

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XXXI

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

KNJIGA 12.

Urednik

ERNEST GRIN,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine



SARAJEVO

1966

**SRETEN BOŠKOVIĆ, RIFAT TVRTKOVIĆ, NIKOLA RUKAVINA
i HILMIJA KURTOVIĆ**

HLADNI AGLUTININI KOD HUMANE EHINOKOKOZE

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka, održanoj 2. IV 1968. god.)

Već su Dacie, Amzel, Hirszfeld, Janković i drugi skrenuli pažnju na značaj hladne aglutinacije u humanoj patologiji. Pronalaženje hladnih aglutinina u serumu osoba oboljelih od raznih bolesti sve je više budilo interes, pa je ispitivanje krenulo u pravcu praktičnog korišćenja hladnih aglutinina u dijagnostičke svrhe (1, 2, 3, 4). Ubrzo nakon toga došlo je do podjele mišljenja o hladnim aglutininima, i to: da su kompletna hladna antitijela, imuna i prirodna, tzv. klasična, česta pojava u serumu zdravih i oboljelih osoba, pa — prema tome — i nespecifična. Suprotno tome, inkompletna hladna antitijela, kako smatra Dacie, potpuno se razlikuju od prethodnih. I ne samo to, nego su i specifična za izvjesnu grupu oboljenja, pa se baš ova specifičnost može iskoristiti u dijagnostičke svrhe. Otkrića Crawforda, Watkina i Morgana, da inkompletno hladno antitijelo ima anti-H specifičnost, govore u prilog hipotezi o serološkoj specifičnosti ovih aglutinina (2).

Prva razočarenja nastupila su kada je Dacie otkrio hladno inkompletno antitijelo u svakom humanom serumu u niskom titru, a Janković sa tripsinizovanim eritrocitima otkrio »pravo inkompletno hladno antitijelo« koje, za razliku od Dacievog, ne biva razoreno na temperaturi od 56° C, tj. nije termolabilno (3).

Na ovaj način nastala je prilično velika lista oboljenja kod kojih su otkriveni hladni aglutinini u veoma različitom titru. Dok Dacie smatra da je titar od 1:4 normalna pojava u serumu zdravih osoba, neki autori smatraju da je titar 1:256 tek patološki. Fizikalne osobine i temperaturni optimum aglutinacije pokazuju niz varijanti o kojima smo vodili računa u ovom radu (4).

PORIJEKLO I OSOBINE

Još se sa sigurnošću ne može odgovoriti na pitanje kako nastaju hladni aglutinini. Najvjerovatnije da su heterogenog porijekla i da nastaju na podsticaj nekog nepoznatog antigena koji biva normalno unesen u organizam (izvjesni sastojci hrane), a u patološkim stanjima se njihov titar intenzificira. Sve ovo govori o nekim zajedničkim kompo-

nentama (bjelančevine) elemenata ishrane, bakterija, virusa i parazita pri čijoj invaziji na organizam titar hladnih aglutinina pokazuje osjetan porast. Na taj način želimo objasniti dugačku listu oboljenja sa povećanim titrom hladnih aglutinina, a niskim kod zdravih osoba (5).

Klasične osobine hladnih aglutinina želimo citirati radi upoređenja sa osobinama hladnih aglutinina koje smo zapazili kod humane ehinokoke. Još je Landsteiner ove klasične osobine zapazio:

- aglutinacija na temperaturi 0—10° C, a izostanak na 37° C;
- reverzibilnost reakcije aglutinacije na 37° C i ponovna pojava na temperaturi od 0—10° C;
- nespecifičnost hladnih aglutinina prema svim humanim eritrocitima;
- termostabilnost na temperaturi 56° C (6).

