

ki, przeważnie w formie streszczeń z prasy amerykańskiej, dotyczące stosowania najmniejszych związków sulfamidowych przy zgnilec. Jednakże poważniejsi autorzy i badacze francuscy jak E. Trubert, dr R. Mareaux, L. Andral, P. Jouve są raczej b. ostrożni w sądach, a często wręcz przestrzegają przed szerszym stosowaniem i zbytym entuzjazmowaniem się nową metodą. Obecnie rozpoczął druk swej pracy P. Herguelin, jednak dotychczas ukazała się dopiero jej część wstępna, tak, że trudno jeszcze przewidzieć jakie wnioski wyciąga ten autor ze swych doświadczeń. Niewątpliwie najbardziej entuzjastycznie nastawiona jest prasa amerykańska, chociażby ze względu na swe prawo pierwszeństwa do wynalazku w tym względzie. W dzisiejszym stanie badań trudno jest przewidzieć jakie ostatecznie będą ich rezultaty. Być może, że po pewnych modyfikacjach, czy ulepszeniach będzie ona w powszechnym użyciu dlatego też doświadczeń w tym względzie w odpowiednich warunkach i pracowniach nigdy nie będzie za mało, jednak do rozpowszechniania leczenia zgnilca sulfamidami stanowczo jest za wcześnie, a wszelkie samodzielne próby więcej szkody, jak pożytku przynieść mogą. Obecnie chodzi pszczelnictwu naszymu nie o problematyczne zalecenie choroby, a o trwałe jej wytrzebiecie, co przy obecnym stanie wiedzy jedynie, przez ścisłe przestrzeganie przepisów ustawy i dokładne wykonanie zarządzeń, zrozumienia i uświadomieniu ogółu pszczelarzy da się przeprowadzić.

W końcu dodam, iż o ile chodzi o Zakład Chorób Pszczół w Gorzowie to doświadczenie z sulfamidami prowadzone jest już od wiosny tego roku, natomiast krótki artykuł na temat stosowania sulfamidów przy

zgnilec złośliwym umieściłem w „Medycynie Weterynaryjnej” już w roku zeszłym. Przyznam się, iż jadąc do kraju przygotowałem dłuższy artykuł na ten temat do prasy pszczelarskiej. Jednak po powrocie stwierdziwszy, iż ustawa o zwalczaniu zgnilca już wyszła celowo, nie podawałem wzmianek w tym względzie w potocznej prasie pszczelarskiej, gdyż wprowadzić to zawsze może z łatwością niepotrzebne zgrzyty i rozgoryczenie ze strony pszczelarzy przy wprowadzaniu w życie ustaw. Nie jeden po przeczytaniu takiego artykułu widząc stosowanie w swej pasiece ostrych rygorów sanitarno - policyjnych, a nie będąc dostatecznie uświadomionym co do skuteczności i celowości leczenia postawić może zarzut, że ustawy lub wprowadzające je w życie właściwe czynniki nie pożytek, a szkodę mu przynosząca.

Szersze doświadczenia na ten temat mogłyby być przeprowadzone z korzyścią dla Państwa i pszczelarstwa w razie wprowadzenia przy zwalczaniu zgnilca izolowanych pasiek szpitalnych.

Jeżeli chodzi o zastosowania sulfamidów przy zarazie zarodnikowcowej (Nosemie) to cały szereg prób z rozmaitymi preparatami sulfamidowymi przeprowadziłem już w roku 1942/43, niestety, z wynikiem ujemnym. Obecnie o ile wiem, próby z „Gibasolem” w tym kierunku prowadzone są w Liebefeld w Szwajcarii przez prof. Morgenthalera.

Wzmianki o stosowaniu przy zgnilec penicillinu już też były jednak wobec dużego uczulenia penicillinu na zmienne warunki cieplne, wyniki jak można było przewidzieć, były negatywne, zresztą działanie penicillinu jako środka tylko bakteriostatycznego nie byłoby bardziej zachęcające, jak działanie sulfamidów.

Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach.

Wydział Hodowli i Higieny Zwierząt P. o. Kierownika: dr E. DOMANSKI

EUGENIUSZ DOMANSKI

Reakcja wiązania dopełniacza przy zarazie stadniczej

Complement - fixation test in cases of Dourine

W diagnostyce serologicznej zarazy stadniczej pomocą reakcji wiązania dopełniacza, napotyka się na trudności uzyskania trwałego i czułego antygenu. Z prac Watsona, Schaffera, Dahmena, H. Velu e Zottnera i innych wynika, że zarówno wyciągi wodne jak i alkoholowe z czystego zarazka w zetknięciu z surowicami koni chorych posiadają własność wiązania dopełniacza. Stąd jedni autorzy używali do reakcji jako antygeny wyciągów wodnych (Watson) inni natomiast alkoholowych (Dahmen, Velu e Zottner). Antygen w postaci ekstraktu wodnego okazał się w pracy bardzo niewygodny, wprost uciążliwy ze względu na swą krótkotrwałość w czasie, oraz zmienność miana. Natomiast ekstrakty alkoholowe dzięki wyższej stabilności swych ciał antygenowych

okazały się znacznie wygodniejszymi w pracy, co ma szczególne znaczenie przy przeprowadzaniu masowych prób serologicznych.

