

maglutynacji w ciągu pierwszego miesiąca po szczepieniu; miano następnie opadło powoli, ulegając wahaniom. Średnie miano badanych w ciągu całego roku kur nie spadło do poziomu ujemnego miana wyjściowego.

2). Doświadczalne kury wykazywały pełną odporność na domięśniowe wprowadzenie zjadliwego wirusa rzekomego pomoru drobiu po trzynastu miesiącach od chwili szczepienia. Na podstawie tych doświadczeń można by przypuszczać, że prawidłowe uodparnianie sześciotygodniowych kurcząt nadaje im przynajmniej roczną odporność.

3). Jak wynika z doświadczeń przeciętne miano hamowania hemaglutynacji u stada było wyrazem jego odporności.

Piśmiennictwo

- 1) Clancy C. F., Cox H. R., Bottorff C. A.: Poultry Sci. 28/1949, str. 58. 2) Hitchner S. B., Johnson E. P.: Med. Vet. 43/1948, str. 525. 3) Kaplan M.: Some important animal diseases in Europe — 1949. Washington DCUSA. 4) Lichaczew H. B., Siurin B. H., Perminow T. A.: Wietlinarija 9/1953. 5) Markham F., Cox H. R., Bottorff C. A.: Cornell Vet. 44/1954. 6) „Odczyn hemaglutynacji i zahamowania hemaglutynacji” — Med. Wet. 5/1949, str. 145. 7) Tekliński M.: Pol. Arch. Wet. T. 1, Z. 1/1951. 8) Tekliński A.: Med. Wet. 1/1951.

JAN NAWROCKI

Odczyn wiązania dopełniacza przy rozpoznawaniu gruźlicy u zwierząt

Z Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej
w Stalinogrodzie
Kierownik: doc. dr JERZY SZAFŁARSKI

Jedną z metod rozpoznawczych gruźlicy u zwierząt i ptaków w terenie jest odczyn alergiczno-tuberkulizacyjny. Odczyn ten stosowany przy masowych badaniach daje dobre rezultaty przy jej zwalczaniu, jednak nie wykazuje on stopnia ani aktywności procesu gruźliczego w organizmie badanego zwierzęcia. Wśród sztuk o odczynie dodatnim są bowiem zwierzęta o rozmaitym nasileniu procesu gruźliczego, łącznie z silnie aktywnymi, postępującymi postaciami gruźlicy, są zwierzęta, które przeszły niedawno zakażenie, a wśród nich również sztuki prątkujące. Badania kliniczne są trudne do wykonania w masówkach, badania zaś bakteriologiczne i na zwierzętach laboratoryjnych wymagają zbyt długiego czasu. Dlatego też różni badacze próbowali zastosować odczyn wiązania dopełniacza dla rozpoznawania gruźlicy u zwierząt, który przy innych schorzeniach zakaźnych znalazł duże zastosowanie i dzięki niemu można było opanować i zlikwidować wiele chorób jak np. nosaicę, zarazę stadniczą i brucelozę.

Badania w tym kierunku zapoczątkowali Bordet i Gengou (1903) oraz Wassermann i Bruch (1906), używając jako antygenu zawiesiny prątków gruźlicy w fizjologicznym roztworze NaCl. Wassermann jednak w swoich badaniach nie znalazł silnych wiązań, mimo to jednak podkreślał, że taki odczyn ma miejsce. Słabe nieswoiste próby wiązania uważał on za powstałe pod wpływem ciał tłuszczowych zarazków i aby temu zapobiec rozpuszczał te ciała tetraliną. Antygen jednak w ten sposób przyrządzony okazał się jeszcze słabszy. Dlatego też w celu zwiększenia jego zdolności wiązania dodawał do antygeny lecytynę. Rabinowicz, Wanabe, Schneideman i Pinner wykazali jednak, że obecność lecytyny czyni odczyn jeszcze bardziej niepewny, a Dienes i Freund, że dodawanie lecytyny nadaje antygenowi własności antykomplementarne. Odnośnie

badania wykonali również Calmette, Boquet i Nègre.

