

Tab. 1. Procent bydła uznanego za dotknięte gruźlicą w poszczególnych powiatach województwa olsztyńskiego w latach 1967/68.

Lp.	Powiat	% bydła gruźliczego	
		1967 rok	1968 rok
1	Bartoszyce	2,6	1,3
2	Biskupiec	2,1	0,6
3	Braniewo	2,7	0,6
4	Działdowo	12,6	3,0
5	Giżycko	1,1	0,5
6	Hańka	4,8	1,6
7	Kętrzyn	3,0	0,7
8	Lidzbark	2,2	0,7
9	Morań	4,1	2,0
10	Mragowo	2,3	0,6
11	Nidzica	5,9	1,8
12	Nowe Miasto	21,6	6,7
13	Olsztyn	2,8	0,6
14	Ostróda	7,5	2,2
15	Pasłęk	2,2	0,6
16	Pisz	2,8	0,9
17	Szczytno	3,0	0,9
18	Węgorzewo	2,1	0,9
Średnia wojewódzka		4,9	1,6

tego bydła może mieć związek z niedostatecznie precyzyjnym badaniem poubojowym lub występowaniem zmian nieuchwytnych makroskopowo.

W zależności od zainfekowanych narządów stwierdzono gruźlicę: węzłów chłonnych podszczękowych u 1,2% sztuk, opłucnej u 1,6% sztuk, płuc u 12,7% sztuk, węzłów chłonnych śródpiersiowych u 14,2% sztuk, węzłów chłonnych oskrzelowych u 28,2% sztuk, węzłów chłonnych okołogardzielowych u 10,0% sztuk, otrzewnej u 1,2% sztuk, nerek u 1,6% sztuk, węzłów chłonnych wątroby u 6,2% sztuk, węzłów chłonnych nadwymieniowych u 3,4% sztuk, węzłów chłonnych mięśni u 1,2% sztuk.

U 2 513 sztuk bydła to jest 18,3%, u których makroskopowe badanie poubojowe nie wykazało w żadnym narządzie zmian gruźliczych, stwierdzono u 17,2% zwierząt motylicę, u 0,6% ropnie, 0,2% białaczkę i u 0,3% wagrzycę. Mimo, że u bydła w oparciu tylko o makroskopowe badania poubojowe nie można wykluczyć gruźlicy, to stwierdzenie innych schorzeń pozwala przypuszczać, że przyżyciowy dodatni odczyn tuberkulinowy mógł być uczuleniem nieswoistym bezpośrednio lub pośrednio przyczynowo związanym z wyżej wymienionymi chorobami.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Rutynowe badanie poubojowe pozwoliło u 60,4% bydła uznanego na podstawie tuberkulinizacji za gruźlicę stwierdzić makroskopowo widoczne zmiany gruźlicze.

2. Ogniska gruźlicze najczęściej umiejscowione były w węzłach chłonnych: oskrzelowych (28,2%), krezkowych (18,5%), śródpiersiowych (14,4%), okołogardzielowych (10%) oraz w płucach (12,7%).

3. U 18,3% bydła zlikwidowanego jako gruźlicze przy badaniu poubojowym stwierdzono motylicę (17,2%), ropnie (0,6%), wagrzycę (0,3%) i białaczkę (0,2%).

Piśmiennictwo

1. Kötsche W., Rauschelbach H.: Mh. Vet. Med., 2, 56, 1965.
2. Lipnicki J.: Medycyna Wet., 4, 199, 1960; 10, 591, 1962; 12, 7, 397, 1968.
3. Łosieczka K.: Medycyna Wet., 4, 213, 1967.
4. Spryszak A., Konarski W.: Medycyna Wet., 1, 15, 1965.
5. Spryszak A., Zórawski C.: Medycyna Wet., 7, 407, 1965; 7, 397, 1968.
6. Wachnik Z.: Medycyna Wet., 2, 70, 1965.
7. Zalewska E., Krauss S., Spryszak A.: Medycyna Wet., 8, 462, 1968.
8. Zórawski C.: Medycyna Wet., 3, 150, 1966.

