

17. Kurek C.: V Zjazd PTNW w Olsztynie 12—15.09.1974 i Zesz. prob. Post. Nauk rol. 196, 271, 1977.
18. Kurek C.: V Zjazd PTNW w Olsztynie 12—15.09.1974 i Zesz. prob. Post. Nauk rol. 196, 281, 1977.
19. Kurek C.: dane niepublikowane.
20. Kurek C.: Proc. conf. Resistance Factors and Genetic Aspects of Mastitis Control. Jablonna, oct. 2—5, 1980, s. 255.
21. Kurek C.: Proc. conf. Resistance Factors and Genetic Aspects of Mastitis Control. Jablonna, oct. 2—3, 1980, s. 236.
22. Kurek C.: Medycyna Wet. 9, 534, 1981.
23. Kurek C.: Medycyna Wet. 38, 529, 1982.
24. Kurek C.: Proc. of V Inter. Symp. on Mastitis Control, Bydgoszcz, oct. 25—27, 1985, s. 30.
25. Kurek C., Ławrynowicz Z., Kossakowski C.: Medycyna Wet. 41, 263, 1985.
26. Kurek C., Wnorowski T.: Proc. of V Inter. Symp. on Mastitis Control. Bydgoszcz, oct. 25—27, 1985, s. 235.
27. Kurek C., Królikowski A.: Proc. of V Inter. Symp. on Mastitis Control. Bydgoszcz, oct. 25—27, 1985, s. 255.
28. Kurek C., Szwaab E., Rocznik W.: Medycyna Wet. 41, 9, 525, 1985.
29. Kurek C.: Antybiotykoterapia u krów a okresy karencji w produkcji mlecznej. Cz. I, II, III. Prz. hod. 1985 w druku).
30. Tölle R.: Zur zytologischen, biochemischen und bakteriologischen Beurteilung von Milch. Schweiz. Arch. Tierbk. 112, 512, 1970.
31. Kurek C.: Częstość zakażeń gronkowcowych gruczołów mlekowych krów w różnych fazach produkcji mlecznej. Efektywność antybiotykoterapii i metody biologicznej w ich zwalczaniu (w druku).

Adres autora: doc. dr hab. Czesław Kurek, ul. Batorego 37 C/34, 80-251 Gdańsk Wrzeszcz

STANISŁAW KLIMENTOWSKI

Porównawcze badania serologiczne prób krwi i mleka w diagnostyce enzootycznej białaczki bydła (EBB) przy użyciu testów AGID i ELISA*)

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

W ostatnich latach duże zainteresowanie budzi możliwość użycia mleka w diagnostyce serologicznej EBB oraz brucelozы i IBR/IPV (1, 8, 12, 13, 17). Badanie mleka na obecność przeciwciał anty-EBB jest w znacznym stopniu utrudnione. Związane jest to z nieporównywalnie niższą zawartością przeciwciał w mleku (poza fazą siarową) aniżeli w surowicy krwi. W badaniu mleka jedyną możliwą metodą do zastosowania jest ELISA (1, 8, 13). Jest ona czulsza niż inne dostępne metody serologiczne, przy której antygen gp używany jest jako faza stacjonarna i w zwykłej technice „double — sandwich” posługuje się znakowaną enzymem, króliczą, przeciwydzielcą immunoglobuliną (15). Za badaniem mleka metodą ELISA przemawia wiele argumentów, a zwłaszcza możliwość obiektywnej oceny stopnia reakcji barwnej przy pomocy czulej aparatury, automatyzacja czynności laboratoryjnych, co przy badaniach masowych bardzo znacznie obniża ich koszty wykonania. Ponadto istotne są tu również względy ekonomiczne (łatwiejsze i tańsze pozyskanie materiału do badań) oraz hodowlano-produkcyjne (uniknięcie stanów stresowych przy pobieraniu krwi).

Niniejsze opracowanie przedstawia wyniki badań porównawczych surowicy krwi i mleka w kierunku EBB przy użyciu testów AGID i ELISA, jak też wzajemne relacje między rodzajem użytego materiału do badań i metod diagnostycznych.