Od tego czasu ukazało się na ten temat wiele prac, których autorzy starali się oddać na usługi walki z gruźlicą odczyn wiązania dopełniacza przy użyciu sporządzonych przez nich antygenów z żywych lub zabitych bakterii, z wyciągów bakteriowych, z wyciągów narządów zmienionych chorobowo a nawet z płwocin chorych na gruźlicę. Jako antygenów używali również tuberkuliny, a do antygenów dodawali różnych środków chemicznych.

Antygeny bakteryjne przygotowywano w ten sposób, że masy bakteryjne wyhodowane na pożywkach zmywano fizjologicznym roztworem NaCl i w ten sposób otrzymanej spłuczyny bakteryjnej używano jako antygeny. Najlepsze wyniki otrzymali Besredka oraz Boquet i Nègre. Moller, który wykonywał badania porównawcze ze wszystkimi znanymi antygenami twierdził, że antygen Besredki daje najlepsze rezultaty. Mimo początkowych niepowodzeń zagraniczni badacze w dalszym ciągu usiłowali w praktyce wykorzystać odczyn wiązania dopełniacza do rozpoznawania gruźlicy u bydła i innych zwierząt. Badania w ogrodach zoologicznych przeprowadzone na małpach wykazały, że jedyną użyteczną próbą rozpoznawania u nich ukrytych postaci gruźlicy jest odczyn wiązania dopełniacza. Obserwacje dokonane u bydła wykazały, że przeciwciała zjawiają się we krwi zakażonych organizmów, gdy następuje rozpad tkanki pochodzenia gruźliczego. Stange przy stosowaniu odczynu wiązania dopełniacza w otwartych przypadkach gruźlicy otrzymywał 98% wyników dodatnich. W przypadkach zapalenia płuc i przy różnych schorzeniach ropnych, pochodzenia nie gruźliczego, otrzymywał on zawsze wyniki ujemne i twierdził, że odczyn wiązania dopełniacza jest cenną próbą rozpoznawczą przy otwartej gruźlicy. Z opublikowanych ba-

dań wynika, że odczyn wiązania dopełniacza dla rozpoznawania ukrytej postaci gruźlicy zależy przede wszystkim od przygotowanego antygeny. W ostatnich czasach w tej dziedzinie na czoło badań wybiły się prace przeprowadzane w ZSRR i na Węgrzech. Badania radzieckie miały na celu, przy zastosowaniu odczynu wiązania dopełniacza, określenie natężenia procesu gruźliczego w organizmie badanego zwierzęcia oraz szybkiego wykrywania sztuk prątkujących. W latach 1948—1950 przebadano serologicznie pogłowie szeregu gruźliczych gospodarstw. Jako antygeny do odczynu wiązania dopełniacza użyto zmodyfikowanego antygeny Boqueta i Negre. Wszystkie zwierzęta uprzednio tuberkulizowano, a niektóre dla kontroli poddano ubojowi. Stwierdzono pewną rozbieżność między wynikami odczynu alergicznego i wiązania dopełniacza, którą tłumaczono tym, że oba odczyny odtwarzają różne stany zakażenia organizmu. Alergia rozwija się nierównolegle z wytwarzaniem się przeciwciał w organizmie. Metody alergiczne wykazują istniejące w organizmie nie tylko postaci aktywne ale i utajone postaci zakażenia. Przeciwciała zaś są dowodem rozwijającej się choroby i narastanie ich następuje z rozwijającym się procesem chorobowym. Wskutek tego odczyn wiązania dopełniacza powinien określać różne stadia gruźlicy w organizmie. Badania radzieckie potwierdzają, że odczyn wiązania dopełniacza jest bezgłędnie cenną próbą diagnostyczną do określenia aktywnych postaci procesu gruźliczego. Technika, podobna jak przy nosaciznie i brucelozie, może być stosowana w każdym zakładzie badawczym, krótki zaś okres czasu potrzebny do przeprowadzenia odczynu w porównaniu z badaniami bakteriologicznymi i klinicznymi jest także jedną z dodatnich cech tego odczynu.

