

## 2. Epizootologia i choroby inwazyjne

Państwowy Instytut Weterynaryjny Oddział w Gorzowie Wilk.

Kierownik: dr TADEUSZ KOBUSIEWICZ

TADEUSZ KOBUSIEWICZ

### Istota szczepień przeciwężcowych ludzi i zwierząt anatoksyną tężcową

Les vaccinations antitétaniques chez les hommes et les animaux par l'anatoxine antitétanique.

(Avec un résumé en français)

Odkryta przez Nicolaira w 1884 r. a otrzymana w czystej hodowli przez Kitasato w 1885 r. laseczka tężca (*Bacillus tetani*, *Clostridium tetani*) występuje w przewodzie pokarmowym większości zwierząt ciepłokrwistych (również człowieka), stąd jest silnie rozpowszechniona w przyrodzie. W przeciwieństwie do *Cl. Welchii*, *Cl. Oedematiens*, *Cl. septicum* siły inwazyjnej nie posiada, zostaje przeniesiona do lkancki drogą mechanicznego urazu. Nawet i tutaj nie może się zainstalować, dopóki nie powstaną warunki beztlenowe. Dość duża, bo 4—10 mikr. długości laseczka tężcowa jest czystym par excellence beztlenowcem, zarodniki wytwarza na biegunie, co jej nadaje kształt pałeczki do bębna. Rzęski posiada, Gramododatnia w młodych hodowliach, w starych — barwienie nie zdecydowane. Sposób barwienia: fuksyną karbolową na gorąco, odbarwienie 10% siarczanem sodu, spłukać wodą, dobarwić błękitem metylenowym; zarodniki barwią się na czerwono, laseczki na niebiesko. Hodowanie nastęrcza poważne trudności. Liczne pożywki mają na celu redukowanie tlenu w środowisku wzrostu bakterii. Hodowanie tężca interesuje nas o tyle, że do otrzymania wysoko wartościowej (uodparniającej) anatoksyny tężcowej niezbędna jest wysoko jadowita toksyna tężcowa, a tę otrzymujemy tylko w najprzychylniejszych dla wzrostu laseczki tężcowej w warunkach hodowania. Sposobów hodowania posiadamy niemal tyle ilu autorów problem beztlenowców interesował (Anderson-Laek, Dernby - Allander, Descombey, Berthelot - Ramon - Amoureux, Legroux - Ramon, Ramon - Pochon - Amoureux). Wszystkie one polegają na hodowaniu laseczki tężca w środowisku beztlenowym, względnie na dodawaniu takich ciał, któreby tlen pochłaniały lub redukowały do minimum.

W naszym laboratorium przygotowujemy pożywkę w następujący sposób: bulion z mięsa cielęcego o pH 6,4—6,6. A więc widzimy tu małą rewolucję pojęć: sądzę bowiem, że jeszcze do dziś w podręcznikach bakteriologii znajdziemy wskazówki, że tężec do swego rozwoju wymaga środowiska wybitnie alkalicznego — gdzieś w granicach pH = 8,2, tymczasem dokładne prace zarówno autorów francuskich, rumuńskich jak i nasze, potwierdzone przez niewątpliwie pomyślne wyniki, stwierdzają fakt, że do otrzymania wysoko jadowitej toksyny tężcowej niezbędne jest kwaśne środowisko pożywki w przytoczonych granicach 6,4—6,6, a czasami nawet niżej (Ramon).

Górnej granicy nigdy nie przekraczano, natomiast chętnie schodzono nawet do pH 5,9—5,8. Przygotowywany bulion rozlewamy do silnych z grubego szkła kolb o wąskiej długiej szyjce, uprzednio dno wyłożony kawałkami mięsa (cielęciny) i po dodaniu 1/2% suszonych, zmieszanych i wyjałowionych krwinek czerwonych, wyjałowiamy pod parą bieżącą trzykrotnie po jednej godzinie. Kontrola w cieplarni 24 godziny. Przed samym postewem dodajemy rozpuszczony (66 na 100 H<sub>2</sub>O) i przesączony cukier gronowy w ilości 8 cm, na 1 litr bulionu. Następuje postew mieszaniną różnych szczepów i kolby umieszczone w dużych garnkach okapturzonych papierem nieprzemakalnym i zakryte zwykłymi korkami z waty wędrują do cieplarki. Przez pierwsze 4—5 dni obserwujemy gwałtownie wydzielanie gazów, grubą gęstą pianę, wydzielającą charakterystyczną niemilą woń spalonego rogu; po tym czasie zamieniamy korki z waty na gumowe, posiadające wewnątrz rurkę szklaną zakończoną wężykiem gumowym; gdy wydzielanie gazi zmniejsza się zamykamy gumkę odpowiednim zaciskiem. Należy często i dokładnie zwalniać zaciskacz, bowiem zdarzają się wypadki, w których kolby mimo swych grubych ścian nie wytrzymują prężności gazów i ulegają rozerwaniu na drobne kawałki. Jeszcze pół biedy, jeśli zawartość, a więc hodowla tężcowa znajdzie się w garnku, w przeciwnym razie kłopotu z wyjałowieniem całej cieplarki nie brak. W takim wypadku polecam jako najlepszy i najskuteczniejszy środek płomień z palnika bunzenowskiego; po prostu wypalę miejsce koło miejsca dna i boki cieplarki.