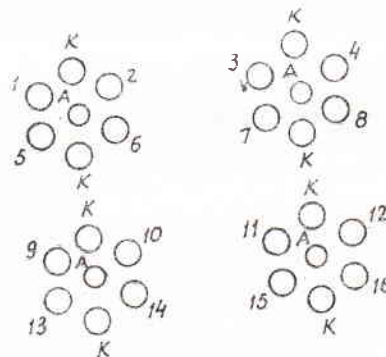
*) Badania przeprowadzono w ramach stażu naukowego DAAD w Państwowym Zakładzie Diagnostyki Weterynaryjnej w Hanowerze (RFN) dzięki uprzejmości i życzliwości Jego Dyrektora — dr E. Forschnera, któremu składam serdeczne podziękowanie.

Materiał i metody

Do badań użyto krwi pobranej od 361 krów z pięciu gospodarstw rolnych o różnym stopniu zakażenia wirusem BLV (Bovine Leukemia Virus), którą badano na obecność przeciwciał za pomocą testów AGID i ELISA. Próby mleka badano jedynie od tych krów, które wykazały wynik dodatni przy badaniu surowicy krwi. Ogółem zbadano 124 próby mleka.

1. KREW

Surowicę krwi po odwirowaniu oddzielono i do momentu badania przechowywano w temp. —18°C. Za pomocą testu AGID zbadano surowicę wszystkich zwierząt (361) natomiast testem ELISA jedynie próby reagujące w AGIDT słabo pozytywnie i ujemnie ze stad A, B, C i D. Przyczyną takiego postępowania był fakt, że wyniki dodatnie w AGIDT są generalnie potwierdzane w teście ELISA. Mając na uwadze wysoki koszt testu ELISA zaniechano powtarzania badań prób dodatnich w AGIDT.



Ryc. 1. Układ rozet z dołkami na płytce o średnicy 85 mm

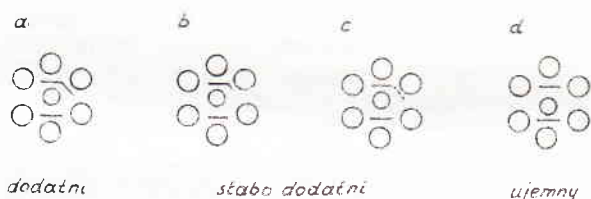
Objaśnienia: A — antygen, K — dodatnia surowica kontrolna, 1, 2, ... — badane surowice.

2. AGIDT

Jako nośnik buforu służy dostępny w handlu agar, który przygotowuje się wg poniższej receptury:

0,05 M TRIS-HCl, pH 7,2	—	1000,0 ml
NaCl cz.d.a.	—	85,0 g
NaN ₃	—	0,01 g
Agar	—	8,0 g

Tak przygotowany agar gotowano w zależności od objętości 20–60 min. Po schłodzeniu go do temp. 60–70°C wylano na płytki Petriego dla otrzymania warstwy grubości 2,5 mm (15 ml na płytce o średnicy 85 mm lub 5 ml na płytce o średnicy 50 mm). W przygotowanej warstwie agaru wycięto dołki za pomocą formy w kształcie rozety (ryc. 1). Dołek centralny posiada średnicę 4 mm i leży w odległości 3 mm od 6 dołków peryferyjnych o średnicy 6 mm. W celu zapewnienia szczelności pomiędzy warstwą agaru a dnem płytki, odpowietrzono płytkę z agarem w pojemniku z podciśnieniem. Następnie dołek centralny napełniano 35 µl antygenem, który stanowi gliko-proteinowy komponent BLV; produkowany on jest na bazie antygeny Pitman Moore ze specjalnymi wymogami dla RFN przez firmę Jensen. Natomiast dołek peryferyjny napełniano 70 µl surowicy kontrolnej lub badanej. Przykryte płytki Petriego przechowywano w komorze wilgotnej, w temp. pokojowej do momentu odczytania. Test odczytywano przy bocz-nym oświetleniu na ciemnym tle po 24 i 48 godz. inkubacji. Ocenę testu opierano na poniższym schemacie (ryc. 2).



Ryc. 2. Schemat oceny AGIDT

Przy odczycie testu należy koniecznie zwracać uwagę na jednolity przebieg linii precipitacyjnych pomiędzy antygenem i surowicą kontrolną oraz antygenem i badaną surowicą. Wszelkie skrzyżowania, jak również linie precipitacyjne między surowicami należy uważać za reakcje niespecyficzne.

