

MEDYCYNĄ DOŚWIADCZALNĄ I SPOŁECZNĄ

(Dawniej *Przegląd Epidemiologiczny*).

TOM XIX.

WARSZAWA 1935

ZESZYT 3-4

Wpłynęło 27.IX.1934.

Z pracowni bakteriologicznej Ubezpieczalni Społecznej we Lwowie
(Kierownik Dr. Ludwik Fleck)

STUDJA Z DZIEDZINY SEROLOGJI KIŁY

Podał

Dr. LUDWIK FLECK

Zapewne każdemu wykonywującemu próbę Bordet-Wassermanna narzuca się przekonanie, że surowica pacjenta nawet w stanie inaktywowanym w próbie tej nie gra jedynie i wyłącznie roli nosiciela amboceptorów. Jej znaczenia wielostronnego dowodzą przedewszystkiem dwa powszechnie znane zjawiska: 1) silniejsze działanie antykomplementarne surowic dodatnich niż ujemnych, ujawniające się w późniejszym rozpuszczaniu się kontroli surowic dodatnich. Spostrzeżenie to dokonane było jak wiadomo, już dawniej przez *Hessego, Hechta i Trinchessego* i innych. 2) Prokomplementarne działanie surowic ujemnych, które powoduje, że próbówka z próbą właściwą rozpuszcza się nieraz prędzej niż kontrola antygeny (nawet w dawce pojedynczej). Zdarza się też, że przy pewnej ilości komplementu kontrola antygeny wogóle nie rozpuszcza się, a mimo to próba z surowicą ujemną przebiega prawidłowo.

Wynik próby Bordet-Wassermanna jest więc wypadkową kilku czynników mających swe źródło w surowicy pacjenta. Czynniki te nie muszą naturalnie stanowić odrębnych i niezależnych od siebie, a przypadkiem jednokierunkowo działających cech surowicy kiłowej; przeciwnie, należałoby dążyć do jednolitego ujęcia

całokształtu różnic zachodzących pomiędzy surowicą dodatnią i ujemną. Jeżeli zważymy, że surowica kiłowa wykazuje wyraźne różnice struktury fizyko-chemicznej w porównaniu z surowicą prawidłową (reakcje goldsolowe, kłaczkowe i t. d.) a z drugiej strony uprzytomnimy sobie, że funkcja komplementarna jest niczem innym jak wyrazem pewnej struktury fizyko-chemicznej surowicy (*Hirszfeld-Klinger, Sachs* i inni), dojdziemy do przekonania, że wszechstronne badanie funkcji komplementarnej surowicy kiłowej doprowadzi nas do owego jednolitego ujęcia kiłowej zmiany surowicy: zmieniona struktura surowicy kiłowej musi jakoś odbić się na jej funkcji komplementarnej, tak wrażliwej na wszelkie wpływy. Jeśliby jakaś zmiana komplementu dała się wykazać, to powodujące ją warunki strukturalne mogłyby być uważane również za przyczynę antykomplementarnego działania surowicy kiłowej, a brak ich w surowicy prawidłowej mógłby ew. także tłumaczyć prokomplementarne (wspomagające komplement świnki czy ochraniające go przed działaniem antygenu?) działanie surowicy ujemnej.

Takie rozważania były punktem wyjścia niniejszej pracy. Przedsięwzięte doświadczenia poszły więc, jak dotąd, w dwóch kierunkach: w kierunku zbadania prokomplementarnego działania surowicy ujemnej i w kierunku zbadania funkcji komplementarnej surowicy kiłowej. Doświadczenia wykonywałem wspólnie z asyst. p. Dr. G. *Dickmannową* i asyst. pryw. p. Dr. S. *Fassem*.

I.

Z praktyki laboratoryjnej wiemy, że zdarza się komplement specjalnie wrażliwy na antygen wassermannowski, który w obecności tego antygenu bardzo trudno hemolizuje uczulony system lub nawet w dawce 3—8 krotnej (w porównaniu z tą, która hemolizuje bez obecności antygenu) hemolizy wogóle nie daje albo po dłuższym dopiero czasie. Zmniejszenie ilości antygenu do połowy, a nawet do jednej czwartej, nie zawsze pomaga lub pomaga niewiele; a jednak z innym komplementem, którego miano w próbie amboceptorowej bez antygenu może być identyczne, odbywa się hemoliza systemu w obecności tego samego antygenu w pełnej

ilości doskonale, w dawce komplementu zaledwie 1,5 — 2-krotnej. Charakterystyczne jest, że w obecności surowicy inaktywowanej ujemnej znika ta wrażliwość na antygen i wystarcza dawka komplementu 2 — 4 razy mniejsza niż bez tej surowicy. Surowica ta ochrania więc komplement nasz lub uzupełnia jakiś jego defekt.

To zjawisko, zwane przez nas antygenową wrażliwością komplementu, a będące jednym z rodzaju zjawisk znanych pod nazwą *deviabilitas* komplementu, obserwujemy od wielu lat. Fenomen ten występuje czasem „nagminnie”, zwłaszcza w przedwiośniu (awitaminoza?), kiedy nieraz równocześnie kilka świnek z naszej hodowli dostarcza takiego komplementu. Czasem też częste upusty krwi wywołują tę wrażliwość antygenową komplementu. Naogół nie ustępuje ona nawet po kilku miesiącach, mimo poprawy odżywienia i przy najlepszej kondycji zwierzęcia. Czasem znowu trafia się „zła świnka” wśród innych „dobrych” i nie można doszukać się przyczyny odmienności jej komplementu, który przez szereg miesięcy, czasem przez całe życie świnki jest wrażliwy na antygen, albo też nagle „poprawia się”. Wrażliwość antygenowa komplementu nie jest cechą dziedziczną, jak kilkakrotnie stwierdziliśmy.

Nadmienić należy, że cecha ta nie objawia się w obecności każdego antygeny wassermannowskiego: zdarzało się, że z dwóch używanych antygenów tylko jeden zahamował w kontroli hemolizę. Przebadany potem specjalnie komplement wykazał raz wrażliwość na 4 antygeny z pośród 6, jakie mieliśmy w zapasie, innym razem na 5 z pośród nich, innym wreszcie razem na 2. Komplement taki zachowuje naogół swą wrażliwość na te same antygeny w próbach przedsięwziętych ponownie nazajutrz i w dniach następnych. Nasilenie wrażliwości antygenowej komplementu przeważnie rośnie ze starzeniem się surowicy, chociaż znam także przypadki zmniejszenia się tej wrażliwości po 24 godz. stania surowicy.

Jeśli zmieszamy odrazu nasz komplement z antygenem i systemem, hemoliza występuje zupełnie prawidłowo; trzeba aby antygen działał na komplement conajmniej 10 minut, żeby, po następowem dodaniu systemu, hemolizy zabrakło.

Oto wzór doświadczenia dowodzącego tego. W pięciu próbkach przygotowuję mieszaninę:

0,2 komplementu badanego, w rozcieńcz. 1:10

0,2 antygeny Wasserm., w odpow. rozcieńcz.

0,2 roztworu soli fizjolog.

Do próbówki I dodaje natychmiast 0,4 systemu uczulonego, próbówka II stoi 5 minut w cieplarce a następnie dostaje 0,4 systemu uczulonego; próbówka III stoi 10 minut w cieplarce, próbówka IV 15 minut, próbówka V 20 minut i po tych okresach dostaje każda 0,4 systemu. Wynik jest następujący: w próbówce I zupełna hemoliza już po 5 dalszych minutach. W próbówce II prawie zupełna hemoliza po 30 minutach. W próbówce III, IV i V niema ani śladu hemolizy nawet po 30 minutach. Jeśli powiększymy dawkę naszego komplementu dostaniemy często hemolizę mimo działania antygeny, jeśli powiększymy dawkę antygeny, otrzymamy nasz fenomen po krótszem działaniu i w wybitniejszym stopniu.

Brak hemolizy polega na uszkodzeniu komplementu przez antygen, niema jednak przemiany komplementu w komplementoid (na wzór aglutynoidu), któryby czopował amboceptor, nie dając sam hemolizy i nie dopuszczając do hemolizy przez komplement normalny. Wynika to z takiej próby trójfazowej:

(I faza) 0,2 komplem. badanego, w rozc. 1:10

0,2 antygeny Wasserm. w odpow. rozc.

0,2 roztworu soli fizjolog.

ta mieszanina stoi w cieplarce 20 minut, potem dodaje:

(II faza) 0,4 systemu uczul.

stoi razem 20 minut w cieplarce. Odczyt.—zupełny brak hemolizy. Dodaje:

(III faza) 0,2 komplem. normalnego w rozc. 1:20

Wynik: zupełna hemoliza po 5—10 minutach.

Działanie inaktywowanej ujemnej surowicy wassermannowskiej na układ: antygen + nasz komplement trzeba określić jako ochronne, nie zaś jako uzupełniające jakiś defekt komplementu powstały przez antykomplementarne oddziaływanie antygeny. Wynika to z następujących prób: w dwóch próbówkach rozdzielam:

w pierwszej:

0,2 surowicy ujemnej inakt., w roz. 1:10

0,2 antygenu w odpow. rozc.

0,2 komplem. naszego w rozc. 1:10

w drugiej:

0,2 roztw. soli fizjolog.

0,2 antygenu w odpow. rozc.

0,2 komplem. naszego w rozc. 1:10

obie próbówki stoją w cieplarni 20 minut,
następnie dodają:

do pierwszej:

0,2 roztw. soli fizjol.

do drugiej:

0,2 surow. ujemnej inakt. 1:10

obie próbówki wracają do cieplarki na 20 minut, potem rozdzielam
do obu po:

0,4 systemu uczulonego

Wynik: zupełna hemoliza

brak hemolizy.

Więc tylko dodanie inakt. surowicy ujemnej równocześnie ze zmieszaniem komplementu z antygenem chroni go od unieczynnienia, dodanie zaś po 20-minutowym działaniu antygeny na komplement nie ochroni go już od unieczynnienia, ściślej mówiąc nie reaktywuje go. Do działania ochronnego wystarcza 0,1 surow. inakt. ujemnej (1:10), a nawet 0,05, jednak dawka 8 razy większa (0,4) nie reaktywuje komplementu, który choćby przez 10 minut stał z antygenem.

Efektu, który otrzymujemy jeśli zmieszamy surowicę pacjenta z komplementem, nie można uważać za prosty efekt sumacyjny, bo podwójna, czasem poczwórna, nawet ośmiokrotna dawka komplementu naszego sama (bez surowicy ujemnej) nie da hemolizy, jeśli działał na niego antygen. Tak samo nie daje hemolizy podwójna ani poczwórna dawka samej inakt. surowicy ujemnej bez komplementu.

Ciekawą jest rzeczą, że zamiast inaktywowanej surowicy ujemnej, można z tym samym skutkiem użyć inaktywowanej surowicy świnki morskiej, t. j. ogrzanego komplementu, nawet naszego „złego” komplementu. Wystarczy ogrzewać go przez 10 minut w temperaturze 60°, lub 20 — 30 minut w temperaturze 57° C aby otrzymać skuteczny środek ochronny przed antykomplementarnym działaniem antygeny. W dwóch próbówkach przygotowuję:

Nawiasowo trzeba tu nadmienić, że powolne unieczynnienie komplementu dokonywujące się w nim podczas stania w temp. pokojowej lub w lodowni nie przechodzi przez etap, w którym komplement okazywałby taką wzmożoną wrażliwość na antygeny. W sześciu serjach prób w tym kierunku zestawionych przekonaliśmy się, że starzejący się komplement traci miano w próbie amboceptorowej bez antygeny, działa powolniej i równolegle staje się coraz wrażliwszy na antygen, lecz równocześnie też na inaktyw. surowicę ujemną. Dodatek takiej surowicy nie chroni go przed antykomplementarnym działaniem antygeny, tak samo dodatek ogrzanej świeżej surowicy świnki, lub ogrzanie do 60° przez 10 minut i zmieszanie z równą częścią nieogrzanej lub ogrzanie 5—10 minut w temp. 50°. Przeciwnie zabiegi te niszczą stale jego funkcję jeszcze bardziej.

Jeśli mamy zastanowić się nad wnioskami z powyższych prób, to trzeba przedewszystkiem uprzytomnić sobie, że każdy komplement jest wrażliwy na antygen wassermannowski, jakkolwiek prawidłowo znacznie mniej. Wobec tego ogrzewanie surowicy pacjenta, wytwarzające w niej zdolność ochronną komplementu, jest bardzo ważnym składnikiem próby Wassermanna i pozwala nam przypuszczać, że nieswoiste pseudoreakcje otrzymane z aktywnymi surowicami są efektem sumacyjnym działania antykomplementarnego antygeny i ich własnego, a ponadto braku działania ochronnego, lub ogólniej mówiąc prokomplementarnego. Gdybyśmy mogli wykazać, że surowica dodatnia nie wykazuje takiego działania ochronnego nawet w stanie nieczynnym, możnaby z tych trzech elementów wytłumaczyć wynik dodatniej próby Bordet-Wassermanna. Jednak dowodu na to przy pomocy prób tak ułożonych, jak powyższe, dać nie można.

II.

Już dawniejsze badania (*Mandelbaum, Kafka i Haas, Eicke Mascher, Cori-Radnitz* i inni) wykazywały, że kile towarzyszy często zmniejszenie ilości wzgl. nawet brak komplementu lub też nietrwałość jego. Według *Mandelbauma* traci 55 % surowic kiłowych komplement w ciągu kilku godzin, wedł. *Haasa i Kafki* 16 %, *Eicke*

i *Mascher* znaleźli w 45 % starej lub źle leczonej kiły wybitne zmniejszenie komplementu w ciągu 24^h od pobrania krwi. Znajdują oni też równoległość pomiędzy tym zanikiem komplementu a przebiegiem kiły, wzgl. leczenia. *Cori i Radnitz* stwierdzają, że „bei Lues ist der Komplementgehalt vermindert” i podają, że wedł. *Bickla* dodatniemu odczynowi Wassermanna zawsze towarzyszy wybitne zmniejszenie ilości komplementu.

Jeśli komplement kiłowy wykazuje jakieś zmiany w porównaniu z komplementem prawidłowym a zmiana ta odgrywa jakąś rolę w reakcji Bordet-Wassermanna, to musi ona dotyczyć także ciepłotrwałych składowych komplementu, gdyż surowicy kiłowej używa się do tej próby w stanie inaktywowanym przez ogrzanie. Skłoniło to nas do badania t. zw. trzeciej i czwartej składowej komplementu.

Otóż co do tej trzeciej składowej (usuwalnej przez drożdże) przekonaliśmy się, że naogół nie może przetrwać ona zwyczajnego inaktywowania (56 — 57° C przez 1/2^h). Czwarta natomiast składowa nie ulega zniszczeniu przy tem inaktywaniu. *Toda i Mitsuse* stwierdzili również większą odporność na temperaturę ze strony czwartej składowej niż trzeciej, z ich doświadczeń wynikałoby jednak, że trzecia ginie dopiero powyżej 56° C.

Według *Browninga i Mackiego* siarczan amonu niszczy wybiórczo czwartą składową komplementu, podobne wyniki otrzymali *Whitehead, Gordon i Wormall*. Zdaniem ich (1925) i zdaniem *Tokunagi* (1929) można taki unieczynniony przez siarczan amonu komplement restytuować komplementem unieczynnionym przez ogrzanie. Potwierdzają to *Deissler* (1932), *Toda i Mitsuse* (1933) i *Misawa* (1934). Otóż to zjawisko dostarczyło nam metody do badania ciepłotrwałej funkcji komplementarnej surowic kiłowych.

Oto zestawienie doświadczenia, jakie ustaliliśmy po szeregu prób wstępnych: Świeży komplement świnki zadaje się w jednej (większej) części siarczanem amonu w ilości 0,1 cm³ roztworu tego siarczanu 0,8 %¹⁾ na każdy cm³ komplementu i pozostawia w pokoju przez 24 wzgl. 48 godzin. Druga (mniejsza) część tego komplementu świeżego dostaje 0,3 cm³ 24 % roztw. soli kuchen-

¹⁾ Dla niektórych komplementów lepsze wyniki dał 0,64 % siarczan amonu.

nej na każdy cm^3 (celem konserwacji) i pozostaje przez tę dobę wzgl. dwie doby w lodowni. Ta część służy do miareczkowania komplementu świnki: po owej dobie, lub po dwóch dobach (zależnie od tego, czy kontrola komplementu amonjakowanego wykazuje już po dobie unieczynnienie jego) rozcieńcza się ją wodą destylowaną, dopełniając każdy $1,30 \text{ cm}^3$ do 10 cm^3 . Na podstawie próby wstępnej zestawia się system hemolityczny jak do reakcji Wassermanna, biorąc czterokrotną najmniejszą dawkę hemolizującą amboceptora. System wyczula się przez $\frac{1}{2}$ godz. w cieplarce i dodaje do jednej połowy drugie tyle komplementu amonjakowanego w rozcieńcz. 1:20, do drugiej połowy drugie tyle komplementu amonjakowanego w rozcieńcz. 1:40. Otrzymujemy dwa systemy przeczulone (hypersensibilizowane), zawierające wynikające z miareczkowania ilości amboceptora, krwinki (5%) i komplement pozbawiony 4 składowej. Jeden z tych systemów (I) posiada dwa razy większą ilość komplementu niż drugi (II).

Próba główna:

1) Inaktyw. surowicy pacjenta w rozc. 1:15	0,05	0,10	0,15	0,20
roztworu soli fizjol.	0,15	0,10	0,05	0,00
systemu przeczulonego I wzgl. II	0,80	0,80	0,80	0,80

Próba stoi w cieplarce i zostaje odczytana po $\frac{1}{2}$ godz. po 1 godz. i po $1\frac{1}{2}$ godz.

Jako kontrole:

- 1) 0,4 komplem. amonjakowanego, w rozc. 1:10
0,2 roztwor. soli fizjol.
0,4 systemu wyczulonego (nie przeczulonego).

Jest to kontrola komplementu amonjakowanego, mająca wykazać, że nawet podwójna dawka tego komplementu sama hemolizy nie wywołuje

- 2) 0,2 surowicy inakt. pacjenta, w rozcieńcz. 1:5
0,2 roztworu soli fizjol.
0,4 systemu wyczulonego (nie przeczulonego)

Jest to kontrola unieczynnienia surowicy pacjenta, mająca wykazać, że nawet dawka trzy razy wyższa od największej do głównego doświadczenia użytej, sama hemolizy nie wywołuje. Obie

te kontrole dowodzą, że hemoliza w głównem doświadczeniu nie jest wywołana przez proste sumowanie się działania obu surowic, lecz przez wzajemne uzupełnienie. Obok tych kontroli nastawialiśmy też kontrole systemów przeczulonych. Równolegle wykonywaliśmy odczyn Bordet-Wassermanna i kłaczkujące.

Próby nasze pozwalają dość ściśle wykazać obecność 4 składowej a nawet ocenić jej ilość. Zbadaliśmy 147 surowic, w tem 29 surowic z dodatnim odczynem Wassermanna a 118 ujemnych. Z ujemnych surowic wykazały wszystkie, z wyjątkiem 6, obecność 4 składowej, w przeważnym procencie nawet w najmniejszej ilości surowicy ($0,05 \text{ cm}^3$ w rozc. 1:15 = $0,0033 \text{ cm}^3$); nieliczne dopiero w ilości $0,10 \text{ cm}^3$ z rozcieńcz. 1:15, t. j. $0,0066 \text{ cm}^3$ surowicy. Tylko wzmiankowanych 6 surowic nie wykazało czwartej składowej nawet w ilości $0,2 \text{ cm}^3$ z rozc. 1:15 t. j. $0,013 \text{ cm}^3$ sur. i w dalszych próbach w $0,2 \text{ cm}^3$ w rozc. 1:5 t. j. w ilości $0,04 \text{ cm}^3$ surowicy. Z tych sześciu przypadków trzy miały starą leczoną kiłę, już seronegatywną. Czwarty był przypadkiem hepatitis z żółtaczką. O dwóch ostatnich nie mam żadnych danych klinicznych.

Z 29 dodatnich surowic wassermannowskich wykazało 11 wybitny brak czwartej składowej: 9 z nich nie dało wogóle hemolizy nawet w największej dawce ($0,2 \text{ cm}^3$ rozc. 1:15 t. j. $0,013 \text{ cm}^3$ sur.), zaś dały w tej dawce tylko ślad hemolizy, a w mniejszych zupełny brak hemolizy. W 4 surowicach (z pośród tych 9) nie można było (w dalszych próbach) wykazać czwartej składowej także w $0,2 \text{ cm}^3$ z rozc. 1:5, t. j. $0,04 \text{ cm}^3$ surowicy. Porównanie z danymi klinicznymi każe przypuszczać, że brak czwartej składowej występuje znacznie częściej w kile starej, niż świeżej.

Ogółem tedy wynika z naszych prób, że pomiędzy surowicą kiłową a prawidłową zachodzi w dużym procencie wyraźna różnica w funkcji komplementarnej. Surowice kiłowe znacznie częściej wykazały brak 4 składowej (mianowicie w $\frac{2}{5}$ badanej ilości surowic), niż surowice ujemne, z pośród których tylko $\frac{1}{20}$ brak ten wykazała (wzgl. nawet tylko $\frac{1}{40}$ jeśli odliczymy podane wyżej 3 przypadki kiły leczonej, które 4 składowej nie wykazywały). Na 118 surowic ujemnych 112 wykazało obecność czwartej składowej, na 17 surowic nie wykazujących tej składowej było 14 kiłowych.

(11 z dodat. Wassermannem, 3 w leczeniu, z ujemnym Wassermannem).

Można się spodziewać, że przez ulepszenie techniki dałoby się otrzymać wyniki jeszcze bardziej jednoznaczne. Przedewszystkiem potrzebna jest metoda ustalenia dawki komplementu amonjakowanego. Miareczkowanie przed amonjakowaniem nie wystarcza, bo niezależnie od miana pierwotnego, różnie wypada działanie unieczynnionego przez siarczan amonu komplementu: w niektórych serjach otrzymywaliśmy z wszystkimi surowicami już po kilku minutach zupełną hemolizę, stosując komplement 1:20. Tej serii nie mogliśmy zużytkować: zawierała widocznie za dużo komplementu. Innym razem jednak wszystkie surowice hamowały hemolizę nawet po 2 godz. pobycie w cieplarni zupełnie, lub prawie zupełnie, skoro stosowaliśmy mniej komplementu, mianowicie 1:30 lub 1:40. W próbie wstępnej oba komplementy te zachowywały się jednakowo, tak, że próba ta nie dawała nam wskazówek, co do ilości komplementu dla głównej próby. Radziliśmy sobie w ten sposób, że stosowaliśmy w każdej serii równolegle komplement, w dwóch rozcieńczeniach 1:20 i 1:40 (patrz wyżej), a za miarodajne uważaliśmy wyniki z tą mniejszą ilością komplementu, jeśli surowice napewno ujemne dały z nią zupełną hemolizę, w przeciwnym razie uznawaliśmy za miarodajne wyniki z większą ilością komplementu. Ponieważ efekt próby jest w wysokim stopniu zależny od ilości komplementu amonjakowego, potrzebne byłoby znacznie ściślejsze jego dawkowanie.

Nie każdy komplement świnki nadaje się do tych prób z siarczanem amonu, niektóre bowiem komplementy nie dają się po zadaniu siarczanem amonu, (w używanej przez nas ilości) całkowicie restytuować przez ogrzaną surowicę. Na dwadzieścia kilka surowic świnek, zdarzyło się to nam 2 razy: mimo dodania surowicy ogrzewanej (aż do dawek 0.2 z rozcieńcz. 1:5), wszystkie próby wykazały mniej lub więcej wybitne zahamowanie hemolizy, nawet przy użyciu kompl. 1:10, i po 2 godz. pobycie w cieplarni, a 20 godz. pobycie w pokoju. Co prawda, nawet w tych dwóch serjach, różnica między surowicą dodatnią (zahamowanie +++) a ujemną (zahamowanie +, w nielicznych próbkach +++), była widoczna. Tych dwóch seryj do podanej powyżej statystyki

nie zaliczyliśmy. Zdarzył się też dwa razy komplement, któremu dodatek siarczanu amonu w podanej wyżej ilości nie wystarczał: po 48^h i po 72^h komplement stawał się coraz słabszy, działał jednak bez restytuowania przez surowice inaktywowane; czwarta składowa ginęła równolegle z innymi, nie było momentu, w którym wybiórczo i wybitnie brakłoby tylko tej składowej. Ponadto były komplementy, którym do restytucji potrzeba więcej surowicy pacjenta i takie, którym wystarcza mniej. Z rozpoczęciem naszych prób (wrześień) mieliśmy okres, w którym do restytuowania komplementu amonjakowanego trzeba było 0.2 cm² surowicy inaktyw., w rozcieńcz. 1:5. Już 0.1 dawało wyniki niepewne. W listopadzie był znowu okres, kiedy doskonale wystarczało 0.05 cm³ z roz. 1:15.