Po 14 dniach sprawdzamy hodowle drobnowidowo i sącymy każdą butle oddzielnie przez duże świece Berkefelda L. 17. Przesącz nazywamy toksyną tężcową.

#### Przygotowywanie pożywki w Instytucie Pasteura.

W Instytucie Pasteura w Garches pod Paryżem J. Pochon i G. Amoureux przygotowują ostatnimi czasy (1946) pożywkę do hodowli tężca w następujący sposób:

Na podstawie trawienia pepsyną. Mięso końskie (dobrze oczyszczone z tłuszczu i ścięgien po 24 h. odstaniu w chłodni) 3 kg 700 gr., wody wodociągowej 18 l., wątroby końskiej 0,9 kg., HCl czystego 150 cm, pepsyny sproszkowanej 10 gr. Trawienie trwa 20 godzin w temp. 47,5°C. (ciepłota zewnętrzna koła około 49,0°C). Pożywkę przygotowuje się w łaźniach wodnych, z których każda posiada sześć 18-litrowych konwi porcelanowych. Ogrzewanie odbywa się przy pomocy gazu z samoregulatorem.

Do 12 l. wody o ciepłocie 47,5°C. (ogrzonej w przeddzień) dodajemy łyżką drewnianą 900 gr zmielonej wątroby; przy braku tejże zastąpić ją możemy mięsem, jednak należy użyć przynajmniej 600 gr wątroby; zmieszać, doprowadzić ciepłotę do 47,5°C uprzednio dodając 6 l. wody. Dodać 150 ccm czystego kwasu solnego, zmieszać, dodać 10 gr pepsyny, zamieszać dokładnie co godz. Ciepłota nie może spaść nawet w ciągu nocy poniżej 45°C, a utrzymywać się winna na 47,5°C. Nazajutrz po 20 godz. należy podgrzać pożywkę do 80°C. Po osiągnięciu tej ciepłoty bulion neutralizujemy sodą czystą (400 gr sody w 1 l. H<sub>2</sub>O) do pH 5,8.

Bulion jeszcze ciepły syfonujemy i filtrujemy przez bibułę, poczym sprawdzamy ponownie wymagane pH.

**Przygotowywanie pożywki papainowej.** Wody wodociągowej 20 l. mięsa końskiego 5.200 kg, wątroby końskiej 1.200 kg. Po osiągnięciu ciepłoty 48°C dodaje się 20 gr papainy (wyciąg sproszkowany z *Carica papaya*), pozwolili się nasączyć, następnie zamieszać, podgrzewać w ciągu godziny do osiągnięcia 85°C.

- Doprowadzić do pH 5,8. Syfionować i filtrować jeszcze ciepłe przez bibułę.

**Przygotowanie pożywki właściwej.** Zmieszać 1/3 bulionu z papainą i 2/3 bulionu pepsynowego, sprawdzić pH, dodać 80 gr. glukozy na 10 l. bulionu zmieszanego. Rozlać do kolb Erlenmeyera po 2.600 ccm bulionu i dodać po małej łyżeczce świeżej krwi. Wyjałowienie trwa 25 min. w 112°C.

Zaletą tej pożywki jest, że przy hodowaniu tężca nie wymaga hermetycznego zamykania kolb oraz, że daje wysoko jadowitą toksynę.

**Kultura.** Do zasiewu używa się szczen tężca, który (na miesiąc przedtym) dawał co najmniej 40 jednostek klęskliwych. Przechowuje się go na bulionie z móżdżkiem w zatopionej próbkówce w ciepłocie zwykłej, w ciemności. Otrzymana toksyna tężcowa należy do egzotoksyn.

**Egzotoksyny.** Istota chorobotwórczego działania bakterii polega na uszkodzeniach wewnątrz tkanki tzn. odwracalnych lub nieodwracalnych (chemicznych albo fizykochemicznych) zmianach w młodszych komórkach tkanki łącznej naczyń, nerwów i spoidła międzykomórkowego, w wyniku czego klinicznie i anatomicznie przechodzi do zapalenia. Działanie to odbywa się bądź: 1) przez toksyny: egzo i endotoksyny, 2) fermenty, 3) produkty przemiany bakteryjnej z wyłączeniem toksyn i fermentów oraz przez 4) działanie bezpośrednie produktów przemiany bakteryjnej.

Toksyny i fermenty obok szkodliwego działania na tkanki posiadają zdolność antygenową, tzn. drażnią organy krwiotwórcze, wzgl. układ siateczkowo-śródbłonkowy i powodują produkcję przeciwciał. W tej chwili interesują nas tylko egzotoksyny, a więc toksyny wychodzące do środowiska, w którym zarazek żyje.

