

Kierownik: prof. dr Józef Parnas

Wykonaliśmy najpierw próbę zastosowania odczynu Dubosa-Middlebrooka, do diagnostyki nosaczyny. Do uczulenia krwinek barana użyto maleiny puławskiej w rozcieńczeniu 1:2. Badane surowice reagujące dodatnio w odczynie wiązania dopełniają na nosaczną, wykazały dodatni wynik odczynu hemaglutynacji w mianie 1/16 do 1/512. Surowice ujemne (kontrolne) nie wywoływały dodatniego odczynu hemaglutynacji. Można zatem zalecić

odczyn hemaglutynacji do diagnostyki serologicznej nosaczyny. Próby zastosowania tego odczynu dla rozpoznania tularemii (do uczulania krwinek użyto tularyny i antygeny do wiązania dopełniacza), i gorączki Q (antygen do odczynu wiązania dopełniacza normalny i rozbity ultradźwiękami) wypadły ujemnie. To samo tyczy się prób hemaglutynacji przy salmonelozie. Najbardziej jednak interesowała nas sprawa odczynu hemaglutynacji przy brucelozie ludzi i zwierząt.

Metodykę badań opracowano na podstawie metody hemaglutynacji według Sohiera i Gernez-Rieux, którzy zmodyfikowali odczyn Dubosa — Middlebrooka.

Technika badań: do uczulenia krwinek barana użyto antygeny *Brucella abortus bovis*, otrzymanego w naszym Zakładzie, podług przepisu Dubrowskiej z małą modyfikacją. Sposób otrzymania antygeny: 3-dobowa hodowla agarowa *Brucella abortus bovis*, splukana płynem fizjologicznym, odwirowana, przepłukana trzykrotnie jałowym roztworem fizjologicznym soli kuchennej, poddana została dezintegracji acetonowej. W tym celu przemytą masę bakteryjną traktowano trzykrotnie zimnym (-7° C) bezwodnym acetonem a następnie dwa razy zimnym eterem w objętości dziesięć razy większej niż masa bakteryjna. Płyn od bakterii oddzielano za pomocą szybkiego wirowania przez 1-2 minut przy 2000 obr./min. Po ostatnim wirowaniu osad suszono pod niskim ciśnieniem (25 do 30 mm Hg) w temperaturze 20° C. Otrzymano suchy proszek koloru kremowego, słabo rozpuszczalny w wodzie na zimno. Proszek ten poddano 24 godzinnej ekstrakcji 50% kwasem tróchlorooctowym, po czym oddzielono części stałe od wyciągu przez odwirowanie płynu przy 1600 obr./min. w ciągu 10 minut. Osad odrzucono, płyn po 48 godzinnej dializie zagęszczono pod zmniejszonym ciśnieniem w temp. 38 do 40° C. do połowy objętości. Zagęszczony wyciąg zadano 96% etanolem w stosunku 1:4. Po 24 godzinach wytrącony tym postępowaniem osad oddzielono od płynu przez winowanie. Osad przemyto alkoholem, acetonem i eterem, następnie zadano 1/10 N kwasem octowym i podgrzewano na wrzącej łaźni wodnej przez 4 godziny. Otrzymany osad oddzielono od płynu wirując płyn. Osad odrzucono. Płyn poddano 4 godzinnej dializie, po czym użyto do odczynu hemaglutynacji. Płyn daje pozytywne reakcje na węglowodany Molischa i białko-biuretową próbę Piotrowskiego.

Frakcję tą nazwano frakcją wielocukrowo-białkową. Uczulanie krwinek barana: do 0,15 ml krwinek pobranych najpóźniej przed 48 godz., dodaje się 5 ml roztworu frakcji wielocukrowo-białkowej i po wymieszaniu wstawia się na dwie godziny do łaźni wodnej o temp. 37° C. Krwinki uczulone przepłukuje się trzykrotnie roztworem fizjologicznym i rozcieńcza do zawiesiny 1%. Surowice inaktywowane w ciągu 30 minut w temperaturze 56° C rozcieńcza się w miarach 1/2 do 1/156; do każdego rozcieńczenia dodaje się po 0,05 ml 1% zawiesiny uczulonych krwinek barana. Wyniki odczytujemy po dwu godzinach trzymania w łaźni wodnej w temp. 37° C. Za wynik dodatni przyjmujemy aglutynację czerwonych krwinek w mianie 1/8 i wyższych.

Wyniki pierwszego doświadczenia przedstawia Tab. Nr 1.