Stosunki te przypominają pewne inne zjawiska z dziedziny działania komplementu. Podobnie jak z działania komplementu w obecności samego amboceptora hemolitycznego nie można wnioskować, jak będzie on działał w obecności amboceptora po staniu z antygenem (o czym wspominaliśmy w I. części tej pracy), nie można też z działania komplementu w obecności samego amboceptora wywnioskować, jak będzie działał w obecności amboceptora po staniu z siarczanem amonu. Czwarta składowa (zawarta w surowicy inaktywowanej) przypomina tu rolę amboceptora: pewien niedobór komplementu (lub kompl. amonjakowanego) daje się zrekompensować przez pewien nadmiar amboceptora (lub czwartej składowej). Wynika z tych obserwacji jeszcze raz, że reakcje serologiczne nie dają się ująć w żadne wzory zbudowane na podobieństwo stechiometrycznych wzorów chemii klasycznej. Składowe tych reakcyj nie mają charakteru niewymiennych, stałych elementów, lecz przeciwnie mogą się do pewnego stopnia zastępować wzajemnie i rolę swą w pewnych granicach zmieniają zależnie od całego kompleksu reagujących na siebie wzajemnych czynników.

Komplement amonjakowany jest nazajutrz po dodaniu soli amonjakalnej przejrzysty, po 48-72 godz. (w lodowni) zaczyna mętnieć, po 4-6 dniach wykazuje wyraźny strą. Równolegle zmniejsza się jego działanie z restytuującą surowicą ogrzaną, po 6-7 dniach restytucja nie udaje się już zupełnie.

Surowica inaktywowana traci stopniowo swą zdolność restytuowania komplementu amonjakowanego od czwartego (średnio) dnia począwszy i po 8-10 dniach zdolności tej już nie posiada. Z naszego materiału wynika, że surowica kiłowa, nawet wykazująca tę zdolność w pierwszych dniach w sposób prawidłowy, traci ją prędzej niż surowica prawidłowa. Nie trzeba chyba dodawać, że nasza podana wyżej statystyka opiera się na badaniu surowic świeżych, przeważnie 24 godz., częściowo 48 godz., względnie najwyżej 72 godz. (najmniejsza część).

Starzejąca się surowica aktywna traci między 4 a 6 dniem swą zdolność restytuowania komplementu amonjakowanego, równoległe z zamieraniem swej ogólnej zdolności komplementarnej i równoległe z tą samą surowicą inaktywowaną.

Około dnia szóstego zaczyna jej zdolność restytuowania komplementu amonjakowanego opadać szybciej niż tej samej surowicy inaktywowanej. Około dnia ósmego zdarza się często, że surowica aktywna nie restytuuje zupełnie komplementu amonjakowanego, natomiast ta sama surowica przechowywana w stanie nieczynnym, czyni to jeszcze mniej lub więcej dobrze. Inaktywowanie odegrało więc w pewnym zakresie rolę częściowo prokomplementarną. (Stabilizacja? Usuwanie antykomplementu?)

Nadmienić wreszcie trzeba, że wykonaliśmy szereg porównawczych prób z komplementem pozbawionym 4 składowej przez wytrząsanie eterem (technika *Tokunagi*). Zabieg ten daje się znacznie trudniej dawkować niż traktowanie siarczanem amonu: po 1 $\frac{1}{2}$ min. wstrząsaniu mieliśmy przeważnie komplement identyczny z komplementem amonjakowym, ale 2-2 $\frac{1}{2}$ min. wstrząsanie może go zniszczyć tak dalece, że restytuowanie przez surowicę inaktywowaną staje się niemożliwe. Jednominutowe wstrząsanie naogół nie usuwa zupełnie 4 składowej. Pozatem były wyniki co do surowic kiłowych w zasadzie identyczne (kilka tylko prób).

III.

Należałoby zastanowić się jakie znaczenie ma brak (lub zmniejszona ilość, wzgl. szybsze znikanie) czwartej składowej, spotykany w licznych surowicach kiłowych. Niestety, nie możemy

dotąd na podstawie zebranego materiału ocenić tego należy, gdyż brak jest danych co do innych chorób, stanów wycieńczenia, wpływów terapii specyficznej itd. Potrzebne byłyby liczne dalsze badania, także w kierunku innych składowych funkcji komplementarnej surowicy kłowej, bo trudno przypuścić aby tylko 4 składowa ucierpiała w kile.

W sprawie możliwego związku pomiędzy tym brakiem a dodatnim odczynem Wassermanna, pamiętać trzeba, że większość surowic dodatnich w naszych próbach nie wykazała braku 4 składowej i że naodwrot, niektóre surowice nie zawierające jej, dawały odczyn ujemny, jakkolwiek pochodziły od luetyków.

Niemniej jednak daje się rola 4 składowej komplementu w odczynie Wassermanna doświadczalnie badać.

W szeregu prób pozbawiliśmy czynne i nieczynne surowice ludzkie czwartej składowej komplementu przez działanie siarczanu amonu i wykonaliśmy następnie reakcję Wassermanna. Wyniki były następujące:

Wszystkie badane czynne surowice (12), z wyjątkiem jednej, dały dodatni odczyn Wassermanna, jakkolwiek 8 z nich było ujemnych przed amonjakowaniem. Trzy stały się mniej lub więcej samozwrotne. Jeśli po amonjakowaniu ogrzaliśmy te same surowice $\frac{1}{2}$ godz. przy 56° , odczyn Wassermanna wypadł identycznie z odczynem przed amonjakowaniem, znikła też samozwrotność.

Te same surowice amonjakowane po zwykłej inaktywacji dały odczyn identyczny z odczynem bez amonjakowania, t. j. nie zmieniły się.

Takie same wyniki dały 2 surowice ujemne i 1 dodatnia traktowane eterem przed inaktywowaniem, po inaktywowaniu, i bez inaktywowania: stały się wszystkie dodatnie, jeśli nie były ogrzewane, a dały swój „prawidłowy” odczyn, jeśli zostały ogrzane przed lub po eteryzacji. Podobnie zachowuje się zresztą surowica ludzka pozbawiona 3 składowej przez drożdżowanie.

Wyniki te są identyczne z wynikami *Hirszfelda* i *Klingera* (1914), otrzymanymi z surowicami traktowanymi kaoliną, zawiesiną bakterij lub agarem. W pracy swej wyrazili ci autorowie mniemanie, że pomiędzy takimi „sztucznie dodatnimi” surowicami, których odczyn dodatni jest ciepłochwiejny, a surowicami dodatnimi

z powodu kiły, których odczyn jest ciepłotrwały, nie zachodzi zasadnicza różnica.

W mechanizmie tego sztucznie dodatniego Wassermanna gra ogrzewanie rolę wybitnie prokomplementarną, analogicznie do cytowanych w I części pracy niniejszej prób z komplementem nadmiernie wrażliwym na antygen wassermannowski. Jak daleko idzie ta analogja? Czy równoczesne działanie czynnej surowicy ludzkiej amonjakowanej i nieczynnej surowicy ludzkiej na antygen wassermannowski i komplement, da w rezultacie odczyn ujemny, t. j. czy surowica nieczynna ochroni komplement przed działaniem surowic amonjakowanych i antygenu? Czy dodanie surowicy nieczynnej, po pierwszej fazie próby Wassermanna z surowicą czynną amonjakowaną, da w rezultacie odczyn ujemny, t. j. czy surowica nieczynna uzupełni jakiś brak komplementu, powstały przez działanie surowicy amonjakalnej i antygenu na komplement? Obie kombinacje wykazały zupełne zahamowanie hemolizy. Należy więc przyjąć, że w sztucznym dodatnim odczynie Wassermanna gra rolę jakiś czynnik antykomplementarny, przynajmniej ilościowo różny od czynnika opisanego w I części pracy. Nie jest on swoisty, bo aktywna surowica amonjakowana daje zahamowanie hemolizy także z innemi antygenami n. p. z zawiesiną bakterij (X_{19}). Jest on ciepłochwiejny i powstaje z ciepłochwiejnej składowej surowicy, więc odpowiada w zasadzie antykomplementowi *Kissa*.

Do rozważań nad mechanizmem próby Wassermanna i znaczeniem czwartej składowej komplementu dla tej próby trzeba wciągnąć ogólnie znaną okoliczność, że niezakażone kiłą króliki dają w dużym procencie (*Laubenheimer* 55%, *Schumacher* 50%, *Blum* 23%) dodatni odczyn Wassermanna. Otóż według *Misawy*, jest w surowicy królika „4 Komponente kaum nachweisbar”. Nasze próby na dwóch zdrowych królikach, wykazały również brak 4 składowej w świeżej ich surowicy. Jest to zbieg okoliczności zwracający uwagę i zasługujący na podkreślenie.

Według *Deisslera* i późniejszych badań *Misawy*, każde wiązanie komplementu, swoiste, heterogenetyczne, wassermannowskie i nieswoiste (pseudoreakcje z antygenem działającym wybitnie antykomplementarnie), zużywa przedewszystkiem 4 składową kom-

plementu. Niedobór 4 składowej w surowicach kiłowych może więc nie być bez znaczenia, ponieważ w próbie Wassermanna nawet z surowicą inaktywowaną mamy do czynienia właściwie z dwoma komplementami: 1) komplement świnki 2) ciepłostale składowe komplementu ludzkiego, więc też 4 składowa. Potrzebne są porównawcze liczniejsze próby Wassermanna z surowicami inaktywowanymi i pozbaw. 4 składowej („hyperinaktywowanymi”) i mamy je w planie na najbliższą przyszłość.

Możliwe jest też, że inne próby wiązania, n.p. w grzlicy, nowotworach i t. d., dadzą wyniki bardziej jednoznaczne, jeśli użyjemy takich surowic hyperinaktywnych: słabe stopnie wiązania komplementu, odbywające się podobno tylko kosztem 4 składowej, nie będą spotykały nadmiaru teje z powodu kumulacji 4 składowych komplementu świnki i komplementu ludzkiego.

Wydaje mi się na zakończenie korzystnem następujące zestawienie analogij pomiędzy surowicą kiłową, króliczą i ludzką pozbawioną 4 składowej:

	Surowica kiłowa	Surowica królicza	Surowica pozbaw. 4 składowej
Czwarta składowa:	Niedobór	Brak	Brak
Antykompl. działanie w stanie czynnym:	Wzmoczone	Wybitne	Wybitne
Ogrzewanie:	Zmniejsza działanie antykomplementarne	Zmniejsza działanie antykomplementarne	Usuwa działanie antykomplementarne
Odczyn Wassermanna:	Dodatni	Często dodatni	Dodatni w stanie czynnym

Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Krankenkasse in Lwów

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE SEROLOGIE DER SYPHILIS

V o n

Dr. LUDWIK FLECK

ZUSAMMENFASSUNG

In einem grossen Teilluetischer Sera konnte das Fehlen resp. eine Verminderung der 4. Komplementkomponente nachgewiesen werden: auf 32 untersuchte luet. Sera zeigten 14 diese Eigenschaft, auf 115 vermutlich nichtluetische nur 3. Hauptsächlich waren es Fälle später Syphilis, die den besagten Komplementdefekt besaßen. Es ist wichtig, dass im Kaninchenkomplement nach *Misawa* die „4 Komponente“ kaum nachweisbar ist, wodurch die bekanntlich oft positive Wassermannreaktion gesunder Kaninchen eine besondere Beleuchtung bekommt. Menschliches normales Serum, dessen vierte Komplementkomponente künstlich vernichtet wurde, zeigt im unerhitzten Zustande positive Wassermannreaktion, bleibt aber negativ nach Inaktivierung durch Erwärmen.

P I Ś M I E N N I C T W O

Deissler, Z. f. Imn. 73 (365); Misawa, Z. f. Imn. 83 (130); Cori-Radnitz, Z. f. Imn. 29 (445); Eicke-Mascher, Z. f. Imn. 26; Hirszfeld-Klinger, Z. f. Imn. 21 (40); Nathan, Z. f. Imn. 29 (562); Tokunaga, Zbl. f. B. O. 107 (283), 107 (288); 111 (470), 111 (478); Whitehead, Gordon, Wormal, Bioch. Journal 1925; Tokai Mitsuse, Z. f. Imn. 78, str. 62; Sachs, Hämolytische Serumwirkung, Kolle Kraus Uhlenhut II, 2, 779; Laubenheimer, Serodiagnose der Syphilis, Kolle Kraus Uhlenhut VII, 1, 216; Bruck, Serodiagnose der Syphilis 1924,

Wpłynęło 15.V.1934

Z Zakładu Bakterjologii Wydz. Wet. U. W. (Dyrektor Prof. Dr. Z. Szymanowski)

DALSZE BADANIA NAD PARAGLUTYNACJĄ. PRÓBY RÓŻNICZKOWANIA ANTYGENU H i O

Podali

J. FRENDZŁOWA i Z. SZYMANOWSKI

W poprzednich naszych badaniach nad paraglutynacją (1) ustaliliśmy, że jest to zjawisko serologicznie swoiste, nie mające nic wspólnego z aglutynacją kosmopolityczną w sensie *Schützego*. Nawet tam, gdzie szczepy paraglutynujące występują w charakterze szorstkim R, można stwierdzić obecność swoistego antygenu spokrewnionego z tym szczepem, który wywołuje paraglutynację. Badania nasze, wykonane początkowo na szczepach *b. coli*, hodowanych w przesączach albo w hodowlach mieszanych ze szczepami tyfusowymi, uzupełniliśmy przez analogiczne doświadczenia z pałeczką ronienia zakaźnego (*b. Bangi*) (2, 3). W tem miejscu należy zaznaczyć, że w naszych doświadczeniach nie może być mowy o przenoszeniu z pałeczką okrężnicową resztek antygenu tyfusowego. Wybieraliśmy bowiem tylko szczepy, zachowujące zdolność paraglutynującą w długich serjach przeszczepów, ciągnących się po roku i dłużej. Nie wszystkie szczepy są w tej mierze jednako uzdolnione. Z jednej strony nie wszystkie szczepy pałeczki okrężnicowej nadają się do odczynu paraglutynującego, z drugiej zaś nie wszystkie szczepy tyfusowe zdolne są do wywoływania paraglutynacji. Dlaczego tak jest i na czem to polega, nie umiemy nic o tem w tej chwili powiedzieć.

W pracy niniejszej postanowiliśmy pogłębić badania nasze nad paraglutynacją. Wobec zróżniczkowania antygenów pałeczki tyfusowej na ciepłotałe i ciepłochwiejne, postawiliśmy sobie pytanie, które z nich odgrywają w paraglutynacji większą rolę, wzgl., czy można w zlepliwości ulegającego paraglutynacji szczepu pałeczki okrężnicowej, wykazać różnice wpływu antygenów ciepłotałych i ciepłochwiejnych pałeczki tyfusowej. W związku z tem trzeba zaznaczyć, że w paraglutynacji nie spostrzegaliśmy żadnego charakterystycznego zróżniczkowania na aglutynację gładką i obłoczkową i dlatego we wszystkich rozważaniach dalszych będziemy się opierali na wysokości miana aglutynacyjnego surowicy i na zmianach tego miana pod wpływem rozmaitych wysyczeń.

Do doświadczeń naszych wybraliśmy z szeregu szczepów pałeczki okrężnicowej takie, których miano paraglutynacyjne pod wpływem hodowania bądź w przesączach pałeczki tyfusowej, bądź w hodowlach mieszanych okazało się najwyższe. Na podkreślenie zasługuje, że z szeregu szczepów, pochodzących już to z kałów tyfusowych, już to od zdrowych zwierząt okazały się najlepszymi nie te wcale, które dawały najwyższe miano paraglutynacyjne na początku doświadczenia. Szczepy z kałów tyfusowych były znacznie mniej podatne do ulegania, wzgl. do wzmacniania się paraglutynacji. Wybraliśmy do naszych doświadczeń dwa szczepy z kałów szczurów. Jeden z nich nie dawał paraglutynacji wcale, drugi zlepiał się z surowicą tyfusową w rozcieńczeniu 1/200. Przed rozpoczęciem właściwych doświadczeń szczepy były pasażowane 20-o krotnie na płytkach Endo i sprawdzane biochemicznie na cukrach. Zaznaczymy nawiasowo, że dzisiaj jeszcze po upływie czterech miesięcy nie zmieniły one swych własności paraglutynacyjnych. Miano paraglutynacyjne szczepu wyjściowego nr. 5 początkowo 1/200 obecnie wynosi 1/6400 dla jednego szczepu pochodnego nr. 58, i 1/3200 dla drugiego szczepu nr. 59. Drugi szczep wyjściowy nr. 26, który nie dawał wcale paraglutynacji, dał dwa szczepy pochodne Nr. 261 i Nr. 263, zlepiające się z surowicą tyfusową w rozcieńczeniu 1/6400.

W pierwszej serii naszych doświadczeń badaliśmy zachowanie się tych szczepów względem surowicy tyfusowej, zawierającej

tylko zlepniki anty-H, to znaczy wysyconej zawiesiną szczepu tyfusowego, ogrzewaną przez 2 godziny w temperaturze 100° w kociołku Kocha. Surowica taka, pozbawiona całkowicie zlepników anty-0 dla szczepu tyfusu, ogrzanego do 100°, i dla szczepu Gärtnera, użytego do kontroli (wspólne 0 z tyfusem), wykazała znaczne obniżenie miana dla paraglutynujących się szczepów b. coli. Obniżenie wynosi 50%, niekiedy nawet 75%. Wynika stąd możliwość udziału elementu 0 tyfusowego w wywoływaniu paraglutynacji. Mówimy tu o możliwości, gdyż obserwujemy tylko obniżenie miana, lecz nie widzimy żadnego wpływu na charakter aglutynacji. Charakterystyczne jest, że szczep wyjściowy b. coli Nr. 5, żadnego obniżenia miana aglutynacyjnego nie okazuje. Próbowaliśmy także przekonać się, czy szczepy, wykazujące paraglutynację, zmieniają swą zlepliwość po ogrzaniu do 100° w ciągu 2 godz. Nie znaleźliśmy żadnej różnicy. Nie udało nam się tą drogą wykazać różniczkowania pomiędzy antygenami tych szczepów. Miano paraglutynacyjne wykazuje wprawdzie obniżenie, ale zarówno względem surowic pełnych, jak i względem surowic pozbawionych zlepnika anty-0.

W dalszym ciągu wysycaliśmy surowicę tyfusową, pozbawioną zlepnika anty-0, zapomocą zawiesiny szczepów b. coli, zarówno paraglutynujących się, jak i wyjściowych. Wyniki były bardzo interesujące. Okazało się bowiem, że szczepy paraglutynujące się wybitnie obniżają miano aglutynacyjne surowicy, zarówno dla szczepu tyfusowego żywego, jak i dla szczepu Stanley, a także dla innych szczepów paraglutynujących się. Natomiast szczep b. coli wyjściowy, nie wpływa wcale na aglutynację szczepu tyfusowego i szczepu Stanley. Co się tyczy wpływu tego ostatniego wysycenia na szczepy paraglutynujące się, to oczywiście obniżenie miana jest bardzo wyraźne, gdyż szczepy te posiadają znaczną część antygenów wspólnych. Z obniżenia miana zlepnego dla szczepu tyfusowego i szczepu Stanley przez wysycenie surowicy szczepami paraglutynującymi się wynika niezbicie, że te ostatnie, i to wszystkie bez wyjątku szczepy badane, zawierają w swej strukturze element antygenowy, ściśle odpowiadający antygenowi H szczepu tyfusowego. Niezupełnie jasne jest obniżenie miana zlepnego dla szczepów Nr 261 i Nr 263 przez wysycenie szczepem wyjścio-

wym Nr 5. Dowodziłoby to pewnego pokrewieństwa antygenowego pomiędzy szczepami wyjściowymi Nr 5 i Nr 26. Nie mogliśmy tego faktu poprzeć przez wysycenie surowicy anty-H tyfusowej szczepem wyjściowym Nr 26, gdyż szczep ten nie zlepiął się wcale z surowicą tyfusową.

Na zlepliwość szczepów paraglutynujących się wpływało w jednakiej mierze wysycenie zapomocą każdego z paraglutynujących się szczepów: szczepy Nr 58 i Nr 59 działały równie dobrze, jak szczepy Nr 261 i Nr 263. Jest to jeszcze jeden dowód, stwierdzający swoistość paraglutynacji, wywołanej pod działaniem hodowania ze szczepami tyfusowymi. Załączona tablica zawiera wszystkie odnośne dane (Tabl. I.)

T A B L I C A I.

Aglutynacja z surowicą przeciwtyfusową „Adler“ (anty-H).

Szczepy	Przed wysyceniem	Po wysyceniu szczepem tyfusowym, ograniczonym do 100 ⁰					
		Wysyciona szczepem b. coli 58 paragl.	Wysyciona szczepem b. coli 59 paragl.	Wysyciona szczepem b. coli 261 paragl.	Wysyciona szczepem b. coli 263 paragl.	Wysyciona szczepem b. coli 5 wyjściowym	
B. typhi Adler żywy	6.400	3.200	200	200	200	200	1.600
Dto grzany do 100 ⁰	1.600	0					
B. Stanley	3 200	1.600	200	200	100	100	1.600
B. Gärtner Kiel	1.600	0					
B. coli 58 paragl.	6.400	1.600	0	100	400	100	100
B. coli 59 paragl.	3.200	1.600	0	0	400	100	100
B. coli 261 paragl.	6.400	3.200	400	400	0	200	200
B. coli 263 paragl.	6.400	1.600	100	100	200	0	100
B. coli 5 wyjściowe	200	200	0	0	0	0	0
B. coli 26 wyjściowe	0	0	0	0	0	0	0

Druga serja doświadczeń wykonana została z czystą surowicą tyfusową anty-0, otrzymaną przez wysycenie tej surowicy zapo-
mocą szczepu Stanley. Wysycenie takie powoduje wyraźną obniżkę
zdolności zlepnącej względem szczepów paraglutynujących się, aczkol-
wiek obniżka ta nie dla wszystkich szczepów jest jednakowa. Dla
szczepu wyjściowego b. coli 5, jak z góry przewidzieć można obniżka
jest bardzo nieznaczna. Najważniejszą natomiast rzeczą jest to, że
dalsze wysycenie tej surowicy szczepami paraglutynującymi już
nie obniża miana zlepnego dla szczepu tyfusowego zarówno ży-
wego, jak ogrzanego do 100°. Tak samo zachowuje się aglutynacja
pałeczki Gärtner. Szczepy paraglutynujące zachowują się tu tak
samo, jak szczepy wyjściowe, które również nie obniżają miana
zlepnego dla tyfusu i dla Gärtnera. Tak więc na czystą surowicę
anty-0 szczepy paraglutynujące nie mają żadnego wpływu, gdy
tymczasem na czystą surowicę anty-H wywierają wpływ bardzo
znaczny. Aglutynacja szczepów paraglutynujących obniża się
bardzo wybitnie, dochodząc wszędzie do 0. Obniżenie to jest
daleko większe dla czystej surowicy anty-0 niż dla czystej suro-
wicy anty-H. Dane powyższe ilustruje tablica II.

T A B L I C A II.

Aglutynacja z surowicą przeciwytyfusową „Adler“ (anty-0).