Tu należy wymienić: błoniec, tężec, szleściec, botulinus, pyocyaneus, obrzek złośliwy, czerwone (Shiga Kruse), ponadto niektóre paciorkowce i gronkowce. Natura egzotoksyn dopiero w ostatnich czasach została poznana — specjalnie dyzenterii, tężca i błonicy (Wagner - Jauregg). Są to ciała białkowe

ze wszystkimi własnościami: ciepłowiejność, wrażliwość na aldehydy i halogeny, na działanie mydeł, mogą być denaturowane lub koagulowane, wrażliwe na działanie enzymów proteolitycznych (za wyjątkiem toksyny laseczki kielbasianej i paciorkowca hemolitycznego), adsorbowane przez węgiel i wodorotlenek glinu, wypadają pod wpływem ciężkich metali w niskich koncentracjach i siarczanu amonu w wysokich stężeniach, wrażliwe na zmianę pH, światło, jodynę, środki utleniające itp. (np. Toksyna błonicza składa się z C, N, H, O, S i P. Ciężar cząsteczkowy = 15.000).

Jako ciała białkowe toksyny są dosyć ciężko przeznaczalne, jednak w organizmie zwierzęcym przechodzą — nie bez pewnych trudności — przez błony ustrojowe, np. ściany naczyń włoskowatych. Postępują pewne powinowactwo do organów: tężec do systemu nerwowego błonicy do systemu nerwowego, serca i śluzówki aparatu oddechowego.

Oddawna przyjęto, że cząsteczka toksyny — podobnie jak fermenty posiada dwie grupy działające: haptoforowa, wiążącą się z częścią trwałą komórki (podobnie część białkowa enzymu ma powinowactwo specyficzne do substratu) i toksoforowa, która działa trująco (podobnie działa koenzym). (Według Maxmana toksyna tężcowa nie wykazuje obecności białka nawet reakcją biuretową Millona, a jednak zabija myszkę w rozcie. 1:25.000).

**Działanie trujące** polega na uszkodzeniu struktury protoplazmy i zmianach chemicznych oraz związanych z tym ciężkich zaburzeniach czynnościowych. Główną winę tego działania przypisuje się obecności wolnej grupy NH w pewnych aminokwasach, wchodzących w skład grupy toksoforowej.

Siła zabójcza toksyn jest olbrzymia: błonicy 1:10.000 dla myszek, tężca 1:100.000, jadu kielbasianego 1:400.000, a stracona, oczyszczona, skoncentrowana i sproszkowana 1:400 milionów. Tak mała dawka toksyny jest potrzebna do zabicia ustroju, przyczym zastrzyknięta podskórnie rozdziela się w organizmie i tylko część jej do właściwego miejsca dochodzi. Łączy się z tym teorią troficzna działania toksyny (przez zatałkowanie wg miary powinowactwa życiowoważnych organów przez małą ilość cząsteczek jadu) lub też wg innych — cząsteczki jadu mają działać w sposób lawinowy (teoria wzmocnionego działania), uszkadzając w widocznym sposób parenchymę komórek.

Egzotoksyny odpowiadają wszystkim warunkom antygenów, a więc: 1) mają zdolność wywoływania przeciwciał; 2) wszystkie są kolloidami; poza nielicznymi wyjątkami należą do protein (zresztą tylko te proteiny są antygenami, które zawierają pewne aromatyczne aminokwasy, jak tyrozynę, fenylalaninę, tryptofan, histydynę); 3) są rozpuszczalne w płynach ustrojowych; 4) posiadają specyficzność odpornościową zależną od chemicznej struktury antygeny. Jako antygen działa grupa chwytnikowa toksyny.

Mechanizm można sobie przedstawić w ten sposób, że pewne cząsteczki jadu, np. określony przez Ehrlicha łańcuch boczny o sprężowanej konfiguracji tak zmienia pewne ciała białkowe, a mianowicie globuliny w systemie krwiotwórczym i układzie siateczkowo-podbłonkowym, że te ciała nabierają specyficz-

nego powinowactwa do agresora i stają się antytoksyną. Toksoforowa grupa tutaj udziału nie bierze, bowiem odrzuła toksyny (anatoksyna toksoid) zachowują siłę antygenową i wywołują tworzenie się anatoksyn.

Przesącza hodowli tęczowej badamy w różnych rozcieńczeniach na myszkach. Słabe toksyny odrzuca się. Otrzymywane w naszym zakładzie toksyny zabijały myszkę wagi 16 gr w rozcieńczeniu 1:60 — 1:120 tys. w przeciągu 100 godz.

Wykorzystując wrażliwość części toksycznej na działanie środków chemicznych prądu elektrycznego, światła, mydła itd. Ramon francuski lekarz wet. prof. Instytutu Pasteura, wykorzystał to zjawisko do otrzymywania anatoksyny błoniczej, która milionom dzieci we Francji, a następnie w całym świecie uratowała życie, względnie uchroniła od tej ciężkiej często śmiertelnej kończącej choroby. Po triumfalnych sukcesach w walce z błonicą, Ramon skończył zaatakował pozycję tęczca. Przesącza hodowli tęczowej po dodaniu 3% formaliny i po przetrzymywaniu w ciepłarni w ciągu 21 do 28 dni traci całkowicie swą własność toksyczną, a zachowuje zdolność uodparniającą, jako pełny antygen: zastrzyknięty człowiekowi w ilości od 1 do 2 ccm podskórnie dwukrotnie w odstępie miesiąca pozostawia po pewnym okresie wylegania długotrwałą odporność, którą trzecim zastrzykiem możemy przedłużyć teoretycznie do końca życia. Aby wzmocnić odporność Ramon stosuje dodatki: u ludzi zabite drobnoustroje lub mieszaninę różnych szczepionek, służących do uodparniania przeciwko innym chorobom, np. we Francji obowiązuje od 1936 r. szczepienie w wojsku wszystkich rekrutów mieszaniną szczepionek przeciwko durom rzekomym, durowi brzuszemu w połączeniu z anatoksyną błoniczą i tęczową. W czasie pobytu we Francji obserwowałem wyniki szczepienia u żołnierzy w moim pułku (1 P.A.C.). Reakcja naogół występuje nieznaczna, cechuje się niewielkim obrzękiem w miejscu zastrzyku i podniesieniem ogólnej ciepłoty ciała o 1°. Żołnierze nie równo reagowali: od takich, którzy wogóle objawów działania szczepionki nie zdradzali, poprzez obrzęk w miejscu zastrzyku do wystąpienia objawów ogólnych włącznie. Ostatnich był stosunkowo niewielki odsetek. W Anglii szczepienie w wojsku już przed wojną było zalecane. Niemcy wprowadzili szczepienie na szerszą skalę dopiero w czasie ostatniej wojny.