NAŠA ZAPAZANJA

Analizom krvnih grupa u uzorcima krvi bolesnika iz regionalnih bolnica primijetili smo pojavu nespecifične aglutinacije u velikom broju slučajeva ako su epruvete bile u frižideru na temperaturi +4° C više od pola sata. U najvećem broju slučajeva ove osobe su bolovale od klinički verificirane ehinokoke. Pošto je ova pojava bila frapantna i pošto je uočavana u dužem vremenskom periodu — u periodu od nekoliko godina, to se nije mogla smatrati kao slučajnost.

Pojava očite hladne aglutinacije kod osoba sa jednom vrstom oboljenja ponukala nas je na razmišljanje i stvaranje istraživačkog programa rada.

METODE ISPITIVANJA I TOK

Da bismo ispitili eventualne osobine ove hladne aglutinacije kod ehinokoknih bolesnika, načinili smo slijedeći plan rada:

1. Posmatrali smo pojavu aglutinacije 18 uzoraka nativnog i inaktivnog seruma bolesnika sa uzorcima eritrocita poznatog ABO i Rh sistema, izogrupnog sa serumom, na sobnoj, termostatskoj i frižiderskoj temperaturi. Inaktivacija seruma obavljena je na temperaturi +56° C.

2. Posmatrali smo pojavu aglutinacije 18 uzoraka eritrocita bolesnika sa uzorcima poznatog seruma ABO i Rh grupe normalnih osoba na sobnoj, termostatskoj i frižiderskoj temperaturi.

3. Kod 18 uzoraka krvi bolesnika obavili smo direktni i indirektni Coombsov test, takođe na tri navedene temperature, i to eritrocite zdravih osoba inkubirali u serumu bolesnika za izvođenje indirektnog Coombsovog testa.

4. Eritrocite zdravih osoba poznatih grupa ABO i Rh sistema, i to native, papainizovane i tripsinizovane, »senzibilizirali« smo na sobnoj, termostatskoj i frižiderskoj temperaturi dva sata u hidatidnoj tečnosti ciste ehinokoka. Nakon »senzibilizacije« eritrocite smo prali fiziološkim rastvorom na tri temperature: +4° C, +20° C i +37° C, a zatim na njih djelovali:

- serumom bolesnika,
- uzorkom izogrupnog seruma zdrave osobe.

Poslije inkubacije od jednog sata na sobnoj, termostatskoj i frižiderskoj temperaturi čitali smo rezultate.

5. Da bismo utvrdili da pojava hladne aglutinacije kod humane ehinokokoze možda nije ništa signifikantno, nego da se javlja i kod drugih oboljenja ili zdravih osoba, obavili smo analogne analize uzoraka krvi drugih 18 osoba, nasumice uzetih u laboratorijskom materijalu, ali ne oboljelih od ehinokokoze, kao i uzorke krvi iz tri kontrolne grupe bolesnika od:

- a) *Teniae Saginatae*,
- b) *Pneumoniae* i
- c) *Luesa*.

U ovim trima kontrolnim grupama, u svakoj po 10 slučajeva, ispitali smo nativni serum bolesnika sa poznatim izogrupnim eritrocitima zdravih osoba na sobnoj, termostatskoj i frižiderskoj temperaturi.

REZULTATI I DISKUSIJA

Analizom rezultata zadatka broj 1, na tabeli 1. (nativni serum bolesnika + poznati izogrupni eritrociti), možemo uočiti da je u gotovo svim slučajevima bila jasna aglutinacija na temperaturi frižidera $+4^{\circ}\text{C}$, dok je ista redovno izostajala na temperaturi termostata, a samo u rijetkim slučajevima i u veoma slabom intenzitetu pojavila se na sobnoj temperaturi. Titar ovih, bez sumnje, hladnih aglutinina u serumu bolesnika, varirao je od 1:4 do 1:64. Posljednjih 6 bolesnika u tabeli nisu bolovali od ehinokokoze nego od drugih plućnih i jetrenih afekcija (abscessus pulmonum et hepatitis, carcinoma pulmonum, tumor pulmonum benigni, aspergillus pulmonum) i — kao što se vidi — dali su samo u jednom slučaju (aspergillus) hladnu aglutinaciju na temperaturi $+4^{\circ}\text{C}$. Dakle, nativni serum bolesnika od humane ehinokokoze sadrži hladne aglutinine sa optimalnim djelovanjem na $+4^{\circ}\text{C}$ i sa još nedovoljno određenom specifičnošću.