Sterzl (1952) ogłosił pracę o wynikach odczynu hemaglutynacji w brucellozie. Wykonywał on odczyn według następującej metody:

Uczulanie krwinek: 0,3 ml przepłukanych trzykrotnie krwinek barana oraz 20 ml roztworu antygeny (frakcja wielocukrowo-białkowa) umieszcza się na 2 godz. w łaźni wodnej o temperaturze 37° C. Następuje odwirowanie, przemywanie płynem fosforo-fizjologicznym i rozcieńczanie do roztworu 0,5%. Surowicę inaktywowaną rozcieńcza się od miana 1/2 do 1/512 dając po 0,5 ml; następnie dodaje się 0,5 ml krwinek uczulonych. Przy każdej surowicy są dwie kontrole: 1) 0,5 ml surowicy 1/4 oraz 0,5 ml krwinek nie uczulonych, 2) 0,5 ml roztworu fizjologicznego oraz 0,5 ml krwinek uczulonych.

Tab. Nr 1 przedstawia wyniki porównawcze po zastosowaniu naszej metody hemaglutynacji (przy użyciu antygeny białkowo-wielocukrowego otrzymanego metodą Dubrowskiej) i metody Sterzla.

Jak widać, odczyn hemaglutynacji pokrywa się z wynikami odczynu aglutynacji i wiązania dopełniacza. Porównując obie metody wykonania odczynu hemaglutynacji, stwierdzić można, że nasza metoda jest bardziej czuła, aniżeli metoda użyta przez Sterzla.

Otrzymawszy tego rodzaju wyniki wstępne, postanowiliśmy przebadać odczyn hemaglutynacji w brucellozie na większym materiale surowic dodatnich i kontrolnych przy użyciu różnych antygenów, aby przekonać się, czy odczyn jest swoisty. Do uczulania krwinek barana użyto 4 antygenów.

- I. Frakcja białkowo - cukrowa *Brucella abortus bovis*.
- II. „ białkowa „ „ „
- III. „ cukrowa „ „ „
- IV. 0,5% antygen *Brucella abortus bovis* stosowany przy OWD*).

Powyższe trzy frakcje otrzymane zostały z hodowli *Brucella abortus bovis*. Materiałem wyjściowym był wyżej opisany acetonowy dezintegrat brucelli, z którego frakcję I białkowo-cukrową otrzymano drogą hydrolizy kwaśnej przy zastosowaniu 5% kwasu trójchlorooctowego. W tym celu dezintegrat zadano kwasem trójchlorooctowym 5% i pozostawiono w temperaturze pokojowej przez 24 godziny. Po upływie tego czasu roztwór wirowano, osad odrzucono, płyn poddano 36 godzinnej dializie w obecności toluolu. Po dializie płyn zagęszczono w temp. 37 do 40° C pod zmniejszonym ciśnieniem (20 do 40 mm Hg) do 1/3 objętości początkowej. Zagęszczony płyn zadano 5-krotną objętością 98% etanolu. Po 24 godzinach oddzielono strącony osad od płynu przez winowanie.

*) Odczyn wiązania dopełniacza.

Osad przemyto alkoholem, acetonem i eterem oraz wysuszono w wakuum-eksikatorze w temp. 20° C. Otrzymano suchy proszek koloru białego, który w wodnych roztworach daje dodatnie reakcje ogólne na białko i cukry (Piotrowski, Heller, Molisch). Proszek ten nazwano frakcją I białkowo-cukrową. Frakcję II i III otrzymano z rozbicia frakcji białkowo-cukrowej, stosując łagodną kwaśną hydrolizę. Frakcję I zadano N/10 kwasem octowym w stosunku 1:100 i podgrzewano przez 4 godziny na wrzącej łaźni wodnej, po czym odwirowano. Osad przemyto wodą, alkoholem, acetonem i eterem, a następnie wysuszono w wakuum-eksikatorze. Otrzymany biały proszek w roztworze daje silne reakcje na białko (biuretowa Piotrowskiego, Heillera sulfosalicylowa) oraz słabą reakcję na węglowodany Molischa. Osad ten jest frakcją II, nazwaną białkową. Płyn zadano bezwodnym acetonem w stos. 1:5. Po 24 godzinach płyn odwirowano. Osad po przemyciu alkoholem, acetonem i eterem wysuszono w temp. 20° C w wakuum-eksikatorze. Suchy proszek koloru kremowego w roztworze wodnym daje silny odczyn na węglowodany Molischa i słaby na białka Piotrowskiego. Ten osad jest frakcją III nazwaną frakcją cukrową.