3. ELISA

Zasada testu opiera się na wiązaniu antygeny związanego z mikropłytką przez przeciwciała znajdujące się w badanej próbce. Z tym kompleksem reaguje następnie znakowana enzymem swoista gatunkowo antyglobulina-konjugat. Nie związane składniki poszczególnych reakcji są każdorazowo 2–3 krotnie płukane. W badaniach własnych stosowano gotowe zestawy firmy Behringwerke (RFN) pod nazwą „Enzygnost-Rinderleukose”. Mikropłytki z 96 (12×8) zagłębieniami reakcyjnymi opłaskane są antygenem. W standardowym opakowaniu zawarte są:

- dodatnia białaczkowa surowica kontrolna bydłęca, zliofilizowana (0,5 ml);
- ujemna białaczkowa surowica kontrolna bydłęca, zliofilizowana (0,5 ml);
- anty-bydłęca immunoglobulina królicza znakowana fosfatazą zasadową;
- bufor do rozpuszczania surowic i konjugatu — 5-krotnie skoncentrowany;
- roztwór do płukania, 20-krotnie skoncentrowany;
- tabletki substratu dla fosfatazy zasadowej i bufor do przygotowania roztworu substratu.

Każde zagłębienie mikropłytki napełniano 150 µl rozcieńczonymi 1:20 surowicami. Inkubacja trwała 1 godz. w 37°C w komorze wilgotnej, po czym płytkę płukano 3-krotnie. Konjugat odpowiednio rozcieńczyli i napełniano zagłębienia płytki (50 µl), po czym powtórnie inkubowano 1 godz. w 37°C w komorze

wilgotnej. Po inkubacji ponownie płukano płytkę 3 krotnie. Jako substratu użyto p-nitrofenylofosforanu (1 tabletkę/5 ml) w ilości 100 µl na zagłębienie mikropłytki. Po 45 min. inkubacji reakcję zatrzymywano 2N NaOH w ilości 50 µl/zagłębienie. Ekstynkcję odczytywano przy pomocy spektrofotometru „ELISA Auto Reader”.

4. MLEKO

Mleko do badań przygotowywano poprzez dodanie do każdej próby podpuszczki w ilości 1 mg/3–5 ml. Następnie po 2–3 godz. inkubacji w temp. pokojowej lub 1 godz. w łaźni wodnej (37°C) wirowano, a uzyskane surowice zamrażano. Metodą ELISA badano mleko krów, u których uzyskano za pomocą AGIDT wyniki dodatnie w surowicy krwi. Ponadto dodatnie mleko w teście ELISA badano dodatkowo w AGIDT. Badanie mleka za pomocą AGIDT przeprowadzano identycznie jak w przypadku surowicy krwi. Podobnie postępowano w teście ELISA z tą tylko różnicą, iż używano nierozcieńczonych prób mleka. Wartości ekstynkcyj (E) testu ELISA wyrażono procentowo w stosunku do pozytywnej kontroli tj. ekstynkcyj ujemnej surowicy kontrolnej +0,15 np. E ujemnej surowicy kontrolnej wynosi 0,06+0,15=0,21; E badanej surowicy wynosi 0,07, co odpowiada 33% E pozytywnej kontroli; E badanej surowicy wynosi 0,42 co odpowiada 200% E pozytywnej kontroli.

Wyniki i omówienie

Badania surowicy krwi 361 krów z 5 gospodarstw wykazały w 153 (42,4%) przypadkach wyniki dodatnie w teście AGIDT, przy czym w zależności od gospodarstwa i liczby zwierząt stopień zakażenia wahał się od 5,7% do 100%. Szczegółowo obrazuje to tabela 1. Wszystkie wyniki ujemne w AGIDT zostały potwierdzone w teście ELISA z wyjątkiem 1 przypadku w stadzie A, gdzie przy ujemnym wyniku AGIDT otrzymano dodatni wynik ELISA. Na 124 badane próby mleka 82 (66,2%) były dodatnie w ELISA, z czego 66 (80,5%) pochodziły od krów z silną dodatnią reakcją w AGIDT oraz 16 (19,5%) ze słabo dodatnim wynikiem w AGIDT (tab. 2). Wartości ELISA wyrażone w procencie E w stosunku do pozytywnej kontroli wahały się tu pomiędzy 100–680%. Większość ujemnych wyników w badaniu mleka metodą ELISA (60%) pochodziła od krów słabododatnio reagujących w AGIDT surowicy krwi. Dodatnie 62 próby mleka w teście ELISA pochodzące od krów ze wszystkich gospodarstw