Na tabeli 2. (inaktivirani serum bolesnika na $+56^{\circ}\text{C}$ + poznati izogrupni eritrociti) radi se o potpunom izostanku aglutinacije na bilo kojoj temperaturi, što nedvosmisleno potvrđuje termolabilnost ovog hladnog aglutinina kod humane ehinokokoze.

Na tabeli 3. (eritrociti bolesnika + poznati izogrupni serum zdravih osoba) vidi se gotovo potpuni izostanak aglutinacije bolesnikovih eritrocita u kontaktu sa serumom zdravih osoba, što navodi na zaključak da se aglutinabilni faktor nalazi u serumu bolesnika i da bolesnikovi eritrociti nisu prošli nikakvu fazu senzibilizacije, jer bi u protivnom aglutinacija sa serumom zdravih osoba bila mnogo češća. Rijetke pojave hladne aglutinacije na ovoj tabeli govore u prilog nalaza Dacia i Jankovića da se ova pojava može sresti često i kod normalnih osoba. U prilog ovom zapažanju je pojava negativnog direktnog (eritrociti bolesnika) i indirektnog (eritrociti zdravih inkubirani u serumu bolesnika na sobnoj, termostatskoj i frižiderskoj temperaturi) Coombsovog testa kod svih 18 ispitivanih slučajeva. Pojava aglutinacije već prilikom »senzibilizacije« eritrocita zdravih u serumu bolesnika na frižiderskoj temperaturi, kao i negativan Coombsov test, govori o tome da su ovi nađeni hladni aglutinini u serumu bolesnika od humane ehinokokoze kompletnog tipa.

Tabela 1.
 REZULTATI ZADATKA BR. 1

Nativni serum bolesn.	Temper. i titar	Poznati izogrupni eritrociti serije od 1—5									
		s. t. f.	± —	± —	± —	± —	± —	± —	± —	± —	± —
S. L.		+	1:64	++	1:64	+++	1:64	+	1:64	++	1:32
F. S.		+	1:16	+	1:16	+	1:16	+	1:32	++	1:16
R. D.		+	1:16	++	1:16	++	1:16	++	1:16	+	1:16
I. H.		+	1:16	++	1:16	+	1:16	+++	1:16	+	1:16
S. Z.		+	1:16	++	1:16	+	1:16	++	1:16	+	1:16
Đ. U.		+	1:32	+	1:32	+	1:32	+	1:32	+	1:32
Č. D.		+	1:8	++	1:8	++	1:8	++	1:8	++	1:8
K. A.		+	1:8	+	1:8	+	1:8	+	1:8	+	1:8
N. M.		+	1:4	+	1:4	+	1:4	+	1:4	+	1:4
D. E.		+	1:4	+	1:4	+	1:4	+	1:4	+	1:4
R. S.		+	1:16	+	1:16	+	1:16	+	1:16	+	1:16
D. J.		+	1:32	+	1:32	+	1:32	+	1:32	+	1:32
D. T.		+	1:4	+	1:4	+	1:4	+	1:4	+	1:4
P. Z.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S. J.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. T.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Γ. M.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A. H.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabela 2.
REZULTATI ZADATKA BR. 1a

Inaktiv. serum bolesn. na 56°	Temp. i titar	Poznati izogrupni eritrociti serije od 1—5									
S. L.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
F. S.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
R. D.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
I. H.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
S. Z.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
Đ. U.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
Č. D.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
K. A.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
N. M.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
D. E.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
R. S.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
D. J.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
D. T.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
P. Z.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
S. J.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
B. T.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
T. M.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
A. H.	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—