Antygen stosowany do odczynu wiązania dopełniacza otrzymano w następujący sposób: 3-4 dniową hodowlę *Brucella abortus bovis* splukuje się 10 ml 0,85% roztworu soli kuchennej, zawieszinę wstrząsa się przez 24 godzin z perełkami szklanymi, po czym gotuje się przez 20 minut na łaźni wodnej. Po ostudzeniu, zawieszinę sączy się przez azbest; płyn o bursztynowym zabarwieniu po wymiareczkowaniu jest używany do odczynu wiązania dopełniacza.

Tab. Nr 2 i 3 przedstawiają wyniki odczynu hemaglutynacji z różnymi antygenami (I, II, III, IV). Dane Tab. Nr 2 i 3 wykazują, że antygen OWD wywołuje hemaglutynację z surowicami dodatnimi w wysokich mianach: 1/64, 1/128, równocześnie pozostałe antygeny uzyskane chemicznie (I, II, III) wywołują odczyn hemaglutynacji w niskich mianach: 1/8, 1/16, 1/32, albo nawet dają wyniki ujemne. Antygen OWD (IV) wywołuje jednak zjawisko hemaglutynacji również z surowicami ujemnymi (lub co najwyżej wątpliwymi) w mianach 1/32, 1/64 i wyższych. Te fakty wskazują na nieswoistość odczynu hemaglutynacji przy użyciu na pozór bardzo czułego antygeny OWD (IV). Antygeny I, II, III, zachowują się z surowicami ujemnymi bardzo swoście, ujemnie lub wątpliwie.

Aby wyjaśnić sprawę swoistości odczynu hemaglutynacji, zastosowano wysycanie surowic krwinkami barana.

1 ml surowicy inaktywowanej z dodatkiem 0,2 ml przemytych krwinek barana wstawiono na 2 godziny do ciepłarki, mieszając przez potrząsanie co 15 minut. Następnie odwirowano krwinki i surowice używano do badań.

Wyniki wykonanego odczynu hemaglutynacji z surowicami wysyconymi przedstawia Tab. Nr 4. Dane tej tabeli wskazują na nieswoistość odczynu hemaglutynacji z surowicami wysyconymi przy zastosowaniu antygeny.

Zanim przejdziemy do wniosków z badań własnych, przytoczymy wyniki badań innych autorów. Sterzl doszedł do wniosku, że odczyn hemaglutynacji ma pewną wartość rozpoznawczą w stanach przewlekłej brucelozy. Carrer i Roux przebadali 28 surowic owczych, w tym 20 dodatnich w odczynie Wrighta (1/300), oraz 8 surowic ujemnych i 11 surowic ludzkich ujemnych. Odczyn hemaglutynacji wypadł z wszystkimi surowicami dodatnimi ujemnie, w trzech wypadkach wypadł dodatnio z surowicami ujemnymi.

Wnioski

Z badań własnych oraz ze skąpych danych piśmiennictwa wynika, że czułość i swoistość odczynu hemaglutynacji przy brucelozie zależy w głównej mierze od antygeny używanego dla uczulenia krwinek. Najlepsze wyniki otrzymano przy użyciu frakcji zwanej białkowo-wielocukrową otrzymanej według metody Dubrowskiej w naszej modyfikacji. Najmniej swoistym okazał się antygen używany przez nas do OWD (wyciąg wodny *Brucella abortus bovis*). Frakcje białkowo-cukrowa, białkowa i cukrowa uzyskane przez nas okazały się mało czułe i mało swoiste. Prawdopodobnie daleko idące oczyszczanie antygeny powoduje utratę swoistości, co wyraża się tym, że frakcja otrzymana przez nas nie strącana acetonem, a tylko poddana krótkiej dializie, jest czuła i swoista, natomiast wytrącony acetonem z tej frakcji wielocukier (frakcja III) jest stosunkowo mało czuły i mało swoisty.

Odczyn hemaglutynacji może być zatem użyty do diagnostyki brucelozy, przy użyciu frakcji antygenowej otrzymanej przez nas, nazwanej frakcją wielocukrowo-białkową, jako odczyn uzupełniający odczyn Wrighta i OWD. Odczyn wymaga dalszych badań na większym materiale ludzkim i zwierzęcym.