Anatoksyna tęczowa zdobyła sobie piękną ocenę nie tylko w odniesieniu do błonicy i tęczca, ale zaczęto ją rozpowszechniać w zastosowaniu do wszystkich chorób wywołanych przez drobnoustroje produkujące toksyny.

Rodzi się teraz pytanie, jak ocenić wartość odpornościową anatoksyny.

Utratę własności toksycznych sprawdzamy na świnkach morskich, które zależnie od wagi ciała otrzymują 5—10 ccm<sup>3</sup> anatoksyny podskórnie. Jeżeli w ciągu kilku dni świnka nie wykaże objawów tęczca, przyjmujemy zanik grupy toksycznej za fakt, a pozostaje nam określić jaki stopień odporności nabyły szczepione świnki. W tym celu zastrzykujemy im 50 do 100 D.L.M. toksyny tęczowej, co świnki winny znieść bez-

karnie. Do dalszej pracy bierzemy tylko butle o najwyższej sile uodparniającej.

Jak więc widzimy jest to metoda czysto biologiczna, stuprocentowo pewna. Mankament, że wymaga sporo czasu i zwierząt doświadczalnych, spowodował, że Ramon wykorzystał praktycznie oddawna przez wielu autorów zaobserwowane zjawisko łączenia się antygeny ze swoistym przeciwciałem.

Już Danysz (1902) obserwował tworzenie się kłaczków precypitujących w naturalnej mieszaninie ryecyny i antyrycyny. Nad powyższym zjawiskiem pracowali również Calmette, Massot, Nicolle, Cesari Dean, Webb, Debains, Loewenstein i wielu innych, ale praktycznie zastosował odczyn kłaczkowania do mierzenia wartości antygenowej anatoksyny błoniczej Ramon. Autor ten, dodając do jednakowej ilości toksyny zmniejszając się dawki antytoksyny, zanosiwał (po ogrzaniu mieszaniny w łaźni wodnej do 44°C w ciągu 1/2 — 1 godz.) powstawanie kłaczków, przy czym zauważył, że kłaczkowanie powstawało najpierw w próbkach zawierających równą proporcję toksyny i antytoksyny. Próbkę taką nazwał „indykatorem“, a sam odczyn „floculation“ (kłaczkowanie). Jeśli sła antytoksyn jest znana w jednostkach antytoksycznych, to możemy określić siłę toksyny odpowiadającej wartości surowicy. Kłaczkowanie mogą się również ukazać w próbkach zawierających nadmiar lub niedomiar surowicy. Ilość toksyny, która w połączeniu z jedną JA surowicy najszybciej kłaczkuje, nazwał Ramon Lf (doza kłaczkująca) toksyny.

Do każdej próbki dajemy po 3 ccm toksyny i różne ilości surowicy o znanej ilości jednostek 0,18 — 0,06 ccm). Po zmieszaniu wstawiamy do łaźni wodnej i ogrzewamy w 45°C. Probówka, która ukaże pierwsze kłaczkowanie, daje odpowiedź właściwą. Przypuścimy, że w próbce, zawierającej 0,12 ccm surowicy o sile 1 ccm = 300 JA, a więc 36 JA ukaże się kłaczkowanie, to 3 ccm toksyny odpowiadają wartości 36 JA surowicy. A więc na 1 JA surowicy wypada 0,0833 ccm toksyny i to jest Lf (dawka kłaczkująca) toksyny. Jeśli Lf toksyny jest znane, a nie znamy wartości surowicy, to możemy ten rachunek odwrócić i określić miano badanej surowicy. W praktyce ten eksperyment służy do mianowania próbnego, a znając zgrubsza granice, przez dalsze rozcieńczenia dostajemy ścisłą odpowiedź.

Odczyn kłaczkowania odnosi się również do anatoksyny i znalazł szerokie zastosowanie przy mianowaniu anatoksyny błoniczej w całym świecie. Inaczej jest nieco z anatoksyną tęczową. Ramon twierdził, że przy pomocy posiadanej przez siebie „serum etalon“ (surowicy wzorcowej) nieco trudniej i powolniej, ale w końcu mianuje odczynem kłaczkowania anatoksynę tęczową.