Tabela 3.
REZULTATI ZADATKA BR. 2

Eritroc. bolesn.	Temp. i titar	Poznati izogrupni serum zdravih osoba									
S. L.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
F. S.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
R. D.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
I. H.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		+	1:16	Ø	—	Ø	—	+	1:2	Ø	—
S. Z.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
Đ. U.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
Č. D.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
K. A.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
N. M.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	+	1:4	Ø	—	Ø	—	Ø	—
D. E.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
R. S.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	+	1:4	Ø	—	Ø	—
D. J.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
D. T.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		+	1:8	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
P. Z.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	+	1:2
S. J.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
B. T.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
T. M.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	+	1:4	Ø	—	Ø	—
A. H.	s. t. f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—

Tabela 4.
REZULTATI ZADATKA BR. 4

Sredi- na	Temp. i titar	Serum bolesnika i izogrupni serum zdrave osobe				
		boles. S. L.	zdravog	boles. F. S.	zdravog	boles. R. D.
N.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	+ 1:4	Ø —	+ 1:8
P.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+++ 1:16	Ø —	+++ 1:32	+ 1:4	+++ 1:32
T.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	Ø —	Ø —	+ 1:8
N.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	Ø —	Ø —	+ 1:16
P.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+++ 1:16	Ø —	++ 1:16	Ø —	+++ 1:32
T.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:8	Ø —	+ 1:8	Ø —	+ 1:16
N.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	+ 1:4	Ø —	Ø —
P.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+++ 1:32	+ 1:4	+ 1:4	+ 1:4	++ 1:16
T.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:8	Ø —	+ 1:4	Ø —	+ 1:8
N.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	Ø —	Ø —	+ 1:4
P.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+++ 1:8	+ 1:4	+++ 1:16	Ø —	+++ 1:16
T.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	+ 1:16	Ø —	+ 1:8
N.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	+ 1:4	Ø —	+ 1:4
P.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+++ 1:16	Ø —	++ 1:16	Ø —	+++ 1:16
T.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	+ 1:4	Ø —	+ 1:8
N.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	+ 1:4	Ø —	+ 1:4
P.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	++ 1:8	Ø —	++ 1:16	+ 1:4	++ 1:16
T.	s.	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —	Ø —
	f.	+ 1:4	Ø —	+ 1:4	Ø —	+ 1:4

1—6 uzoraka nativnih, papainizovanih i trüpsinizovanih eritrocita zdravih osoba senzibilizovanih u hidatidnoj tečnosti ciste humane ehinokoze

Nastavak tabele na sljedećoj strani

[illegible]

Tabela 5.

REZULTATI ZADATKA BR. 5a

Nativni serum boles. od teniae saginatae	Temper. i titar	Poznati izogrupni eritrociti serije od 1—5											
br. 1	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	+	1:4	Ø	—	Ø	—
br. 2	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 3	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 4	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	+	1:4	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 5	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	+	1:4	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 6	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 7	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 8	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 9	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 16	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	+	1:4	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—

Tabela 6.

REZULTATI ZADATKA BR. 5b

Nativni serum boles. od pneumoniae	Temper. i titar	Poznati izogrupni eritrociti serije od 1—5													
br. 11	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø +	— — 1:4	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —				
br. 12	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —				
br. 13	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —				
br. 14	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —				
br. 15	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —				
br. 16	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —				
br. 17	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —				
br. 18	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —				
br. 19	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø +	— — 1:4	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø +	— — 1:4				
br. 20	s. t. f.	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —	Ø Ø Ø	— — —				

Tabela 7.