PIŚMIENNICTWO

1. Carrer L. i Roux J. — Hemaglutination passive d'hématies sensibilisées par des antigenes brucelliques ou des substances solubles spécifiques, *World Health Organization*. 1952.
2. Dubrowskaja I. I. — *Biochimja*. T. 15, s. 490. 1950.
3. Dubrowskaja I. I. — *Biochimja*. T. 1, s. 41. 1951.
4. Sterzl J. — *Čas. Lek. Česk.* Číslo 12, s. 351. 1952.

Р Е З Ю М Е

Из собственных исследований, а также из весьма скудных данных, имеющихся в научной литературе следует, что чувствительность и специфичность гемагглютинационной реакции при бруцеллёзе зависит главным образом от антигена, которым пользуются для усиления чувствительности кровяных телц. Самые лучшие результаты получаются при помощи фракции, именуемой белково-полисахаридной, полученной по методу Дубровской с нашей модификацией. Меньше всего специфичным оказался антиген, употребляемый нами для реакции связывания комплемента (водный экстракт *Brucella abortus bovis*). Белково-сахарная, белковая и сахарная фракции, полученные нами, оказались слабо чувствительны и мало специфичны. Слишком сильное, повидимому, очищение антигена вызывает утрату им специфичности. Фракция при помощи ацетона, а подвергнутая лишь кратковременному диализу, является чувствительной и специфичной, после же преципитации из неё при помощи ацетона полисахарида (фракция III) становится уже сравнительно слабо чувствительной и мало специфичной.

Следовательно, гемагглютинационная реакция может быть использована для распознавания бруцеллёза при употреблении, полученной нами, антигеновой фракции, именуемой белково-полисахаридной фракцией в качестве реакции, дополняющей реакцию Райта и реакции связывания комплемента. Эта реакция требует еще дальнейших исследований, базирующихся уже на большем человеческом и животном материале.

SUMMARY

The authors' own research as well as the scanty data in the literature of the subject lead to the conclusion that the sensitivity and specificity of the haemagglutination reaction depend chiefly on the antygene used to sensitize the blood corpuscles. Best results were obtained by using the so-called albumino-polysaccharoid fraction prepared according to the method of Dubrowska in the authors' modification. Least specific proved the antygene used by the authors for complement fixation test (water extract of *Brucella abortus bovis*). The albumino - saccharoid, albuminous, and saccharoid fractions prepared by the authors proved little sensitive and little specific. It is possible that a far-reaching purification of the antygene causes the loss of its specificity; this is illustrated by the fact that the fraction obtained by the authors, if not precipitated with acetone, and only subjected to a short dialysis, is sensitive and specific, while a polysaccharoid (fraction III) precipitated from that fraction with acetone, is comparatively little sensitive and little specific.

The haemagglutination reaction can be used for diagnostic purposes in brucellosis as supplementary to Wright's reaction and complement fixation test. To that purpose there should be used the antygenic fraction obtained by the authors, and called the albumino-polysaccharoid fraction. This reaction needs further research. based on a bigger human and animal material.

Tabela 1

Nr badanej surowicy		Odczyn aglutynacyjny Wrighta	O.W.D.	Odczyn hemaglutynacji P-2	
				metoda własna	metoda Sterzla
surowice bydlęce	1	1/50	-	1/8	1/8
- " -	2	1/100	+	1/8	-
- " -	3	1/50	-	1/8	1/16
- " -	4	1/800	+	1/32	1/8
- " -	5	1/200	+	1/8	-
- " -	6	1/100	+	1/8	1/16
- " -	7	1/400	+	1/32	1/16
- " -	8	1/400	+	1/16	1/16
- " -	9	1/100	+	1/32	1/32
- " -	10	1/400	+	1/16	-
- " -	11	1/200	+	1/8	1/8
- " -	12	1/100	+	1/16	1/8
- " -	13	1/400	+	1/8	-
- " -	14	1/50	+	1/8	1/8
- " -	15	1/100	+	1/16	1/8
- " -	16	1/100	+	1/8	-
- " -	17	1/400	+	1/64	1/16
- " -	18	1/200	+	1/16	1/8
- " -	19	1/50	+	1/8	1/8
- " -	20	1/100	+	1/16	1/16
surowice ludzkie	2422	1/100	+	1/8	1/8
- " -	2424	1/800	+	1/64	1/16
- " -	2429	1/200	+	1/32	1/16
- " -	2439	1/50	+	1/16	1/8
- " -	2451	1/200	+	1/32	1/8
surowice kontrolne	1	-	-	-	-
- " -	2	-	-	-	-
- " -	3	-	-	-	-
- " -	4	-	-	-	-
- " -	5	-	-	-	-
surowice konie	1	-	-	-	-
- " -	2	-	-	-	-

