozą, II — 193 surowice ze stad wolnych od brucelozy, III — 42 surowice z innych terenów.

Ogólna ocena surowic pierwszej grupy na podstawie OA i OWD: 3 wątpliwe, 3 granicznie dodatnie, 21 dodatnich. Po poddaniu surowic działaniu 2-ME miana w OA w 12 przypadkach pozostały bez zmian, w 10 uległy obniżeniu o 1 lub 2 plusy, co w przypadku 2 surowic spowodowało zmianę pierwotnej oceny OA z wątpliwej na granicznie wątpliwą. W 5 przypadkach nastąpiło podwyższenie miana w granicach 1 do 3 plusów, co w 2 przypadkach zmieniło pierwotną ocenę z granicznie wątpliwej na wątpliwą i z granicznie dodatniej na dodatnią.

Zmiany miana surowic, występujące po wykonaniu testu redukcyjnego z 2-ME, nie wpłynęły więc w sposób istotny na końcową ocenę surowic, pochodzących z terenu zakażonego brucelozą.

Do grupy drugiej zaliczono 193 surowice o mianach: 4 granicznie wątpliwe, 53 wątpliwe, 110 granicznie dodatnich i 26 dodatnich.

Po poddaniu surowic działaniu 2-ME uzyskano w 190 przypadkach obniżenie miana w odczynie aglutynacji, w wyniku czego 174 surowice (90,2%) uznano za ujemne. W pozostałych 19 przypadkach (9,8%) z powodu nieznacznego obniżenia bądź utrzymania się miana, ostateczna ocena badanych surowic pozostała wątpliwa albo granicznie dodatnia.

Zastosowanie w tej grupie zwierząt testu z 2-ME, dzięki wykluczeniu z reakcji przeciwciał typu IgM, pozwoliło więc 90,2% reagujących wątpliwie lub dodatnio w klasycznym OA uznać za wolne od brucelozy. Reszta, tj. 9,8% surowic z tej grupy wymagała powtórnego badania.

Do grupy trzeciej zaliczone zostały 42 surowice, pochodzące od zwierząt z innych terenów. W skład tej grupy weszło 6 surowic reagujących w odczynie aglutynacji wątpliwie, 25 surowic granicznie dodatnich i 11 surowic dodatnich. Wśród tych ostatnich 3 surowice reagowały dodatnio z OWD. Pozostałe surowice reagowały w OWD ujemnie.

Po przeprowadzeniu testu z 2-ME w 35 przypadkach miano uległo znacznemu obniżeniu zmieniając końcową ocenę badanych surowic na ujemną. W trzech surowicach, gdzie zarówno miano OA jak i OWD było dodatnie, wynik testu redukcyjnego nie zmienił oceny badanych surowic. Zastosowanie testu z 2-ME zmieniło ocenę 86,3% badanych zwierząt na ujemną. U 13,7% zwierząt tej grupy ocena nie uległa zmianie.

W czasie dwuletniego stosowania testu

stwierdzono pełną zgodność uzyskanych wyników z późniejszymi obserwacjami epizootiologicznymi.

Wnioski

1. Na podstawie uzyskanych wyników wydaje się, że test redukcyjny z 2-ME może być stosowany we wszystkich przypadkach, kiedy uzyskane miano w OA nie pokrywa się z oceną epizootyczną badanego środowiska, ewentualnie w przypadkach, kiedy na temat badanej grupy zwierząt nie można nic pewnego powiedzieć (np. bazy eksportowe).

2. Stosowanie testu z 2-ME jako odczynu pomocniczego pozwala na uniknięcie ponownych badań, które wiążą się z dodatkowymi kosztami (pobieranie krwi, badanie serologiczne, dojazd lek. wet. do zwierzęcia, przesyłanie krwi do laboratorium) a w przypadku baz eksportowych z opóźnieniem obrotu zwierzętami, co ciąga za sobą znaczne straty gospodarcze.

Piśmiennictwo

1. Browne E. N.: Aust. vet. J. 50, 127, 1974.
2. Corbel M. J.: Cullen G. A.: J. Hyg. Camb. 68, 519, 1970.
3. Corbel M. J.: J. Hyg. Camb. 70, 779, 1972.
4. Corbel M. J.: J. Hyg. Camb. 71, 309, 1973.
5. Corbel M. J.: Br. vet. J. 129, 157, 1973.
6. Corbel M. J.: J. Hyg. Camb. 75, 151, 1975.
7. Glawisching E., Cortes A.: Dt. tierärztl. Wschr. 79, 361, 1972.
8. Gryś S., Maciak T.: Polskie Arch. wet. 8, 427, 1964.
9. Hosono M., Muramatsu S.: J. Immunol. 109, 857, 1972.
10. Królak M., Kurek C.: Medycyna Wet. 30, 395, 1974.
11. Kurek C., Królak M.: Medycyna Wet. 30, 323, 1974.
12. Kunter E.: Mh. Vet.-Med. 29, 135, 1974.
13. Lisowski J.: Post. Hig. Med. Dośw. 24, 301, 1970.
14. Mc Pherson G. G.: Aust. Vet. J. 50, 108, 1974.
15. Reesink H. W., Van der Hast M., Van Loghem J. J.: Vox Sang. 22, 397, 1972.

Adres autora: lek. wet. Danuta Romanowska, ul. Mickiewicza 34/36 m. 8, 01-616 Warszawa.

ANDRZEJ SKOCZEK, STANISŁAW PALEC
Puławy

Ocena aktywności bakteriobójczej preparatów Sterinol, Hibitan, Roccal, Sagrotan i Kodan

Zamierzony efekt dezynfekcyjny w decydującym stopniu zależy od właściwości bakteriobójczych użytych preparatów. Dobór tych preparatów nie może być więc przypadkowy, ale powinien podlegać racjonalnie określonym kryteriom. Spośród szeregu dostępnych na rynku środków chemicznych używanych do dyzinfekcji na szczególną uwagę zasługuje Sterinol, który jest obecnie jednym z najbardziej popularnych i praktycznie wykorzystywanych preparatów (1—5).

Celem pracy jest porównanie aktywności bakteriobójczej *in vitro* Sterinolu, z niektórymi preparatami dezynfekcyjnymi pochodzącymi z importu, w odniesieniu do określonych drobnoustrojów, z uwzględnieniem różnego czasu ekspozycji i różnej temperatury, w środowisku białkowym i pozbawionym białka.

Materiał i metody

Do badań użyto:

I. Preparaty dezynfekcyjne:

1. Hibitan, prod. Imp. Chem. Industr. Limit. Pharm. Div. Anglia
2. Roccal, prod. Btld. for Valmont Inc. USA
3. Sagrotan, prod. Schulke Mayr GMBH RFN
4. Kodan, prod. Schulke Mayr GMBH RFN
5. Sterinol, prod. Zakł. Chem. Oświęcim

II. Drobnoustroje:

1. *Salmonella paratyphi* A nr 72 (kol. I. Wet.)
2. *Staphylococcus aureus* 209 P (kol. I. Wet.)
3. *Streptococcus pyogenes* nr 1 (kol. I. Wet.)

Preparaty dezynfekcyjne rozcieńczano w płynie fizjologicznym do kolejnych wartości: 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,5, 1%, 2% i 3%. Do rozcieńczeń preparatów dodawano kroplę 24 godzinnej hodowli bakteryjnej i inkubowano w temperaturze 4°, 18° i 37° w ciągu 10, 20 i 30 minut, a następnie wysiewano na płytki agarowe z krwią. Posiane płytki inkubowano w temp. 37° w ciągu 24 godz. zakładając, że z nieuszkodzonej przez