Tab. 1. Wyniki badania surowicy krwi i mleka w kierunku EBB przy użyciu AGIDT i ELISA

Obara	Liczba zwierząt	Badanie krwi *		Badanie mleka *	
		AGIDT	ELISA	AGIDT	ELISA
A	63	30/63 47,6%	31/63 49,2%	0/12 0,0%	18/26 73,1%
B	89	88/89 98,9%	88/89 98,9%	1/39 2,6%	48/70 68,6%
C	70	4/70 5,7%	4/70 5,7%	n.b.	2/3 66,6%
D	9	9/9 100,0%	9/9 100,0%	4/9 44,4%	7/9 77,8%
E	130	22/130 16,9%	n.b.	0/2 0,0%	7/16 43,8%
Łącznie	361	153/361 42,4%	132/231 57,1%**	5/62 8,1%	82/124 66,2%

Objaśnienia: * wynik oznacza ilość dodatnich reagentów w odniesieniu do ogólnej liczby badanych zwierząt, ** wynik nie uwzględnia badań stada E.

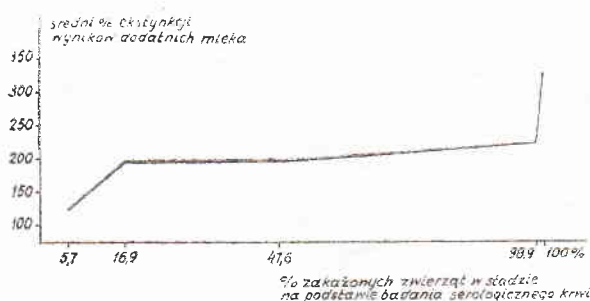
poddano badaniu w teście AGID. Otrzymano tylko w 5 przypadkach (8,1%) wyniki dodatnie, w tym 4 przypadki pochodziły z obory D, co stanowiło 44,4%. Na podstawie materiału z obory B porównano wyniki testu ELISA w surowicy

Tab. 2. Porównanie wyników zdecydowanie dodatnich i słabo dodatnich surowicy krwi w teście AGID z wynikami ELISA mleka

Obora	AGIDT surowicy krwi		ELISA mleka			
	liczba wyników	liczba wyników dodatnich	sr %E	liczba wyników ujemnych	sr %E	
A	dodatnich	21	16	186 ± 68	5	52 ± 9
	słabo dodatnich	5	2	150 ± 21	1	60 ± 16
B	dodatnich	49	40	217 ± 42	9	65 ± 20
	słabo dodatnich	21	8	112 ± 54	13	52 ± 20
C	dodatnich	1	1	106	1	40
	słabo dodatnich	2	1	140	1	40
D	dodatnich	7	6	331 ± 111	1	93
	słabo dodatnich	2	1	253	1	80
E	dodatnich	6	3	234 ± 50	3	56 ± 31
	słabo dodatnich	10	4	172 ± 38	6	29 ± 11
Razem	dodatnich	84	66	215	18	67
	słabo dodatnich	40	16	179	24	52
Ogółem	124	82	197	42	59	

Tab. 3. Porównanie wyników testu ELISA surowicy krwi i mleka pochodzących od krów ze słabo dodatnimi odczynami w AGIDT (na przykładzie obory „B”)

% ekstynkcji w odniesieniu do kontroli pozytywnej			
surowica krwi	ocena	mleko	ocena
100	+	47	-
153	+	240	+
140	+	113	+
120	+	47	-
167	+	60	-
173	+	47	-
100	+	80	-
113	+	40	-
120	+	87	-
140	+	133	+
160	+	53	-
287	+	73	-
227	+	53	-
320	+	153	+
107	+	140	+
113	+	47	-
n = 15		15	
$\bar{x}$ = 159		83	
s = 66		55	