Sądze, że do obecnej wojny najwięcej badań w tym kierunku poza Francją przeprowadzono w naszym Zakładzie, bowiem kilkaset prób z uwzględnieniem roli pH anatoksyny tęczowej, koncentracji surowicy, czasu trwania ogrzewania w łaźni lub ciepłarni, równoczesne kontrolowanie wartości antygenowej drogą biologiczną — rzuciło dużo światła na problem odczynu

klączkowania. Odpowiedź jest prosta: a) zarówno toksyna, jak i anatoksyna tężcowa niechętnie klączkuje z homologiczną, nawet wysoko wartościową surowicą, b) czas trwania obserwacji jest kilkakrotnie dłuższy, niż przy anatoksynie błoniczej — klączki ukazują się po długim wstępnym okresie opalizowania mieszaniny, c) niezbędna jest do otrzymania pomyślnego wyniku odczynu wysoko wartościowa surowica wzorcowa.

Przygotowaną anatoksynę tężcową rozlewaliśmy do ampulek uprzednio dodając 1/2% zmielonej i wyjałowionej tapioki. Jest to dodatek nie specyficzny, mający na celu przez zwiększenie leukocytozy w miejscu zastrzyku stworzyć barierę, przez którą z trudem sączący się antygen powoli wdiera się do organizmu; odporność powstaje później, ale dłużej trwa. I tutaj leży cel i powód stosowania dodatków niespecyficznych.

#### Szczepienia ludzi

Zapobiegawczo zaleca Ramon - Zoeller trzykrotną iniekcję anatoksyny: 1—2 i 2 ccm w przerwach co 3 tygodnie. Pożądana jest jak najdłuższa przerwa między drugim a trzecim zastrzykiem (injection rapel). W anatoksynie tężcowej u ludzi, aby uniknąć bolesnych obrzęków, stosuje się jako dodatek dwuchlorek wapnia lub miesza się anatoksynę z innymi szczepionkami zawierającymi drobnoustroje, a więc spełniające podwójną lub potrójną rolę jak to widzieliśmy w szczepionkach stosowanych we Francji, gdzie 2 ccm. zastrzyk kombinowanej szczepionki uodparnia równocześnie przeciwko tężcowi, błonicy, duru rzekomym i durowi brzuszemu.

Wzorem Francji Armia Brytyjska wprowadziła w 1939 roku dobrowolne szczepienia wśród lotników (R.A.F.): żołnierz otrzymał 2 dawki anatoksyny w przerwie 6-cio tygodniowej, a następnie co rok (w okresie wojny) dodatkowy zastrzyk anatoksyny. W wypadku zranienia zastrzykiwano 3000 JA surowicy przeciw tężcowej, a to dla uniknięcia pomyłki i zastosowania surowicy u tych żołnierzy, którzy nie poddali się dobrowolnemu zapobiegawczemu szczepieniu anatoksyną. Szczepienia te zostały rozciągnięte również na Dominia oraz posiadłości angielskie (Australia, Nowa Zelandia, Indie, Afryka Południowa, Kanada itp.). W armii kanadyjskiej np. obowiązywało szczepienie mieszaniną anatoksyny ze szczepionką przeciwdurową: trzy dawki po 1 ccm z przerwą co 3 tygodnie, co rok szczepienie dodatkowe, powtarzane w wypadku zranienia lub większej kontuzji.

W armii amerykańskiej wprowadzono szczepienia przeciw tężcowej w podobny sposób. 3 zastrzyki po 1 ccm<sup>3</sup> w przerwie co 3 tygodnie. Dodatkowy zastrzyk stosowany jest po roku lub przed odjazdem na front. W wypadku zranienia żołnierza uprzednio szczepionego anatoksyną tężcową nie stosuje się surowicy, lecz ponowny zastrzyk anatoksyny tężcowej. Podobnie postępuje się przy rozległych oparzeniach lub przy ponownym zabiegu chirurgicznym. W sumie we wszystkich wypadkach zastąpiono tutaj surowicę przeciw tężcową-anatoksyną. Każdy żołnierz posiada na swoim znaku indentyczności zaznaczoną grupę krwi oraz datę szczepienia anatoksyną tężcową.

W Szwajcarii z inicjatywy profesorów Silber—Schmidta i Moosera rozpoczęto szczepienia armii federalnej na wiosnę 1940 r. anatoksyną z dodatkiem szczepionki przeciwdurowej trzykrotnie co 15 dni 1, 2 i 2 ccm anatoksyny tężcowej. Szczepienie dodatkowe przewidziane było w wypadku kontuzji lub rany.

W Portugalii analogicznie jak w Szwajcarii przeprowadzono również szczepienia zapobiegawcze żołnierzy mieszaniną anatoksyny tężcowej i szczepionki przeciwdurowej.

Interesujące wyniki szczepień obserwowano w czasie ostatniej wojny po kampanii we Flandrii (1940), kiedy to zanotowano 8 wypadków tężca na 1800 rannych żołnierzy angielskich, którzy nie byli uprzednio szczepieni, podczas gdy na 16000 ranionych, a uprzednio uodpornionych żołnierzy nie obserwowano ani jednego wypadku tej choroby. Long w publikacji z 1944 r. podaje, że od czasu zastosowania szczepień przeciw tężcowych w armii amerykańskiej w przeciągu 2 1/2 roku zanotowano zaledwie 9 wypadków tężca; przy czym 2 tylko wypadki obserwowano u żołnierzy, u których przeprowadzono szczepienie całkowicie.