Badania węgierskie z którymi osobiście miałem możliwość zapoznać się, szły w kierunku sporządzenia takiego antygeny, któryby dawał pewne wyniki dodatnie z surowicami zwierząt chorych na gruźlicę, niezależnie od nasilenia procesu gruźliczego w organizmie zwierzęcia. Badania prowadzono na zwierzętach bitych w rzeźni i majątkach państwowych, a wyniki badań potwierdzano sekcyjnie. Do badań używano rozmaitych antygenów — grubo i drobnoziarnistych, sporządzonych z prątków gruźlicy typu bydłowego ludzkiego i ptasiego, wyciągów acetonowych i wodnych. Przeprowadzone badania na przeszło milionie prób potwierdziły, że antygenem wiążącym dopełniacz jest otoczka bakteryjna. Sporządzony antygen wodny, potwierdzony licznymi próbami, zastosowany w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Budapeszcie przez dr Vizy Laszlo zdał egzamin i obecnie został zastosowany do badań masowych zwierząt w kierunku gruźlicy na terenie Węgier. Metodą węgierską sporządza się antygen następująco: zabite w autoklawie w $+ 115^{\circ}\text{C}$ przez 2 godziny prątki gruźlicy, wyhodowane na pożywce Sauton (zawierającą asparaginę, glicerol, kwas cytrynowy, dwuzasadowy fosforan potasowy, siar-

czan magnezowy i cytrynian żelazowoamonowy) przepłukuje się 10-cio krotnie wodą destylowaną aż do wyjaśnienia płynu i przesącza się przez bibułę. Otrzymany osad suszy się a uzyskana w ten sposób sproszkowana masa jest punktem wyjściowym do sporządzenia antygeny. Jeden gram tego sproszkowanego antygeny zalewa się 10 ml alkoholu propylowego chemicznie czystego; proszek rozpuszcza się mieszając szklaną bagietką, podgrzewa się do $+ 96^{\circ}\text{C}$ przez 1,5 minuty i przesącza się przez bibułę. Otrzymany przesącz w ilości 5 ml dodaje się do 45 ml wody destylowanej w naczyniu, umieszczonym w kąpieli wodnej z gorącą wodą, a następnie miesza się ze 150 ml wody destylowanej o temperaturze $+ 60^{\circ}\text{C}$. W ten sposób otrzymuje się 40% antygen, którego używa się do odczynu wiązania dopełniacza w różnych rozcieńczeniach. Antygen jest lekko opalizujący i może być przez okres około pół roku przechowywany w lodówce bez straty jakości.

Do odczynu wiązania dopełniacza używa się wyżej opisanego antygeny, który przed użyciem musi on być podgrzany do $+ 60^{\circ}\text{C}$ przez 30 minut aż do sklarowania płynu. Odczyn wiązania przeprowadza się według techniki węgierskiej rozcieńczonym antygenem od 80—1280 według podanej niżej tabelki rozcieńczeń:

rozcieńczenie antygeny	woda destyl. ml	antygen 40% ml
80 x	15	15
160 x	30	10
240 x	25	5
320 x	28	4
480 x	33	3
640 x	30	2
960 x	23	1
1280 x	31	1

surowice zaś uprzednio inaktywowane dodaje się nierozcieńczone po 0.1 ml do każdej próbki z różnymi rozcieńczeniami antygeny oraz do jednej kontrolnej bez antygeny.

Sposób przeprowadzenia odczynu — całą próbę wiązania przeprowadza się w kąpieli wodnej w temperaturze $+ 40^{\circ}\text{C}$ — poszczególne komponenty dodaje się do szeregu próbek w stojaku umieszczonym w kąpieli wodnej. Do każdej próbki dodaje się: 0.1 ml badanej surowicy uprzednio zinaktywowanej, 0.5 ml antygeny według rozcieńczenia i 0.5 ml komplementu; po 20 minutach dodaje się układ hemolityczny, 0.5 ml amboceptora i 0.5 ml 4% krwinek baranich; wynik odczytuje się po 20 minutach.