Przy użyciu tego rodzaju dwu opisanych antygenów, poszczególni autorzy otrzymali pewne rozbieżności w wynikach przy stosowaniu reakcji. Mianowicie według Watsona, reakcja ta daje 100% wyników dodatnich. Badania Watsona potwierdził Cluca, Semmler, Bessemans et Leynen, oraz Goidsenhoven^{*)}. Natomiast Cominotti, stosując antygen wodny zarów-

^{*)} Autora tego cytuję wg. Cz. Maćkowiaka: „Les réactions sérologiques dans le diagnostic de la dourine”, Paris, Imprimerie, R. Foulon, 1947.

no jak i alkoholowy, znajdował często reakcję ujemną w przypadkach objawów klinicznych, oraz obecności zarazka; i tak np. autor ten w 24-ch przypadkach choroby z towarzyszącymi objawami klinicznymi, otrzymał dodatnią reakcję tylko w 14-tu przypadkach. Dahmen u koni chorych uzyskiwał w 50% reakcję dodatnią i przypisuje reakcji wiązania dopełniacza mniejsze znaczenie diagnostyczne aniżeli reakcji Meinicke. Również stosowana u nas próba w Wydziale Rozpoznawczym P. L. W., jak wynika z ustnej informacji Kierownika Wydziału, dra E. Grycza, daje naogół niezadowalające wyniki.

Mając na uwadze powyższe dane z piśmiennictwa, w pracy niniejszej postanowiono zbadać przede wszystkim antygenowe własności zarazka, a następnie prześledzić drugą część składową reakcji — mianowicie: występowanie ciał dwuchwytnikowych w surowicy chorych koni.

1. Własności antygenowe zarazka.

Zanim przystąpiono do badań nad poszczególnymi ciałami organicznymi zarazka, postanowiono określić swoistość oraz częstotliwość występowania reakcji przy użyciu jako antygeny ekstraktu wodnego zarazka. Postępowanie to oparto na założeniu, że przez wytrząsanie zarazka w wodzie, uzyskujemy stosunkowo największą ilość ciał chemicznie zróżnicowanych.

a) Ekstrakt wodny zarazka (antygen wodny A. W.)

Sposób przygotowania:

Do czystej masy Trypanozomów, uzyskanej drogą dwu lub trzykrotnego wirowania krwi zakażonego psa, dodawano wody destylowanej w stosunku 1:10; następnie po 10–12 godzinach przetrzymywania zawiesiny w chłodni, stawiano ciałko na trzęsawkę na 3–4 g. Wstrząsanie powtarzano jeszcze w drugiej dobie ekstrakowania. Po czym, po odwirowaniu osadu, płyn opalizujący stanowił steżony antygen. Dla konserwacji dodawano formolu w stosunku 0,3%. Powyższy sposób postępowania różnił się od techniki Watsona tym, że przez użycie wody destylowanej uzyskiwano pełniejsze rozbicie ciał pasożytów, aniżeli dzieje się to przy metodzie Watsona, przy której 10% roztwór gliceryny, jako hipertoniczny w stosunku do ciał pasożytów utrudnia ich rozbicie i moim zdaniem, nie daje pełnej ekstrakcji. Antygen w ten sposób przygotowany posiadał wyższe miano antygenowe oraz odznaczał się mniejszymi własnościami antykomplementarnymi, aniżeli otrzymywany metodą Watsona.

Przygotowanie dobrego antygeny wodnego (A. W.), to znaczy czulego serologicznie i nieposiadającego własności antykomplementarnych naogół niezaw sze się udaje; doświadczają tego wszyscy, którzy pracują nad serologią zarazy stadniczej. Liczne próby przygotowywania różnych serii omawianego antygeny, oraz równoczesne reakcje serologiczne z surowicami koni chorych dały mi możliwość poczynienia pewnych spostrzeżeń, które pokrótce można ująć następująco: przy wirowaniu zarazka należy przestrzegać za-

sady — wydzielenia czystej masy zarazka, pozbawionej krwinek, a zachowanej budowie i kształtach pasożytów. Uzyskanie nieuszkodzonych pasożytów możliwe jest, jeśli wirowanie n/c przeciąga się zbyt długo w czasie, w przeciwnym bowiem razie obumarły zarazek częściowo rozpada się i pewna część jego ciała pozostaje w płynach, używanych do płukania. W pracy niniejszej używano masę zarazka poddaną 1-o lub 2-u krotnemu płukaniu w cytrynianie sodu 3,8%. Obecność czerwonych krwinek w masie zarazka daje ekstrakty o własnościach wysoce antykomplementarnych i nie nadające się do reakcji; zaś obecność białych ciałek krwi wpływa ujemnie na trwałość antygenową ekstraktów.

Do reakcji użyto surowic klaczy i ogierów chorych oraz podejrzanych o zarażenie się. Wszystkie podane w pracy przypadki były obserwowane przez autora osobiście**).

Grupa koni chorych: obejmowała ona 112 przypadków Anemmeza oraz objawy kliniczne wskazywały bez żadnych wątpliwości na chorobę. Zakażenia u tych zwierząt miały miejsce w ciągu okresu kopulacyjnego 1946 roku, (luty - czerwiec). Reakcję poraz pierwszy przeprowadzono z początkiem września 1946 roku.