REZULTATI ZADATKA BR. 5c

Nativni serum boles. od luesa	Temper. i titar	Poznati izogrupni eritrociti serije od 1—5									
		Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 21	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 22	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	+	1:4	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 23	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 24	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	+	1:4	Ø	—	Ø	—	+	1:4
br. 25	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 26	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 27	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	+	1:4	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 28	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 29	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	+	1:4	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
br. 30	s.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	t.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—
	f.	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—	Ø	—

Podaci na tabeli 4. (nativni, papainizirani i tripsinizirani eritrociti zdravih osoba senzibilizovani u hidatidnoj tečnosti ciste ehinokoka + serum bolesnika od ehinokokoze i uporedno + serum zdravih osoba) su, svakako, najinteresantniji. Naime, slab intenzitet aglutinacije dobijen prethodnim analizama pokušali smo »intenzificirati« enzimskom tehnikom pripremanja eritrocita i senzibilizovati ih u hidatidnoj tečnosti ciste ehinokoka i tek nakon toga djelovati na njih serumom bolesnika i zdravih osoba.

Uočavamo da je, zaista, aglutinacija postala izrazito intenzivna u papainskoj a nešto manje u tripsinskoj sredini u odnosu na native eritrocite. To je u cilju otkrivanja hladnih aglutinina veoma važan podatak kada znamo da se intenzitet aglutinacije često ne razlikuje kod slučajeva sa specifičnim aglutininima (oboljenja sa hladnim aglutininima) od slučajeva sa nespecifičnim hladnim aglutininima kod zdravih osoba (6, 7). Već ranije navedena diskusija o tome koji intenzitet aglutinacije i koji titar hladnih aglutinina se može smatrati simptomatičnim za neko oboljenje, a koji ne, nalazi primjenom enzimske tehnike mogućnosti da pojavu hladne aglutinacije intenzificira, ali — na žalost — bez uticaja na porast titra ovih aglutinina (8).

Dalje, iz tabele se može vidjeti da »senzibilizacija« eritrocita zdravih osoba u hidatidnoj tečnosti ciste ehinokoka ne utiče na intenzifikaciju aglutinacije, odnosno da se ova intenzifikacija može pripisati samo primjeni enzimske tehnike u pripremi eritrocita. U prilog tome govori i izostanak aglutinacije eritrocita zdravih osoba u dodiru sa serumom zdravih, bez obzira na primjenu enzimske tehnike i »senzibilizacije« u hidatidnoj tečnosti na sobnoj, termostatskoj i frižiderskoj temperaturi.

Rezultati na tabeli 5, 6. i 7. govore, nesumnjivo, u prilog rezultata dobijenih prethodnim ispitivanjima. Naime, pojava hladne aglutinacije sa serumom bolesnika od *Teniae Saginatae* (tabela 5), *Pneumoniae* (tabela 6) i *Luesa* (tabela 7) je veoma rijetka sa aglutininima niskog titra i ne pokazuje veću učestalost nego sa serumom zdravih osoba (tabela 4).

Pojava hladne aglutinacije kod uzoraka eritrocita zdravih osoba sa serumom bolesnika od humane ehinokokoze je specifična pojava jer nije u takvoj frekvenciji, intenzitetu i visini titra primijećena kod uzoraka seruma zdravih osoba, ni sa serumom bolesnika od *Teniae Saginatae*, *Pneumoniae* i *Luesa*.

Na osnovu najnovijih podataka iz literature (9, 10, 11, 12) o serološkoj dijagnozi humane ehinokokoze, mnogi autori, kao Norman, Proctor, Fischman i Nobili, izveli su slične eksperimente radeći tzv. indirektnu haemaglutinaciju (liofilizirani cisticerkusi + ovčiji eritrociti prethodno pripremani taninom + serum bolesnika). Kao što vidimo, primjenjivali su tanin za prepariranje eritrocita. Takođe su radili na temperaturi od $+4^{\circ}\text{C}$ i dobili, slično nama, pozitivan rezultat u 85% slučajeva (12).

Naš eksperimentalni postupak razlikuje se u tome što smo radili tzv. direktnu haemaglutinaciju (eritrociti zdravih osoba prethodno pripremljeni papainom + serum bolesnika), takođe na tempe-

peraturi $+4^{\circ}\text{C}$. Drugim riječima: dobili smo veoma slične rezultate, u sličnom procentu. Naši slučajevi u 87% daju pozitivan rezultat na istoj temperaturi.