Poczynione w czasie mojego pobytu w Budapeszcie obserwacje oraz przywieziony do Polski antygen sproszkowany i wodny zapoczątkowały badania w tej dziedzinie na terenie naszego kraju. Całość zagadnienia podzielona została następująco: odczyn wiązania dopełniacza u ludzi chorych na gruźlicę oraz zastosowanie go dla rozpoznawania u ludzi opracowuje Lege-

żyński w Akademii Medycznej w Białymstoku, a próby na zwierzętach opracowywane są przeze mnie w W.Z.H.W. w Stalinogrodzie.

Zagadnienie powyższe wymaga jeszcze dokładnego przepracowania dla wyciągnięcia odpo-

wiednich wniosków co do interpretacji wyników badań, poczym zakłady naukowo-badawcze dostaną nową broń w zwalczaniu gruźlicy u zwierząt, jako uzupełnienie dotychczas stosowanych metod przy badaniach rozpoznawczych.

T. DĄBROWSKI, M. PAROSZKIEWICZ

Pneumokokoza cieląt*)

Z Katedry Mikrobiologii Wet. U.M.C.S. w Lublinie

Kierownik: Prof. dr J. PARNAS

Z Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Kierownik: dr T. DĄBROWSKI

Już od 1886 roku Mazzanti i Vigezzi we Włoszech, w 1899 r. Poels w Holandii, Krautstrung w Niemczech, Balzer, Wall oraz Jensen w Danii, stwierdzili dużą ilość przypadków schorzeń paciorkowcowych u cieląt, pośród których przeważała diplokokkoza (pneumokokoza). Laboratorium serologiczne w Kopenhadze zajęło się przebadaniem tej jednostki chorobowej, w wyniku czego ustalono, że występuje ona u cieląt ssących w wieku do dwóch miesięcy, powodując najczęściej posocznice, obok której, jako objaw szczególnie charakterystyczny mają miejsce zmiany w śledzionie, która ulega powiększeniu (niekiedy dwukrotnemu), jest silnie przekrwiona, barwy czarno-czerwonej, pod torebką stwierdza się punkcikowate lub rozlane wybroczyny i posiada konsystencję gumowatą (oporno-elastyczną). Zdarza się jednak, że opisane zmiany przy pneumokokozie nie występują. Przewód pokarmowy nie zawsze przedstawia jednolity obraz. Przeważnie stan zapalny obejmuje nieliczne partie jelit. Węzły chłonne są mniej lub więcej nacieczone lub nastrzykane, otrzewna zaś pokryta jest drobnymi wybroczynami, które są bardzo liczne na sieci i krezce. Nerki przekrwione, czasem z wybroczynami w miedniczkach. U osesków stwierdza się zmiany pewowiny, która jest zgrubiała, nacieczona i wypełniona płynną krwią. Dostępnym często występuje wybroczynowość na *peri-* i *epicardium*, zwłaszcza na granicy przedsionkowo-komorowej, oraz uszkach sercowych, gdzie wybroczyny zlewając się, tworzą duże pola. Płuca są obrzękłe i zapalnie zmienione. W klatce piersiowej i worku osierdziowym znajduje się większa ilość wysięku surowiczego. W wysiewach z padłych cieląt pneumokoki można wyizolować ze wszystkich narządów, krwi, płynów wysiękowych i mięśni. Preparaty mikroskopowe wykonywane bezpośrednio z materiału zakaźnego nie zawsze pozwalają na odróżnienie pneumokoków od innych ziarniaków występujących równocześnie w zwołkach.

Należy zaznaczyć, że *Diplococcus pneumoniae* występuje u wszystkich zwierząt domowych bez względu na wiek i rodzaj, powodując schorzenia pod nazwą diplokokkozy. *Diplococcus lanceolatus* s. *Pneumococcus vitulorum* (Parnas) w swym typowym wyglądzie przypomina kształtem dwa płomienie świecy złączone ze sobą przy podstawie i objęte wspólną otoczką. Takie postacie występują jedynie w krwi i płynach wysiękowych, układając się czasem w krótsze lub dłuższe łańcuszki. Obecność otoczki daje się stwierdzić tylko w preparatach sporządzonych bezpośrednio z materiału lub hodowli wzbogaconych i barwionych specjalnymi metodami. Różne szczepy pneumokoków tworzą w cieple zwierząt i hodowliach sztucznych niezupełnie jednakowe otoczki. Atypowe postacie spotyka się szczególnie w starych hodowlach, ubogich pożywkach i w zapalnych miejscach organizmu. W tych warunkach zarazki mogą występować bez otoczki i w postaci pojedynczych lub ułożonych w łańcuszki ziarniaków.