TABELA Nr. 2

Nr. uadanej surowicy wydłacej	Odczyn Wrighta	D.S.D.	O d c z y n			
			I Frakcja cukrowo - białkowa	II Frakcja ośłkowa	III Frakcja cukrowa	IV Antygen do O.S.D.
2	1/200+	-	-	-	-	1/16
3	1/100+	+	1/16	1/16	1/16	1/128
4	1/200+	+	1/8	1/8	1/8	1/32
5	1/200+	+	1/8	1/8	1/8	1/32
6	1/200+	+	1/8	1/8	1/8	1/8
7	1/400+	+	1/16	1/16	1/32	1/32
8	1/200+	+	1/8	1/8	1/16	1/128
9	1/100+	+	-	-	-	1/16
10	1/50+	+	1/8	1/8	1/16	1/128
11	1/200+	+	1/8	1/8	1/8	1/64
13	1/200+	-	1/8	1/8	1/16	1/128
14	1/800+	+	1/32	-	1/8	1/32
15	1/200+	-	-	-	1/8	1/32
16	1/100+	+	1/16	1/8	1/16	1/32
17	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/16
18	1/50+	+	1/16	1/8	1/16	1/64
19	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/128
20	1/200+	+	1/8	1/8	1/16	1/32
21	1/400+	-	-	-	-	1/16
22	1/200+	+	1/8	-	1/8	1/32
23	1/200+	-	1/16	1/8	1/32	1/32
24	1/200+	-	1/8	-	-	1/32
25	1/25+	+	1/8	1/8	1/8	1/64
26	1/400+	+	1/16	1/16	1/16	1/128
27	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
28	1/800+	-	1/8	1/8	1/8	1/64
29	1/400+	+	1/16	1/16	1/16	1/64
30	1/800+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
31	1/100+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
32	1/800+	+	1/16	1/8	1/16	1/64
33	1/800+	+	1/16	1/16	1/32	1/128
34	1/100+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
35	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/64
36	1/200+	+	1/8	1/8	1/16	1/32
37	1/100+	+	1/8	1/8	1/8	1/32
38	1/400+	+	1/8	1/8	1/16	1/64
39	1/50+	+	1/8	1/8	1/8	1/32
41	1/25+	+	1/8	1/8	1/8	1/32
42	1/25+	+	1/8	1/8	1/8	1/32
43	1/400+	+	1/8	1/8	1/16	1/64
44	1/200+	+	1/8	1/8	1/8	1/128
45	1/400+	-	-	-	1/8	1/32
47	1/25+	+	-	-	1/8	1/64
48	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/64
49	1/50+	-	1/8	1/8	1/8	1/128
51	1/100+	-	1/8	1/8	1/8	1/16
52	1/200+	-	1/8	1/8	1/16	1/32
53	1/100+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
56	1/100+	-	1/8	1/8	1/16	1/32
57	1/800+	+	1/16	1/8	1/8	1/64
58	1/800+	+	1/8	1/8	1/16	1/128
59	1/800+	+	1/8	1/8	1/8	1/32
63	1/100+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
65	1/100+	-	1/8	-	-	1/8
Surowice kontrolne						
1	1/25+	-	1/16	1/32	1/16	1/128
12	1/50+	-	1/8	1/8	1/8	1/16
40	-	-	-	-	-	1/128
46	-	-	-	-	1/8	1/32
50	1/25+	-	1/8	1/8	1/8	1/64
54	1/50+	-	-	-	1/8	1/64
55	1/50+	-	-	-	1/8	1/16
60	1/50+	-	-	1/8	1/8	1/64
61	1/25+	-	-	-	-	1/32
62	-	-	-	-	-	1/64
64	1/50+	-	-	-	-	1/16
66	-	-	-	-	-	-
67	-	-	-	-	-	1/16
68	-	-	-	-	-	1/8
69	1/50+	-	-	-	-	1/16
70	1/50+	-	-	-	-	1/16
71	-	-	-	-	-	1/16
72	-	-	-	-	-	1/16
73	-	-	-	-	-	1/16
74	-	-	-	-	1/8	1/16
75	-	-	-	-	-	1/16
76	-	-	-	-	-	1/16
77	-	-	-	-	1/8	-
78	-	-	-	1/8	1/8	1/16
79	-	-	-	1/8	1/8	1/16
80	-	-	-	-	-	1/32
Surowica konia						
Surowice ludzi						
1	-	-	1/8	1/16	1/16	1/16
2	-	-	1/128	1/128	1/128	1/256
3	-	-	1/32	1/32	1/32	1/32