Szczepienia przeciw tężcowej wojska przymusowe we Francji, Ameryce, Szwajcarii, Portugalii, dobrowolne w Anglii, Kanadzie, Dominach i posiadłościach angielskich, a rozpoczęte już w Rosji Sowieckiej i w Niemczech — znaleźć winny naśladownictwo i u nas, bowiem już pierwsze próby w 1932 r. przeprowadzili w tej dziedzinie Saski i Stetkiewicz z Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie. Autorowie ci przeprowadzili próbne szczepienia 1332 żołnierzy jednego z oddziałów w Warszawie mieszaniną anatoksyny tężcowej ze szczepionką durową. Spostrzeżenia tych autorów co do występowania objawów poszczepiennych nie różniły się od cytowanych w piśmiennictwie francuskim. Wartość nabytej odporności oceniano na podstawie ilości znalezionych przeciwciał surowicy szczepionych żołnierzy. Część żołnierzy szczepiono anatoksyną samą. Lepsze wyniki pod względem zawartości anatoksyny we krwi stwierdzili u żołnierzy szczepionych jednocześnie anatoksyną i szczepionką durową. Jak się później okazało ocena taka nie daje pełnej odpowiedzi na pytanie czy ustrój jest uodporniony (w wypadku braku antytoksyny we krwi szczepionego żołnierza). W czasie szczepień próbnych koni wydawało mi się bardzo ryzykownym, tylko na badaniu surowicy krwi opierać ocenę wartości uodparniających anatoksyny; dokładne i na bogatym materiale przeprowadzone doświadczenia wykazały, że ustrój może, lecz nie musi swej odporności przez krew wykazywać. Mianowicie od koni dwu lub trzykrotnie szczepionych anatoksyną pobierano próbki krwi, aby starym zwyczajem zbadać ile przeciwciał w jednostkach antytoksycznych posiada 1 ccm krwi. Okazało się, że u większości koni w ogóle nie można było nawet śladu przeciwciał wykryć, a tymczasem konie natychmiast zakażone bądź hodowlą tężcową, bądź czystą toksyną znosiły bezkarnie 100 i więcej dawek śmiertelnych (dla koni kontrolnych). A więc uzyskiwały pełną odporność, mimo że w surowicy tego nie można się było dopatrzeć, a przecież to jest najważniejsze, aby ustrój

zniósł zwycięsko zakażenie. Wyniki zostały całkowicie w późniejszym czasie potwierdzone przez Lemelayera, Richtersa i innych.

Uodparnianie matek w czasie ciąży powoduje dostateczną ochronę przed tężcem porodowym u matek i pępkowym u noworodków; antytoksyny przeciwtężcowe przechodzą z krwi matki przez łożysko do płodu i dziecko rodzi się z odpornością bierną, trwającą 2—3 miesiące (Nattan-Larrier, Ramon, Grasset).

Bigler-Werner polecają dla niemowląt i małych dzieci stosowanie przeciwko tężcowi i błonicy dwóch zastrzyków po 1 ccm, albo trzech po 0,5 ccm kombinowanego toksoidu, przy czym wolą przerwę między szczepieniami 3 lub więcej miesięcy.

Park usiłował stosować wcierkę anatoksyny w mieszaninie z lanoliną. Wg. Loewensteina 4—5 wcierek co tydzień uodparniało około 70% wrażliwych dzieci. Zastosowanie powyższej maści ma miejsce w tych wypadkach, gdzie iniekcje nie mogą być stosowane.

Glenny zwrócił uwagę, że dodatek do toksoidów 0,01 do 0,1% azumu potasowego wzmacnia siłę odpornościową mieszaniny. Glenny-Barr dodają 1—2% azumu, który strącał toksoidy. Zawieszinę ponowną przygotowują w roztworze soli zawierającej 1/2% fenolu. Im większy procent azumu, tym większa czystość toksoidu, ale mniejsza wydajność; zastrzyknięty podskórnie powoli się resorbuje ale pozostawia dłuższą odporność. Zdaniem powyższych autorów istnieje możliwość stosowania jednego tylko zastrzyku, wystarczającego do nabycia odporności, podczas gdy anatoksyna Ramona jest eliminowana z organizmu zanim ukażą się przeciwciała i dlatego powtórna podniecia jest niezbędna dla produkcji antytoksyn, a trzecia dla przedłużenia czasu trwania odporności. Ramon, Descombey natomiast twierdzą, że jednokrotna iniekcja bez względu na koncentrację anatoksyny jest niewystarczająca dla uzyskania pełnej odporności przeciwko tej chorobie.

#### Szczepienia koni w armii Polskiej

Zanim zaczęliśmy w 1933 r. stosować masowe uodpornienie koni w armii, wartość anatoksyny tężcowej została sprawdzona na kilkudziesięciu koniach w Centrum Wyszkolania i Badań Wet. w Warszawie. Konie te uodporniono dwukrotnie anatoksyną tężcową z tapioką po 10 ccm podskórnie na szyi w odstępie jednego miesiąca, po czym po kilku tygodniach zakażono konie drzazgami, nasączonymi mieszaniną zarodnikujących laseczek tężcowych z dodatkiem prątków ropy błękitnej. Wszystkie konie przetrwały zakażenie, kontrolne padały trzeciego do siódmego dnia. Anatoksyna więc zdała egzamin.