Szczepy	Przed wysyceniem	Wysyciona szczepem						
		Wysyciona szcze- pem b. coli 58 paragl.	Wysyciona szcze- pem b. coli 59 paragl.	Wysyciona szcze- pem b. coli 261 paragl.	Wysyciona szcze- pem b. coli 263 paragl.	Wysyciona szcze- pem b. coli 5 wyjściowym	Wysyciona szcze- pem b. coli 26 wyjściowym	
B. typhi Adler żywy	6.400	1.600	1.600	1.600	1.600	1.600	1.600	
Dto grzany do 100 ^o	1.600	1.600	1.600	1.600	1.600	1.600	1.600	
B. Stanley	3.200	0	0	0	0	0	0	
B. Gärtner Kiel	1.600	800	800	800	800	800	800	
B. coli 58 paragl.	6.400	400	0	0	0	0	0	
B. coli 59 paragl.	3.200	200	0	0	0	0	0	
B. coli 261 paragl.	6.400	1.600	0	0	0	0	0	
B. coli 263 paragl.	6.400	1.600	0	0	0	0	0	
B. coli 5 wyjściowy	200	100	0	0	0	0	0	
B. coli 26 wyjściowy	0	0	0	0	0	0	0	

W następnej serii doświadczeń badaliśmy zachowanie się surowic, otrzymanych przez uodpornienie królików zawiesiną szczepów paraglutynujących się, oraz wpływ wysycania tych surowic różnemi szczepami na miano aglutynacyjne. Wyniki zestawione są na tablicy III-ej i IV-ej.

T A B L I C A I I I .

Surowica anticoli paraglutynująca 58.

Szczepy	Przed wysyceniem	Wysycona szczepem coli 261 paraglutyn.	Wysycona szczepem Tyfus „Adler” 100 ^o	Wysycona szczepem Tyfus „Adler” żywy	Wysycona szczepem Stanley	Wysycona szczepem Gärtner Kiel
Tyfus żywy	3.200	1.600	800	0	0	800
Dto grzany do 100 ^o	400	400	0	0	400	0
Stanley	3.200	1.600	3.200	0	0	800
Gärtner Kiel	400	400	0	0	200	0
B. coli 58 paragl.	6.400	800	800	800	800	800
B. coli 59 paragl.	3.200	800	800	800	400	800
B. coli 261 paragl.	3 200	0	800	800	400	800
B. coli 265 paragl.	3.200	400	800	800	200	400
B. coli 5 wyjściowy	800	800	800	800	800	200
B. coli 26 wyjściowy	200	100	100	100	100	100

Widzimy z nich, że surowica anticoli 58 zlepia szczep tyfusu żywy oraz szczep Stanley do miana 1/3.200, natomiast szczep tyfusu grzany do 100^o i szczep Gärtnera zlepia się tylko do miana 1/400. Widzimy i tym razem wybitny udział elementu H w paraglutynacji. Zlepianie się wzajemne różnych szczepów paraglutynujących się i szczepu wyjściowego b. coli 5 nie przedstawia nic osobliwego. Dziwniejsze natomiast jest

TABLICA IV.

Surowica anticoli paraglutynująca 261.

Szczepy	Przed wysyceniem	Wysyciona szczepem coli 58 paraglutyn.	Wysyciona szczepem Tyfus „Adler” 100 ⁰	Wysyciona szczepem Tyfus „Adler” żywy	Wysyciona szczepem Stanley	Wysyciona szczepem Gärtner Kiel
Tyfus „Adler” żywy	800	400	200	0	0	400
Dto grzany do 100 ⁰	400	400	0	0	400	0
Stanley	200	0	200	0	0	200
Gärtner Kiel	100	100	0	100	100	0
B. coli 58 paragl.	800	0	200	0	200	200
B. coli 59 paragl.	800	0	800	200	200	200
B. coli 261 paragl.	6.400	100	800	200	200	200
B. coli 263 paragl.	800	0	800	800	400	200
B. coli 5 wyjściowy	400	0	400	200	200	100
B. coli 26 wyjściowy	800	100	500	400	200	200

zlepianie się szczepu wyjściowego b. coli 26. Świadczy to o pewnem pokrewieństwie antygenowem pomiędzy obu wyjściowemi szczepami coli. Surowica anticoli 261 zachowuje się analogicznie. Pod wpływem wysycenia surowicy anticoli 58 zapomocą szczepu tyfusu grzanego do 100⁰ oraz zapomocą szczepu Gärtnera wykazuje pewne obniżenie miana dla tyfusu żywego i w przypadku wysycenia szczepem Gärtner także dla szczepu Stanley. Wysycenie to jednak jest bardzo nieznaczne w porównaniu z wpływem, jaki wywiera wysycenie szczepem tyfusu żywym i szczepem Stanley. Świadczy to o przewadze roli, jaką w paraglutynacji odgrywa element H w porównaniu z wpływem, jaki odgrywa element O. Wpływ tych wysyczeń na aglutynację paraglutynujących się szczepów b. coli, oraz szczepów wyjściowych jest w znacznie mniej dobitny i wyka-

zuje wahania, w których trudno się dopatrzeć prawidłowości. Tłumaczy się to okolicznością, że aglutynacja paraglutynujących się szczepów *b. coli* pod wpływem odnośnych surowic odpornościowych zależy w daleko większym stopniu od struktury antygenowej wyjściowych szczepów *b. coli*, niż od struktury tego szczepu, który wywołał paraglutynację, t. j. w tym przypadku od szczepu tyfusowego.

Jeszcze dobitniej występują własności surowicy anticolii paraglutynującej po jej wysyceniu szczepem wyjściowym. Stosunki te przedstawione są na tablicy V-ej. Widzimy z niej, że wysyce-

T A B L I C A V.

Surowica anticolii paraglutynująca 58.

S z c z e p y	Przed wysyceniem	Wysyceniem szczepem wyjściowym coli 5		
			Wysycenie szczepem „Stanley”	Wysycenie szczepem Gärtner
Tyfus „Adler” żywy	3.200	3.200	200	1.600
Dto grzany do 100°	400	400	400	0
Stanley	1.600	1.600	0	1.600
Gärtner Kiel	200	200	200	0
<i>B. coli</i> 58 paragl.	6.400	100	100	100
<i>B. coli</i> 59 paragl.	3.200	100	100	100
<i>B. coli</i> 261 paragl.	3.200	200	100	200
<i>B. coli</i> 263 paragl.	200	100	100	200
<i>B. coli</i> 5 wyjściowy	800	0	0	0
<i>B. coli</i> 26 wyjściowy	100	0	0	0

nie szczepem wyjściowym nie wpływa wcale na aglutynację szczepu tyfusowego żywego i grzanego, oraz szczepów Stanley i Gärtner. Jest to zresztą zrozumiałe samo przez się. Natomiast aglutynacja wszystkich szczepów *b. coli*, zarówno paraglutynujących się, jak wyjściowych, spada olbrzymio. Jeżeli surowicę tak wysycną będziemy dalej wysycali szczepem Stanley, wówczas usuniemy z niej zlepniki dla szczepu tyfusu żywego prawie doszczętnie, gdy tymczasem aglutynacja tyfusu grzanego do 100°, oraz szczepu Gärtner nie zmieni się zupełnie. Wysycenie szczepem Gärtner działa odwrotnie: aglutynacja szczepu tyfusu żywego słabnie nieznacznie, aglutynacja szczepu Stanley pozostaje niezmieniona, natomiast aglutynacja szczepu tyfusu grzanego spada do 0. Na aglutynację szczepów *b. coli* zarówno paraglutynujących się, jak i wyjściowych te dalsze wysycenia nie wywierają żadnego wpływu, albo nieznaczny.

Reasumując wyniki badań powyższych, dojść musimy do wniosku, że paraglutynacja jest zjawiskiem swoistem, zależnym od struktury antygenowej szczepów, które paraglutynację wywołują. W tej swoistości wyróżnić można rolę pojedynczych składników antygenowych szczepu wywołującego. Zwłaszcza element H wysuwa się tu na czoło działania. Czy element O odgrywa również rolę i w jakim stopniu, tego z całą pewnością określić nie można. Zdaje się jednak, że i element O wywiera też pewien wpływ. Pod wpływem paraglutynacji struktura antygenowa szczepów wyjściowych ulega tylko przysłonięciu, ale bynajmniej nie zanikowi. Dlatego też surowice, otrzymane przez uodpornienie szczepami paraglutynującymi się, działają zarówno na szczepy paraglutynujące się jak i na szczepy wyjściowe jednakowo wyraźnie. Natomiast na szczepy, które zawierają antygeny, wywołujące paraglutynację, działają tylko zlepniki przez paraglutynację nabyte. W zjawisku paraglutynacji mamy jeden z najdobitniejszych przykładów wywołania sztucznie w organizmie nowej, nieposiadanej przez niego przedtem cechy i w dodatku cechy przekazywanej dziedzicznie przez długi szereg pokoleń.

Dla skontrolowania, w jakiej mierze szczepy paraglutynujące nabierają cech szczepów, wywołujących paraglutynację, wykonaliśmy szereg doświadczeń nad działaniem bakterjofagów. Szereg bakterjofagów, działających na szczepy tyfusowe i w szczególności na szczep Adler, wypróbowaliśmy co do działania na paraglutynujące się szczepy *b. coli*. Wynik był zawsze ujemny. Świadczy to z jednej strony o tem, że zasadniczy charakter strukturalny, właściwy szczepom wyjściowym, został w szczepach paraglutynujących się utrzymany. Z drugiej strony zaś zgadza się to z wykrytem przez *Burneta* znaczeniem elementu 0, w działaniu bakterjofagów. Jak wiemy, tam gdzie jest 0 wspólne, tam można oczekiwać wspólnej wrażliwości na działanie bakterjofagów, gdy tymczasem wspólne H tego znaczenia nie posiada. Nasze wyniki co do roli obu tych elementów w paraglutynacji nie są więc sprzeczne z koncepcją *Burneta*.

S t r e s z c z e n i e .

Szczepy *b. coli* paraglutynujące się z surowicą tyfusową zawierają w swym składzie przede wszystkim element H tyfusowy, którego obecność można wykazać przez elektywne działanie wysycające na aglutyniny tyfusowe anty-H. Element 0, jeżeli wogóle jest obecny, to w każdym razie w znacznie słabszym stopniu, o ile sądzić można z odnośnych doświadczeń absorpcyjnych. Z doświadczeń tych wynika niezbicie, że paraglutynacja jest zjawiskiem swoistem serologicznie zróżnicowanym.

De l'Institut Bactériologique de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université
de Varsovie. (Directeur: Prof. Dr. Z. Szymanowski)

RECHERCHES SUR LA PARAGGLUTINATION
II PARTIE
DIFFÉRENCIATION DES ANTIGÈNES H ET O

P a r

J. FRENDEL et Z. SZYMANOWSKI

R É S U M É

Les souches du *b. coli* paragglutinées avec du sérum antityphique contiennent dans leur structure antigénique l'élément H du bacille typhique, car elles absorbent électivement les agglutinines anti-H du sérum antityphique. La démonstration de la présence de l'élément O n'est pas aussi nette. La paragglutination est un phénomène dont la spécificité sérologique est incontestable.

P I Ś M I E N N I C T W O

1) J. Frenzelowa i Z. Szymanowski. *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*, T. IX, Z. 3/4, 1928. 2) J. Frenzelowa i Z. Szymanowski *Med. Dośw. i Społ.*, T. XIII, Z. 7/8, 1931. 3) J. Frenzel und Z. Szymanowski. *Zentrbl. f. Bakter. Origin.* Bd. 121, 1931.

Wpłynęło 2.VI.1934.

Z Zakładu Bakterjologicznego Wydziału Weterynaryjnego U. W.
(Dyrektor Prof. Dr. Z. Szymanowski)

DOŚWIADCZENIA NAD IMMUNOIZOAGLUTYNINAMI WE KRWI ŚWIŃ

P o d a l i

J. FRENDZŁOWA i Z. SZYMANOWSKI

Jak wiadomo, izoaglutynacja we krwi zwierzęcej występuje przeważnie znacznie słabiej niż we krwi ludzkiej i przytem z wielkiem opóźnieniem. Stanowi to pewną przeszkodę w badaniu różniczkowania grupowego krwi zwierzęcej. Znacznie dogodniej jest wskutek tego posługiwać się surowicami odpornościowymi, w których izoaglutynacja występuje w stopniu daleko silniejszym. Przygotowanie surowic odpornościowych przeciwko niektórym zarazkom przesączalnym, połączone jest, jak wiemy, z zastrzykiwaniem zwierzętom krwi zakaźnej, pobranej od zwierząt tego samego gatunku. Tak się przygotowuje surowicę przeciwko księgosuszowi, oraz przeciwko pomorowi świń. I w jednym i w drugim przypadku zwierzęta uodporniane otrzymują bardzo wielkie ilości krwi jednoimiennej. Surowica taka oczywiście zawiera ciała odpornościowe, nietylko zobojętniające działanie zarazka, ale także i inne skierowane przeciwko zastrzykiwanym krwinkom. W literaturze znajdujemy szereg prac nad immunoizoaglutyninami przeciwko krwinkom bydlęcym, w których autorzy posługiwali się surowicą przeciwksięgosuszową (*Todd, White, Jettmar* i inni). Nawiasowo wspomnę, że *Schermer* i jego uczniowie (*Rang*) posługiwali się do tego samego

celu surowicą naturalną, sztucznie zagęszczoną sposobem *Bujwida*. Postępując w ten sposób, autorzy ci zdołali wykazać różniczkowanie grupowe we krwi bydłowej. Przy użyciu surowicy zwykłej, badanie takie napotykało na olbrzymie trudności, gdyż izoaglutynacja występuje zaledwie w 1,3% przypadków. Myśmy postanowili użyć krwi przeciwpomorowej dla różniczkowania krwinek świńskich i wogóle zbadać własności odpornościowe takiej surowicy. W toku przygotowania surowicy przeciw pomorowi świnia otrzymuje przez kilka miesięcy zastrzyki krwi świńskiej w bardzo wielkich ilościach. Ogólna ilość zastrzykniętej krwi dochodzi do 20 litrów. Dzięki uprzejmości kol. *T. Jastrzębskiego*, otrzymaliśmy z wytwórni „Magister Kławe” kilkadziesiąt próbek surowicy przeciwpomorowej świeżej, bez dodatku środków konserwacyjnych. Wykonaliśmy z niemi szereg doświadczeń, stanowiących treść niniejszego komunikatu. Zgóry musimy zaznaczyć, że nie wszystkie surowice nadają się do naszych celów. W późniejszych partiach próbek nie napotkaliśmy na surowice tak przydatne, jak w pierwszej partii. Prawdopodobnie wchodzi tu w grę przypadek. Tylko w razie pomyślnego ustosunkowania się grupy dawcy do grupy odbiorcy można otrzymać surowicę, nadającą się do różniczkowania. Właściwie należałoby odrazu przystąpić systematycznie do produkowania surowicy, posiadającej wzmocnione ciała odpornościowe anty-A i anty-0. Z przyczyn natury technicznej musieliśmy narazie wyrzec się tego zamiaru.

Pierwszą cechą, jaką odznaczały się badane przez nas surowice, były ich wysokie miano izoaglutynacyjne, sięgające nieraz rozcieńczenia 1/64 i wyżej. Zlepianie występowało przytem z wielką szybkością i siłą. Już po upływie 15 minut, w temperaturze pokojowej aglutynacja częstokroć była całkowita, gdy tymczasem pod działaniem surowicy zwykłej, występuje ona wyraźnie dopiero po 24 godzinach.

Nigdy nie obserwowaliśmy zlepiania krwinek własnych. Mamy więc do czynienia wyłącznie z izoaglutynacją, a nie z autoaglutynacją. Jednocześnie jednak pozornie izoaglutynacja wydaje się nieróżniczkowaną grupowo, gdyż prawie wszystkie surowice badane zlepiały zarówno krwinki A, jak krwinki 0. Jest to jednak zjawisko tylko pozorne, gdyż przez wysycenie krwinkami 0, można

usunąć zlepniki dla krwinek 0, pozostawiając zlepniki dla krwinek A, i odwrotnie można przez wysycenie krwinkami A pozostawić aglutyniny tylko dla krwinek 0. Zależy to najprawdopodobniej od tego, że w toku przygotowania surowicy przeciwporowej zastrzykiwano zwierzęciu nie zawsze taką samą krew, lecz czasem krew 0, czasem zaś krew A. Z faktu tego wynika szereg wniosków. Przedewszystkiem krwinki A mogą być antygenem i wywoływać powstanie specyficznych izoaglutynin, względnie wzmocnienie izoaglutynin fizjologicznych. Następnie krwinki 0 bynajmniej nie są obojętne pod względem antygenowym, lecz przeciwnie wywołują również powstawanie swoistych ciał odpornościowych. Wreszcie co się tyczy stosunku krwi dawcy do krwi odbiorcy, to nawet jeżeli i jedna i druga należą do tej samej grupy, wytworzenie ciał odpornościowych jest jeszcze możliwe. Czynnikiem działającym będą w takim razie antygeny cząstkowe, różne we krwi dawcy i nieobecne we krwi odbiorcy. Można otrzymać surowicę anty-A od zwierzęcia należącego do grupy A i surowicę anty-0 od zwierzęcia, należącego do grupy 0. Nie można tylko otrzymać autoaglutynin, gdyż elementy wspólne, zawarte zarówno we krwi dawcy, jak we krwi odbiorcy, pozbawione są działania antygenowego. Z doświadczeń dotychczasowych nie możemy tylko wyciągnąć żadnego wniosku co do różnicy, mogącej zachodzić pomiędzy osobnikami, mającymi krwinki 0 i zlepniki fizjologiczne anty-A, a takimi, które również mają krwinki 0, a zlepników nie posiadają. Sprawa ta wymagałaby specjalnego doboru materiału.

Na załączonej tabelce przedstawione jest działanie surowic badanych na krwinki świńskie A i 0 przed wysyceniem i po wysyceniu zapomocą zawiesiny krwinek świńskich 0. Uwzględnione przytem jest także działanie surowicy wysyczonej na krwinki ludzkie. Krwinki świńskie pochodziły ze krwi pobranej z rzeźni.

Cyfry oznaczają rozcieńczenie surowicy, dające aglutynację.

Dalszem ciekawem zjawiskiem jest wybitne działanie izolityczne surowic badanych. Jak dotąd, nigdy nie spostzegaliśmy obecności izolizyn fizjologicznych. Pod wpływem inaktywowania (ogrzewanie do 58° przez 30 minut) działanie to znika zupełnie. W obecności komplementu (świeża surowica morskiej świnki) dzia-

T A B L I C A I.

Surowica	Aglutynacja przed wysyceniem		Aglutynacja po wysyceniu					
	A św.	0 św.	A l.	0 l.	B l.	A św.	0 św.	
12	64	32	64	8	4	32	2±	
32	32	16	64	32	4	32	0	
34	64	64	64	16	4	64	8	
35	64	16	64	32	4	32	2±	
39	32	32	64	16	4	32	8	

łanie lityczne występuje w całej pełni. Mamy tu więc do czynienia z typową hemolizą zapomocą surowicy odpornościowej.

W szeregu doświadczeń absorpcyjnych chodziło nam o porównanie elementu A we krwi świńskiej i ludzkiej. Ilustruje je załączona tablica, w której przedstawione są wyniki wysycenia surowic świńskich zapomocą krwinek ludzkich A, B i 0, oraz zapomocą świńskich krwinek 0. Surowice były badane co do swego działania na wszystkie rodzaje krwinek ludzkich i świńskich przed absorpcją i po niej.

T A B L I C A II.

Surowice	Aglutynacja przed wysyceniem						Aglutynacja po wysyceniu krwinkami A ludzkimi				Aglutynacja po wysyceniu krwinkami B ludzkimi			Aglutynacja po wysyceniu krwinkami 0 ludzkimi				Aglutynacja po wysyceniu krwinkami 0 świńskimi				
	A l.	0 l.	B l.	A św.	0 św.		A l.	0 l.	A św.	0 św.	A l.	0 l.	B l.	A l.	0 l.	A św.	0 św.	A l.	0 l.	B l.	A św.	0 św.
12	64	32	16	64	32	—	4	64	16	—	—	—	64	—	64	64	64	64	8	4	32	2±
32	64	32	16	32	16	—	8	16	32	64	—	—	64	—	64	64	64	64	32	4	32	—
34	16	16	16	64	64	—	4	64	16	64	16	8	16	—	32	8	64	16	4	64	4±	
35	128	8	8	64	16	—	—	32	32	64	—	—	128	—	64	64	128	32	4	32	—	
39	128	32	16	32	32	—	8	64	32	64	—	—	128	—	64	64	128	16	4	32	4±	

Z tablicy tej wynika przedewszystkiem, że surowice badane posiadały podwyższone miano zlepnie nie tylko względem krwinek świńskich, ale także względem krwinek ludzkich. Podwyższenie to w porównaniu z surowicami normalnymi było większe dla krwinek ludzkich A, niż dla krwinek ludzkich B i 0. Te ostatnie dwa rodzaje naogół zachowują się jednakowo. Świadczy to o tem, że krwinki świńskie zawierają w swoim składzie antygen, elektywnie wzmacniający w surowicy odpornościowej element anty-A ludzki. Pod wpływem wysycenia ludzkimi krwinkami A odnośne zlepniki znikają całkowicie z surowicy odpornościowej, natomiast zlepniki anty-0 wykazują przeważnie tylko obniżenie miana. Pod wpływem tego wysycenia zlepniki dla krwinek świńskich nie ulegają żadnej zmianie, albo słabną bardzo nieznacznie. Świadczy to, że nie tylko element, odpowiadający ludzkiemu A, zawarty jest w krwinkach świńskich, ale i element inny, prawdopodobnie odmienny gatunkowo od ludzkiego A. Zachodzą tu te same stosunki, jak podczas wysycania surowic fizjologicznych krwinkami tej samej grupy, ale odmiennymi gatunkowo. Surowica świńska anty-A, wysyca się doszczętnie zapomocą krwinek ludzkich A, gdy tymczasem surowica ludzka anty-A wysyca się tylko częściowo krwinkami świńskimi A. Słaba surowica wysyca się więc dobrze krwinkami mocnymi, natomiast surowica mocna nie daje się wysycić doszczętnie krwinkami słabymi. Nasze surowice odpornościowe zachowują się względem krwinek ludzkich A tak samo jak normalne surowice ludzkie anty-A względem krwinek świńskich A.

Wysycenie krwinkami ludzkimi B i 0 wykazuje elektywne działanie na zlepniki dla B i 0 ludzkiego. Zlepniki dla A ludzkiego, pozostają nietknięte, albo słabną bardzo nieznacznie. Na zlepniki dla krwinek świńskich wysycenie krwinkami ludzkimi 0 nie wywiera żadnego wpływu. Badanie analogiczne surowic wysyconych ludzkim B nie zostało zrobione. Wreszcie wysycenie świńskimi krwinkami 0 nie wywiera żadnego wpływu na aglutynację ludzkich krwinek A, wpływa bardzo nieznacznie na aglutynację ludzkich krwinek 0 i obniża wyraźnie aglutynację ludzkich krwinek B. Aglutynacja krwinek świńskich A pozostaje prawie zupełnie bez zmiany. Z tego wszystkiego wynika, że w badanych surowicach

odpornościowych niewątpliwie znajduje się element, zlepiający elektywnie ludzkie krwinki A, oraz że element ten nie pokrywa się całkowicie ze zlepnikami anty-A dla krwinek świńskich. Zlepniki dla ludzkiego B i 0 są także obecne, ale w mniejszym stężeniu i są jakościowo odrębne od zlepników dla ludzkiego A. Pomiedzy sobą są natomiast bardzo zbliżone.

Do wyjaśnienia wzajemnego stosunku elementu A krwi ludzkiej i krwi świńskiej przyczyniły się jednak przedewszystkiem dalsze nasze doświadczenia. Niezmiernie ciekawą rzeczą było skonstatowanie silnego działania hemolitycznego badanych surowic nie tylko na krwinki świńskie, o czem wspominaliśmy już wyżej, ale i na krwinki baranie.