Ryc. 3. Zależność średniej wartości % ekstynkcji wyników dodatnich prób mleka od ilości zakażonych zwierząt w stadzie; współczynnik korelacji $r=0,81$

wicy krwi i mleka pochodzące od zwierząt ze słabododatnią reakcją w AGIDT. W ELISA surowicy krwi otrzymano wszystkie wyniki do-

datnie i średnia wartość %E wyniosła 159. Natomiast w przypadku prób mleka otrzymano jedynie 5 (31,2%) wyników dodatnich, dla których średni %E był równy 156, a dla wyników ujemnych 58 (tab. 3). Ponadto wykazano zależność wartości ekstynkcji ELISA wyników dodatnich prób mleka od procentu zakażonych zwierząt w stadzie (ryc. 3). Współczynnik korelacji dla tej zależności wyniósł 0,81.

Reasumując można stwierdzić, że nie ma praktycznie różnicy pomiędzy AGIDT i ELISA przy badaniu surowicy krwi w wykrywaniu dodatnich reagentów. Naturalnie ELISA jest czulszą metodą, ale i kosztowniejszą. Natomiast przy dokładnym i rzetelnym wykonaniu AGIDT można otrzymać podobne wyniki. Na podkreślenie zasługuje również fakt, iż prawie wszystkie silnie dodatnie reakcje w AGIDT surowicy krwi znalazły pozytywne potwierdzenie w ELISA mleka.

Wcześniejsze badania serologiczne w kierunku EBB wskazywały na bezsprzecznie wyższą czułość i specyficzność testu ELISA w porównaniu do AGIDT. Badania Behrensa i wsp. (4), Forschnera i wsp. (7) określają te różnice na 10%, podczas gdy Kaaden (9) oraz Manz i wsp. (13) na 20%. Ostatnie badania Toma i wsp. (21) wykazują zgodność obu testów w 98%. Podobnie Forschner i Schmidt (8) wskazują na brak różnic między obu testami przy wykrywaniu dodatnich reagentów. Badania własne dowiodły również, że przy dokładnym wykonaniu, a szczególnie odczycie AGIDT można uzyskać pełną zgodność obu metod w przypadku badania surowicy krwi. Za badaniem krwi przy pomocy AGIDT przemawia szereg argumentów:

- niższe koszty, szczególnie przy uwzględnieniu cieńszej warstwy agaru;
- specyficzna kontrola przy pomocy surowicy kontrolnej przyporządkowanej bezpośrednio każdej próbce;
- możliwość wykonania w każdych warunkach laboratoryjnych, co ma szczególne znaczenie w szeroko zakrojonej akcji zwalczania EBB.

Należy jednak podkreślić, że dokładność oceny reakcji w teście AGIDT uzależniona jest od wysokiej kwalifikacji i rutyny wykonującego ten test. Zastosowanie AGIDT w badaniu mleka nie odpowiada stawianym wymaganiom. W badaniach własnych testem tym potwierdzono tylko 44,4% serologicznie dodatnich zwierząt, podczas gdy aż 77,8% przy użyciu testu ELISA (przykład grupy D). Obserwacje te są zgodne z badaniami Strauba i wsp. (18), Steca i wsp. (17), którzy oceniają AGIDT jako mało przydatny w badaniu mleka. Wg Bause (3) i von Keyserlingk-Eberius (10) mleko może być wykorzystane do diagnostyki EBB jedynie w fazie siarowej.

W ostatnim okresie coraz więcej uwagi poświęca się przydatności testu ELISA w bada-