ZAKLJUČAK

Dokazana je direktna hladna haemaglutinacija eritrocita zdravih osoba sa serumom bolesnika od humane ehinokokoze.

Statističkom obradom dobijenih rezultata metodom Hi-kvadrat (po Pearsonu i Kolmogorov—Smirnovu) pokazalo se da u 87% slučajeva serum oboljelih osoba od humane ehinokokoze daje hladnu aglutinaciju sa izogrupnim eritrocitima zdrave osobe primjenom enzimske tehnike (papain). Ovaj hladni aglutinin ima optimum dještva na temperaturi $+4^{\circ}\text{C}$, termolabilan je jer biva kompletno razoren na temperaturi $+56^{\circ}\text{C}$, i kompletnog je tipa jer daje negativan Coombsov test. Ovaj aglutinin predstavlja nespecifično antitijelo, jer se u ovakvoj kompletnoj formi nalazi kod niza drugih oboljenja. S obzirom na visok procenat pojave kod oboljelih od ehinokokoze, može korisno poslužiti za biološku i laboratorijsku dijagnostiku ovog oboljenja uz druge metode, čiji procenat tačnosti ne prelazi 84%.

Primjenom enzimske tehnike (papain) dobijena hladna aglutinacija je intenzivnija nego sa tripsinom ili bez primjene enzima. Obradeno je 48 bolesnika i 18 zdravih osoba.

SRETEN BOŠKOVIĆ, RIFAT TVRTKOVIĆ, NIKOLA RUKAVINA
and HILMIJA KURTOVIĆ

COLD AGLUTININS IN HUMAN ECHINOCOCCOSIS

SUMMARY

Direct cold haemagglutination of erythrocytes from healthy persons with the serum from human echinococcosis patients is demonstrated.

The statistical results elaborated by the method Hi quadrant (according to Pearson and Kolmogorov-Smirnov) has shown that in 87% of cases the serum from human echinococcosis patients is producing cold agglutination with the isogroup erythrocytes from healthy persons employing the enzyme technic (papain). This cold agglutinins have the optimal effect at the temperature of $+4^{\circ}\text{C}$, they are thermolabile, and can be completely destroyed at the temperature of $+56^{\circ}\text{C}$ giving negative COOMBS'es test. This agglutinin are nonspecific antibodies, and can be found in many other diseases. With regard to the high percentage of positive results in echinococcosis patients, the test can be useful for diagnosis of the disease in addition to other methods.

The enzyme technic with papain is giving cold agglutination more intensive than with tripsin or without the use of enzyme. Investigated were 48 patients and 18 healthy persons.

LITERATURA

1. Dacie, J. V.: *Nature*, 166: 36, 1950.
2. Janković, B. D.: Referat na V Internacionalnom kongresu za transfuziju krvi, Paris, 1954.
3. Janković, B. D.: *Acta Haematol.*, 14: 231, 1955.
4. Watkins, W. M. i Morgan, W. T. J.: *Vox Sanguinis*, 5: 1, 1955.
5. Crawford, H., Cutbush, M. i Mollison, P. L.: *Lancet*, 1: 566, 1953.
6. Wiener, A. S.: *Brit. Med. J.*, 1: 435, 1951.
7. Norman, L., Kagan, I. G., Allain, D. S.: *Journ. Immunology*, 1966, May Vol. 96, № 5.
8. Beljin, V.: Lično saopštenje.
9. Panaitesco, D.: *Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.* 1966, v. 25 № 3, 567—74.
10. Proctor, E. M.: *Ann. Trop. Med. Parasit.* 1966, V. 60, № 2, 146—51.
11. Nobili, I. i sar.: *Riv. Instituto Sieroterap., Ital.* 1966, July—Aug. v. 41, № 4, 237—46.
12. Fischman, A.: *J. Parasitology*, 1965, Aug. V. 51, № 4, 497—500.