Z badanych w tym względzie 5 surowic dwie dawały jeszcze pełną hemolizę krwinek baranich w rozcieńczeniu 1/1000, a nie był to bynajmniej kres miana hemolitycznego. Do doświadczeń braliśmy 0,5 ccm. rozcieńczonej surowicy hemolitycznej, uprzednio inaktywowanej, 0,5 komplementu w rozcieńczeniu 1/10 i 0,5 ccm. zawiesiny krwinek baranich 3%. Wyniki były odczytywane po 10 minutach pozostawania w temperaturze 37°.

T A B L I C A III.

Surowica	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024
12	++++	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—
15	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
29	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—	—	—
36	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Działanie hemolityczne naszych surowic na krwinki baranie nasunęło nam przypuszczenie, że czynnikiem działającym mogą

tu być krwinki świńskie A, zastrzykiwane w toku uodpornienia, względnie zawarty w nich element wspólny także krwinkom ludzkim A. Wykonaliśmy więc doświadczenie odchylenia amboceptora anty-A podług metody *Schiffa* i *Brahna*.

Wynik w zupełności potwierdził nasze przypuszczenia. Następująca tablica ilustruje jedno z wykonanych przez nas doświadczeń (tabl. IV). Wzięliśmy do niej surowicę świńską Nr 36 jako amboceptor anty-A w rozcieńczeniu 1/100, surowicę hemolityczną króliczą w rozcieńczeniu 1/400 jako amboceptor kontrolny nie zawierający anty-A, oraz shemolizowane krwinki ludzkie i świńskie grup A i 0 w spadających rozcieńczeniach aż do 1/32. Krwinki te w ilości 0,5 ccm. wraz z taką samą ilością rozcieńczonej surowicy świńskiej, pozostawiliśmy dla związania w temperaturze pokojowej przez 30 minut. Potem dodaliśmy 0,2 ccm. komplementu w rozcieńczeniu 1/5, oraz 0,5 ccm. zawiesiny krwinek baranich 3%. Po wstawieniu do łaźni na 10 minut odczytaliśmy wynik. Nastawiono jednocześnie kontrolę amboceptora hemolitycznego z krwinkami i komplementem. Jak wynika z tablicy, shemolizowane krwinki ludzkie A dały całkowite zahamowanie, aż do rozcieńczenia 1/32, krwinki świńskie A dały zahamowanie tylko w postaci nierozcieńczonej, krwinki 0 zarówno ludzkie jak świńskie zahamowania nie dały wcale.

T A B L I C A IV.

Surowica Nr 36 w rozcieńczeniu 1/100							Kontrola hemolizy: amboceptor bez surowicy świńskiej		
Krwinki	1/1	1/2	1/4	1/7	1/16	1/32	1/1	1/2	1/4
A l.	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—
0 l.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A św.	++++	±	—	—	—	—	—	—	—
0 św.	—	—	—	—	—	—	—	—	—

W tablicy tej rzuca się w oczy, że shemolizowane krwinki A świńskie odchylają amboceptor co najmniej 32 razy słabiej od krwinek

ludzkich. Wynika stąd, że element charakterystyczny, warunkujący odchylenie, wspólny zarówno ludzkim jak świńskim krwinkom A, zawarty jest w krwinkach ludzkich w ilości o wiele większej niż w krwinkach świńskich. Obecność odnośnego ciała odpornościowego w surowicy pomorowej tłomaczy się kolosalną ilością krwi użytej do uodpornienia. Uwidocznione w ten sposób różnice stężenia elementu odchylającego amboceptor w krwinkach A obu gatunków, tłomaczy nam niepowodzenie naszych dawnych doświadczeń, w których usiłowaliśmy wykryć ludzki element A w krwinkach świńskich A metodą *Schiffa* i *Brahna*, posilując się surowicą królika, uodpornionego krwinkami A ludzkimi, hemolizującą krwinki baranie. Surowica taka reagowała doskonale z rozcieńczonymi shemolizowanymi krwinkami ludzkimi, natomiast nie działała wcale, albo tylko w bardzo nieznacznym stopniu i w rzadkich wypadkach z rozpuszczonymi krwinkami świńskimi A. Obecnie sprawa ta jest jasna. Wprawdzie może krwinki świńskie A zawierają jakiś czynnik, hamujący oddziaływanie ich z surowicą hemolizyczną anty-A, ale narazie przypuszczenie to wydaje się zbędne.

Na zakończenie jedna uwaga. Otrzymanie surowicy hemolizycznej anty-A od królika jest bardzo trudne. Zaledwie pewien % zwierząt nadaje się do tego celu. Wskutek tego byłoby bardzo pożądane zastąpienie takiej surowicy przez świńską surowicę pomorową. Początkowo zdawało nam się, że prawie każda surowica pomorowa posiada pożądane własności. Przekonaliśmy się jednak później, że tak nie jest. Ze zbadanych dotąd około 40 prób surowicy żadna prócz użytych w naszych pierwszych doświadczeniach nie hemolizowała krwinek baranich. Musimy więc przyjąć, że tylko drogą elektywnego uodpornienia świni zawiesiną czystych krwinek świńskich A i to użytych bardzo dużej ilości można otrzymać surowicę hemolizującą krwinki baranie i reagującą elektywnie z krwinkami A. Czy uodpornienie krwinkami ludzkimi może dać wyniki lepsze, pozostaje narazie kwestią otwartą. W każdym razie zdaje się, że zwierzęta, posiadające wyraźnie różniczkowane grupowo krwinki, jak świnia, ewentualnie pies mogą się nadawać do omawianych celów lepiej niż króliki.

Streszczenie

Surowica odpornościowa przeciwko pomorowi świń, otrzymana przez zastrzykiwanie świni wielkiej ilości krwi innych świń, wykazuje wzmoczenie wybitne siły izoaglutynacyjnej, oraz obecność izolizyn, których normalna krew świńska nie zawiera. Izolizyny te wykazują tę samą budowę złożoną, jak każda surowica hemolityczna. W pewnych warunkach, przypuszczalnie wtedy, gdy krew użyta do uodpornienia zawiera element A krwi świńskiej, surowica zwierzęcia uodpornionego rozpuszcza krwinki baranie, nieraz do bardzo wysokiego miana i nadaje się wówczas do wykrywania śladów ludzkiego elementu A metodą odchyłania amboceptora, podaną przez *Schiffa i Brahna*.

De l'Institut Bactériologique de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Varsovie. Directeur Prof. Dr. Z. Szymanowski

LES IMMUNOISOAGGLUTININES DANS LE SANG DU PORC

par J. FRENDEL et Z. SZYMANOWSKI

R É S U M É

Le sérum contre la peste porcine, obtenu avec l'injection massive du sang des porcs pesteux à un porc, démontre une augmentation considérable du pouvoir isoagglutinant en comparaison avec le sang du porc normal. Ce sérum possède en outre un pouvoir isolytique net duquel le sang normal est dépourvu. Ce sérum isolytique contient un élément thermostable spécifique accompagné d'un complément thermolabile, comme chaque sérum hémolytique. Quelquefois on trouve des sérums antipesteux hémolysants les globules du sang du mouton. Il s'agit alors avec grande probabilité d'animaux immunisés avec du sang contenant l'élément A porcine. Ce sérum peut servir à décèler des traces du sang A humain d'après la méthode de la déviation de l'ambocepteur selon *Schiff et Brahn*.

P I Ś M I E N N I C T W O

L. Hirszfeld. Ergebnisse der Hygiene Bakteriologie Immunitätsforschg. und Exp. Therapie Bd. XV, 1934.

Wpłynęło 17.XI.1934r.

Z Zakładu Farmakologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.
Dyrektor: Prof. Dr. J. V. Supniewski.

WPŁYW ERGOTAMINY NA GOSPODARKE CIEPLNĄ USTROJU

P o d a ł

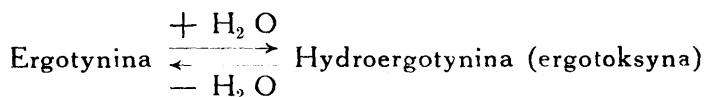
STEFAN FORSTER

Sporysz, przetrwalnik pasożytniczego grzyba *Claviceps purpurea* był dawniej przyczyną licznych masowych zatruć. Wskutek spożycia przetworów mącznych pochodzących z ziarn żyta, zanieczyszczonych sporyszem, występuje ciężkie zatrucie w dwu charakterystycznych postaciach: zgorzelinowej i drgawkowej. W czasie epidemij zatruć sporyszem obserwowano często poronienia i przedwczesne porody i już w XVII wieku przypisywano je swoistemu działaniu sporyszu. Do leczenia został sporysz wprowadzony w XIX wieku jako środek, wywołujący długotrwałe skurcze macicy i tamujący krwotoki maciczne. Swoje własności farmakodynamiczne zawdzięcza sporysz zawartym w nim alkaloidom. Jednak przez długi czas nie umiano wyosobnić tych ciał w stanie czystym i używano wyłącznie wyciągów sporyszowych.

Dopiero Tanret w r. 1875 wyosobnił po raz pierwszy ze sporyszu alkaloid, zwany ergotyniną, o wzorze drobinowym $C_{35}H_{39}O_5N_5$, występujący w dwu izomerycznych postaciach: krystalicznej i bezpostaciowej. Ergotynina krystaliczna okazywała bardzo słabe działanie biologiczne, natomiast bezpostaciowa, na którą nie zwrócono większej uwagi, wywiera silne działanie.

W r. 1906 *Kraft* wyosobnił ze sporyszu alkaloid — hydroergotyninę, a *Barger* i *Carr* niezależnie otrzymali identyczną ergotoksynę o wzorze drobinowym $C_{35}H_{41}O_6N_5$, prawdopodobnie identyczną również z ergotyniną bezpostaciową. Jednakże badacze ci, przypisywali temu alkaloidowi tylko własności toksyczne sporyszu, a leczniczych doszukiwali się raczej w ciałach aminowych, znajdujących się w sporyszu, jak histamina, tyramina, izoamylamina, acetylocholina. Zwłaszcza histamina i tyramina działają silnie pobudzająco na skurcze macicy. Zaczęto te ciała wytwarzać syntetycznie, chcąc nimi zastąpić wyciągi sporyszowe. Jednak działanie ciał aminowych nie było zadowalniające, ponieważ jest ono zbyt krótkotrwałe i wywołuje przykre objawy uboczne. Pozatem okazało się, że świeże wyciągi sporyszu, które odznaczają się największą siłą działania, zawierają bardzo mało ciał aminowych. Ciała aminowe powstają głównie w rozkładających się wyciągach, jako produkty rozpadu białka.

Na nowe tory wstąpił problem sporyszu z chwilą, gdy *Stoll* w r. 1920 wykrył i wyosobnił ze sporyszu nowy alkaloid, bardzo łatwo krystalizujący o wzorze drobinowym $C_{35}H_{35}O_5N_5$, nazwany ergotaminą. Ergotamina przechodzi przy gotowaniu w alkoholu metylowym, zakwaszonym kwasem octowym w ciało również bardzo łatwo krystalizujące, będące izomerem ergotaminy, nazwane ergotamininą. Podobnie ergotynina przechodzi znów łatwo w ergotoksynę względnie hydroergotyninę, różniącą się o H_2O . Reakcje te są odwracalne. W ten sposób mamy dziś wyosobnione ze sporyszu dwie pary alkaloidów:



Struktura chemiczna tych alkaloidów nie jest bliżej znana; mają one te same widma absorpcyjne i podobnie skracają światło. Ergotamina zawiera 12% azotu, ergotoksyna 11%, ergotamina krystalizuje łatwo, ergotoksyna jest bezpostaciowa. Różnią się

sumarycznie o C_2H_4 , H_2O , prawdopodobnie w budowie bocznych łańcuchów. W działaniu biologicznem prawie się nie różnią: siła ich działania jest bardzo wysoka, bo na izolowaną macicę świnki morskiej działają już w roztworze 1:100 do 200 milionów. Alkaloidy te mają w działaniu swem wszystkie charakterystyczne własności sporyszu, a więc w małych dawkach wywołują podwyższenie ciśnienia krwi, a w większych znaczny spadek, wywołują skurcze izolowanej macicy świnki morskiej w bardzo wysokich rozcieńczeniach, dalej porażają zakończenia nerwu współczulnego zwłaszcza gałązek pobudzających. Wreszcie alkaloidy sporyszu podane w dawkach toksycznych wywołują drgawki (u kota i świnki morskiej), względnie zgorzel (u szczura i u koguta), a więc objawy znamienne dla zatrucia sporyszowego.

W lecznictwie odgrywają alkaloidy sporyszu ważną rolę, czyniąc zadość wymaganiom, stawianym preparatom sporyszowym, zwłaszcza ergotamina, która w postaci soli kwasu winnego pod nazwą Gynergen znajduje szerokie zastosowanie w położnictwie i ginekologii. Gynergen stosowany jest zwłaszcza w leczeniu krwawień w III okresie porodu i po porodzie, oraz w czasie połogu przy niedostatecznem zwijaniu się macicy, jakoteż w leczeniu rozmaitych krwawień macicznych, pochodzenia ginekologicznego (*Spiro, Guggisberg, Stoeckel, Mikulicz, Radecki* i inni). Ostatnio czynione są próby wprowadzenia ergotaminy i w inne dziedziny lecznictwa, jak w leczenie choroby Basedowa (*Porges, Adlersberg, Stahelin, Bouckaert*), migreny (*Maier*), niektórych chorób skórnych, jak urticaria, prurigo vulgaris (*Brack*), a nawet w okulistyce w leczeniu jaskry (*Thiel, Sasz*). Wyższość Gynergenu nad wyciągami sporyszu polega na tem, że Gynergen jest trwały, że nie zawiera produktów ubocznych sporyszu, przede wszystkim ciał aminowych i że daje się ściśle i łatwo dawkować.

W szeregu jądów układu wegetatywnego zajmują alkaloidy sporyszu bardzo ważne miejsce. Ergotamina, która została dokładnie zbadana, działa na układ sympatyczny porażająco, zwłaszcza na zakończenia włókien pobudzających i da się porównać z atropiną, która analogicznie działa na układ nerwu błędnego. Stąd też zwą ergotaminę „atropiną układu sympatycznego”. Podobnie jak atropina działa antagonistycznie wobec pilokarpiny, tak ergo-

tamina działa antagonistycznie względem adrenaliny, która jest jadem wybitnie sympatykotonicznym. Ergotamina nie tylko hamuje, względnie znosi działanie adrenaliny, ale często podanie adrenaliny po ergotaminie wywołuje efekt przeciwny, niżby należało się spodziewać, np. zamiast podwyższenia ciśnienia krwi wywołuje adrenalina po uprzednim podaniu ergotaminy spadek ciśnienia krwi. To paradoksalne zjawisko odwrócenia reakcji adrenalinowej zaobserwował po raz pierwszy *Dule*. Ponadto obniża ergotamina przeciek krwi adrenalinowej, wzmacnia ruchy robaczkowe i wahadłowe izolowanego jelita świnki morskiej, zahamowane przez adrenalinę (*Planelles, Nauda*), znosi zahamowanie skurczów macicy świnki morskiej, wywołane przez adrenalinę (*Braun*), znosi zupełnie pobudzające działanie adrenaliny na wyosobniony pęcherzyk nasienny świnki morskiej (*Rothlin*).

Działanie ergotaminy podobnie jak innych jadów układu wegetatywnego jest głównie obwodowe. Punkt zaczepienia leży prawdopodobnie w samym aparacie odbiorczym organów, bo po zwyrodnieniu nerwów działanie również dochodzi do skutku i ergotamina działa też na wyosobnione narządy zwierząt. Ergotamina działa nie tylko na zakończenia nerwów, ale i na same mięśnie gładkie i tym tłumaczy się podwyższenie ciśnienia krwi po ergotaminie, które ma pochodzić od skurczu samych mięśni naczyń.

W związku z działaniem ergotaminy pozostają gruczoły o wewnętrznym wydzielaniu, których czynność zależna jest od układu sympatycznego. Wspomniano już o antagonizmie ergotaminy i adrenaliny. Gruczoł tarczycowy pozostaje również w stosunku antagonistycznym do ergotaminy, co potwierdzają prace biologiczne i kliniczne.

Działanie toksyczne ergotaminy pokrywa się z działaniem toksycznym sporyszu. U niektórych zwierząt daje się wywołać obraz zatrucia zbliżony do *ergotismus convulsivus*, np. u kota, świnki morskiej, królika. U tych zwierząt ergotamina w dawkach toksycznych wywołuje drgawki, duszność, przyspieszenie oddychania, niezdarność ruchów, ślinotok, wymioty, niepokój, przechodzący czasem w podniecenie szałowe. Objawy zgorzeli, przypominające obraz *ergotismus gangraenosus* udaje się wywołać tylko u szczura

i u koguta. U koguta po szeregu zastrzyków ergotaminy zwykle dopiero w dawkach bardzo wysokich (łącznie około 75 mg. grzebień ulega najpierw zblednięciu, potem zasinieniu, a wreszcie zgorzeli suchej. *Rothlin* podaje dawkę ergotaminy wywołującą zgorzel ogona u szczura bardzo wysoką, bo 100 mg/kg., ale inni autorzy (*Rigler i Silberstern*) obserwowali zgorzel ogona szczura, już po wstrzyknięciu normalnej dawki działającej u szczura (2 mg/kg). Badania anatomo-patologiczne stwierdzają, że przyczyną zgorzeli są zmiany degeneracyjne w śródbłónku naczyńiowym, oraz zakrzepy szkliste w naczyniach.

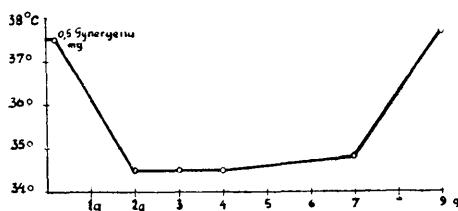
W lecznictwie stosuje się małe dawki, daleko stojące od dawek toksycznych dla zwierząt, ale i tu obserwowano przy dłuższem podawaniu doustnem ergotaminy zaburzenia naczynio-ruchowe w zakresie kończyn, a nawet poczynając się zgorzel kończyn (*Speck*). W dawkach używanych w lecznictwie (0.25 — 0,5 mg podskórnie, a 1 mg. doustnie) wywołuje ergotamina często zwolnienia tętna, obniżenie ciśnienia krwi, skurcze dodatkowe, a więc objawy głównie wagotoniczne, znikające po uprzedniem podaniu atropiny (*Donini i Soldi, Pacifico*). Jako objawy uboczne występują czasem zaburzenia naczynio-ruchowe, zawroty głowy, wymioty i inne objawy ośrodkowe.

Doświadczenia nasze zmierzają głównie w kierunku wykazania wpływu ergotaminy na gospodarkę cieplną ustroju. W tym celu badaliśmy przede wszystkim działanie ergotaminy na ciepłotę, oraz na przemianę gazową i przemianę azotową. Do doświadczeń użyliśmy zwierząt rozmaitych, głównie szczurów, królików i gołębi. Stosowaliśmy ergotaminę w postaci jej soli kwasu winnego, wyrabianej pod nazwą Gynergen, przez fabrykę Sandoz. Wprowadzaliśmy Gynergen zawsze drogą pozajelitową, czy to podskórnie, domięśniowo, czy dożylnie, używając roztworu 1‰. Dawki stosowaliśmy dość duże, bo przeważnie 1 — 2 mg/kg. wagi. Gynergen był znoszony w tych dawkach przez wszystkie zwierzęta zupełnie dobrze, tylko u szczurów obserwowaliśmy kilkakrotnie zgorzel ogona, występującą po dawce 2 mg./kg. w ciągu 1 — 2 tygodni.

I. Wpływ ergotaminy na temperaturę.

Doświadczenia przeprowadzaliśmy głównie na szczurach. Temperaturę mierzono u zwierząt w kiszce stolcowej. Doświadczenia odbywały się w temperaturze pokojowej. U szczurów występował po zastrzyku podskórnym Gynergeny w dawce 2 mg/kg wagi z reguły spadek temperatury i to znaczny, bo przekraczający 2—3° i trwający szereg godzin. Podajemy charakterystyczną krzywą temperatury:

SZCZUR, waga 242 gr



Ryc. 1

Temper. 37,5° C wstrzykn. 0.5 mg
Gynergeny podskórn

po 1 godz.	Temp.	36,1° C
" 2 "	"	34,5° C
" 3 "	"	34,5° C
" 4 "	"	34,5° C
" 7 "	"	34,8° C
" 9 "	"	37,7° C

Celem wyjaśnienia mechanizmu tego spadku ciepłoty, wywołaliśmy podniesienie temperatury u szczurów przy pomocy rozmaitych środków, działających głównie na ośrodki ciepłne, jak kokaina, atropina, szczepionki bakteryjne, częściowo β -tetra-hydro-naftyłamina, oraz takich, które zwiększają wybitnie przemianę gazową jak α - dinitro - naftol i tyroksyna i działają głównie obwodowo. Następnie obserwowaliśmy zachowanie się podniesionej w ten sposób temperatury po podaniu Gynergeny.

SZCZUR, waga 183 gr



Ryc. 2

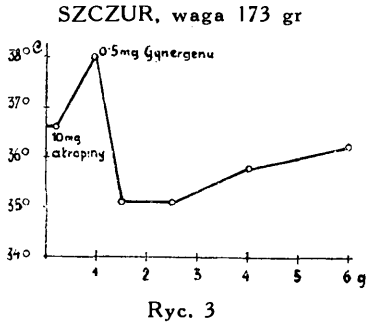
Temper. 36,8° C wstrzykn. 22 mg
kokainy podsk.

Po 2 1/2 godz.	Temp.	37,7° C
" 3 1/2 "	"	37,7° C

wstrzykn. 0,5 mg Gynergeny podsk.

Po 1/2 godz.	Temp.	35,6° C
" 2 "	"	35,2° C
" 4 "	"	35,2° C
" 6 "	"	36,6° C

Temperatura u szczura, podwyższona po zastrzyku kokainy o 1°C obniża się po wstrzyknięciu Gynergenu o 2°C w ciągu $\frac{1}{2}$ godz. i spadek utrzymuje się kilka godzin.



Temper. 36,6 $^{\circ}\text{C}$ wstrzykn. 10 mg atropiny podsk.

Po $\frac{3}{4}$ godz. Temp. 38 $^{\circ}\text{C}$

wstrzykn. 0,5 mg Gynergenu podsk.

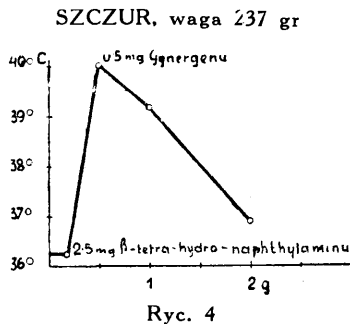
Po $\frac{1}{2}$ godz. Temp. 35,1 $^{\circ}\text{C}$

" $1\frac{1}{2}$ " " 35,1 $^{\circ}\text{C}$

" 3 " " 35,8 $^{\circ}\text{C}$

" 5 " " 35,2 $^{\circ}\text{C}$

W przypadku podwyższenia ciepłoty przez zastrzyk atropiny o $1\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ otrzymujemy po podaniu ergotaminy gwałtowny spadek temperatury w ciągu $\frac{1}{2}$ godz. o blisko 3°C i utrzymujący się przez szereg godzin.



Temperatura 36,2 $^{\circ}\text{C}$ wstrzykn. dootrzewn. 2, 5 mg β -tetra-hydro-naftylaminy

Po $\frac{1}{2}$ godz. Temp. 40 $^{\circ}\text{C}$

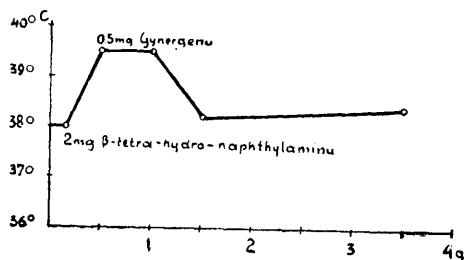
wstrzykn. 0,5 mg Gynergenu podsk.