W marcu 1933 r. na zarządzenie ówczesnego Szefa Służby Weterynaryjnej plk. dr K. Zagrodzkiego zacząłem szczepić jako pierwszy oddział konie należące do oficerów Wyższej Szkoły Wojskowej w Warszawie. Technika szczepień prosta. Na lewej lub prawej stronie szyi, mniej więcej w jednej trzeciej górnej części

należy wystrzyć miejsce o średn. 4—5 cm. Po dokładnym odczyszczeniu benzyną, spirytusem lub jodbenezyną wstrzykujemy podskórnie 10 ccm<sup>3</sup> uprzednio dokładnie zmieszanej i podgrzanej do ciepłoty ciała anatoksyny tężcowej. Drugi zastrzyk w tej samej ilości stosujemy po 1 miesiącu, trzeci w rok po drugim szczepieniu. Należy przestrzegać jak największej jakości pracy. Przy masowym szczepieniu urządzamy się w ten sposób, że używamy 2—3 tuzinów igieł, które bez przerwy gotują się w sterylizatorze i kolejno są używane. Przy szczepieniu niewielkiej ilości zwierząt można wymieszać tapiokę w ampulce nawet tą samą igłą szczepienną bez uciekania się do długich, specjalnie do masowej o szybkiej pracy obmyślonych igieł. Przy dobrym zmontowaniu pomocy oraz pewnej wprawie można zaszczyć około 200 koni na godzinę.

**Objawy poszczepienne.** W 1938 r. kiedy po 5 latach sukcesywnych szczepień całe pogłowie koni w armii z uwzględnieniem napływających rok rocznie remontów (łącznie ponad 60.000 koni) zostało uodpornione, dokładnie zebrana statystyka, oparta na bezstronnych opiniach oddziałowych lekarzy wet., którzy sami przeprowadzili drugie i trzecie szczepienie, pozwoliła ustalić, że obrzęki w miejscu szczepienia występują u około 10 % koni, przy czym procent ten zmniejsza się u koni ras zimnokrwistych, ciężkich, a zwiększa się u pełnej krwi. Ropnie występują tylko w bardzo rzadkich wypadkach, jako wynik niedociągnięć w jakości pracy w masowym szczepieniu. Inne objawy, jak kalkudniowa kulawizna, lub przejściowe wypadnięcie włosa, jak to w kilku wypadkach na 180.000 zastrzyków zaobserwowano, zależały w pierwszym wypadku od zbyt nisko wybranego punktu szczepienia, wskutek czego opuszczający się obrzęk uniemożliwiał swobodny ruch kończyny, lub też w wypadku drugim — od indywidualnej wrażliwości ustroju. Podwyższenie ciepłoty ciała przeciętne o 1° notowano w rzadkich wypadkach.

A jaki był wynik szczepień? Krótko mówiąc po trzecim szczepieniu nie padł na tężec ani jeden koń.

Po drugim szczepieniu zanotowano 3 wypadki tężca, zresztą wszystkie uleczono przy pomocy surowicy. Dodac przy tym należy, że dokładnie przeprowadzone dochodzenie nie potwierdziło pewności, że konie te jako prywatnie używane do celów służbowych były istotnie dwukrotnie uodpornione anatoksyną tężcową.

Problem tężca jako niebezpieczeństwo, przestał istnieć. Powoli narastająca odporność zmusza nas do pewnej ostrożności w odniesieniu do niebezpiecznych tam w okresie między pierwszym i drugim szczepieniem, to też stosujemy tutaj jeszcze zapobiegawczo surowicę, natomiast po drugim, a zwłaszcza po trzecim szczepieniu użycie surowicy przy ranach jest całkowicie zbędne. Na podstawie osiągniętych wyników należy stwierdzić, że trzykrotne szczepienie anatoksyną tężcową daje ustrojowi pełną odporność i zabezpiecza przed tą chorobą. Na jak długo? Czy istotnie do końca życia zwierzęcia? Na te pytania dopiero obserwacje dłuższe w przyszłości będą mogły dać konkretną odpowiedź.

## TADEUSZ KOBUSIEWICZ

LES VACCINATIONS ANTITÉTANIQUEES CHEZ  
LES HOMMES ET LES ANIMAUX PAR L'ANATO-  
XINE ANTITÉTANIQUE.

## Résumé

Après des études de plusieurs années sur la production de l'anatoxine tétanique et selon les auteurs français l'auteur a vacciné plus de 60.000 chevaux de l'Armée polonaise. Deuxième inoculation suivie après l'intervalle d'un mois. La troisième inoculation (injection de rappel) ne fut effectuée qu'un an plus tard. Chaque piqûre fut 10 cm. La deuxième et troisième inoculation furent exécutées par les vétérinaires des régiments. Tous les chevaux de l'Armée polonaise ont été immunisés contre le tétanos.