Adres autora: dr Józef Flis, Olsztyn 5, ul. Warszawska 109.

EUGENIUSZ GAJOS

Kwas dezoksyrybonukleinowy (DNA) pałeczek *Brucella* oraz jego cechy immunologiczne

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej
we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr S. ŚLOPEK

Zakład Immunochemii
Kierownik: doc. J. LISOWSKI

Kwasy nukleinowe z racji roli fizjologicznej jaką spełniają w procesach rozmnażania i dziedziczenia, stanowią obiekt różnorodnych badań, w ramach takich specjalności jak: biochemia, genetyka, serologia itp. W badaniach tych stosuje się wiele metod oraz różnorodny materiał kwasów nukleinowych tak pod względem pochodzenia gatunkowego jak i sposobów jego uzyskiwania.

Badania na temat kwasów nukleinowych były wykonywane także i na materiale DNA oraz RNA wyosobnionych z pałeczek *Brucella*. Wniosły one wiele ciekawych spostrzeżeń do znajomości tych zagadnień.

Lackman i wsp. (3) badali kwasy nukleinowe uzyskane z bakterii, drożdży, wirusów, grasicy cielęcej. Autorzy ci uzyskiwali dodatnie wyniki odczynu precypitacji próbówkowej w badaniu DNA króliczymi i końskimi surowicami odpornościowymi. W pracy tej cytowane są badania Pennella (1940), wg których kwasy nukleinowe pałeczek *Brucella* absorbują przeciwciała precypitujące z surowic swoistych dla pałeczek *Brucella*.

Braun i wsp. (1) badali wpływ produktów rozkładu DNA na zmiany w populacjach oraz w zjadliwości pałeczek *Brucella*. W czasie badania transformacji różnych szcze-

pów *Brucella* przez dodatek DNA otrzymany z genetycznie różnych szczepów bakteryjnych obserwowano, że dodatek DNA-zy do hodowli zawierającej kwas dezoksyrybonukleinowy powoduje szybką przemianę populacji drobnoustrojów z form M lub R do S. Wiadomo, że drobnoustroje niegładkie nie ulegają zmianom tych populacji bakteryjnych do form gładkich *in vitro*, tzn., że nie ma stopniowego ustalania się spontanicznych mutantów S w populacjach początkowo non-S. We wrażliwym żywicielu natomiast lub w obecności DNA i DNA-zy *in vitro*, może zachodzić z wieloma szczepami transformacja z form niegładkich do gładkich. Jak podają cytowani autorzy, badany szczep pałeczek *Brucella abortus* M traktowany DNA w 65% zmieniał się w szczep typu S. Tak więc określone cechy dziedziczne mogą być przekazywane następnym pokoleniom pałeczek *Brucella* za pośrednictwem DNA.

Aktywność transformująca nie jest swoista, gdyż źródło pochodzenia DNA nie wywiera wpływu na efekty selekcji, bowiem takie same działanie wykazywał DNA wyosobniony ze szczepów *Brucella* (S i non-S), *E. coli*, *Pneumococcus*. Badania nad unieczynnianiem aktywnych przesaczy bakteryjnych wykazały, że czynnik działający wybiórczo może być nukleotydem, ale żaden z handlowych preparatów ani też ich pochodne takiego wpływu nie wywierały na badane bakterie. Jedyną, znaną substancją mającą podobne działanie jest 6-furfuryloamina lub kinetyna. Kinetyna użyta w dawkach poniżej 1 µg/ml także stymuluje wybiórcze ustalenie się komórek bakteryjnych gładkich w wielu populacjach początkowo niegładkich. Stwierdzono także, że istnieje szereg szczepów bakteryjnych M i R opornych na działanie kinetyny ale wrażliwych na wpływ DNA + DNA-za. Rzadziej obserwowano szczepy podatne tylko na kinetynę. Obserwacje te wskazywałyby na fakt, że nieznaną jeszcze produkt rozkładu DNA oraz kinetyny nie jest identyczny. Zaobserwowano ponadto, że działanie kinetyny nie jest regularne, natomiast działanie DNA + DNA-za jest bardziej reproduktywne.