Wyniki, jakie otrzymano, przedstawia poniższe zestawienie:

| Ilość przypadków | Ilość reakcji dodatnich (++++) | Ilość reakcji dodatnich (+) oraz (-) | Ilość reakcji ujemnych (++) w % | Ilość reakcji dodatnich (++++) w % |
|------------------|--------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| 112 | 89 | 13 | 8 | 91 |

Grupa koni podejrzanych o zarażenie się:

obejmowała ona 71 klaczy, krytych chorymi ogierami w okresie kopulacyjnym luty—czerwiec 1946 r.; z grupy tej, jak wykazuje tabelka I. — 20 klaczy nie wykazujących objawów klinicznych w pierwszych przeglądach 1946 roku dały reakcję dodatnią, a mianowicie: przy pierwszym badaniu krwi Nr Nr: 1, 2, 4, 5, 8, 10, 11, 12, 16 i 17, oraz w następnych okresowych badaniach Nr Nr: 3, 6, 7, 9, 13, 14, 15, 19, 20 i 21. U części klaczy, które reagowały dodatnio wystąpiły później objawy kliniczne. Pozostałe z tej grupy klacze, które nie reagowały serologicznie, przy przeglądach miesięcznych do sierpnia 1947 roku nie wykazywały objawów klinicznych (bliższe dane wykazuje tabelka Nr. I.).

W tabelce wykazano również ogiera (Nr 18), który mimo wszelkiego braku objawów klinicznych zakażał kryte przez siebie klacze.

***) Przypadki pochodziły z wojew. pomorskiego z powiatów: Bydgoszcz, Świecie, Inowrocław, Włocławek oraz z wojew. poznańskiego z pow. Kolo.

Wyniki przytoczone powyżej wykazują, że ekstrakt wodny zarazka zawiera pod względem antygenowym ciała swoiste, które z surowicami koni chorych przy jednorazowym badaniu dały dodatnią reakcję wiązania dopełniacza w przeszko 90% przypadków; w grupie zaś koni podejrzanych o zarażenie się, reakcja przy użyciu antygeny wodnego przez okresowe badanie krwi umożliwiła w 100% wykrycie osobników zakażonych. Następnie, zgodnie z literaturą stwierdzono, że ekstrakty wodne, w miarę przetrzymywania ich tracą na wartości antygenowej. Ekstrakty te po 20 — 25 dniach przechowywania w chłodni naogół nie nadawały się już do reakcji. Utręty wartości antygenowej ekstraktów w czasie nie udaje się ująć krzywą matematyczną, dlatego też należy je co najmniej co 5 dni poddawać dokładnemu miareczkowaniu. W przeciwnym razie wyniki otrzymane mogą być niewiarygodne.

b). Ciała lipidowe zarazka (antygen alkoholowy A. A.).

Nietrwałość substancji wyciągowych wodnych i związane z tym trudności techniczne były powodem, że niektóre pracownie do badań masowych zaczęły używać jako antygeny ekstrakt alkoholowy, zawierającego ciała lipidowe, okazujące większą trwałość na przechowywanie. Postanowiono przeto zbadać: czy ekstrakty alkoholowe dają te same możliwości wykrywania przeciwciał w surowicy chorych zwierząt, co i ekstrakty wodne.

Sposób przygotowania ekstraktu alkoholowego:

Do czystej masy zarazka dodawano alkoholu 96% w stosunku obj. 1 zarazka — 10 alkoholu. Całość pozostawiono w cieplarni przy 37° C w ciągu 3—4 dni, codziennie wstrząsając. Po tym czasie odciągnano alkohol i do pozostałego osadu dodawano taką samą ilość alkoholu; po 3—4 ch dniach odciągnano alkohol, mieszano obydwie frakcje alkoholu i zagęszczano je do połowy przez odparowywanie. Uzyskany ekstrakt posiadał własności wiązania dopełniacza z niektórymi surowicami chorych klaczy już w stężeniu 0,4%, zachowując swe miano z bardzo małymi wahaniami w ciągu 3-ch miesięcy.

Z przygotowanym w ten sposób antygenem alkoholowym (A. A.), oraz uprzednio opisanym antygenem wodnym (A. W.) przeprowadzono równolegle reakcje z 81 surowicami koni chorych; do reakcji użyto surowic od klaczy, u których już w jednym z poprzednich okresowych badań, przy użyciu antygeny wodnego, stwierdzono reakcję dodatnią.

Wyniki reakcji przedstawia poniższe zestawienie:

| Rodzaj antygeny | A. W. | A. A. |
|-------------------------|-------|-------|
| Ilość reakcji dodatnich | 81 | 27 |
| " " wątpliwych | 0 | 12 |
| " " ujemnych | 0 | 42 |
| r a z e m | 81 | 81 |

Wyniki przytoczonych reakcji wykazują, że ekstrakty wodne zarazka zawierają substancje, które w reakcji wiązania dopełniacza dają znacznie większe

możliwości wykrywania przeciwciał w surowicy chorych koni, aniżeli ekstrakty alkoholowe. Poza tym ekstrakty alkoholowe dają dużo reakcji wątpliwych, które są bardzo kłopotliwe i dla pracowni serologicznej, a tym bardziej dla lekarza w terenie. Wyniki te dają podstawę do wniosku, iż substancje lipidowe zawarte w ekstrakcie alkoholowym posiadają znacznie niższą specyficzną antygenową, w porównaniu do ciał zawartych w ekstrakcie wodnym. Zjawisko to tłumaczy rozbieżność wyników poszczególnych autorów, stosujących do reakcji te dwa rodzaje antygenów.

c) Ciała białkowe oraz wielocukry zarazka i ich własności antygenowe.