Po $\frac{1}{2}$ godz. Temp. 39,1 $^{\circ}\text{C}$

" $1\frac{1}{2}$ " " 36,9 $^{\circ}\text{C}$

Przy podwyższeniu temperatury u szczura przez podanie β -tetra-hydro-naftylaminy o blisko 4°C obniża się gorączka po wstrzyknięciu ergotaminy w ciągu $\frac{1}{2}$ godz. blisko o 3°C .

SZCZUR, waga 180 gr



Temp. 38° C wstrzykn. dootrzewn.
2 mg β-tetra-hydro-naftylaminy

Po 1/2 godz. Temp. 39,5° C

wstrzykn. 0,5 mg Gynergeny podsk.

Po 1/2 godz. Temp. 39,5° C

" 1 " " 38,2° C

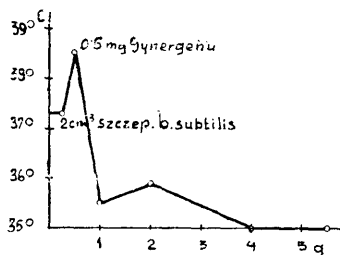
" 3 " " 38,4° C

Ryc. 5

W tym przypadku podwyższona temperatura u szczura przez podanie β-tetra-hydro-naftylaminy o 1,5° C nie obniża się zupełnie po podaniu ergotaminy w ciągu 1/2 godz. a po 1 godz. obniża się tylko o 1,3° C i więcej się już nie obniża.

Gorączkę bakteryjną udało się nam tylko 1 raz uzyskać, wstrzykując zawiesinę żywej hodowli bac. subtilis dootrzewnowo. Pozatem mimo całego szeregu prób, czynionych z rozmaitymi szczepionkami, jak bact. coli, staphylococcus albus, szczepionką Dmelcos, szczury albo nie reagowały zupełnie zwyżką temperatury, albo ciepłota ich obniżała się.

SZCZUR, waga 230 gr



Temp. 37,3° C wstrzykn. dootrzewn 2 cm³
hodowli bac. subtilis.

Po 1/2 godz. Temp. 38,5° C

wstrzykn. 0,5 mg Gynergeny podsk.

Po 1/2 godz. Temp. 35,5° C

" 1 1/2 " " 35,9° C

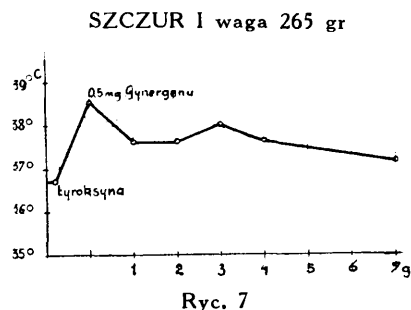
" 3 1/2 " " 35° C

" 5 " " 35° C

Ryc. 6

Po wstrzyknięciu szczepionki bac. subtilis podnosi się ciepłota u szczura o 1,2° C, a podaniu Gynergeny otrzymujemy w ciągu 1 1/2 godz. spadek temperatury o 3° C utrzymujący się przez szereg godzin.

Tyrosynę podawaliśmy szczurom w zastrzyku podskórnym, wstrzykując codziennie 1 do 2 mg tak długo, aż występowała wyraźna zwyżka temperatury, poczem wprowadzaliśmy Gynergen. Tutaj krzywa temperatury przedstawia się inaczej, niż w poprzednich wypadkach.



Temp. 36,7° C wstrzykn. przez 7 dni codziennie po 1 mg tyroksyny podsk.

W 8-mym dniu Temp. 38,5° C

wstrzykn. 0,5 mg Gynergeny podsk.

Po 1 godz. Temp. 37,6° C

" 2 " " 37,6° C

" 3 " " 38° C

" 4 " " 37,6° C

" 7 " " 37,1° C

Temperatura podwyższona po tyroksynie o 1,7° C obniża się po ergotaminie po 1 godz. o niecały 1° C i dalszej obniżki już się nie obserwuje.

W innych przypadkach otrzymaliśmy z tyroksyną wyniki zupełnie podobne.

SZCZUR II waga 200 gr

Temp. 37,3° C przez 3 dni wstrzyk. codziennie po 1 mg tyroksyny podsk.

W 4-ym dniu Temp. 38,8° C

wstrzykn. 0,5 Gynergeny podsk.

Po 1/2 godz. Temp. 37,8° C

" 1 " " 37,7° C

" 2 " " 37,7° C

SZCZUR III waga 295 gr

Temp. 36,1° C przez 4 dni wstrzyk. codziennie po 2 mg tyroksyny podsk.

W 5-ym dniu Temp. 37,2° C

wstrzykn. 0,5 mg Gynergeny podsk.

Po 1/2 godz. Temp. 37,7° C

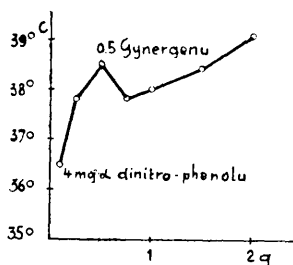
" 1/2 " " 37,5° C

" 3 " " 37,7° C

Podobne wyniki jak z tyroksyną, otrzymaliśmy w gorączce, wywołanej przez α -dinitro-fenol. α -dinitro-fenol, zwany thermolem, jest to związek chemiczny zwiększający silnie przemianę gazową, podwyższający znacznie temperaturę, działający wybitnie obwodowo (*Magne, Mayer i Plantefol*). Wprowadzaliśmy α -dinitro-

fenol dootrzewnowo w dawce 20 mg/kg wagi. Wzrost temperatury występował już po kilku minutach.

SZCZUR I waga 207 gr



Ryc. 8

Temp. 36,5° C wstrzykn. 4 mg α-dinitro-fenolu dootrzewnowo.

Po 10 min. Temp. 37,8° C

" 1/2 godz. " 38,5° C

wstrzykn. 0,5 mg Gynergenu podsk.

Po 15 min. Temp. 37,8° C

" 1/2 godz. " 38° C

" 1 " " 38,4° C

" 1 1/2 " " 39,1° C

Po α-dinitro-fenolu temperatura podwyższona o 2° C obniża się po podaniu ergotaminy w 15 min. o 0,7° C, a już po 1/2 godz. zaczyna się znowu podnosić.

W innych doświadczeniach α-dinitro-fenol dawał zwyżki temperatury, które również pod wpływem Gynergenu obniżały się tylko nieznacznie i na krótki czas.

SZCZUR II waga 220 gr

Temp. 35,7° C wstrzykn. 4 mg α-dinitro-fenolu dootrzewnowo.

Po 15 min. Temp. 38,2° C

wstrzykn. 0,5 mg Gynergenu podsk.

Po 1/2 godz. Temp. 37,2° C

" 1 " " 38,8° C

" 1 1/2 " " 38,8° C

SZCZUR III waga 215 gr

Temp. 36,3° C wstrzykn. 4 mg α-dinitro-fenolu dootrzewnowo.

Po 15 min. Temp. 38,7° C

wstrzykn. 0,5 mg Gynergenu podsk.

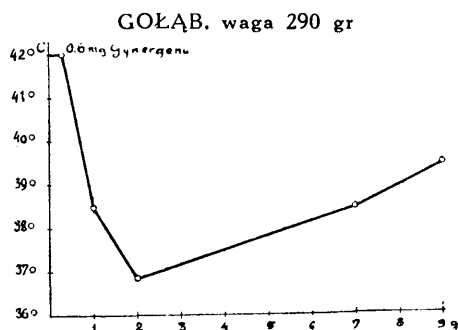
Po 1/2 godz. Temp. 38,4° C

" 1 " " 39,8° C

Z doświadczeń powyższych wynika, że w gorączkach sztucznie wywołanych ergotamina działa niejednolicie. Najbardziej przypominają gwałtowny i długo trwający spadek temperatury po ergotaminie u szczura normalnego, krzywe gorączkowe w tych przypadkach, gdzie gorączkę wywołano atropiną, kokainą i szczepionką bakteryjną. W przypadku gorączki, wywołanej przez β-tetra-hydro-naftylaminę ergotamina nie wywołuje tak wyraźnej reakcji, spadek temperatury jest zazwyczaj mniejszy i powolniejszy. Zwyżka temperatury, wywołana tyroksyną, zostaje pod wpływem ergotaminy

nieznacznie i tylko przejściowo obniżona, a czasem niema wogóle spadku temperatury. Ten brak wpływu ergotaminy na gorączkę pochodzenia obwodowego zaznacza się jeszcze wyraźniej przy podniesieniu ciepłoty przez α -dinitro-fenol. Tutaj temperatura albo, praktycznie biorąc, wcale się nie obniża, albo się nawet nieco podnosi.

Podobnie jak szczur, reaguje na ergotaminę gołąb. Krzywa gorączkowa przypomina krzywą u szczura. Spadek temperatury przekracza nieraz 5°C .



Ryc. 9

Temp. 42°C wstrzykn. 0.6 mg Gynergenu domięśn.

Po	1 godz.	Temp.	$38,5^{\circ}\text{C}$
"	2 "	"	$36,9^{\circ}\text{C}$
"	7 "	"	$38,5^{\circ}\text{C}$
"	9 "	"	$39,5^{\circ}\text{C}$
"	24 "	"	$41,3^{\circ}\text{C}$

U gołębia badaliśmy zachowanie się gorączki, wywołanej przez α -dinitro-naftol pod wpływem ergotaminy. Stosowaliśmy α -dinitro-naftol dootrzewnowo w dawce 10 mg/kg wagi. Heymans Uytwanck podają, że gorączka po α -dinitro-naftolu jest pochodzenia obwodowego i że uzyskiwali u gołębi w tych dawkach podniesienie temperatury od $4 - 5^{\circ}\text{C}$. Równocześnie ze wzrostem temperatury występuje ogromne przyspieszenie oddychania i rozszerzenie naczyń skórnych, znika glikogen w mięśniach, a podnosi się cukier we krwi. Jednak nam nie udawało się uzyskać tak znacznej wyżki temperatury mimo licznych prób, a przy podniesieniu temperatury o niecałe 2°C zwierzęta w krótkim czasie ginęły. W tych przypadkach obserwowaliśmy, że ergotamina nie obniża zupełnie temperatury.

GOŁĄB, waga 285 gr

Temp. $42,6^{\circ}\text{C}$ wstrzyknięto dootrzewnowo 3,5 mg α -dinitro-naftolu.

Po $1/2$ godz.

Temp. $43,7^{\circ}\text{C}$

wstrzyknięto 0,5 mg Gynergeny domięśniowo	
Po $\frac{1}{2}$ godz.	Temp. 44,2° C
wstrzyknięto 0,25 mg Gynergeny domięśniowo	
Po $\frac{1}{2}$ godz.	Temp. 43,8° C

Gołąb padł w $\frac{1}{2}$ godz. po zastrzyku α -dinitro-naftolu wśród objawów bardzo znacznego przyspieszenia oddychania, ślinotoku i rozszerzania naczyń skórnych

Zazwyczaj wyższe temperatury u gołębi po α -dinitro-naftolu były znacznie mniejsze i nie przekraczały 1° C. W tych przypadkach obserwowaliśmy znaczne spadki temperatury po ergotaminie.

GOŁĄB, waga 280 gr

Temp. 41,2° C wstrzykn. dootrzewn. 3,5 mg α -dinitro-naftolu.	
Po $\frac{1}{2}$ godz.	Temp. 42,1° C
wstrzyknięto 0,6 mg Gynergeny domięśniowo	
Po $\frac{1}{2}$ godz.	Temp. 40,9° C
" 1 "	" 38,9° C
" $\frac{1}{2}$ "	" 37,7° C
" 3 "	" 38,5° C

Przeprowadziliśmy badania kontrolne, obserwując zachowanie się temperatury podniesionej przez α -dinitro-naftol bez podania ergotaminy. Okazało się, że temperatura samoistnie obniżała się w ciągu 1 — 2 godzin, jednak w mniejszym stopniu niż po ergotaminie.

Inne zwierzęta przez nas badane, nie okazywały tak wielkiej wrażliwości na ergotaminę jak szczur i gołąb. U królika i u świnki morskiej uzyskiwaliśmy przeważnie tylko nieznaczne wahania temperatury. Kilkakrotnie otrzymaliśmy u królika po podaniu dożylnem 2 — 4 mg ergotaminy znaczny wzrost temperatury.

ŚWINKA MORSKA, waga 952 gr

Temp. 37,2° C wstrzyknięto 2 mg Gynergeny podskórnice	
Po 1 godz.	Temp. 37,5° C
" 2 "	" 36,7° C
" 3 "	" 37,5° C
" 6 "	" 37,5° C

KRÓLIK, waga 2220 gr

Temp. 38,1° C wstrzyknięto 2 mg Gynerгену dożylnie.

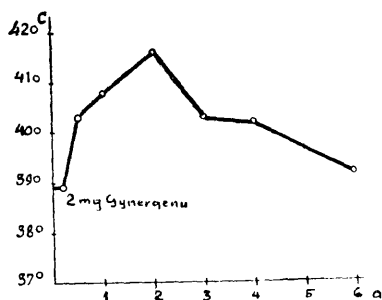
Po 1/2 godz.

Temp. 37,6° C

" 1 "

" 37,9° C

KRÓLIK, waga 2500 gr



Temp. 38,9° C wstrzyknięto 2 mg Gynerгену dożylnie

Po 1/2 godz. Temp. 40,3° C

" 1 " " 40,8° C

" 2 " " 41,6° C

" 3 " " 40,3° C

" 4 " " 40,2° C

" 6 " " 39,2° C

Ryc. 10

Otrzymaliśmy więc w tym wypadku wzrost temperatury u królika po podaniu 2 mg Gynerгену dożylnie o 2,7° C.

Podobną zwyżkę temperatury otrzymaliśmy także u królika w narkozie uretanowej, po zastrzyku dożylnym Gynerгену.

Zwyżki temperatury po ergotaminie obserwowali inni autorzy, jak *Cloetta*, *Miculicich*, *Waser*, natomiast *Rigler* i *Silberstern* podają, że otrzymywali z reguły przy stosowaniu tych samych dawek u królika znaczne obniżenie ciepłoty ciała.

II. Wpływ ergotaminy na przemianę gazową.

Do doświadczeń używaliśmy królika, gołębia i szczura. Badania u królika i gołębia przeprowadzaliśmy drogą operacyjną w uspianiu uretanowym. Po wypreparowaniu tchawicy, wprowadzaliśmy do niej kaniulę, połączoną z aparatem Krogha dla małych zwierząt.

Tak u królika jak i u gołębia otrzymywaliśmy z reguły znaczne zwolnienie przemiany gazowej. Równocześnie występuje znaczny spadek ciśnienia krwi, bo ponad 20 — 30 mm Hg, długo się utrzymujący.

KRÓLIK I, waga 2210 gr

25 cm³ O₂ zużywa średnio w czasie 2'3'' czyli w 5' zużywa 60,9 cm³ O₂
Wstrzyknięto 2 mg Gynergeny dożylnie.

10' po inj. 25 cm³ O₂ zużywa średnio w czasie 2'8'' czyli w 5' zużywa 58,5 cm³ O₂
Wstrzyknięto 4 mg Gynergeny dożylnie.

30' po inj. 25 cm³ O₂ zużywa średnio w czasie 3' czyli w 5' zużywa 41,6 cm³ O₂

Po wstrzyknięciu 2 mg Gynergeny dożylnie otrzymujemy u królika zwolnienie przemiany gazowej o 3,9%, a po wstrzyknięciu 4 mg Gynergeny dożylnie — zwolnienie przemiany gazowej o 31,6%.

KRÓLIK II, waga 2200 gr

10 cm³ O₂ zużywa w czasie średnio 1'12,2'' czyli w 5' zużywa 41,6 cm³ O₂
Inj. dożylnie 4 mg Gynergeny

10' po inj. 10 cm³ O₂ zużywa w czasie średnio 1'21,6'' czyli w 5' zużywa 36,7 cm³ O₂

30' po inj. 10 cm³ O₂ zużywa w czasie średnio 1'34,2'' czyli w 5' zużywa 31,9 cm³ O₂

45' po inj. 10 cm³ O₂ zużywa w czasie średnio 1'56,2'' czyli w 5' zużywa 25,8 cm³ O₂

W tym przypadku zmniejsza się po ergotaminie zużycie tlenu u królika w 10 min. po zastrzyku o 11,7%, w 1/2 godz. o 23,3%, a w 3/4 godz. o 37,9%.

GOŁĄB I

10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'05,6'' czyli w 5' zużywa 45,7 cm³ tlenu
Wstrzyknięto 0,7 mg Gynergeny dożylnie

15' po inj. 10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'29'' czyli w 5' zużywa 33,7 cm³ tlenu

30' po inj. 10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'45,6'' czyli w 5' zużywa 28,5 cm³ tlenu

U gołębia zwolniło się zużycie tlenu po podaniu dożylnym Gynergeny w dawce 2 mg/kg po 15 min. o 26,2%, a po 1/2 godz. o 37,6%.

GOŁĄB II

10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'04,9'' czyli w 5' zużywa 46,1 cm³ tlenu
Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergeny dożylnie

10' po inj. 10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 2'12,3'' czyli w 5' zużywa 22,2 cm³ tlenu

20' po inj. 10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'29,1'' czyli w 5' zużywa 33,7 cm³ tlenu

30' po inj. 10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'09,3'' czyli w 5' zużywa 43,4 cm³ tlenu

W tym przypadku nastąpiło po ergotaminie zwolnienie przemiany gazowej po 10 min. o 52,1%, po 20 min. o 26,8%, a po

$\frac{3}{4}$ godz. zużycie tlenu prawie się wyrównuje, bo zwalnia się tylko o 5,8%.

U szczura przeprowadzaliśmy badania przemiany gazowej w ten sposób, że umieszczano zwierzę w uszczelnionym słoju szklanym, opatrzonym 2-ma kurkami: jeden łączył się ze zbiornikiem tlenu, drugi z bębenkiem Mareya. Na dnie słoja znajdował się stężony NaOH, pochłaniający wydechany przez zwierzę CO_2 . Oznaczaliśmy czas zużycia pewnej ściśle określonej ilości tlenu. Wyniki otrzymane u szczura są podobne do wyników, uzyskanych u królika i gołębia. Liczbowo przedstawiają się następująco:

SZCZUR I, waga 190 gr

5 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'12" czyli w 5' 20,8 cm³ tlenu

Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergeny podskórnie

Po $\frac{1}{2}$ godz.	zużywa 5 cm ³ tlenu średnio w czasie	1'41"	czyli w 5'	14,7 cm ³ tlenu
" $1\frac{1}{2}$ "	" " " " " "	" 1'42"	" 14,6 "	" "
" $2\frac{1}{2}$ "	" " " " " "	" 2'03"	" 12,2 "	" "
" 5 "	" " " " " "	" 1'33,4"	" 16,06 "	" "
" 7 "	" " " " " "	" 1'21,4"	" 19,6 "	" "
" 24 "	" " " " " "	" 1'25"	" 17,7 "	" "

Szczur ten wykazuje pod wpływem Gynergeny zwolnienie zużycia tlenu po $1\frac{1}{2}$ godz. o 29%, po $2\frac{1}{2}$ godz. o 41,3%, utrzymujące się przez szereg godzin.

SZCZUR II, waga 185 gr

5 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 0'44" czyli w 5 min. zużywa 34,09 cm³ tlenu

Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergeny podskórnie

Po $\frac{1}{2}$ godz.	zużywa 5 cm ³ tlenu średnio w czasie	1'06"	czyli w 5'	22,06 cm ³ tlenu
" 1 "	" " " " " "	" 0'58,8"	" 27,2 "	" "

U tego szczura zwalnia się zużycie tlenu w $\frac{1}{2}$ godz. po zastrzyku Gynergeny o 35,3%, a po 1 godz. o 20%.

Następnie badaliśmy działanie ergotaminy na przemianę gazową u szczurów, u których wywoływaliśmy sztucznie przyspieszenie przemiany gazowej. Znaczne przyspieszenie uzyskiwaliśmy w stanie tyreotoksykozy i przez podawanie α -dinitro-fenolu. Stan tyreotoksykozy osiągaliliśmy u szczurów przez podawanie podskórne tyroksyny codziennie przez 3—6 dni w dawkach 1—2 mg. Gdy przemiana gazowa znacznie się przyspieszyła i temperatura

wyraźnie się podniosła, wówczas poddawaliśmy zwierzę działaniu Gynergeny.

SZCZUR I, waga 222 gr Temp. 37,7° C Czyli w 5 min. zużywa
10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'23,2'' 36,05 cm³ tlenu

Przez 3 dni wstrzykiwano codziennie po 1 mg tyroksyny podskórnie.

W 4-ym dniu, waga 223 gr Temp. 38,7° C Czyli w 5 min. zużywa
10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 0'50,2'' 59,7 cm³ tlenu

Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergeny podskórnie

Po 1/2 godz. zużywa 10 cm³ tlenu średnio w czasie 0'64,2'' 46,7 " "
" 1 " " " " " " " 1'13'' 41,09 " "

W tym przypadku zużycie tlenu przyspieszone po tyroksynie o 65,6% zwalnia się po podaniu Gynergeny w 1/2 godz. o 21,7%, a po 1 godz. o 31,1%.

SZCZUR II, waga 210 gr Temp. 35,5° C Czyli w 5 min. zużywa
10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 2'27'' 20,4 cm³ tlenu

Przez 6 dni wstrzykiwano codziennie 1 mg tyroksyny podskórnie.

W 7-ym dniu, waga 190 gr Temp. 37,5° C Czyli w 5 min. zużywa
10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'12,6'' 41,3 cm³ tlenu

Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergeny podskórnie.

Po 1 godz. zużywa 10 cm³ tlenu średnio w czasie 1'34,5'' 31,7 " "
" 2 1/2 " " " " " " " 1'43'' 29,1 " "

U tego szczura zużycie tlenu przyspieszone po tyroksynie o 100,4% zostało po zastrzyku podskórnym 0,5 mg Gynergeny zwolnione po 1 godz. o 23,2%, a po 2 1/2 godz. o 29,5%.

SZCZUR III, waga 295 gr Temp. 36,1° C Czyli w 5 min. zużywa
5 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 0'44,9'' 33,4 cm³ tlenu

Przez dni 4 wstrzykiwano codziennie po 2 mg tyroksyny podskórnie.

W 5-ym dniu, waga 275 gr Temp. 37,2° C Czyli w 5 min. zużywa
5 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 0'27,2'' 55,1 cm³ tlenu

Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergnu podskórnie

Po 1/2 godz. zużywa 5 cm³ tlenu średnio w czasie 0'35,1'' 42,7 " "
" 1 " " " " " " " 0'58,1'' 25,8 " "
" 2 " " " " " " " 0'36'' 41,6 " "
" 3 " " " " " " " 0'44,5'' 33,7 " "
" 7 " " " " " " " 0'29,3'' 51,1 " "

W tym przypadku zużycie tlenu przyspieszone po tyroksynie o 64,9% zostało zwolnione po zastrzyku podskórnym 0,5 mg Gy-

nergenu w $\frac{1}{2}$ godz. o 22,5% po 1 godz. o 53,1% po 2 godz. 24,5% po 3 godz. o 38,8% po 7 godz. o 7,2%.

W tyreotoksykozie uzyskujemy więc po wprowadzeniu ergotaminy wyraźne zwolnienie przyspieszonej przemiany gazowej chociaż naogół mniejsze niż u normalnego szczura. Efekt ten musimy uważać tembardziej za mniejszy, ponieważ działamy tutaj na silnie wzmożoną przemianę gazową, więc należałoby się spodziewać znaczniejszego zwolnienia przemiany gazowej.

Poza tyroksyną wywoływaliśmy przyspieszenie przemiany gazowej przy pomocy α -dinitro-fenolu, który wprowadzaliśmy dostrzewnowo w dawce 20 mg/kg.

SZCZUR I, waga 207 gr		Czyli w 5 min. zużywa
10 cm ³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'54,5"		26,2 cm ³ tlenu
Wstrzyknięto 4 mg α -dinitro-fenolu dostrzewnowo.		
Po 10 min. 10 cm ³ tlenu zużywa średnio w czasie 0'55,7"	53,8	„ „
Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergeny podskórnie		
Po $\frac{1}{2}$ godz. 10 cm ³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'12,8"	41,2	„ „
„ 1 „ „ „ „ „ „ 0'55,7"	53,7	„ „

W tym przypadku zwolnienie przemiany gazowej po ergotaminie jest niewielkie i krótkotrwałe. Po α -dinitro-fenolu zużycie tlenu przyspieszone o 105,4% zwalnia się po Gynergenie w $\frac{1}{2}$ godz. o 23,4% a po 1 godz. o 0,18%.