Do wzrostu na pożywkach sztucznych *Pneumococcus vitulorum* wymaga dodatku glukozy, surowicy lub krwi. Na agarze wyrastają kolonie (większe od paciorkow-

ców) wypukłe, przeźroczyste, o brzegach gładkich lub nieregularnych z ziarnistym środkiem. W płynnej surowicy wzrost jest dobry, gorszy zaś na ściętej. Większość szczepów posiada zdolność wytwarzania hemolizyn. Na agarze z krwią tworzą się kolonie szare, bardziej płaskie lub zapadnięte po środku. Wokół kolonii występuje zmiana barwy krwi na kolor zielono-czarny. W bulionie powstaje lekkie zmętnienie z osadem na dnie. W pożywkach płynnych żywotność zarazki uzależniona jest od ilości wytwarzanych fermentów (peroksydaza, maltaza, laktaza, proteaza itd.), które zakwaszając podłoże, szybko zabijają komórki w ciągu 3 do 5-ciu dni (Avery i Morgan). Cechą charakterystyczną pneumokoków jest rozpuszczalność ich w bulionie po dodaniu żółci lub *Natrium taurocholicum*. Neufeld przypuszcza, że lityczne działanie żółci umożliwione jest dużą przepuszczalnością otoczki, która niedostatecznie chroni protoplazmę, zjawisko to dotyczy tylko szczepów otoczkowych, nie zachodzi zaś u pneumokoków w postaci „R”.

Pod względem serologicznym stwierdzono, że pneumokoki stanowią niejednorodną grupę zarazków. Przy pomocy precypitacji Neufeld, Haendl, Dochez i inni podzieliли je na 4 grupy, zaś Cooper wyróżnił 32 typy. Różnicowanie na poszczególnie typy nie ma jednak znaczenia praktycznego, a raczej teoretyczne. W badaniach serologicznych stwierdzono u wszystkich pneumokoków substancje białkowo-typowe, wielocukier „C”, który występuje zarówno w postaci „R”, jak i „S” pneumokoka i innych bakterii, oraz typowo specyficzny wielocukier występujący przeważnie w postaci „S”, zawarty głównie w otoczce, z której przy wroście dyfunduje do pożywki lub organizmu chorego. Ta rozpuszczalna substancja została uznana przez Dochez a i Averę jako typowo specyficzna dla typu I, II, i III i nazwana „SSS” (Specific soluble substance). Prócz tego wyisobniono pewną ilość kompleksów wielocukrowych, które chemicznie i biologicznie różniły się od „SSS”.

Surowice odpornościowe wyprodukowane przez Neufelda zostały przez niego wykorzystane do odczynu pęcznienia otoczek. Parker, Papenheimer, Weld i Guenther filtratami autolizatów pneumokokowych wywoływali u świń morskich po zastrzyku śródskórnym nekrozę skóry, obrzęk zapalny płuc przy podaniu dootrzewnowym oraz zapalenie płuc po podaniu małej ilości żywych zarazków i subletalnej dawki autolizatu. U koni można tymi autolizatami otrzymać antytoksyny typowo niespecyficzne, podczas gdy surowice uzyskane ze szczepienia zwierząt hodowlami, posiadały własności antybakteryjne. Mennes, Neufeld, Rimpan i inni stwierdzili, że dużą rolę przy uodparnianiu pneumokokami odgrywają tropiny. Kindberg podaje, że surowice odpornościowe silnie aglutynują tylko szczepy homologiczne. Surowice uzyskane z uodparnianych królików dają miana aglutynacyjne 1:20 lub 1:50 — rzadziej wyższe. Christensenowi nie udało się wykazać wspólnych własności serologicznych między szczepami pochodzącymi od ludzi i cieląt. Belzer natomiast przy pomocy aglutynacji i OWD wykazał, że jeden

*) Praca rozpoczęta w 1951 r.