Braun i wsp. (2) badali DNA uzyskany z pałeczek *Brucella abortus* zabitych 0,5% roztworem fenolu i traktowanych dezoksyholanem jodu. Otrzymany preparat DNA posiadał właściwości transformujące, obniżał LD₅₀ badanych drobnoustrojów *Pneumococcus* podawanych myszom, wzmagał fagocytozę *in vitro*, a także stymulował wzrost komórek *lymphosarcoma* u myszy. Podawany pozajelitowo powodował wytwarzanie się przeciwciał swoistych dla DNA. Autorzy dokonali także niektórych pomiarów fizyko-chemicznych badanych preparatów DNA pałeczek *Brucella* (absorbpcja UV, lepkość, wrażliwość na działania DNA-zy, zawartość aminokwasów). Ustalono też, że istnieje różnica w stosunku azot/fosfor, który wyższy w DNA uzyskanym z pałeczek *Br. abortus* S niż w *Br. abortus* M.

Phillips i wsp. (8) badali DNA *Brucella* uzyskany przez ekstrakcję fenolem, odbiałczany chlo-roformem i alkoholem amylowym, zawierał on około

20% białka. Preparat ten używano do uodparniania królików oraz do wykonania odczynu precypitacji agarowej. W badaniu otrzymano 5 linii precypitacyjnych, z których jedna barwi się metodą Feulgena, co przemawia za obecnością DNA w precypitacie. Enzym DNA-za nie reagował z używaną surowicą odpornościową, ale po zadziałaniu na DNA powodował zmniejszenie się intensywności jednej linii precypitacyjnej (DNA) z równoczesnym nasileniem się innych precypitatów. W miarę przedłużania czasu działania DNA-zy na DNA, ten ostatni uległ trawieniu.

W odczynie agarowym DNA pałeczek *Brucella* S oraz non-S tworzyły łączące się i jednakowe linie precypitacyjne. Użyte w takim samym stężeniu DNA grasicy cielej oraz plemników łososia współprecypitują z tym jednak, że ich precypitaty są mniej intensywne.

W pracy podano też, że na wynik precypitacji nie mają wpływu czynniki takie, jak: 6 M roztwór NaCl, trypsyna, trypsyna + chymotrypsyna lub absorbowanie surowic anty-DNA przez całe komórki bakteryjne.

Phillips i wsp. (9) uodparniali króliki dawkami DNA ekstrahowanego z pałeczek *Brucella abortus* S i M oraz dawkami formalizowanych pałeczek *Brucella*. Jako antygen do wykonania odczynu precypitacji użyto preparaty DNA pochodzące z *Brucella abortus* (19). Autorzy obserwowali obecność kilku kompleksów antygen/przeciwciało w precypitacji agarowej. Absorbowanie surowic bakteriami formalizowanymi lub nierozpuszczalnymi pozostałościami komórek bakteryjnych po ekstrakcji DNA fenolem, nie miało wpływu na wynik precypitacji DNA/anty-DNA. Z faktu tego wynikałoby swoistość przeciwciała dla DNA oraz równocześnie odmiennosc serologiczna kwasów nukleinowych i innych antygenów pałeczek *Brucella*. W pracy podkreślano zjawisko jednorodności DNA pochodzącego ze szczepów *Brucella* S i M, tworzących w agarze łączące się precypitaty. Zaobserwowano ponadto, że przeciwciała anty-DNA mogą przeciwdziałać wybiórczemu wpływowi DNA + DNA-za na procesy transformacyjne w populacjach bakteryjnych. Normalna surowica krwi króliczej nie wykazywała takiego działania.