SZCZUR II, waga 220 gr		Czyli w 5 min. zużywa
10 cm ³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'26,5"		34,6 cm ³ tlenu
Wstrzyknięto 4 mg α -dinitro-fenolu dostrzewnowo.		
Po 15 min. 10 cm ³ tlenu zużywa średnio w czasie 0'50,5"	59,4	„ „
„ $\frac{1}{2}$ godz. „ „ „ „ „ 0'45"	66,6	„ „
Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergeny podskórnie		
Po $\frac{1}{2}$ godz. 10 cm ³ tlenu zużywa średnio w czasie 0'54"	55,5	„ „
„ 1 $\frac{1}{2}$ „ „ „ „ „ „ 1'02"	48,3	„ „

I w tym przypadku otrzymujemy stosunkowo nieznaczne zwolnienie przemiany gazowej. α -dinitro-fenol przyspiesza zużycie tlenu po $\frac{1}{2}$ godz. o 92,4% a po Gynergenie następuje zwolnienie po $\frac{1}{2}$ godz. o 16,6%, po 1 $\frac{1}{2}$ godz. o 27,4%.

SZCZUR III, waga 215 gr

Czyli w 5 min. zużywa

10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'43" 27,1 cm³ tlenu

Wstrzyknięto 4 mg α -dinitro-fenolu dootrzewnowo.

Po 15 min. 10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 0'57,1" 52,5 " "

Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergenu podskórnie.

Po 1/2 godz. 10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 0'50" 60,0 " "

" 1 " " " " " " " 0'57" 52,6 " "

U tego szczura brak zupełnie zwolnienia przemiany gazowej po ergotaminie. Po α -dinitro-fenolu zużycie tlenu przyspieszone o 93,7% zostaje w 1/2 godz. po zastrzyku podskórnym Gynergenu jeszcze przyspieszone o dalsze 14,2%, a po 1 godz. wartości zużycia tlenu wracają do poziomu takiego, jaki był przed podaniem Gynergenu.

Okazuje się, że mimo tak znacznego przyspieszenia przemiany gazowej po α -dinitro-fenolu, wywołuje ergotamina jeszcze mniejsze zwolnienie, niż w tyreotoksykozie, a często nawet brak zupełnie zwolnienia przemiany gazowej przyspieszonej po podaniu α -dinitro-fenolu.

Badaliśmy w końcu przemianę gazową u królików, u których operacyjnie usunięto tarczycę, poczem poddawano je działaniu ergotaminy.

KRÓLIK I. waga: 2620 gr.

W narkozie pernoctonowej (20 mg/kg) dokonano wycięcia obu płatów tarczycy. W 9 dni po zupełnem wygojeniu się rany, określano zużycie tlenu w narkozie uretanowej, za pomocą aparatu Krogha dla małych zwierząt.

Czyli w 5 min. zużywa

Norma 10 cm³ tlenu zużywa średnio w czasie 0 52,2" 56,5 cm³ tlenu

Wstrzyknięto 4 mg Gynergenu dożylnie.

Po 15 min. zużywa 10 cm³ tlenu średnio w czasie 0'59,4" 50,5 " "

" 1/2 godz. " " " " " " " 0'59,4" 50,5 " "

Tutaj zwalnia się zużycie tlenu po wstrzyknięciu 4 mg Gynergenu dożylnie tak po 15 min., jak i po 1/2 godz., zaledwie o 8,8% przy równoczesnym znacznym spadku ciśnienia krwi.

KRÓLIK II. waga: 2200 gr.

W narkozie amytalowej (50 mg/kg wagi) wycięto oba płaty tarczycy. Po 14 dniach, gdy rana była już zupełnie zgojona, określano zużycie tlenu.

	Czyli w 5 min. zużywa
Norma 10 cm ³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'09"	43,4 cm ³ tlenu
Wstrzyknięto 0,5 mg Gynergenu dożylnie.	
Po 5 min. 10 cm ³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'05,7"	45,6
Wstrzyknięto 4 mg Gynergenu dożylnie.	
Po 1/2 godz. 10 cm ³ tlenu zużywa średnio w czasie 1'13"	41,1

Po wstrzyknięciu małej dawki 0,5 mg Gynergenu występuje nieznaczne, praktycznie bez znaczenia, przyspieszenie przemiany gazowej o 5% przy równoczesnym niewielkim wzroście ciśnienia krwi. Po wstrzyknięciu 4 mg Gynergenu dożylnie występuje po 1/2 godz. zwolnienie przemiany gazowej tylko o 5,2%, przy równoczesnym znacznym i długotrwałym spadku ciśnienia krwi.

W porównaniu z doświadczeniami na królikach normalnych, spostrzegamy tu znaczną różnicę. U królików normalnych mieliśmy do czynienia zawsze z wybitnym zwolnieniem przemiany gazowej po ergotaminie, u królików zaś pozbawionych tarczycy zaznacza się zwolnienie przemiany gazowej po ergotaminie w tak małym stopniu, że nie ma ono praktycznego znaczenia. Podobne wyniki opisują również amerykańscy autorzy (*Harine, Deutsch i Cipra*).

III. Wpływ ergotaminy na przemianę azotową.

Badanie przemiany azotowej przeprowadzaliśmy u królików. Zwierzęta trzymane były w czasie doświadczenia w klatce metabolicznej na ściślej djecie burakowej. Codziennie o tej samej porze oznaczaliśmy metodą Kjehldała ilość azotu, zawartego w zjedzonej porcji buraków na podstawie badania resztek niezjedzonych, oraz oznaczaliśmy dobową ilość azotu wydzielonego w moczu i w kale.

Okazuje się, że ergotamina wpływa na przemianę azotową w ten sposób, że obniża ilość azotu wydzielanego z organizmu. Działanie to zaznacza się z 1-szym i 2-gim dniem po wstrzyknię-

Dzień	Królik I		Królik II		Królik III	
	Pobrał mg N	Wydzielił mg N	Pobrał mg N	Wydzielił mg N	Pobrał mg N	Wydzielił mg N
I.	154	457	506,5	912	518	1040
II.	402,6	1364,5	955	1428	635	1072
Wstrzyknięto 2 mg/kg wagi Gynergeny podskórnice						
III.	374	717	771	943	432	664
IV.	704	1017	1422	1007	557	701
V.	—	—	531	1117	228	1211

ciu Gynergeny t. zn. w 3-cim i 4-tym dniu doświadczenia. Ilość azotu wydzielonego w tych dniach wyraźnie się zmniejsza w porównaniu z dniem 2-gim doświadczenia, a w dniu 5-tym znowu się podwyższa i zbliża do normy.

IV. Wpływ ergotaminy na ilość cukru we krwi.

Dodatkowo badaliśmy wpływ ergotaminy na poziom cukru we krwi u królika, gołębia i świnki morskiej. Oznaczaliśmy ilość cukru metodą Hagedorn-Jensena, przyczem większych wahań w ilości cukru u tych zwierząt pod wpływem ergotaminy nie obserwowaliśmy.

KRÓLIK, waga 2120 gr

Norma 0,118% cukru we krwi

Wstrzyknięto 2 mg Gynergeny dożylnie

Po 1 godz. 0,104% cukru we krwi

„ 2 „ 0,111% „ „ „

„ 3 „ 0,125% „ „ „

„ 4 „ 0,117% „ „ „

Po wstrzyknięciu 2 mg Gynergeny dożylnie, występuje nieznaczne obniżenie poziomu cukru we krwi królika, utrzymujące się przez 2 godziny.

ŚWINKA MORSKA, waga 952 gr

Norma	0,140 ‰	cukru we krwi
Wstrzyknięto 2 mg Gynergeny podskórnie		
Po 1 godz.	0,140 ‰	cukru we krwi
" 2 "	0,172 ‰	" " "
" 3 "	0,136 ‰	" " "

U świnki morskiej po wstrzyknięciu 2 mg Gynergeny podskórnie nie stwierdza się obniżenia ilości cukru we krwi, natomiast po 2 godz. po wstrzyknięciu Gynergeny obserwuje się przejściową nieznaczłą wyższą ilość cukru we krwi.

GOŁĄB, waga 290 gr

Norma	0,270 ‰	cukru we krwi
Wstrzyknięto 0,6 mg Gynergeny domięśniowo		
Po 1 godz.	0,240 ‰	cukru we krwi
" 2 "	0,270 ‰	" " "
" 11 "	0,338 ‰	" " "

U gołębia po wstrzyknięciu 0,6 mg Gynergeny domięśniowo obserwuje się podobnie jak u królika niewielką obniżkę ilości cukru we krwi i utrzymującą się również bardzo krótko, bo tylko przez 1 godzinę.

V. Wpływ ergotaminy na naczynia obwodowe.

Badaliśmy wkońcu wpływ ergotaminy na naczynia obwodowe u królików.

Badania przeprowadzaliśmy w ten sposób, że umieszczaliśmy ucho królika w onkometrze połączonym z bębenkiem Marey'a. Wstrzykiwaliśmy 1—2 mg/kg Gynergeny dożylnie i obserwowaliśmy wahania w objętości naczyń usznych. Badania wykazywały stale po przejściowym krótkotrwałym rozszerzeniu nieznaczny, ale długo trwający skurcz naczyń usznych u królika.

VI. Wnioski.

Wyniki naszych doświadczeń dadzą się ująć w następujące wnioski:

1. Ergotamina obniża wybitnie ciepłotę u szczura i u gołębia, natomiast u królika nie wywołuje wyraźnego spadku, a czasem przeciwnie znaczną zwyżkę ciepłoty.

2. Na podwyższoną temperaturę u szczura, przy pomocy środków działających głównie ośrodkowo (kokaina, atropina, szczepionka bac. subtilis), działa ergotamina w ten sposób, że wywołuje wybitny spadek temperatury.

3. Ergotamina obniża znacznie słabiej gorączkę wywołaną u szczura środkami działającymi głównie obwodowe (α -dinitro-fenol, tyroksyna), niż temperaturę normalną szczura. Czasami obniżenie temperatury wogóle nie występuje.

4. Ergotamina działa hamująco na przemianę gazową u królika, gołębia i szczura, zmniejszając wyraźnie zużycie tlenu.

5. Ergotamina zwalnia również wzmożoną przemianę gazową u szczura po tyroksynie, ale w nieco mniejszym stopniu. Na przyspieszoną przemianę gazową u szczura po α -dinitro-fenolu działa ergotamina jeszcze słabiej, często nie zwalniając wogóle przyspieszonej przemiany gazowej.

6. Zwolnienie przemiany gazowej po ergotaminie, jest znacznie mniejsze u królika pozbawionego tarczycy, niż u królika normalnego.

7. Ergotamina wywołuje u królika zmniejszenie się ilości dobowej wydzielanego azotu w moczu i w kale.

Aus dem pharmakologischen Institut der Jagellonischen Universität in Krakau
Direktor: Prof. Dr. J. V. Supniewski

UEBER DEN EINFLUSS DES GYNERGENS AUF DEN WARMEHAUSHALT DES ORGANISMUS

v o n

S. FORSTER

ZUSAMMENFASSUNG

In unseren Experimenten haben wir untenommen den Einfluss von Ergotamin auf den Temperatur, Gas-, und Stick-

stoffwechsel bei Ratten, Tauben und Kaninchen zu untersuchen. Dabei sind wir zu folgenden Ergebnissen gekommen:

1. Das Ergotamin verursacht bei Ratten und Tauben einen heftigen Temperatursturz, bei Kaninchen dagegen haben wir meistens keine wesentliche Erniedrigung und manchmal sogar eine bedeutende Temperaturerhöhung beobachtet.

2. Die Temperaturerhöhung Ratten mittels Cocain, Atropin und Subtilis-bacillenkulturen, die alle auf die Wärmезentren einwirken, wurde durch das Ergotamin sehr stark und langdauernd herabgesetzt.

3. Die Temperaturerhöhung, welche wir bei Ratten mittels Tyroxin und α -dinitrophenol, also Mittel, die vorwiegend peripher auf die Wärmebildung wirken, erreicht haben, ist viel resistenter gegen das Ergotamin. In diesen Fällen wird die Temperatur sehr wenig und nur vorübergehend herabgesetzt, manchmal kommt die Temperatursenkung überhaupt nicht zustande.

4. Auf den Gasstoffwechsel wirkt das Ergotamin deutlich hemmend bei Ratten, Tauben und Kaninchen, indem es den Sauerstoffverbrauch bedeutend einschränkt.

5. Den bei Ratten nach Tyroxin beschleunigten Sauerstoffverbrauch hemmt das Ergotamin in geringer Weise und nach α -dinitrophenol nur sehr wenig, oder manchmal gar nicht.

6. Bei thyreoektomierten Kaninchen ist die Hemmung des Sauerstoffverbrauchs viel geringerer als bei normalen Tieren.

7. Das Ergotamin setzt herab bei Kaninchen die 24-stündliche Menge des ausgeschiedenen Stickstoffs im Harn und Kot.

P I Ś M I E N N I C T W O .

- 1) Cushny A. w Heffter: Handbuch der exp. Pharmak. 1920, II, 1297.
2) Dale i Spiro: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1922, XCV, 337. 3) Barger: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1928, CXXXVIII, 105. 4) Stoll: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1928, CXXXVIII, 111. 5) Rothlin: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1928, CXXXVIII, 115. 6) Planelles: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1925, CV, 37. 7) Braun: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1925, CVIII, 96. 8) Spiro: Schweiz. Med. Wochenschr. 1921, Nr 38. 9) Rothlin: Comptes rend. Soc. Biol. 1923, LXXXVIII, 172. 10) Rothlin: Pharmazeutische Zentralhalle 1925, Nr 14.

- 11) Rothlin: Bulletin Général de Thérapeutique 1925, Nr 7. 12) Langecker: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1926, CVIII, 49. 13) Rothlin: Revue neurologique 1926, Nr 6. 14) Stoll i Rothlin: Schweiz. Med. Wochenschr. 1927, V, 106. 15) Issekutz i Leinzinger: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1928, CXXVIII, 165. 16) Leinzinger i Kelemen: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1928, CXXVIII 172. 17) Bucciardì: Boll. d. Soc. Ital. di Biol. Sperim. T. III, Z. I, 1928, str. 77. 18) Coelho: Comptes rend. Soc. Biol. 1928, XCIX, 937. 19) Mednikjan: Z. exper. Biol. i Med. 1928, XC, 10. 20) Eda: J. of Biochem. 1928, X, 101. 21) Pollak: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1928, CXL, 1. 22) Rothlin i Schegg: Wiener Med. Wochenschr. 1925, Nr 36 i 38. 23) Marine, Deutsch i Cipra: Proceedings of the Soc. for exp. Biol. and Med. 1927, XXIV, 662. 24) Rigler i Silberstern: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1927, CXXI, 1. 25) Brink i Rigler: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1929, CXLV, 320. 26) Youmans i Trimble: J. of Pharm 1930, XXXVIII, 121. 27) Koppányi: J. of Pharm. 1930, XXXVIII, 101. 28) Youmans i Trimble: J. of Pharm. 1930, XXXIX, 201. 29) Wright: J. of Physiol. 1930, LXIX, 331. 30) Capo: Riforma med. 1930, II, 1347. 31) Rothlin: Rev. de Pharm. 1930, II, 1. 32) Nauda: J. of Pharm. 1931, XLII, 9. 33) Spiro: Die Mediz. Welt. 1929, II, 1. 34) Rothlin: Schweiz. Med. Wochenschrift 1930, XLIII, 1001. 35) Rothlin: Journ. of Pharm. and exp. Therap. 1929 Vol. XXXVI, Nr 4. 36) Youmans, Trimble i Franck: Arch. inter. Med. 1931, XLVII, 612. 37) Morans: C. r. Soc. Biol. 1932, CIX, 559. 38) Uytvanck: C. r. Soc. Biol. 1930, CIII, 29. 39) Heymans: Acta neerl. Physiol. 1932, II, 19. 40) Sasz: Arch. Augenheilk. 1932, CV, 681. 41) Donini i Soldi: Giorn. Clin. Med. 1923, XIII, 686. 42) Pacifico: Endocrinologia 1932, VII, 101 i 121. 43) Cataldo: Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim. 1932, VII, 67. 44) Magne, Mayer i Plantefol: Ann. de Physiol. 1932, VIII, 1. 45) Speck: Ber. über Gynäk. u. Geburtsh. 1931, XIX, 420. 46) Rothlin: Klin. Wochenschr. 1933, I, 25.
-

Wpłynęło 10.IX.1934.

Z Pracowni Mikrobiologicznej Wolnej Wszechnicy Polskiej
Kierownik Prof. Dr. A. Ławrynowicz

O STAŁOŚCI I ZMIENNOŚCI CECH PAŁECZKI BŁONICY RZEKOMEJ

(*b. pseudodiphtheriae Hoffmann*)

P o d a ł a

EDWARDA REDLER

Sprawa stosunku wzajemnego pałeczki błonicy i pałeczki błonicy rzekomej była poruszana w szeregu prac. Mimo dużej ilości nagromadzonego materiału nie ma ona dotąd przyjętego ogólnie rozwiązania. Dualistyczny punkt widzenia — istnienie obu drobnoustrojów, jako samodzielnych gatunków — reprezentują zwłaszcza autorowie dawniejsi (*Löffler, Hoffman, Zarniko, Fraenkel*); unitarystyczny punkt widzenia, ujmujący oba drobnoustroje, jako odmiany jednego gatunku (*Roux, Yersin, Martin, Schanz, Lambotte, Zupnik, Walsch*) wysuwa się, zwłaszcza w badaniach późniejszych, jako jeden z przejawów zmienności gatunku drobnoustrojów.

Na podstawie badań nad zmiennością bakterij wielu badaczy sądzi, że pałeczki rzekomobłonice pozostają w związku genetycznym z pałeczkami błoniczemi, od których pochodzą, stanowiąc ich odmianę saprofityczną. Już w roku 1893 *Frosch* zajmował się sprawą wpływu ustroju na powstawanie odmian pałeczek błoniczych. Wysiewając krew chorych lub narządy ludzi zmarłych na błonicę, otrzymywał on odmiany podobne do błonicy rzekomej, słabo zjadliwe lub pozbawione zjadliwości. *Graef* ze szczepu bło-

niczego, wyhodowanego z moczu chorego na błonicę, otrzymał przez pasażę na zwierzętach odmiany podobne do pałeczek błonicy rzekomej. Chcąc zbadać jak daleko sięga wpływ organizmu na zmienność pałeczki błonicznej i czy prowadzi on do powstania nowych typów bakteryjnych *Bernhard* i *Paneth* dokonali spostrzeżeń na szeregu szczepów błonicznych, pasażowanych przez zwierzęta bądź poddanych działaniu surowicy świnki morskiej. Obserwowali oni powstawanie odmian, wykazujących morfologiczne i biologiczne odchylenia w stosunku do szczepów wyjściowych. Badania *Bernharda* i *Panetha*, potwierdzone przez *Schmitza* dowiodły, że przez pasażę na świnkach morskich pałeczki błonice mogą utracić swoje typowe własności, co powinno pociągać za sobą zmianę ich znaczenia epidemiologicznego.

Systematyczne i planowe ujęcie zagadnienia wymaga przede wszystkim stwierdzenia granic wahań właściwości morfologicznych, biochemicznych, biologicznych i chorobotwórczych każdego z tych drobnoustrojów, oraz ustalenia granic zmienności tych drobnoustrojów po zadziałaniu czynników zewnętrznych. Dla pałeczki błonicznej zadanie to wykonane zostało w pracy *Z. Bohdanowiczówny* i *A. Ławrynowicza*, którzy na podstawie systematycznych badań nad stu szczepami doszli do wniosku, że granice wahań cech pałeczki błonicznej są bardzo szerokie; w warunkach długotrwałej obserwacji laboratoryjnej mogą one ulegać zmianom, polegającym na utracie lub nabyciu poszczególnych cech (nie wyłączając chorobotwórczości): powstają tą drogą odmiany pałeczek błonicznych wsteczne i postępujące. Pomiędzy pałeczką błoniczą i pałeczką błonicy rzekomej nie ma ostro zaznaczonej granicy.

Zadaniem mojej pracy było ujęcie pod tym samym kątem widzenia pałeczki błonicy rzekomej — ustalenie granic, w których cechy morfologiczne, biochemiczne i biologiczne mogą ulegać wahaniom, jako też badanie zmian, występujących w hodowlach po zadziałaniu czynnika dysgenetycznego. Do spostrzeżeń użyłam świeżo wyosobnionych z ustroju 90 szczepów, pochodzących z gardła i z nosa. Podstawą określenia tych szczepów jako rzekomobłonich był obraz mikroskopowy 24 godz. hodowli agarowych.

Morfologia mikroskopowa dała charakterystyczny ogólnie znany kształt i typ ułożenia. Barwienie metodą Lubińskiego dało

w 10-ciu szczepach (11,1%) obecność ziarn metachromatycznych na biegunach bakterij. Morfologia kolonij była typowa: miały one kształt szaroperłowych krążków soczystych, wypukłych, o brzegach gładkich. Z 50-ciu zasianych na buljonie szczepów 24 (48%) tworzyły po dwóch lub trzech tygodniach pozostawania w cieplarni błonkę na powierzchni.

Biochemja. Wszystkie 90 szczepów zasiano na podłoża płynne, zawierające 1% następujących substancji — z alkoholi: trój, cztero i sześćc wartościowych: glicerynę, erytryt, dulcyt, sorbit, mannit; z pentoz: ksylozę, arabinozę, ramnozę, z heksoz: glukozę, mannozę, galaktozę, lewulozę; z bioz: laktozę, sacharozę, maltozę; z trioz: rafinozę; z polioz: inulinę; z glukozydów: amigda linę, salicynę, arbutynę i florydzynę (razem 21 substancji).

Ogólny wyraz aktywności fermentacyjnej szczepów badanych daje tablica I, wykazująca ile substancji z pośród 21 badanych uległo zakwaszeniu.

T A B L I C A I.

Ile substancji badanych fermentuje	Ile szczepów	
6	1	} 6— 6,7%
5	5	
4	1	} 84—93,3%
3	2	
2	10	
1	23	
0	48—53,3%	
Razem	90	

Tablica wykazuje, że więcej niż połowa szczepów badanych (48-co stanowi 53,3%) nie rozkładała żadnej substancji, że liczba

szczepów, rozkładających 5 i 6 substancyj była nieduża (6 szczepów — 6,7%). Stosunek liczby tych szczepów do szczepów o mniejszej aktywności fermentacyjnej (rozkładających 4 i mniej substancyj) stanowi 6:84; stosunek tych samych grup szczepów dla pałeczki błoniczej, jak to podają *Bohdanowiczówna* i *Ławrynowicz*, daje 72:7.

Liczby te charakteryzują zasadniczą różnicę aktywności fermentacyjnej pałeczki błoniczej i pałeczki błonicy rzekomej.

Tablicy II przedstawia wyniki posiewów na wyżej podanych substancjach.

T A B L I C A II.

Własności biochemiczne szczepów na podłożach cukrowych			Zakwasza w %	Nie zakwasza
Monozy	Pentozy	Ksyloza	13,3	Ramnoza Arabinoza
	Heksozy	Lewuloza	30,0	
		Galaktoza	27,6	
		Mannoza	10,0	
		Glukoza	7,7	
Biozy		Maltoza	7,7	Laktoza
		Sacharoza	8,9	
Triozy				Rafinoza
Poliozy				Inulina
Alkohole	3-wart.			Gliceryna
	4-wart.			Erytryt
	6-wart.			Duleyt Sorbit Mannit
Glukozydy				Amigdalina Salicyna Florydyna Arbutyna

Tablica wykazuje, że z pośród 21 badanych substancyj tylko na siedmiu stwierdzono zakwaszenie. Najczęściej, bo u 30% szczepów ulegała zakwaszeniu lewuloza, równą częstość zakwa-

szenia (27,6%) daje galaktoza. Inne substancje są rozkładane rzadziej. Charakterystyczne jest to, że te same wodany węgla występują, jako najczęściej rozkładane przez pałeczki błonicy i pałeczki błonicy rzekomej. Dane *Bohdanowiczówny i Ławrynowicza* wykazują, że lewuloza jest rozkładana przez pałeczkę błoniczą w 100%, galaktoza w 98,7%; dla pałeczki błonicy rzekomej wypada ta częstość odpowiednio: 30% i 27,6%.