niu mleka. Związane jest to z łatwiejszym pobraniem materiału do badań, eliminacją stresów, jakie towarzyszą zwierzętom przy pobieraniu krwi, a tym samym wyeliminowaniem strat produkcyjnych szczególnie w przypadku wysoko wydajnych krów mlecznych. Użycie mleka jako materiału diagnostycznego nie jest niczym nowym. Znany jest fakt użycia mleka w próbie ABR (5, 6). Badania Segera (16), Pipera i wsp. (14) oraz Forschnera i wsp. (7) dowiodły, że przeciwciała anty-BLV są wydzielane wraz z mlekiem. Von Keyserlingk-Eberius (10) stwierdził, że w sianie miano przeciwciał jest wyższe aniżeli w surowicy krwi. Bause (3) za pomocą AGIDT wykazała ich obecność w nielicznych przypadkach do 16 tyg. po porodzie. Istnieje wiele doniesień porównujących AGIDT surowicy krwi z ELISA mleka. Manz i wsp. (13) wykazali testem AGID we krwi 76,2% oraz ELISA w mleku 85,1% dodatnich reagentów w stosunku do 100% dodatnich w ELISA surowicy krwi. Bauer i wsp. (1) w podobnych badaniach otrzymali 90% dodatnich prób w AGIDT surowicy krwi, 98,8% w ELISA mleka względem 100% w ELISA surowicy krwi. Jednocześnie polecają oni zastosowanie ELISA w badaniu mleka jako równoważny alternatywnie dla AGIDT surowicy krwi.

Zastosowanie zbiorczych prób mleka w diagnostyce EBB, jak na razie, nie przyniosło oczekiwanych rezultatów (11, 13). Chociaż nieopublikowane jeszcze badania Forschnera i Schmidta (8) sygnalizują, że możliwe jest ustalenie dodatnich prób mleka nawet w przypadku wymieszania jednej próby pozytywnej z 5 i więcej ujemnymi pod warunkiem, że ELISA zostanie do tego celu odpowiednio wystandaryzowane i wykonana z niezwykłą dokładnością.

W badaniach własnych zgodność wyników badań surowicy krwi i mleka z 5 gospodarstw wyniosła średnio 66,2%. Wielu autorów podkreśla zależność wykrywania dodatnich reagentów od wieku zwierząt, struktury stada oraz prowadzenia zwalczania EBB poprzez eliminowanie zakażonych zwierząt. Forschner i wsp. (7) obserwowali częściej serologicznie dodatnie reakcje u zwierząt starszych. Ponadto Bauer (2) wykazał, iż starsze bydło charakteryzuje wyższe miano w teście ELISA. Straub i wsp. (19, 20) twierdzą, że w przypadku przekazywania zakażenia z pokolenia na pokolenie zarówno drogą horyzontalną, jak i wertykalną uzyskuje się inne wyniki serologiczne aniżeli w stadzie, gdzie regularnie eliminowano dodatnich reagentów.

Warto podkreślić ekonomiczne aspekty poszczególnych metod badawczych. Koszty laboratoryjne wykonania AGIDT wynoszą tylko około 20—25% w stosunku do ELISA. Stąd też wydaje się celowym rozpocząć uwalnianie obór od EBB za pomocą AGIDT, wykorzystując do tego jedynie antygen o wysokiej jakości, swoistości i czułości. Dopiero w ostatniej fazie akcji

zwalczania EBB można by zastosować do weryfikacji uzyskanych wyników test ELISA. Natomiast badanie mleka przy użyciu odpowiednio wystandaryzowanego testu ELISA może znaleźć zastosowanie w przyszłości do okresowej kontroli bydła w kierunku EBB w regionach uznanych za wolne od tej choroby.