Niska specyficzność ciał lipidowych w reakcji i w porównaniu do ciał zawartych w ekstrakcie wodnym, wymagała zbadania:

1. jakie ciała organiczne zarazka posiadają najwyższą specyficzną antygenową dla reakcji.
2. czy przez wydzielenie ciał specyficznych ud. się ustalić ich trwałość antygenową.

W tym celu, z czystej masy zarazka otrzymano frakcje nukleoproteinową^{***)} oraz frakcję wielocukrową i poddano je badaniu na własności antygenowe.

Powyzsze frakcje wydzielono w następujący sposób:

Masę zarazka poddaną lysis w wodzie destyl. zakwaszono kwasem octowym do Ph 4,5; przy dodaniu kw. oct. wypada osad (O), a równocześnie płyn (P) nad osadem wyjaśnia się całkowicie.

Postępowanie z osadem (O): oddzielony osad rozpuszcza się w płynie fizjologicznym, zalkalizowanym lugiem acdowym do Ph 8,5, sączy się i do przesączu dodaje się kw. oct. do Ph 4,5. W następstwie wytrąca się osad złożony głównie z nukleoprotein. Frakcję tę następnie oczyszcza się przez wielokrotne wytrącanie kw. oct. przy Ph 4,5 i następnie rozpuszczanie w płynie fizjologicznym przy Ph 8,5.

Postępowanie z płynem (P): po dodaniu do płynu alkoholu do stężenia 85% wypada strąk, zawierający wielocukry. Wytrącony osad rozpuszcza się w gorącej wodzie i następnie przez kilkakrotne wytrącanie alkoholem i rozpuszczanie w gorącej wodzie oczyszcza się ciała wielocukrowe.

Własności chemiczne frakcji: frakcja nukleoproteinowa dawała dodatni odczyn na białko w rozcieńczeniu 1:1000, oraz dodatni odczyn Fleugena.

Frakcja wielocukrowa w rozcieńczeniu 1:1000 dawa dodatni odczyn Mollicha.

W wyniku badania serologicznego wydzielonych frakcji okazało się, że frakcja nukleoproteinowa posiada własności antygenowe, mianowicie w próbie

***) Z ciał białkowych wydzielono przede wszystkim nukleoproteinę ze względu na ich doniosłe funkcje biochemiczne; badania poszczególnych funkcji białkowych zaniechano z powodu skąpych ilości zarazka.

z 38-a surowicami¹⁾ dodatnimi dała ona wszystkie reakcje dodatnie; natomiast frakcje wielocukrowa nie wykazała żadnych własności antygenowych. Samo również odbiałczenie zawiesiny rozbitego w wodzie destylowanej zarazka, znosi jej własności antygenowe. Dane powyższe wydają się świadczyć że **specyficzność antygenowa zarazka związana jest z ciałami natury białkowej**. W następnych próbach nad frakcją nukleoproteinową, okazało się, że pod względem antygenowym jest ona również nietrwałą i traci jeszcze szybciej własności antygenowe, niż ekstrakty wodne zarazka; mianowicie w ciągu 10-ciu dni. Pragnę przy tym zaznaczyć, że wydzielenie poszczególnych ciał z zarazka połączone jest z dużymi trudnościami technicznymi, ze względu na małe ilości zarazka jakimi można dysponować.

d) Stabilizacja ciał antygenowo czynnych drogą wysuszenia zarazka.

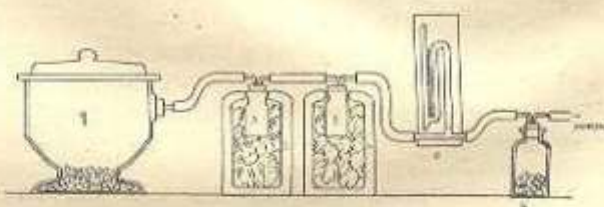
W dążeniu do uzyskania trwałego antygenu zrezygnowano z postępowania na drodze chemicznej ze względu na wspomniane trudności techniczne. Ponadto wydzielenie antygenu na drodze chemicznej kryje w sobie pewne niebezpieczeństwo, mianowicie: każda operacja chemiczna może dokonać pewnych zmian w przestrzennej budowie i orientacji molekuly białkowej, warunkujących specyficzność antygenową. Natomiast opierając się na tym, że ekstrakty wodne z dobrze przygotowanego zarazka zawierają ciała oznaczające się wysoką specyficznością pod względem antygenowym, postanowiono uzyskać ustabilizowanie tych ciał przez pozabawienie zarazka wody (drogą wysuszenia go w stanie zamrożenia pod zmniejszonym ciśnieniem¹⁾). Metodę tę wybrano z tego względu, iż wysuszenie w stanie zamrożenia zapewnia rezystencję liofilnych cech kolloidów komórki i dzięki temu nie niszczy struktury zarazka; następnie, daje ono masę sypką i łatwo proszkującą się. Podczas gdy wysuszenie gęstych zawiesin w stanie płynnym daje masę o konsystencji twardej i skorupastej.