Zjadliwość szczepów badałam metodą doskórą (wprowadzenie 0,2 cm.³ zawiesiny hodowli) na świnkach morskich. W żadnym przypadku nie stwierdziłam odczynu w miejscu wstrzyknięcia. Zasługuje na zaznaczenie, że nawet szczepy o wybitnej zdolności fermentacyjnej (rozkładające 5 i 6 wymienionych wyżej substancji) nie dawały żadnego odczynu po wstrzyknięciu doskórą.

Uogólniając wyżej podane spostrzeżenia, należy wywnioskować, że pałeczki błonicy rzekomej posiadają dość szerokie granice wahań własności morfologicznych i własności fermentacyjnych. Część szczepów pałeczki błonicy rzekomej posiada własności morfologiczne i biochemiczne, zbliżone do cech pałeczki błoniczej.

Zmienność własności pałeczki błonicy rzekomej badałam, zasiewając 50 szczepów na buljonie i trzymając posiewy w temperaturze 37° przez czas dłuższy (do dwóch miesięcy). Jako czynnik dysgenetyczny występowały przedewszystkiem w tych starych hodowlach produkty przemiany, gromadzące się w podłożu. Po miesiącu i po dwóch miesiącach hodowania na buljonie wysiewałam hodowle na płytki agarowe, obserwując zmiany w morfologii makroskopowej kolonij. Jedynym przejawem dysocjacji było w tych posiewach różniczkowanie kolonij na dwa typy: kolonie duże i bardzo drobne (mikrokolonie), występujące obok siebie. Mikrokolonie obserwowałam u 39 szczepów na 50 (78%).

W celu stwierdzenia stałości cechy nabytej przez działanie czynnika dysgenetycznego, dokonałam przesiewów, wychodząc bądź z dużej, bądź też z małej kolonii. Okazało się, że kolonie duże w dalszych przesiewach nie odszczepiały kolonij drobnych, gdy mikrokolonie rozszczepiały się na duże i drobne; różniczkowanie się drobnych kolonij na kolonie o różnych rozmiarach w dalszych przesiewach zatracalo się: mikrokolonie powracały do

rozmiarów dużych kolonij. Powtórne badanie szczepów po dwóch miesiącach hodowania na buljonie w temperaturze 37° nie dało żadnych nowych przejawów dysocjacji. Duże i drobne kolonje poddałam badaniu w celu wyjaśnienia, czy istnieją różnice w ich własnościach fermentacyjnych i zjadliwości. W większości przypadków własności fermentacyjne tych dwóch typów kolonij nie różniły się.

Niektóre natomiast szczepy zaznaczyły różnice np. szczep 6: kolonje drobne nabyły zdolności zakwaszania lewulozy. Szczep 50: po rozpadzie na dwa rodzaje kolonij tylko drobne kolonje zachowały zdolność zakwaszania lewulozy, kolonje duże zatraciły ją. Jednakową zmianę zaznaczyły kolonje duże i drobne szczepu 2: nabyły one zdolności zakwaszania lewulozy, jak również szczepu 22, którego kolonje duże i mikrokolonje nabyły zdolności zakwaszania mannozy.

Badanie zjadliwości dużych i małych kolonij metodą doskórna dało wynik ujemny. Ze spostrzeżeń nad działaniem czynnika dysogenetycznego na własności pałeczki błonicy rzekomej wynika, że daje ona przejawy zmienności, polegające na dysocjacji morfologicznej kolonij, oraz pewnej chwiejności cech fermentacyjnych.

Wnioski.

1. Część szczepów pałeczki błonicy rzekomej (11,1%) może dawać ziarna metachromatyczne.

2. Szczepy błonicy rzekomej odznaczają się słabą zdolnością fermentowania substancyj węglowodanowych. Najczęściej zakwaszane są: lewuloza (30% szczepów badanych) i galaktoza (27,6%), rzadziej ksyloza (13,3%), mannoza (10%), sacharoza (8,9%), glukoza (7,7%), maltoza (7,7%).

W żadnym przypadku nie były zakwaszone: arabinoza, ramnoza, alkohole 6-cio wartościowe i glukozydy.

3. Pałeczki błonicy rzekomej stanowią grupę o niejednorodnych cechach — dotyczy to zwłaszcza własności fermentacyjnych. Większość szczepów (53,3%) nie rozkłada wcale żadnych wodorów węgla, alkoholi wielowartościowych i glukozydów. Reszta szczepów rozkłada różną ilość tych substancyj do 6-ciu włącznie.

4. Pod wpływem czynnika dysgenetycznego (gromadzenie się produktów przemiany w starych hodowlach (pałeczki błonicy rzekomej mogą dawać dysocjację morfologiczną — kolonie duże i drobne (mikrokolonie), oraz słabo zanaczoną dysocjację biochemiczną. Występujące podczas dysocjacji odchylenia nie utrzymują się przez czas dłuższy.

Laboratoire de Microbiologie de l'Université Libre de Pologne
Dir. Prof. Dr. A. Ławrynowicz

DE LA CONSTANCE ET DE LA VARIABILITÉ DES PROPRIÉTÉS DE BACILLES PSEUDODIPHTE'RIQUES

P a r

E. REDLER

R É S U M É.

On a examiné 90 souches de bacilles pseudodiphthériques. En se basant sur les propriétés morphologiques et physiologiques du bacille pseudodiphthérique l'auteur a constaté:

1. Une partie de souches de bacilles pseudodiphthériques (11,1%) présente des corps metachromatiques.

2. La plupart de souches pseudodiphthériques (53,3%) manifeste un faible pouvoir fermentatif envers les hydrates de carbone et alcools polyatomiques.

Le plus souvent sont fermentés: le lévulose, (30%) le galactose (27,6%), le xylose (13,3%), rarement le mannose (10%), le saccharose (8,9%), le glucose (7,7%), le maltose (7,7%). L'arabinose, le ramnose, lerythrite, la dulcité, la sorbite, la mannite, le l'actose, le saccharose, l'inuline, le floridzine, l'arbutine ne sont jamais fermentés.

3. L'influence d'un agent dysgénétique (les souches restaient pendant un ou deux mois à l'étuve en culture en bouillon) provo-

que la différence dans l'aspect de colonies—on peut observer deux types de colonies: des colonies grandes et très petites (microcolonies).

Les variations obtenues sous l'influence de l'agent dysgénétique ne durent pas longtemps.

PIŚMIENNICTWO.

Z. Bohdanowiczówna i A. Ławrynowicz Medycyna Doświadczalna rok 1928, zeszyt 1-2, tom IX. J. Seydel Med. Doświadczalna rok 1927, zeszyt 3-4, tom VIII. Kliewe Centr. für Bakt. labt. B. 101. Lewinthal Z. f. H. Bd. 105, 699. Manshei Zentr. für Bakt. Bd. 115, 113.



Wpłynęło 21.XI.1934.

Z Pracowni Mikrobiologicznej Wolnej Wszechnicy Polskiej
(Kierownik Prof. Dr. A. Ławrynowicz)

CHARAKTERYSTYKA SZCZEPÓW PAŁECZKI OKRĘŻNICOWEJ OTRZYMANÝCH Z GLEBY

P o d a ł a

HELENA NOWIKÓWNA

Jednym z częstych drobnoustrojów gleby jest pałeczka okrężnicowa w swoich licznych odmianach. Próby usystematyzowania grupy pałeczki okrężnicowej dotąd nie dały wyników zadawalniających. Poza teoretycznem zainteresowaniem do ułożenia i przyjęcia systematyki pobudzają również względy natury praktycznej. W badaniach sanitarno-higienicznych ważne jest często wyjaśnienie własności i źródła pochodzenia otrzymanej pałeczki okrężnicowej. Od dłuższego czasu (r. 1904) znany jest schemat *Eijkmana* podziału pał. okrężnicowych, na pochodzące od zwierząt ciepłokrwistych i zmiennocieplnych na podstawie ich zdolności fermentowania wodoru węgla w t^o 37^o i 46^o. Ostatnio na założeniach fizjologicznych został również oparty podział autorów amerykańskich (*Koser i Levin i in.*) na typy: jelitowy i ziemny; podstawę podziału stanowią własności biochemiczne pał. grupy okrężnicowej (zmiana ph. podłoża podczas wzrostu, zdolność pobierania N z kw. moczowego, oraz C z cytrynianu sodu). Nie omawiam szczegółów i metodyki różniczkowania grupy pał. okrężnicowych na jelitowe (*b. coli*) i ziemne (*b. aerogenes*), gdyż zostały one omówione w pracach Ławrynowicza, Piotrowskiej i Szymańskiej.

Zadaniem mojej pracy było nagromadzenie szczepów grupy okrężnicowej, wyosobnionych z gleby, oraz charakterystyka ich zasadniczych właściwości, jakoteż ich oblicza fizjologicznego. Dla charakterystyki fizjologicznej drobnoustrojów otrzymanych, zastosowałam metodykę *Eijkmana*, oraz autorów amerykańskich. Ziemię rozmaitego pochodzenia zasiewałam na wodę peptonową z glukozą, przesiewając po dobie na podłoże Endo.

Na 200 szczepów zebranych tą drogą otrzymałam 118 typowych szczepów *b. coli* i 82 szczepy *b. paracoli*, z których 37 nie wytwarzało indolu i 65 nie rozkładało laktozy.

Opierając się na schemacie *Eijkmana*, stwierdziłam, że ze 118 szczepów typowych *b. coli* — 68 dały fermentację gazową w t° 37° i 46°, a więc mogły być uważane za pochodzące z przewodu pokarmowego ustrojów ciepłokrwistych, zaś 50 szczepów fermentacji gazowej w t° 46° nie dało, mogły więc być uważane za pochodzące z przewodu pokarmowego zmiennocieplnych.

Posługując się podłożami syntetycznymi *Clarka* i *Kosera*, zasiałam 200 szczepów otrzymanych z gleby. W wyniku badań otrzymałam 83 szczepy jelitowe typowe, 34 szczepy typowe ziemne, 61 szczepów nietypowych jelitowych i 22 nietypowe ziemne.

Typowe szczepy jelitowe zasiane na podłożu *Clarka*, po dodaniu czerwieni metylowej dały zabarwienie czerwone, stwierdzając tem samem odczyn kwaśny podłoża; odczyn *Voges-Proskauera* był ujemny, na podłożach *Kosera* nie rosły wcale, nie posiadając zdolności czerpania *Nz kw. moczowego*, ani *C* z cytrynianu sodu.

Typowe szczepy ziemne na podł. *Clarka* po dodaniu czerw. metyl. dały zabarwienie cytrynowo-żółte, świadczące o zasadowym odczynie podłoża, dodatni odczyn *Voges-Proskauera*. Na podłożach *Kosera* szczepy rosły dobrze.

Jeśli idzie o szczepy nietypowe ziemne lub jelitowe, to odbiegały one od wyżej podanych cech, dając najrozmaitsze ich kombinacje:

Bact. coli nietypowe (jelitowe).	
cytrynian sodu +	18
kwas moczowy +	21

cytrynian sodu +, kw. mocz. +	17
Voges-Proskauer +	3
Voges-Prosk. +, cytr. sodu +	2
Bact. coli aerogenes nietypowe (ziemne).	
kw. moczowy —	4
cytrynian sodu —	1
Voges-Proskauer —	5
Voges-Prosk. —, cytr. sodu —	3
Voges-Prosk. —, kwas mocz. —	3
Vog.-Prosk. —, kw. mocz. —, cytr. s. —	6

Do szybkiego różniczkowania typów jelitowego i ziemnego pał. okrężnicowej podane zostało przez Simmonsa podłoże oparte na wyżej podanych właściwościach obu typów.

W skład podłoża wchodzi: woda, szereg soli, cytrynian sodu i błękit bromotymolowy. Szczegółowy skład podłoża podany jest w pracy Ławrynowicza, Piotrowskiej i Szymańskiej.

Typ ziemny na tem podłożu daje po 24-48 godz. obfity wzrost, barwę podłoża z oliwkowo-zielonej zmienia na niebieską, o różnych odcieniach. Zmiana barwy podłoża świadczy o odczynie zasadowym.

Typ jelitowy zasadniczo na podłożu Simmonsa nie rośnie (nie posiada bowiem zdolności pobierania C z cytr. sodu). Tylko niektóre szczepy nietypowe jelitowe dają słaby wzrost nie zmieniając barwy podłoża.

Z 200 szczepów zasianych na podł. Simmonsa, szczepy ziemne, z wyjątkiem 3, rosły dobrze, zmieniając barwę podłoża na niebieską; z 83 szczepów jelitowych zmieniło podłoże 18 dając słaby wzrost, reszta zachowała się charakterystycznie dla szczepów jelitowych.

Szczepy nietypowe zachowały się na podłożu Simmonsa rozmaicie, w przeważającej części barwę podłoża zmieniały ze słabym wzrostem.

Zastanawiając się nad podanymi wyżej wynikami spostrzeżeń, należy zauważyć, że z gleby, w której można było spodziewać się w przeważającej liczbie pałeczek typu ziemnego (b. aerogenes),

wyodrębniłam liczbowo więcej pałeczek jelitowych (*b. coli*); z 200 było 144 szczepów typu jelitowego, a 56 ziemnego.

Pałeczka okrężnicowa, jak to wykazują liczne spostrzeżenia (*Ławrynowicz, Gryglewicz, Piotrowska, Szymańska* i inni) z łatwością dawać może zmianę swych cech, jak fermentowanie wodoru węgla, wytwarzanie indolu, zakw. mleka i t. d. Można więc przypuszczać, że pał. okrężnicowe jelitowe dostawszy się do gleby stopniowo tracą swoje własności typowe zamieniając się w szczep jelitowy nietypowy. W zależności od okresu czasu pobytu szczepu jelitowego w glebie mamy do czynienia z rozmaitemi jego odmianami. Liczne rozmaite odmiany typów jelitowego i ziemnego, otrzymane w moich spostrzeżeniach, stanowią właśnie wynik zadziałania środowiska, z którego zostały wyosobnione.

Wnioski.

1. Na 200 szczepów pałeczek okrężnicowych wyhodowanych z gleby, otrzymałam 83 szczepy typowe jelitowe, 34 szczepy typowe ziemne, 61 szczepów nietypowych jelitowych i 22 nietypowe ziemne. Dzielać według Eijkmana 118 szczepów typowych *b. coli* miałam 68 szczepów pochodzących od zwierząt ciepłokrwistych i 50 szczepów od zmiennocieplnych.

2. Podłoże Simmonsa dobrze nadaje się do różniczkowania typów fizjologicznych pałeczek grupy okrężnicowej; nie daje ono jednak całkowitej równoległości z wynikami otrzymanymi na podłożach syntetycznych.

3. Na podstawie porównania daje się stwierdzić, że niema równoległości pomiędzy podziałem Eijkmana na szczepy pochodzące od ciepłokrwistych i zmiennocieplnych, a podziałem autorów amerykańskich na szczepy jelitowe i ziemne.

Laboratoire de Microbiologie de l'Université Libre de Pologne
Directeur Prof. Dr. A. Ławrynowicz

ÉTUDE DES SOUCHES DE B. COLI PROVENANTES DU SOL

P a r

H. NOWIK

R É S U M É.

Entre 200 souches de b. coli obtenues du sol, l'auteur a différencié 83 souches du type intestinal, 34 souches du type du sol, 83 souches atypiques (selon la classification des auteurs américains), En les classifiant selon Eijkman entre 118 souches typiques l'auteur avait 68 souches du type d'animaux à sang chaud et 50 souches du type des poïkilothermes.

Le milieu de Simmons convient bien à la différenciation des types physiologiques des bacilles du groupe de coli. L'auteur constate, qu'il n'y a pas de parallélisme entre la classification d'Eijkman et celle des auteurs américains.

PIŚMIENNICTWO.

Ławrynowicz, Piotrowska, Szymańska. Med. Dośw. T. XIX, z. 1-2, 1934. Ławrynowicz Medycyna 1931, Nr 15-16. Ławrynowicz i Gryglewicz Med. Dośw. T. XVI, z. 1-2, 1933.

Wpłynęło 1.X.1934.

Z Państwowego Zakładu Higieny. Dział Bakterjologii i Medycyny Doświadczalnej
Kierownik Prof. Dr. L. Hirszfeld

Z BADAŃ NAD WŁASNOŚCIAMI ANTYGENOWEMI PAŁECZEK DURU BRZUSZNEGO DONIESIENIE I

Endotoksyna tyfusowa otrzymana metodą
wielokrotnego zamrażania

Podali

B. ZABŁOCKI i J. MORZYCKI

Obraz chorobowy, duru brzuszego dający objawy ostrego zatrucia ośrodkowego (odurzenie, zwolnienie tętna, wysoka gorączka i t. p.) nasuwa przypuszczenie, że działa tu jakaś toksyna bakteryjna. Jednakowoż badania wykazały, że pał. duru brzuszego do pożywki, na której rosną, toksyny nie wydzielają. Odpadała więc możliwość istnienia endotoksyny tyfusowej w rodzaju np. jadu błoniczego. Substancja toksyczna pałeczek Ebertha musiała być raczej związana z samem ciałem bakteryjnym, uwalniając się jedynie w razie rozpadu komórki Dlatego też przesącze starych hodowli tyfusowych, w których znaczna liczba drobnoustrojów ulega rozpadowi, wykazywały pewne własności toksyczne, niespotykane w przesączach hodowli młodych. To też badania poszły w kierunku wyodrębnienia i zbadania jadu, zawartego w samej komórce i nazwanego endotoksyną. Badania te napotykały na duże trudności wobec ścisłego związku, istniejącego pomiędzy substancją toksyczną, a ciałem bakteryjnym. Me-

tody, któremi starano się wyodrębnić endotoksynę, powodowały zwykle tak znaczne zmiany w strukturze drobnoustrojów, że otrzymamy produkt u różnych autorów różnił się bardzo znacznie swymi własnościami toksycznymi i antygenowymi.

Brieger (1902) usiłował otrzymać toksynę tyfusową, wytrącając ją chlorkiem rtęciowym ze starych hodowli buljonowych.

Pfeiffer (1894) w swych badaniach posługiwał się również przesączami starych hodowli. Twierdził on, że różnica pomiędzy egzo i endotoksynami polega na tem, że te ostatnie nie posiadają własności wytwarzania antytoksyn, mogących je zneutralizować. Dalsze jednak badania licznych autorów wykazały, że endotoksyny mogą wytwarzać przeciwciała neutralizujące. Stosując metodę *Buchnera - Hahnscha* polegającą na rozcieraniu i wyciskaniu komórek pod dużem ciśnieniem (do 500 atmosfer), otrzymał *Hahn* substancję toksyczną, nazwaną przez autorów tyfoplazminą. *Macfadyen* zmodyfikował tę metodę, rozcierając bakterje w temperaturze ciekłego powietrza je następnie wyciskając. Produkt przez niego otrzymany posiadał pewne własności toksyczne i antygenowe, odznaczał się jednak bardzo dużą chwiejnością.

Besredka otrzymywał endotoksynę tyfusową, używając młodej 16-18 godz. hodowli, zabitej przez ogrzewanie w przeciągu jednej godziny w 60° C, następnie wysuszonej i roztartej w moździerzu z chlorkiem sodu. Wyciąg, otrzymany z tej substancji za pomocą fizjologicznego roztworu soli, posiadał silne własności toksyczne i antygenowe, przyczem, według *Patané*, dodatek formolu nie niszczył jego własności toksycznych.

Szereg autorów usiłował otrzymać endotoksynę tyfusową środkami, powodującymi rozpuszczenie ciał bądź to na drodze fizyczno-chemicznej, bądź też bakterjofagiem (*Conradi, Arloing, Josseland, Narbonne* i inni). Również za pomocą doboru specjalnych podłoży otrzymywano mniej, lub więcej czynne endotoksyny (*Chantemesse, Moreschi* i inni). *Grasset i Gory* metodą 4-krotnego zamrażania (a więc zbliżoną do naszej) zabitej zawiesiny tyfusowej, zadawanej następnie formaliną, otrzymali produkt, którym uodparniali konie w celu otrzymania surowicy leczniczej, dającej p/g autora dobre wyniki. Autorzy ci, nie zbadali jednak swego produktu dostatecznie, tak pod względem fizycznym, jak i che-

micznym, ograniczając się jedynie do stwierdzenia jego własności toksycznych i uodporniających.

Pracą nad własnościami substancji toksycznych pałeczek durowych zajmowali się liczni autorzy amerykańscy (*Zinsser, Parker, Douglas, Harris, Schwartzman*). W pracach tych autorzy podają szereg substancji białkowych i węglowodanowych wyodrębnionych z pałeczek durowych. Na specjalną uwagę zasługują prace *Schwartzmana*, który jako antygen używał przesączy starych hodowli. Stwierdził on znikanie swego odczynu, t. zw. odczynu *Schwartzmana* przy zastosowaniu homologicznych surowic odpornościowych.

Również ostatnie prace sowieckich autorów (*Krestownikowa, Michaiłowa, Lebedewa, Ginsburg, Filipowa*) zajmują się badaniem właściwości starych przesączów hodowli durowych.

W dostępnej nam literaturze polskiej nie napotkaliśmy prac oryginalnych, dotyczących endotoksyny pałeczek duru brzuszego. Wobec wielu sprzeczności i niecałkowitego wyjaśnienia istoty toksyny tyfusowej postanowiliśmy przystąpić do pracy niniejszej.

M e t o d y k a. Przystępując do otrzymania endotoksyny z pałeczek duru brzuszego, wychodziliśmy z następujących założeń:

- a) uniknięcia, o ile możliwości, zdenaturowania białkowych substancji bakteryjnych i
- b) wykorzystania różnic temperatury i ciśnienia osmotycznego w celu oddzielenia endotoksyny od ciała bakteryjnego.

Szczep tyfusowy 12466/33, wyhodowany ze krwi chorego posieliśmy na flaszki Roux z agarem. Hodowlę 48 godz. spłukaliśmy jałową wodą destylowaną w ilości 15 ccm na jedną flaszkę. Otrzymaną w ten sposób gęstą zawiesinę żywych drobnoustrojów zamrażano w chłodni w temperaturze 10°C w przeciągu 18 godzin, poczem odmrażano ją w cieplarni w 37°C w przeciągu 6 godzin. Czynność tę kolejnego zamrażania i odmrażania powtarzano 14-krotnie w przeciągu 2 tygodni. Otrzymany produkt mocno odwirowano ($\frac{1}{2}$ godziny 4000 obrotów), poczem sączono przez sączki *Chamberlanda* L_1 i L_3 . Otrzymany przesącz przechowywano w chłodni pod toluolem.

Własności przesączu.

Otrzymany przesącz zbadaliśmy w kierunku toksyczności, własności fizyczno-chemicznych, swoistości oraz własności antygenowych. Toksyczność przesączu badaliśmy na zwierzętach laboratoryjnych (królik, świnka morska i mysz biała), oraz na ludziach, (odczyny skórne).

T A B L I C A I.

Jadowitość endotoksyny dla królika.

D o s k ó r n i e		D o ż y l n i e	
0,1 rozcieńcz.	Odczyn po 24 g	Dawka	Wynik
1: 1	20 × 20 mm	0,2 ccm	żyje
1: 5	15 × 15 mm	0,5 ccm	żyje
1:10	15 × 15 mm	1,0 ccm	chory
1:20	— ujemny —	1,5 ccm	padł po 3 godz.