Piśmiennictwo

1. Bauer Th., Wiegand D., Manz D.: Dtsch. tierärztl. Wschr., 81, 313, 1984.
2. Bauer Th.: Vet. Med. Diss. Giessen 1984.
3. Bause I.: Diss. Göttingen, 1980.
4. Begrens F., Ziegelmeier R., Toth T., V. Keyserlingk M., Forschner E.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 82, 429, 1979.
5. Fleischhauer G.: Berl. tierärztl. Wschr. 34, 527, 1937.
6. Fleischhauer G.: Der Lebensmittelsterilizer, 5, 241, 1954.
7. Forschner E., Ewald P., v. Keyserlingk M., Rotgen W., Seidler J.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 82, 3, 1978.
8. Forschner E., Schmidt F.: Informacja ustna, Hanower, 1985.
9. Keaden O. R.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 87, 333, 1980.
10. v. Keyserlingk-Eberius M.: Dissertation Hanover 1980.
11. Mammereck M., Fortelle D., Bruck C., Burny A.: Zbl. Vet. Med. B, 31, 219, 1984.
12. Manz D.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 83, 189, 1981.
13. Manz D., Bauer Th.: Tierärztl. Umschau, 40, 155, 1985.
14. Piper C. E., Ferrer J. F., Abt D. A., Marshak R. R.: J. Natl. Cancer Inst. 62, 195, 1978.
15. Rensing A. A., Ellens D. J., Gielkens A. L. J., Quak S., Mastenbroek M., Tuppert C., De Castro A.: Ann. Rech. Vet. 9, 683, 1978.
16. Seger C. L., Morgan E.: Various Methods of Molecular Virology pp. 267, EG-commission Luxemburg 1977.
17. Stec J., Grundboeck-Jusko J., Grundboeck M.: Medycyna Wet., 41, 2, 117, 1985.
18. Straub O. C., Fischer C. W., Frerking H.: Tierärztl. Umschau 33, 657, 1978.
19. Straub O. C., Matthaeus W., Lorenz R. J.: CEC Scient. Workshop on Bovine Leukosis Proc. pp. 89, CEC Luxemburg 1980.
20. Straub O. C.: Proc. 4th Int. Symp. Bovine Leukosis, 1982.
21. Toma B., Crespan F., Vuilleme A., Duret Ch., Chappuis G., Levy D., Parodi A. L.: V Int. Symp. of Bovine Leukosis 1982.

Adres autora: dr Stanisław Klimontowski, Pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

Климентовский С. — Сравнительные серологические исследования проб крови и молока в диагностике энзоотического лейкоза скота (ЭЛС) с применением критериев AGID и ELISA

Разработка показывает результаты сравнительных серологических исследований проб крови и молока относительно ЭЛС с применением критериев AGID (антиген фирмы Jensen) и ELISA (фирма Behringwerke) из 5 хозяйств разной степени инфекции BLV. Все отрицательные результаты исследований сыворотки крови критерием AGID были подтверждены в критерии ELISA, за исключением 1 случая в стаде „А“, где при отрицательном результате AGID получено положительный результат ELISA. Из 124 исследуемых проб молока от коров с положительными критерием AGID в сыворотке крови 82 (66,2%) происходило от коров с сильной положительной реакцией AGID в сыворотке крови и 16 (19,5%) со слабо положительным результатом. Положительные 62 пробы молока в критерии ELISA было подвергнуто исследованию в критерии AGID, только в 5 случаях (8,1%) были получены положительные результаты, в том 4 случая происходили из коровника „D“, что составляло 44,4%. Показано зависимость величины экстинкции в критерии ELISA положительных проб молока от процента зараженных животных в стаде ($r=0,81$).

Klimontowski S. — Comparative serological examinations of the samples of blood and milk in case of enzootic leukaemia of cattle

The samples of blood and milk were examined by means of the AGID test (antigen made by Jensen) and the ELISA (the kit produced by Behringwerke) and originated from five farms in which the animals were infected in more or less part. All sera which were negative in the AGID test proved to be also negative in the ELISA test with one exception regarding

a herd A, where a negative serum tested by double immunodiffusion was positive in the ELISA test. Out of 124 samples of milk obtained from cows containing specific antibodies in sera 82 (66.2%) were also, positive in the ELISA test. In this number 66 samples of milk (0.5%) originated from cows with significant positive reaction of sera in the AGID test and 16 (19.5%)

with a slight positive results. Positive 62 samples of milk in the ELISA test were assessed by the AGID test: only in five cases (8.1%) positive reactions were observed including 4 cases from a farm D that constituted 44.4%. It was found a correlation between the extinction value in the ELISA test of milk samples and the percentage of infected animals in a herd ($r=0.81$).