Sposób postępowania:

Suszenie ciał w temperaturach niskich przeprowadza się w vacuo kombinowanym z urządzeniem chłodniczym. Przy obniżeniu ciśnienia w vacuo poniżej 1 mm uzyskuje się stosunkowo szybkie parowanie wody w fazie stałej. W naszych warunkach, nie dysponując podobnym urządzeniem, suszenie masy zarazka przeprowadzano w kolbie, umieszczonej w mieszaninie oziębiającej lodu z solą. Ponieważ za pomocą pompy olejowej, którą dysponowaliśmy, nie można było osiągnąć niższego rozrzedzenia jak 6 do 8 mm, a przy takim ciśnieniu parowanie lodu jest stosunkowo powol-

ne, dlatego w kolbie, zawierającej zarazek stworzono warunki przepływu rozrzedzonego i oziębionego suchego powietrza. Umożliwiło to wysuszenie 5 cm gęstej, śmietanowatej masy zarazka w przeciągu około 60 godzin. Po wysuszeniu otrzymano 1,5 g białej puszystej masy, łatwo rozpadającej się w biały proszek o konsystencji pudru. Po rozтворzeniu wysuszonej masy w płynie fizjologicznym, pasożyty zachowują prawie całkowicie swoją budowę i kształty.

Schemat urządzenia przedstawia się następująco:



- 1 ekspozytor
- 2 10 litrowa termos z mieszalnią oziębiającą
- 3 kula z CCl_4 do suszenia oziębionego powietrza
- 4 kolba zawierająca zarazek
- 5 wacuumeta

Wysuszony zarazek poddano badaniu na własności antygenowe; przebieg badań przedstawiają załączone odpisy protokółów:

Dnia 14. 6. 47 r.:

Uzyskano zarazek od psa i poślano go suszeniu w stanie zamrożenia.

Dnia 18. 6. 47 r.:

Zo sproszkowanego zarazka przyrządzono zawieszoną ekstrakt w sposób nast.: 0,05 g proszku rozłworzono w 5 cm wody destylowanej i pozostawiono na 24 godz. celem uzyskania lysis zarazka. Następnie po krótkim wstrząsaniu i odwirowaniu przy słabych obrotach (dla usunięcia zanieczyszczeń ewentualnie istniejących kłaczek), zawieszinę poddano miareczkowaniu. (Można również zawieszinę przyrządzać w dniu przeprowadzania reakcji serologicznej; w takim razie celem szybkiego uzyskania zawiesiny, celowe jest rozcieranie zarazka z wodą destylowaną w moździerzu agatowym).

Miareczkowanie:

a) z surowicą tjemną:

Rozcieńczenia antygenem 1 proc., 2 proc. — 9 proc. — hemoliza — 100 proc.

b) z surowicą dodatnią:

Rozcieńczenia antygenem: lekko zaznaczona hemoliza 1 proc., prawie całk. zahamowanie 2 proc., całkowite zahamowanie 3—9 proc.

Dnia 14. 7. 47 r.:

przyrządzono zawieszinę z zarazka przygotowanego 14. 6. w identyczny sposób jak powyżej. Antygen zachował niado identycznie jak w dn. 18. 6.

¹⁾ Tę drogę, jak wynika z przytoczonej literatury w pracy Cz. Maćkowiaka (wyżej cytowanej), wybrał również wydaje się prof. Goldsenhoven jednak bliższych danych na ten temat w pracy Maćkowiaka nie podano. O pracy Goldsenhoveņa dowiedziałem się w lipcu 1947 roku, tj. w trakcie sprawdzania własności antygenowych wysuszonego zarazka.

Dnia 15. 8. 47 r.:

przyrządzono zawiesinę z zarazka przygotowanego 14. 6, w identyczny sposób, jak powyżej.

Rozcieńczenia antygeny: 1 proc. — 2 proc. — hemoliza — 25 proc., 3 proc., — 9 proc. zahamow. 100 proc.

Dnia 2. 9. 47 r.:

przyrządzono zawiesinę z zarazka przygotowanego 14. 6, w identyczny sposób jak powyżej. Miano antygeny przedstawia się następująco:

Rozcieńczenia antygeny 1 proc. — 2 proc. — hemoliza 50 proc. — 3 proc. prawie cała zahamowanie, 4 proc. — 9 proc. całkowite zahamowanie.

Antygen przyrządzony z zarazka suszonego, sprawdzany w reakcji z 50 surowicami koni chorych przy równoległej kontroli z antygenem wodnym przyrządzonym ze świeżego zarazka, dał identyczne wyniki jak ten ostatni. Należy przy tym nadmienić, że sporządzona zawiesina - ekstrakt z zarazka wysuszonego zachowuje swoje własności antygenowe w ciągu 15—20 dni, podobnie jak to się dzieje z zawiesinami przygotowanymi z zarazka świeżo wydzielonego.

Dnia 5. 8. 47 r. przyrządzono drugą serię antygeny suszonego w stanie zamrożenia; antygen drugiej serii wykazał miano to samo co antygen pierwszej serii.