Olitzki (4, 5) badając preparaty DNA *Brucella* w precypitacji z różnymi surowicami: anty-*Br. abortus*, *Br. suis* oraz *Br. melitensis* nie wykazał istnienia różnic serologicznych między nimi. Jedyną obserwowaną różnicą był nierównomierny rozdział ilościowy DNA zależnie od szczepu *Brucella*. Badane preparaty DNA w precypitacji agarowej tworzyły jedną linię łączącą się jak to ma miejsce w przypadku antygenów jednorodnych. DNA połączony z białkiem miał silne własności antygenowe. Po podaniu królikom kompleks taki powodował wytwarzanie przeciwciał reagujących dodatnio z DNA w odczynie flokulacji oraz precypitacji agarowej. W surowicach odpornościowych obecne były ponadto małe ilości przeciwciał aglutynujących, co przypisywano niewielkim ilościom aglutynogenów w preparatach DNA. Aglutyniny te były absorbowane przez nienaruszone komórki bakteryjne, natomiast w roztworze pozostawały precypityny reagujące z kompleksem DNA + białko.

Pleścią i wsp. (10) analizując DNA otrzymany z pałeczek *Brucella abortus* wykazali, że jest on niejednorodny jak to wynikało z badań elektroforetycznych, chromatograficznych oraz w ultrawirowaniu. Poszczególne frakcje zawierały około 5—10% RNA oraz około 25% białka. Różne jest także zachowanie się tych frakcji po parenteralnym podaniu ich zwierzętom. Jedne frakcje antygenowe mają bowiem zdolność uodparniania zwierząt, ale nie reagują one w odczynach serologicznych. Inne antygeny natomiast nie mają właściwości uodparniających lecz mogą reagować z uprzednio wytworzonymi przeciwciałami.

Olitzki i Berakha (6) stwierdzili, że zdolność wiążących antygenów DNA do precypitowania była niszczone przez ogrzewanie w temperaturze 100°.

Krzyżowa absorpcja surowic anti-DNA przez preparaty kwasu dezoksyrybonukleinowe uzyskane ze wszystkich trzech typów *Brucella* podobnie jak wykonywana uprzednio precypitacja agarowa nie wykazały istnienia różnic serologicznych między badanymi szczepami.

Palczuk i wsp. (7) opisali obecność w składzie pałeczek *Brucella* trzech grup antygenów:

- 1) antygeny wrażliwe na działanie DNA-zy,
- 2) antygeny niewrażliwe na działanie DNA-zy,
- 3) antygeny, które stają się reaktywne dopiero po ogrzaniu ich do temperatury 85—100°C.

Antygen DNA uczynniany ogrzewaniem znajdowano zawsze w komórkach *Brucella S*, lecz nie stwierdzono go w komórkach *Brucella M*. Surowice odpornościowe zawierające przeciwciała aglutynujące pałeczki *Brucella abortus S*, zawierały także przeciwciała dla antygenów uczynnianych ogrzewaniem. Te ostatnie przeciwciała były absorbowane przez pałeczki *Brucella S*, natomiast nie były one wysycane przez *Brucella M*. Wskazuje to na podobieństwo lub nawet identyczność istniejącą między antygenem DNA uczynnianym ogrzewaniem oraz antygenami powierzchniowymi komórek *Brucella S*. Omawiany antygen nie był wrażliwy na działanie szeregu fermentów: DNA-zy, RNA-zy, fosfatazy zasadowej, lipazy, natomiast okazał się wrażliwy na działanie nadjodanu sodu. Użycie ogrzewanego DNA powodowało wzrost nasilenia odczynu wiązania dopełniacza.

Wydaje się, że w tym względzie DNA *Brucella* zachowuje się tak jak większość kwasów nukleinowych innego pochodzenia (zwierzęce, wirusowe, bakteryjne). Wszyscy autorzy badający te zagadnienia podkreślają zgodnie, że kwasy nukleinowe na które działano wysoką temperaturą intensywniej reagują z odpowiednimi przeciwciałami aniżeli kwasy nukleinowe rodzime (nieogrzewane). Tłumaczy się to łatwiejszym dostępem powierzchni chwytnych DNA dla przeciwciał. Nie jest to jednak regułą, bowiem niektórzy autorzy opisują reagowanie w odczynach serologicznych także i kwasów nukleinowych rodzimych. Podkreślają oni równocześnie, że poziom przeciwciał w dysponowanych surowicach odpornościowych był wysoki. Być może istnieje zależność między wysokością miana przeciwciał i strukturą fizykochemiczną badanych kwasów nukleinowych.