ZBIGNIEW HEJŁASZ

Trzy przypadki erytroleukozy u psów

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Wydziału Weterynaryjnego AR,
pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

W roku 1917 di Guglielmo opisał jednostkę chorobową z rozrostem w szpiku kostnym układu czerwonerwinkowego i obecnością we krwi obwodowej erytroblastów. Dodatkowe obserwacje wykazały, że początek choroby jest zwykle skryty, zaczyna się zmianami zapalnymi na błonach surowiczych jamy gębowej gardła i nieznacznym powiększeniem węzłów chłonnych, śledziony i wątroby. Przebiega ona z niewysoką gorączką, objawami osłabienia, odwodnienia, narastającą niedokrwistością i skazą krwotoczną. Liczba białych krwinek w krwi obwodowej dochodzi do 30 tys. w mm^3 , a ilość erytroblastów do 250 tys. W szpiku kostnym o wyraźnej hiperplazji układu czerwonerwinkowego spotyka się paraerytroblasty dające reakcje PAS pozytywną. Hiperplazji układów białokrwinkowych towarzyszy znacznie podwyższony w granulocytach poziom fosfatazy alkalicznej (17). Poza chorobą di Guglielmo rozróżnia się erytroleukozę typu Heilmeyer-Schönera o mniej zaburzonym metabolizmie układu czerwonerwinkowego i Israelsa o równoczesnym rozroście obu układów (11). Przedstawione schorzenia są odporne na leczenie vit. B₁₂ (11). Terapia polega na podawaniu sterydów i antymetabolitów jak: methotrexate, mercaptopuryna, cyklofosfamid, 1-asparaginaza, vincry-

styna, w kombinacji z antybiotykami. Zaleca się również przetaczanie krwi. Stosowane zabiegi zwykle powodują przejściowe remisje, czasami wyleczenie (16). W medycynie weterynaryjnej poza erytroleukozą drobiu (8) nie wyosabia się podobnej jednostki chorobowej. Mimo tego, że Schalm (cyt. 18) doniósł o przypadku erytroleukemii u kota, Madavel o dalszych trzech (12), Cauto (4) opisał ją u psa, a Seed i wsp. (15) wywołali doświadczalnie, omawiana jednostka chorobowa nie weszła oficjalnie do patologii weterynaryjnej. Wzbogacenie kazuistyki opisem trzech przypadków erytroleukemii u psów wydaje się zatem w pełni uzasadnione.

Opis przypadków

Przypadek pierwszy dotyczył suki, jamnika ostrowłosego, lat 4. Z danych anamnetycznych wynikało, że pies w początkach sierpnia br. z objawami nieżytu gardła i temp. 39,7°C był bez powodzenia leczony antybiotykami. W dniu doprowadzenia do Kliniki (19.09.84 r. Nr ks. klin. 6069 i 6112/84) stwierdzono: ogólną apatię, odwodnienie, temp. 38°C, tętno 140/min. błony śluzowe z odcieniem żółtaczkowym, nieżyt gardła, węzły chłonne podżuchwowe, podkolanowe, śledziona i wątroba nieznacznie po-

Tab. 1. Badania hematologiczne. Przypadek I

Układ krwinkowy. Krew obwodowa												
Data badania	Eryt. T/l	Hb mmol/l	Ht L/L	OB	SOK μ^3	SSH mmol/l	SWH f.mol/l	Reticul. %	Płytki krwi mm^3	Op.osm. %	Leuk. G/L	Erytroblasty mm^3
19.09.84	5,2	6,25	-	0,5/1,5	-	-	-	-	-	-	54,4	104000
4.10.84	3,27	3,27	0,315	-	96,3	18,5	1,78	-	-	0,58/0,36	32,6	36240
20.10.84	5,3	6,82	0,440	0,5/1,0	83,5	24,8	1,28	6,6	249710	-	16,8	15300
Rozmaz % (licz. na 200 elem.)												
Data badania	Met.m	Pat.	Seg.	Limf.	Monoc.	Eryt.	Eryt.blast.			Par.bl.	Meg.bl.	
							zasad.	oboj.	kw.			
19.09.84	1	-	76	23	-	143/100	-	-	-	-	-	-
4.10.84	-	11	80	6	3	-	-	-	-	-	-	-
20.10.84	-	5	77	11	3	114/100	32	63	14	2	poj.	-
Białka krwi - enzymy												
Data badania	B.catk. g/l	Alb. g/l	Glob. α_1 g/l	Glob. α_2 g/l	Glob. β g/l	Glob. γ g/l	GOT j.m.	GPT	Billir. mg %	Mocznik mmol/l		
19.09.84	54,5	18,06	8,01	6,48	5,55	16,3	18,0	10,3	0,32	2,3		