Z protokółów tych wynika, że drogą suszenia zarazka w stanie zamrożenia udaje się zachować trwałość jego własności antygenowych na czas dłuższy. Mianowicie, ostatnie dotychczasowe miareczkowanie antygeny wykazało, że zachowuje on w ciągu 80-ciu dni prawie jednakowe miano. W ten sposób przyrządzony antygen ogromnie ułatwia rozpoznawczą pracę serologiczną. Uwalnia przede wszystkim serologa od żmudnego i częstego miareczkowania antygeny, oraz umożliwia we wszystkich pracowniach serologicznych w Państwie, używanie antygeny o jednakowych własnościach.

2. Występowanie ciał dwuchwylnikowych w surowicy koni w ciągu choroby.

W zagadnieniu tym interesuje nas:

a) czas pojawiania się ciał dwuchwylnikowych we krwi od momentu zakażenia, oraz

b) obecność trwała względnie znikanie tych ciał we krwi w ciągu choroby.

ad a) Watson przy zakażeniu eksperymentalnym stwierdził zjawienie się ciał odpornościowych w surowicy już na 11-ty dzień, Ciuca zaś przy zakażeniu naturalnym na 21-y dzień infekcji. W naszych badaniach nie mieliśmy okazji śledzić wczesnych okresów choroby. Natomiast drogą okresowych prób serologicznych mogliśmy stwierdzić w grupie klaczy podejrzanych o zarażenie się, że w niektórych przypadkach reakcja występowała później aniżeli po 5—6, a nawet 8-u miesiącach od czasu zakażenia. Objawy kliniczne u tych przypadków jeśli występowały, to również zjawiały się późno i były nieznacznie wyrażone (zob. tab. I, Nr-y 6, 7, 9, 14 i 15). Niektóre zaś przypadki przebiegały bezobjawowo (tab. I, Nr-y 3 i 13).

Fakt ten opóźnionego zjawiania się ciał dwuchwylnikowych w surowicy zakażonych koni jest bardzo ważny i wymaga uwzględnienia go przy ocenie i stosowaniu reakcji jako podstawy dla akcji zwalczania choroby. Przypadki o takim przebiegu choroby wymagają okresowego badania krwi przynajmniej w przeciągu jednego roku po zakażeniu; w przeciwnym razie mogą ujść uwadze i stać się źródłem infekcji.

ad b) Ciuca (Rumunia) jest zdania, iż reakcja wiązania dopełniacza u koni chorych trwa bez przerwy w ciągu choroby, (dosłownie: dans l'infection naturelle, nous avons constaté la persistance de la réaction pendant toute la durée de la maladie). Watson zaś (Kanada), obserwując 7 klaczy chorych w ciągu 7 lat, stwierdził u 3-ch spośród nich po 5 latach zanik reakcji. Również Dahmen (Niemcy) stwierdzał w późniejszych okresach choroby mniejszy procent reagujących aniżeli we wcześniejszych.

W początkowych próbach naszej pracy (sierpień 1946 r.) zwróciła na siebie uwagę grupa klaczy podejrzanych o chorobę; mianowicie, wśród tej grupy zwierząt istniało szereg przypadków, reagujących ujemnie, a co do których były dane z anamnezy, iż zwierzęta te wykazywały objawy kliniczne choroby w 1945 roku.

Rozporządzając przeło materiałem pewnym pod względem anamnezy i objawów klinicznych postanowiono drogą badań okresowych śledzić występowanie reakcji. Obserwację rozpoczęto na dość licznej grupie klaczy zakażonych w okresie kopolyacyjnym 1946 (luty — czerwiec); w miarę jednak czasu, grupa ta poważnie zmalała na skutek padnięć oraz podania pewnej ilości przypadków leczenia.

Badanie okresowe krwi przeprowadzano mniej więcej w odstępach 3-miesięcznych. Czas obserwacji rozpoczęto we wrześniu 1946 roku; ostatnie dotychczasowe wyniki podano z sierpnia 1947 r.

W wyniku obserwacji udało się stwierdzić trwałą obecność ciał dwuchwylnikowych w surowicy 18 przypadków w grupie klaczy chorych (liczącej 33 przypadków), oraz u 8 przypadków w grupie, traktowanej początkowo jako podejrzanej o zarażenie się, a liczącej 20 przypadków. W pozostałych zaś przypadkach ciała odpornościowe w późniejszych okresach choroby znikaly na pewien okres czasu; aby się znów pojawić (tab. II, Nr-y 3, 8, 16, 29 i 33), względnie też zanikały na dłuższy czas i w okresie obserwacyjnym nie zauważono ich powrotnego zjawienia się (tab. I, Nr-y 2, 3, 4, 5, 9, 10, 13, 19 i 20 oraz tab. II, Nr-y 3, 6, 7, 27, 28, 30, 31 i 32). Zjawisko zanikania reakcji szczególnie wyraźnie występuje u przypadków, ujętych w grupie zwierząt podejrzanych o zarażenie się. Zanikanie reakcji pozostawało najczęściej w korelacji z dobrą kondycją zwierzęcia oraz zanikaniem objawów klinicznych. Wśród tego rodzaju przypadków obserwowano jednak zaostrzenie procesu chorobowego kończącego się zejściem śmiertelnym; kliniczne zaostrzenie procesu chorobowego poprzedzone było powrotnym zjawieniem się ciał odpornościowych we krwi (tab. II, przypadek Nr 33).