Réactions vaccinales: Les injections d'anatoxine sont, en règle générale, bien supportées par les chevaux. Les réactions se bornent à un oedème transitoire qui apparaît au point d'injection (environ 10% des chevaux) et à une ascension thermique passagère sans retentissement sur l'état général. Cependant, des réactions locales marquées (oedèmes volumineux et, plus rarement, abcès d'importance variable et hyperthermie) ont été parfois constatées. Elles sont liées à l'insuffisance des précautions d'asepsie prises au moment de l'injection; d'autres symptômes comme chute de cheveux etc. — à l'hypersensibilité des sujets à l'égard des antigènes tétaniques.

Résultats: Après la deuxième injection trois cas de tétanos ont été seulement remarqués: tous guéris par la séro-anatoxino-thérapie. Après la troisième inoculation aucun cas de tétanos ne fut remarqué.

Selon l'auteur l'anatoxine tétanique a passé son examen au point de vue sa valeur immunisante.

## Piśmiennictwo

1. Amoureux: Rev. Immunol. Nr 3—4, 1943.
2. Boyd, MacLennan: Lancet, S. 745—749, 1942.
3. Condrea: C.R. Soc. Biol. Tom 112, S. 1499.
4. Descombey: Ann. Inst. Past. Tom 45, S. 373.
5. Kobusiewicz: Wiad. Wet. Nr 171, R. 1934.
6. Kobusiewicz: Wiad. Wet. Nr 192, r. 1936.
7. Kobusiewicz: Biulet. Sekc. Wet. Tow. Wiedz. Wojsk. Nr 7, r. 1936.
8. Kobusiewicz: Wojsk. Przegl. Wet. Nr 3, r. 1938.
9. Kobusiewicz: Med. Wet. Nr 3, r. 1947.
10. Legroux - Ramon: C.R. Soc. Biol. Tom 113, S. 861.
11. Lemetayer: C.R. Soc. Biol. Tom 112, S. 1677.
12. Lemetayer, Deshayes: C.R. Soc. Biol. Tom 107, S. 1473, r. 1931.
13. Lemetayer, Eichhorn: C. R. Soc. Biol. Tom 121, r. 1936.
14. Long: Amer. Journ. Publ. Health, 34, 1944.
15. Ramon, Descombey, Lemetayer: Ann. Inst. Past. Nr 4, 1931.
16. Ramon, Lemetayer: C.R. Soc. Biol. 112, S. 139.
17. Ramon, Lemetayer, Richou: C.R. Soc. Biol. T. 111, S. 870.
18. Ramon, Amoureux, Pochon: Rev. d'Immunol. Nr 1—2, 1942.
19. Ramon: La Presse Méd. Nr 23, 1944.
20. Regamey, Grumbach: Schweiz. Med. Woch. 71, 643, 1941.
21. Richou, Holstein: Bull. Acad. Vet. Nr 15, 1944.
22. Richou, Masson: Bull. Acad. Vet. Nr 2, 1945.
23. Saski - Stętkiewicz: Med. Dośw. i Społ. T. 17, S. 355.
24. Topley - Wilson: Principl. of. Bactr. Immun. T. 1, S. 160.
25. Valcarenghi - Richou: C.R. Soc. Biol. T. 114, S. 597.
26. Vincent: C.R. Soc. Biol. T. 113, S. 275.
27. Zagrodzki: Wiad. Wet. S. 409, 1933.
28. Zoeller: An. Inst. Past. S. 879, 1927.

## ABDON STRYSZAK

Sopot

Studia epizootologiczne nad gruźlicą bydła w Polsce  
ze szczególnym uwzględnieniem próby tuberkulinowej śródskórnej

Les études épizootologiques sur la tuberculose du bétail en Pologne avec prise en considération particulière de la tuberculisation intradermique.

(Ciąg dalszy)

Grubość a także jakość skóry wywiera bezsprzecznie pewien wpływ na nasilenie reakcji. Znana jest rzeczą, że reakcje po zastrzykach tuberkuliny w skórę łopatki są nieco słabiej wyrażone aniżeli na szyi. Ciekawym przyczynkiem do wyjaśnienia roli jakości skóry stanowi wynik tuberkulinizacji w maj. M. Stado to było tuberkulinizowane metodą śródskórną po raz pierwszy w 1938 r. przez miejscowego lek. wet. i okazało się całkowicie wolne od reagentów. W 1943 roku właściciel stada zwrócił się do mnie o ponowne przeprowadzenie próby. Stado liczyło łącznie z mło-

dzieżą 52 sztuki, ponadto przebadano jeszcze 12 krów służby folwarcznej. Stado majątkowe składało się z bydła zarodowego rasy nizinnej i odznaczało się doskonałą kondycją i dużą wydajnością mleka przy bardzo wysokim procencie tłuszczu. Zwierząt podejrzanych o gruźlicę badaniem klinicznym nie stwierdzono. Do próby użyłem tuberkuliny puławskiej o sprawdzonej aktywności. Grubość skóry przed zastrzykiem wynosiła u sztuk dorosłych 7—9 mm., a u młodzieży 5—6 mm. Zamierzałem tuberkulinę wstrzyknąć do skóry łopatki, jednak już przy drugim zwierzęciu musiałem odstąpić od tego zamiaru. Skóra okazała się w tym miejscu tak ścisłą, że niepodobniestwem było