Plascia i wsp. (11) wykazali, że kwas rybonukleinowy (RNA) *Brucella* zdenaturowany termicznie posiada własności haptenu. Łączenie RNA z metylowaną albuminą surowiczą (wołową) i uodparnianie zwierząt takim kompleksem prowadzi do uzyskania surowicy odpornościowej. Obserwowano występowanie reakcji krzyżowych zachodzących zarówno z RNA (drożdży, *E. coli*, tkanek królika), jak i z DNA

(*Brucella*, z płuc królika, grasicy cielęcej). Wg autorów szeroki zakres reakcji krzyżowych wskazuje na to, że surowice odpornościowe są swoiste dla tych składników kwasów nukleinowych, które zawierają zasady purynowe i pirymidynowe. Omawiane badania były wykonane odczynem wiązania dopełniacza oraz jego unieczynniania. Efekt unieczynniania odczynu był wydatniejszy po zadziałaniu na surowice monorybonukleotydami aniżeli monodezoksyrybonukleotydami lub zasadami purynowymi i pirymidynowymi. Przemawiałoby to za istnieniem pewnej swoistości serologicznej właściwej dla grupy rybonukleotydów.

Immunoserologiczne problemy DNA oraz RNA pałeczek *Brucella* mają wiele cech wspólnych z kwasami nukleinowymi innego pochodzenia, co potwierdza istnienie pewnych regularności w tej dziedzinie a wyrażającej się przez:

1. Właściwości immunogenne tzn. pobudzenie zwierząt uodpornianych do wytwarzania przeciwciał reagujących z kwasami nukleinowymi w wielu odczynach serologicznych.

2. Właściwości reagowania *in vitro* oraz *in vivo* z tworzącymi się lub uprzednio wytworzonymi przeciwciałami, przy czym DNA oraz RNA zdenaturowane termicznie są bardziej czynne aniżeli rodzime (nieogrzewane).

3. Podkreślaną przez wielu autorów małą swoistość reakcji serologicznych zachodzących krzyżowo z kwasami nukleinowymi ekstrahowanymi z komórek: zwierząt ssących, bakterii, wirusów, bakteriofagów.

W przypadku kwasów nukleinowych pałeczek *Brucella* nie wykazano istnienia różnic serologicznych pomiędzy szczepami: gładkimi, szorstkimi, śluzowymi, wrażliwymi lub niewrażliwymi na działanie antybiotyków a także pochodzących z pałeczek *Br. abortus*, *Br. suis*, *Br. melitensis*.

4. Transformację pałeczek *Brucella* ze szczepów niegładkich (non-S) w szczepy gładkie (S), która może zachodzić pod wpływem kwasu dezoksyrybonukleinowego w określonych warunkach) podobnie jak to ma miejsce także i z innymi bakteriami.

P i s m i e n n i c t w o

1. Braun W., Firshein W., Whallen J.: Science, 125, 445, 1957.
2. Braun W., Burrous J., Phillips J.: Nature, 180, 1356, 1957.
3. Lackmann D., Mudd S., Sevag M., Smolens J., Wiener J.: J. Immunol. 40, 1, 1941.
4. Olitzki A.: Brit. J. Exptl. Path. 40, 432, 1959.
5. Olitzki A.: Brit. J. Exptl. Path. 41, 623, 1960.
6. Olitzki A., Berekha L.: Path. Microbiol. 25, 858, 1962.
7. Palczuk N., Braun W., Plescia O., Cora-Figueroa E.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 113, 166, 1963.
8. Phillips J., Braun W., Plescia O.: Nature, 181, 537, 1958.
9. Phillips J., Braun W., Plescia O.: J. Amer. Chem. Soc. 80, 2710, 1958.
10. Plescia O., Novak J., Palczuk N., Braun W.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 106, 743, 1961.
11. Plescia O., Palczuk N., Cora-Figueroa E., Mukherjee A., Braun W.: Proc. Nat. Acad. Sc. 54, 1231, 1965.

Adres autora: dr wet. Eugeniusz Gajos, Wrocław, ul. Koiłataja 34/5.