Na zjawisko zanikania ciał odpornościowych z krwi, szczególnie w przypadkach łagodnie przebiegającej choroby, zwrócił również uwagę Mačkowiak¹⁾.

Zjawisko zanikania ciał dwuchwytnikowych z surowicy koni w późniejszych okresach choroby (w naszych przypadkach po 6—9 miesiącach choroby) jest powodem, iż odczyn wiązania dopełniacza w tych okresach daje znacznie mniejsze możliwości serologicznego rozpoznania, niż we wcześniejszym okresie tj. w pierwszym półroczu.

W trzech przypadkach wśród grupy zwierząt podejrzanych o zarażenie się, odczyn wiązania dopełniacza w ciągu rocznego okresu obserwacyjnego wystąpił tylko jednorazowo dodatnio (tab. I, Nr-y 13, 19 i 20); przy tym w przypadku Nr 13 przy wszelkim braku objawów klinicznych.

Zachodzi pytanie jak traktować taki przypadek. Na podstawie ogólnie przyjętej w literaturze oceny reakcji jako „wysoce specyficznej (popartej i przez wyniki niniejszej pracy²⁾ oraz dotychczasowych obserwacji o zaniku ciał dwuchwytnikowych z surowicy chorych zwierząt, należy także zwierzę uważać za chore.

Wnioski

1. Ekstrakt wodny zarazka zawiera substancje o właściwościach wysoce antygenowo-swoistych; dzięki tym substancjom ekstrakt wodny, użyty jako antygen, daje 100-procentową pewność diagnostyczną reakcji.

2. Substancje antygenowo-swoiste dla reakcji, pod względem natury chemicznej, należą do grupy ciał białkowych.

3. Ciała lipidowe zarazka odznaczają się pod względem antygenowatym znacznie niższą specyficznością, niżli ciała białkowe. Ciała lipidowe, użyte do reakcji jako antygen, w postaci ekstraktu alkoholowego, dają możliwość wykrywania przeciwciał w surowicy chorych koni tylko u około 30 proc. przypadków.

4. Ciała z grupy polisacharydów nie posiadają własności antygenowych.

5. Stabilizację ciał antygenowo-czynnych zarazka, udało się uzyskać drogą wysuszenia go w stanie zamrożenia; antygen w ten sposób przygotowany, według dotychczasowego ostatniego sprawdzania, zachowuje swoje niezmiennione miano w ciągu 80 dni.

6. W nieliczonych przypadkach zakażenia, ciała dwuchwytnikowe pojawiają się w surowicy stosunkowo późno, a mianowicie po 5—6—8 miesiącach od chwili zakażenia.

7. W późniejszych okresach choroby (po 6—9 miesiącach) u pewnej ilości przypadków ciała dwuchwytnikowe znikają z surowicy na czas przemijający (3—6 miesięcy) względnie na czas dłuższy i bliżej jeszcze nie określony.

8. Zjawiska podane w punkcie 6 i 7 są przyczyną, iż reakcja wiązania dopełniacza przeprowadzona jednorazowo wypada w niektórych przypadkach ujemnie mimo zakażenia.

E. DOMAŃSKI

COMPLEMENT-FIXATION TEST IN CASES OF DOURINE

Summary

The author in the above-entitled work has set himself to investigate the two following problems:

(1) The possibility of obtaining an antigen of constant value with a stable titer.

(2) The appearance of antibodies content in the serum of the horse during the course of the disease.

(1) In the first place the germ was subjected to chemical analysis for the purpose of determining what bodies are distinguished by specific antigenic properties. To this end three groups of substances were separated from a suspension of the germ:

- a) Nucleoproteins,
- b) Lipids, and
- c) Polysaccharids.

These substances were then examined for antigenic properties. It was found that antigenic properties were possessed by nucleoproteinous and lipoidous substances, whereas polysaccharids in contact with the serum of sick horses showed no complement-fixation properties.

In a further examination of the antigenic specificity of substances a test was carried out with the sera of diseased horses, three parallel kinds of antigen being used namely:

- a) a nucleoproteinous substance,
- b) a lipoidous substance in the form of alcohol extract,
- c) an aqueous extract of the germ, for the control of the two preceding antigens.

The nucleoproteinous substances gave results in harmony with those given by the aqueous extracts, whereas the lipoidous substances gave a considerably lower percentage of positive reactions. Aqueous extracts with the serum of sick horses gave positive reaction in about 80% of the cases, while alcohol extracts did so in only about 30% of the cases.

From these findings the author concludes that substances with specifically antigenic reaction are those of a proteinous nature, and owing to its containment of these particular substances an aqueous extract of the virus, used as an antigen, gives a high percentage of positive reactions.

Both the nucleoproteinous substances separated and the aqueous extracts were found to be unstable from the antigenic point of view. The author therefore decided to try and obtain stabilization by a physical method—namely by dehydrating the germ by drying it in a frozen state under diminished pressure (the lyo-

¹⁾ Z wzmiankowaną wyżej pracą Mačkowiaka miałem możność zapoznać się w lipcu 1947 roku.

²⁾ Co do specyficzności serologicznej próby, mogę dodać, że dla sprawdzenia antygenowo-przyprowadzonym reakcję z 20 u surowicami zdrowych koni oraz z 5-ciu surowicami koni, dających dodatni odczyn na nosaczynę — w żadnym z tych przypadków z antygenem zarazy stałniczej reakcji dodatniej nie otrzymałem.

phil method). This gave good results. The dried germ kept its antigenic titer unchanging for 80 days.