T A B E L A Nr 3

Nr badanej surowicy bydłej	Odczyn Wrighta	O.W.D.	Odczyn hemaglutynacji			
			I Frakcja cukro- wo - białkowa	II Frakcja białkowa	III Frakcja cukrowa	IV Antygen do C.W.D.
7	1/200+	-	1/8	-	1/8	1/64
8	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
9	1/200+	+	1/8	1/8	1/16	1/32
10	1/100+	+	1/8	-	1/8	1/32
11	1/100+	-	-	-	1/8	1/16
12	1/200+	-	1/8	1/8	1/16	1/64
17	1/200+	+	1/8	1/8	1/8	1/64
18	1/200+	+	1/8	1/8	1/16	1/128
19	1/200+	+	1/8	1/8	1/16	1/128
20	1/200+	+	1/8	1/8	1/8	1/32
21	1/100+	+	1/8	1/8	1/8	1/16
22	1/100+	+	1/8	1/8	1/8	1/32
23	1/200+	-	1/8	-	1/8	1/64
24	1/200+	+	1/8	-	1/8	1/128
25	1/200+	+	1/8	1/8	1/8	1/64
26	1/100+	+	1/8	1/8	1/8	1/64
27	1/100+	-	-	-	-	1/32
28	1/25+	+	-	-	-	1/32
29	1/50+	-	-	-	1/16	1/16
30	1/200+	-	1/8	-	-	1/64
31	1/800+	+	1/8	-	-	1/64
32	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
33	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/64
34	1/200+	-	1/8	1/8	1/16	1/128
35	1/25+	-	1/8	1/8	1/16	1/32
36	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
37	1/25+	-	-	-	-	1/32
43	-	-	-	-	-	1/32
49	1/25+	-	-	-	-	1/16
50	1/100+	-	-	-	1/8	1/32
51	1/800+	+	1/8	1/3	1/16	1/64
52	1/100+	-	1/8	1/8	1/16	1/32
53	1/50+	-	1/8	1/8	1/8	1/64
54	1/100+	-	1/8	1/8	1/8	1/16
55	1/200+	-	1/8	1/8	1/8	1/32
56	1/50+	-	-	-	-	1/32
57	1/50+	-	-	-	-	1/32
58	1/400+	-	-	-	1/8	1/64
59	1/400+	-	1/8	1/8	1/8	1/16
60	1/200+	-	1/3	1/8	1/8	1/64
61	1/100+	-	-	-	1/8	1/32
62	1/50	-	-	-	1/8	1/32
63	1/100+	-	1/8	-	1/16	1/16
64	1/100+	-	-	-	1/8	1/64
65	1/50+	-	-	-	-	1/32
66	-	-	-	-	-	1/16
67	1/100+	-	-	-	1/8	1/32

T a b e l a 4

Nr badanej surowi- cy byd- łejcej.	Odczyn Wrighta	O.W.D.	Odczyn hemaglutynacji			
			Frakcja cukrowc- białkowa	Frakcja białkowa	Frakcja cukrowa	Antygen do O.W.D.
1	1/200 +	+	-	-	-	1/32
2	1/100 +	-	-	-	-	1/64
3	1/100 +	+	-	-	1/64	1/64
4	1/100 +	+	-	-	-	1/16
5	1/200 +	+	-	-	-	1/32
6	1/100 +	+	-	-	-	1/64
13	1/200 +	+	-	-	-	1/64
14	1/200 +	+	-	-	-	1/64
15	1/200 +	+	-	-	-	1/64
16	1/200 +	+	-	-	-	1/32
37	-	-	-	-	-	1/64
38	-	-	-	-	-	1/16
39	-	-	-	-	-	1/16
40	-	-	-	-	-	1/16
41	-	-	-	-	-	1/16
42	1/50 +	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-	1/16
45	-	-	-	-	-	-
46	-	-	-	-	-	1/64
<u>S u r o w i c e k o n i</u>						
1 k	-	-	-	-	-	-
2 k	-	-	-	-	-	-
3 k	-	-	-	-	1/8	-
4 k	-	-	-	-	-	1/8