(2) With the aim of tracing the appearance of antibodies in the serum of horses during the course of the disease periodic examinations were made of the blood in 53 cases during one year. From these observations the author felt justified in drawing the following conclusions:

a) in some few cases of infection antibodies appear in the serum comparatively late, that is to say 5, 6 or 8 months after infection.

b) In later stages of the disease (after 6—9 months) in a certain number of cases the antibodies disappear from the bloodserum for a some time; namely: among observed cases, 5 mares ceased to react temporary (for 3—6 months — after this time began react again), and 17 mares ceased to react without no reappearance of reaction during observation.

c) These phenomena, a and b, account for the fact that in some cases a complement-fixation test carried out only once gives a negative result despite infection.

Piśmiennictwo.

1. Bessemans A. et Lyenen F. — Valeur de la réaction de Bordet — Gengou appliquée au diagnostic de la Dourine chez le cheval. (C. R. Soc. de Biol., 1923, II, 89, 109).
2. Ciuca A. — La Dourine. (Bull. Int. Epizootie, 1933—1934, 7, 168).
3. Cominotti L. — La deviazione del complemento, la reazione di Sachs-Georgi et la reazione di Meinicke nella diagnosi nel morbo costale maligno. (Clin. Vet. février 1921, steszczenie w B. Inst. Pasteur 1921, 19, 315).
4. Dahmen H. — Die serodiagnostik der Beschälseuche. (A. f. Wiss. u. prakt. Tierheilkunde 1922, 47, S. 319).
5. Goldschöhöven (van Oh) et Schoenaers (F.) — Sur la stabilisation des antigènes utilisés au serodiagnostic des trypanosomiasés (Bull. de la Soc. Belge de Med. Trop. 1944 No 3) podane wg. pracy Cz. Maćkowiaka.
6. Maćkowiak Cz. — Les réactions serologiques dans le diagnostic de la Dourine. Paris, R. Foullon 1947.
7. Watson E. A. — Dourine and the Complement fixation test. Parasitology 1915, 8.
8. Zolner (G) — Possibilité d'obtention d'un antigène alcoolique stable pour le diagnostic des trypanosomiasés animales par deviation du complément. (C. R. Soc. Biol., 1934, 115, 19).
9. Chargaff E.: Methoden zur Untersuchung der chemischen Zusammensetzung von Bakterien. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Urban Schwarzenberg — Wien 1933.
10. Hinsberg u. K. Lang: Medizinische Chemie Urban — Schwarzenberg, Berlin u. Wien 1938.

3. Dział lecznictwa i notat z praktyki

DR STANISŁAW BRONISŁAWSKI

Osięcin

Rumenotomia w schorzeniach przedżołądków u bydła

Rumenotomy in case of diseased first three stomachs in ruminants (continued)

Dokończenie.

Technika przeprowadzenia operacji.

Operację przeprowadzamy na zwierzęciu w pozycji stojącej. U krów wysoko cieśnych, które przy gnieńcu traumatica leżą, operuje się w pozycji leżącej. Krowę ustawiamy prawą stroną ciała przy ścianie, uwiązując jednocześnie linkę założoną na rogi do jakiegoś haka, czy innego wystającego przedmiotu tak, aby można było zawsze linkę zluźnić, gdy zwierzę miało by upaść. Jeden z pomocników trzyma, stojąc za zadem krowy, drąg którym przyoiska zwierzę do śiany. Drugi przechodzi z lewej strony ciała krowy, pod mostkiem na prawą stronę, gdzie końcem zaparty jest o ziemię. Do pomocy trzeba ogółem 4—5 ludzi. Miejsce cięcia chirurgicznego jest mniej więcej równoległe do ostatniego zębra, a oddalone od niego o 5—6 cm. Cięcie zaczyna się w miejscu odległym około 10 cm od wyrostków poprzecznych lędźwiowych. Skórę w miejscu cięcia i szerokiej okolicy

goli się lub strzyże. Następnie zmywa się wodą z mydłem i dezynfekuje. Po przeprowadzeniu toalety robimy znieczulenie infiltracyjne tułoczną lub novocainą. Używamy 1—2 proc. środka znieczulającego w ilości 50—100 cm, lub 5 proc. w ilości 20—25 cm. Wstrzykuje się go w kilku miejscach wzdłuż przebiegającej linii cięcia. Dla wprowadzenia go do mięśni, tkanki podskórnej i skóry należy igłę w momencie wstrzykiwania cofać.

Stosunki anatomiczne w miejscu cięcia są następujące: Skóra, tkanka podskórna i mięśnie: 1) musc. obliq. externus, 2) musc. obliq. internus, 3) musc. transversus abdominis.

Nieznaczone krwotoki powstają z przecięcia kraniowego odgałęzienia art. circumflexa iliū profunda. Odgałęzienie to przechodzi między m. transversus abdominis, a m. obliq. abdominis internus i daje w wyżej wymienionych mięśniach dalsze rozgałęzienia. Dalej mamy fascia transversa abdominalis a leżącą tu: pod nią otrzewną. Pod otrzewną — żwacz. Po przeprowadzeniu anestezji należy poczekać 20 — 30 min.