Z załączonej tablicy I widzimy, że królik reaguje dość słabo na endotoksynę, dając dodatni odczyn doskórny w rozc, 1:10. Odczyn ten występował po 6 godz. osiągając maximalne natężenie po 12 godz. Wprowadzenie dożylnie 1,5 ccm. endotoksyny powodowało śmierć zwierzęcia w przeciągu kilku godz. (od 1-3 godz.) pośród objawów porażenia kończyn zwłaszcza tylnych. Sekcja padłych zwierząt wykazywała silne przekrwienie płuc, wybroczyny krwawe w śluzówce wyrostka robaczkowego, oraz nieznaczne przekrwienie naczyń kręgowych i śluzówki jelita cienkiego. Króliki używane do doświadczeń były wagi około 2500 gr.

T A B L I C A II.

Jadowitość endotoksyny dla świnek morskich.

D o s k ó r n i e		D o o t r z e w n o w o		D o ż y l n i e	
0,1 ccm rozcieńcz.	Odczyn po 24 g.	Dawka	Wynik	Dawka	Wynik
1:1	brak odczynu	0,5 ccm	żyje	0,5 ccm	żyje
1:5	"	1,0 ccm	żyje	1,0 ccm	żyje
		3,0 ccm	żyje	1,5 ccm	żyje

Jak widzimy z tablicy II świnki morskie na wstrzyknięcie śródskórne przesączu nie reagowały. Wstrzyknięcie dootrzewnowe 3,0 ccm. i dożylnie 1,5 ccm. również przebiegało bez odczynu.

T A B L I C A III.

Jadowitość endotoksyny dla myszek
(toksynę wprowadzono dootrzewnowo).

Dawka	Liczba zwierząt	P o 24 g o d z .	
		Padło	Żyje
0,1 ccm	6	1	5
0,2 ccm	6	2	4
0,3 ccm	6	3	
0,5 ccm	4	4	0

Z tablicy III widzimy, że spośród białych myszek wagi od 7-20 gr., którym wprowadzono przesącz w różnych ilościach (0,1 — 0,5 ccm.) dootrzewnowo, około 40% padło po 24 godz., przyczem wrażliwość poszczególnych myszek na ilość przesączu

była bardzo różna. 0,5 ccm. wprowadzone dootrzewnowo, stanowi *dosis certe letalis* dla myszki.

Mała stosunkowo wrażliwość zwierząt laboratoryjnych na endotoksynę stoi zapewne w związku z faktem, że u żadnego z tych zwierząt nie udaje się wywołać doświadczonego zachorowania. Wobec czego przeprowadziliśmy szereg prób, mających na celu stwierdzenie toksyczności przesączu dla człowieka.

Wrażliwość ludzi na endotoksynę okazała się bardzo duża.

T A B L I C A IV.

Jadowność endotoksyny dla ludzi nieszczepionych
(0.1 cm³ wprowadzono doskórnio na przedramieniu).

Rozcieńcz	Odczyn miejscowy	Odczyn ogólny
1:1	Bardzo bolesny naciek i bolesność obejm. całe przedramię	Ciepłota powyżej 38° bolesność gruczołów pachowych i ogólne złe samopoczucie
1:100	Duży naciek (50 × 50 mm) i duża bolesność	Ciepłota powyżej 37° ogólne złe samopoczucie
1:1000	Naciek bolesny 20 × 20 mm	Brak
1:10000	Naciek bolesny 15 × 15 mm	Brak
1:100000	Naciek 5 × 5 mm	Brak

Z tablicy tej widzimy, że 0,1 ccm. endotoksyny wprowadzone doskórnio powodowało wystąpienie gwałtownych objawów zarówno miejscowych w postaci rozległego zaczerwienienia, i bardzo bolesnego nacieku obejmujące go całe przedramię, jak również ogólnych w postaci dreszczy, podwyższonej temperatury (ponad 38 C.) bolesnego obrzęku okolicznych gruczołów limfatycznych i ogólnego złego samopoczucia. Rozcieńczenie endotoksyny solą fizjologiczną 1:10000 wprowadzone doskórnio dawało odczyn u nieszczepionych w postaci nacieku i zaczerwienienia około 15 mm. średnicy.

Własności fizyczno-chemiczne przesączu.

Otrzymany przesącz, zupełnie przezroczysty, barwy słomkowo-żółtej, Ph 8,6, zawierał w 1 ccm po odparowaniu 10 mgr. substancji suchej, w wodzie i soli fizjologicznej łatwo rozpuszczalnej. Alkohol dodany do przesączu w ilości 10:1, wytrącał kłaczki wolnoopadające. Aceton w tych samych warunkach wytrącał osad drobnoziarnisty. Osady, otrzymane przez wytrącanie alkoholem i acetonem, trudno rozpuszczalne w soli fizjologicznej, w stosunku do królika zachowują toksyczność, dając odczyny skórne. Co się tyczy ciepłotałości produktu, to 1-godzinne ogrzewanie przesączu w 100°C, nie osłabia jego własności toksycznych, natomiast 3-godzinne ogrzewanie w 100° osłabia je znacznie. Przesącz daje ujemny odczyn Nylandera, który pozostaje ujemny po 15 godz. gotowania z kwasem solnym pod chłodnicą zwrotną. Próby na białko: z kwasem azotowym, ogrzewanie z kwasem octowym, z kwasem sulfo-salicylowym, oraz odczyn biuretowy dały wynik ujemny. Nie wykryto nawet śladów azotu, mikro-metodą Kjeldahla w modyfikacji Parnasa i Pregla. Próba na cholesterynę dała również wynik ujemny. Przy spalaniu produktu zaobserwowano w nim dużą zawartość węgla.

Własności osadu:

Zbadaliśmy osad, pozostający na sączku Chamberlanda L₃, po oddzieleniu od przesączu (endotoksyny), stwierdzając iż składa się on z bakterji żywych (wzrost na pożywkach), lecz morfologicznie znacznie zmienionych. W preparatach mikroskopowych, widać duże ilości pałeczek, słabo, lub wcale nie barwiących się fuksyną. Często widzi się postaci o bardzo jasnym środku, zabarwione jedynie na krańcach, co świadczyłoby mogło o zachowaniu osłonki pałeczki. Stwierdzenie tych faktów, oraz absolutna bezbiałkowość przesączu, pozwalają nam przypuścić, iż w procesie otrzymywania endotoksyny w warunkach wyżej podanych mamy do czynienia nie ze zjawiskiem autolizy drobnoustrojów, jak to dotychczas przypuszczano (*Grasset, Gory* i inni), lecz że endotoksyna zawarta w ciele bakteryjnym, zostaje z niego wylu-

gowana pod wpływem zmian ciśnienia osmotycznego, oraz zwiększenia przepuszczalności osłonki bakteryjnej (białkowej) naskutek zamrażania.

Swoistość i własności antygenowe.

W celu przekonania się o swoistości otrzymanej endotoksyny, przeprowadziliśmy następujące doświadczenie: a) uodporniliśmy dwa króliki: jednego szczepem tyfusowym 12466 i drugiego szczepionką tyfusową PZH. Otrzymane surowice aglutynowały swoiście pałeczki duru brzuszego (szczep djagnostyczny) do rozcieńczenia 1:800. Z temi dwiema surowicami i surowicą djagnostyczną (1:1600), endotoksyna nasza dawała odchylenie dopełniacza, kłaczkowanie i precypitację. Jako kontroli użyliśmy surowicy królika nieuodpornionego.

b. Chcąc stwierdzić ewentualną obecność we krwi chorych na dur brzuszny przeciwciał skierowanych przeciwko endotoksynie tyfusowej, ustawiliśmy szereg surowic, pochodzących z różnych okresów choroby na odczyn odchylenia dopełniacza z naszą endotoksyną. 80% badanych surowic dodatnich, dało nam odchylenie dopełniacza, przyczem stosunek występowania odchylenia do wysokości miana aglutynacyjnego, uwidacznia nam tablica Nr V.

T A B L I C A V.

Odchylenie dopełniacza i miana aglutynacyjne (Widal)
Surowica chorych i toksyna 1:5

Miano aglutynacyjne (Widal)	Liczba surowic	Odchylenie dopełn.	
		Dodatnie	ujemne
1:200	10	7	3
1:400	14	12	2
1:800	12	10	2
1:1600	13	9	4
(Surowica normalna)	10	0	10
Weil-Felix 1:1600	4	0	4

Z tablicy tej widać, że pomiędzy wysokością miana aglutynacyjnego, a występowaniem odchylenia dopełniacza niema żadnej wyraźnej zależności. Ilustruje ona również swoistość odczynu, gdyż surowice normalne oraz z wysokim mianem dla X_{19} nie reagowały z naszą endotoksyną zupełnie.

Z kolei postanowiliśmy zbadać ewentualną zależność występowania odczynu odchylenia dopełniacza od okresu chorobowego. Wszystkie zbadane surowice zestawiliśmy przyjmując dwa okresy chorobowe: wczesny (I i II tydz. choroby) i okres późny (III i dalsze tygodnie).

T A B L I C A V.

Zależność odchylenia dopełniacza do okresu choroby
Surowica chorych i toksyna 1:5

Okres choroby	Liczba surowic	Odchylenie dopełn.	
		Dodatnie	Ujemne
Wczesny (I i II tygodnie)	15	6	9
Późny (III i dalsze tyg.)	34	32	2

Jak widzimy z tablicy VI surowice nie dające odchylenia dopełniacza pochodziły przeważnie od chorych we wczesnym okresie zachorowania. Surowice z późnego okresu choroby wszystkie z bardzo nielicznymi tylko wyjątkami dawały odczyn odchylenia dopełniacza z endotoksyną. Być może, że surowice z późnego okresu chorobowego nie dające odchylenia pochodzą od chorych, których ustrój nie wytwarza antytoksyn nawet w późnych okresach choroby. Wyjaśnienie tej sprawy wymaga dalszych badań.

c. W dalszym ciągu postanowiliśmy uodpornić króliki naszą endotoksyną, jednak wobec konieczności użycia wyższych dawek, byliśmy zmuszeni odzjadliwić nasz produkt zapomocą dodatku 6‰ formolu i 30-dniowego trzymania w cieplarni. Otrzymany

produkt był na tyle odzjadliwiony, że wstrzyknięcie dożylnie 3 ccm. nie powodowało u królików żadnych zaburzeń. Surowice królików uodpornionych tym produktem reagowały swoiście z naszą endotoksyną (odchylenie dopełniacza) jak również ze szczepem tyfusowym djaagnostycznym, dając miano aglutynacyjne 1/3200. Ze szczepami paratyfusowymi A, B, C i Gaertnera aglutynacji nie otrzymano.

d. Uodporniono konia formalinizowaną endotoksyną. Po podskórnem paromiesięcznem uodpornianiu (ogólna ilość endotoksyny około 700 ccm.) surowica zwierzęcia wykazała miano aglutynacyjne w stosunku do pałeczek durowych 1/32000.

e. Za dowód swoistości posłużyć może fakt znikania odczynu skórneg o u zwierzt i ludzi uodpornionych szczepionką tyfusową.

Wyniki te potwierdzają swoistość i własności uodparniające otrzymanej endotoksyny jednocześnie wykazują one, że substancja bezbiałkowa i bezazotowa wywołować może powstawanie przeciwciał (aglutynin, precypityn).

Wysokie miano aglutynacyjne (1:32000) każe nam przypuszczać, że w powstawaniu tych przeciwciał bierze udział głównie substancja bezbiałkowa pałeczki tyfusowej.

Na tem miejscu należy wspomnieć, iż szereg autorów stwierdził, że substancje bakteryjne bezbiałkowe mogą reagować z surowicami odpornościowymi, nie mogąc jednak samoistnie wywołać powstania tych przeciwciał. Dalsze badania wykazały, że również wstrząs anafilaktyczny biernie uczulonych zwierząt może być przez nie wywołany (*Tomcsik i Kurowschkin, Przesmycki i Zeki*).

Własności antygenowe substancji bezbiałkowej jadów błonniczych opisali w swej pracy *Sierakowski i Zajdlówna*.

Dalsze badania nad powstawaniem antytoksyn, ich miareczkowaniem, oraz anatoksyną tyfusową są w toku.

Streszczenie

Stosując metodę wielokrotnego zamrażania i odmrażania, oraz wykorzystując różnice ciśnienia osmotycznego, zawieszając prątki tyfusowe w wodzie destylowanej, otrzymano endotoksynę o właściwościach następujących:

1. Duża zjadliwość w stosunku do ludzi — rozcieńczenie 1/10000 wprowadzone doskórnie w ilości 0,1 ccm. daje u osób nieszczepionych odczyn w postaci obrzęku i zaczerwienienia około 15 mm. średnicy

2. Ze zwierząt laboratoryjnych (królik, świnka morska, mysz biała) królik okazał się najwrażliwszym. Ogólnie stwierdza się małą stosunkowo zjadliwość dla zwierząt.

3. Endotoksyna jest bezbiałkowa, nie zawiera azotu, oraz nie redukuje odczynnika Nylandera, nawet po zhydrolizowaniu.

4. Endotoksyna jest ciepłostąła, dopiero 3-godzinne ogrzewanie w 100° osłabia jej własności toksyczne w znacznym stopniu.

5. Surowice chorych na dur brzuszny dają odchylenie dopełniacza z endotoksyną w 80 %.

6. Endotoksyna posiada wybitne własności antygenowe, powodując powstawanie aglutynin, precypitynin: uodporniony królik dał miano aglutynacyjne 1/3200, koń — 1/32.000.

7. Odczyny skórne z endotoksyną są ujemne u ludzi i zwierząt uodpornionych szczepionką tyfusową.

Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut. Abteilung für Bakteriologie und Experimentelle Medizin. Direktor: Prof. Dr. L. Hirschfeld

ÜBER ANTIGENE EIGENSCHAFTEN DER TYPHUSBAKTERIEN I MITTEILUNG

Typhusendotoxin erhalten mittels
der mehrmaligen Einfrierung

V o n

B. ZABŁOCKI und J. MORZYCKI

ZUSAMMENFASSUNG.

Bei Verwendung der Methode der mehrmaligen Einfrierungen und bei gleichzeitiger Ausnutzung der Differenzen im osmo-

tischen Druck (destilliertem Wasser) wurde ein Endotoxin erhalten, welches folgende Eigenschaften aufwies:

1. Starke Toxicität für Menschen: eine intradermale Einspritzung von 0,1 ccm. in der Verdünnung 1:10000 rief bei Ungeimpften gegen Typhus ein Oedem und Rötung von ca 15 mm. Durchmesser hervor.

2. Eine relativ schwache Toxicität für Tiere: Mäuse und Merschweinchen reagierten fast garnicht, etwas empfindlicher erwies sich das Kaninchen.

3. Eiweiss und Stickstofffreiheit: es reduziert das Nylander-reagenz sogar nach Hydrolyse nicht.

4. Thermostabilität. Erst nach 3 Stündiger Erwärmung bei 100° wird die Toxicität deutlich herabgesetzt.

5. Komplementbindungsfähigkeit mit Typhuskrankenserum in 80% positiv.

6. Starke antigene Eigenschaften. Der Agglutinationstiter betrug beim immunisierten Kaninchen 1:3200, beim Pferd 1:32000.

7. Es ruft bei *immunisierten* Menschen und Kaninchen keine intradermale Reaktion hervor.

P I Ś M I E N N I C T W O

- 1) Brieger: Deut. Med. Woch. 1902. 2) Pfeiffer: Deut. Med. Woch. 1894. 3) Hahnisch: Münch. Med. Woch. 1906. 4) Patané: Bull. de l'Institut Pasteur Nr 5. 1932. 5) Arloing, Jossraud, Natbonne: C. R. S. B. 107. 1930. 6) Chantemesse: C. R. S. B. 1897. 7) Douglas: British J. Exp. Path. 1921. 2. 175. 8) Grasset et Gory: C. R. S. B. 106. 1931; C. R. S. B. 113. 1933; C. R. S. B. 115. 1934. 9) Mac Fadyen: Centralbl. f. Bakt. 1906. 10) Besredka: Ann. de l'Institut Pasteur 1895. 1896. 11) Zinsser, Parker i Kuttner: Proc. of the Soc. Exp. Med. and Biol. 1920. 12) Przesmycki i Zeki: Med. Dośw. i Społ. XII. 1930. 13) Tomcsik i Kurotschkin: Journ. Exp. Med. 1928. t. XLVII. str. 379. 14) Sierakowski i Zajdlówna: Med. Dośw. i Społ. XII. 1930. 15) Harris i Larimore: J. of. Exp. Med. 48. 1928. 16) Schwartzman: J. of. Exp. Med. 48. 1928. 17) Schwartzman: J. of. Exp. Med. 48. 1929. 18) Krestownikowa, Ginzburg i Filipowa: Żurn. Mikrob. XII. 1934. 19) Krestownikowa, Michałowa i Lebedewa: Żurn. Mikrob. XII. 1934.

Wpłynęło 1.X.1934

Z Państwowego Zakładu Higieny
Dział Bakteriologii i Medycyny Doświadczalnej Kierownik Prof. Dr. L. Hirszfeld

Z BADAŃ NAD WŁASNOŚCIAMI ANTYGENOWEMI
PAŁECZEK DURU BRZUSZNEGO
DONIESIENIE II

Atoksyczna szczepionka tyfusowa (Anatoksyna)

P o d a l i

J. MORZYCKI i B. ZABŁOCKI

Dotychczasowe metody uodporniania czynnego przeciwko durowi brzuszemu polegają na stosowaniu bądź to szczepionki podskórnej, bądź też doustnej szczepionki Besredki. Metoda doustnego szczepienia, aczkolwiek rokowała duże nadzieje, w praktyce zawiodła, gdyż uodpornienie nią osiąganе nie dorównywało uodpornieniu metodą podskórną. Szczepionka podskórna, stosowana na wielką skalę od chwili doświadczeń, nabytych podczas wojny światowej, okazała się jednak niepozbawioną pewnych wad, utrudniających w znacznym nieraz stopniu jej praktyczne zastosowanie. Szczepionka podskórna będąc dość gęstą zawiesiną zabitych przez ogrzewanie pałeczek durowych, a więc zawierająca znaczne ilości białka bakteryjnego, jak również endotoksyn, zawartych wewnątrz ciał bakterij powodować może znaczne odczyny poszczepienne w postaci objawów miejscowych (naciek, bolesność) i ogólnych (wysoka ciepłota i złe samopoczucie wraz z niezdolnością czasową do pracy). Odczyny te w pewnych warunkach występują w tak burzliwej formie, że mogą bardzo utrudnić prze-

prorowadzenie masowych szczepień, powodując u znacznego odsetka szczepionych niezdolność do pracy na krótszy lub dłuższy okres czasu i zniechęcając tak lekarzy, jak i ludność do stosowania tego środka. To też usiłowania licznych badaczy szły w kierunku otrzymania atoksycznej szczepionki tyfusowej. Prace te napotykały na znaczną przeszkodę, gdyż nie umiano otrzymać nietoksycznego antygeny z pałeczek durowych, któryby nadawał się do użytku.

Będąc w posiadaniu endotoksyny tyfusowej otrzymanej metodą wielokrotnego zamrażania (Warsz. Czas. Lek. Nr 20 1934) i biorąc pod uwagę jej silne własności antygenowe, postanowiliśmy wykorzystać ją do otrzymania atoksycznego produktu uodporniającego. Opierając się na pracach *Löwensteina* i *Ramona*, dotyczących toksyny i anatoksyny błoniczej postanowiliśmy zastosować metodę tych autorów do odzjadliwienia naszego produktu toksycznego. Jednakowoż okres 4-tygodniowy, oraz odsetek formolu, stosowany przy otrzymywaniu anatoksyny błoniczej nie wystarczały do odzjadliwienia naszej endotoksyny. Analogiczne zjawisko stwierdzono w swoim czasie w stosunku do toksyny płoniczej przy przerabianiu jej na anatoksynę. Zwiększając % formolu, oraz przedłużając czas jego działania dobraliśmy wreszcie wielkości odpowiednie: 1% formolu, oraz 3 miesiące pobytu w cieplarni (37°). W tych warunkach otrzymany produkt stracił w tak znacznym stopniu własności toksyczne, że nadawał się do uodporniania, dając jedynie odczyny miejscowe.

Podajemy metodę otrzymywania naszego produktu atoksycznego:

Zjadliwy szczep tyfusowy 12466/33 otrzymany z krwi chorego posiewaliśmy na flaszki Roux z agarem. Hodowle 24 godz. splukiwaliśmy wodą jałową destylowaną w ilości 15 ccm. na jedną flaszke, poczem gęstą zawiesinę żywych drobnoustrojów zamrażaliśmy w chłodni w temperaturze —10 w przeciągu 18 godzin, poczem odmrażaliśmy w cieplarni w 37 w przeciągu 6 godz. Czynność tę, kolejnego zamrażania i odmrażania powtarzaliśmy 17-tokrotnie. Otrzymany produkt odwirowaliśmy (1/2 godz, 5000 obrotów), poczem przesączyliśmy przez tygłę Bechholda i przez świece Chamberlanda L₃. Otrzymany silnie toksyczny produkt (endotoksynę tyfusową) zadawaliśmy formolem w ilości 1% i przechowywaliśmy w cieplarni (37°) w przeciągu 3 miesięcy.

Własności chemiczne i toksyczność produktu.

Otrzymany produkt, zupełnie przezroczysty, barwy żółtej, zawierał w 1 ccm. ca 10 mgr. suchej pozostałości. Odczyny Nylandera i na białko były ujemne. (Czasami produkt otrzymany przy bardziej długotrwałem zamrażaniu zawierać może ślady białka). Odczyny skórne tak silne przy endotoksynie wyjściowej (1:10000) wypadły ujemnie nawet przy dużych stężeniach (1:10). W stosunku do zwierząt produkt stracił zjadliwość na tyle, że mogliśmy wprowadzić królikowi dożylnie ilość odpowiadającą 5-krotnej dawce śmiertelnej toksyny bcz najmniejszych objawów chorobowych.

Własności antygenowe.

a) W celu stwierdzenia własności antygenowych uodporniliśmy dwa króliki (trzykrotne zastrzyki dożylne 1, 2, 3 ccm). Surowice królików uodpornionych reagowały swoiście z naszą endotoksyną (odchylenie dopełniacza, precypitacja) jak również z żywym szczepem tyfusowym diagnostycznym, dając miano aglutynacyjne 1:3200.

b) Z kolei przystąpiliśmy do badania odporności na dur u zwierząt szczepionych anatoksyną.

W tym celu przedewszystkiem przystąpiliśmy do uzjadliwienia dla świnek morskich szczepu tyfusowego 1410, który nawet w ilości 5 ccm. hodowli buljonowej wprowadzonych dootrzewnowo zwierzęcia nie zabijał. W celu pokonania barjery otrzewnowej i umożliwienia drobnoustrojom przedostania się do krwiobiegu, wypróbowaliśmy szereg sposobów, jak: uprzednie wprowadzenie do jamy otrzewnowej starej hodowli prątków okrężnicy, zabitej zawiesiny paciorkowców w buljonie, buljonu czystego, oraz zawiesiny lycopodium. Z pośród tych metod najlepszą okazała się dootrzewnowe wprowadzenie pewnej ilości zawiesiny lycopodium (5 ccm.) bezpośrednio przed zastrzykiwaniem 5 ccm. hodowli buljonowej pałeczek durowych. Zwierzęta w ten sposób zakażone padały po 24 godz. a z krwi pobranej z serca można było wyhodować pałeczki durowe. Zmniejszając stopniowo w następnych pasażach ilość lycopodium (po 3 pasażach szczep zabijał już świnkę bez lycopodium) zjadliwość szczepu wzrosła tak znacznie, że po 9 pasażach wprowa-

dzenie dootrzewnowe 0,5 ccm. 24 godzinnej hodowli buljonowej powodowało śmierć zwierzęcia w ciągu doby. Z tak uzjadliwionym szczepem przystąpiliśmy do doświadczeń właściwych.

T A B L I C A I.

Określenie dawki śmiertelnej szczepu Ty 1410/33
uzjadliw. dla świnek morskich

Dawka	Liczba zwierząt	Po 24 godz.	
		Padło	Żyje
0,1 ccm	3	0	3
0,25 ccm	3	1	2
0,5 ccm	3	3	0
1,0 ccm	3	3	0

Siedem świnek morskich uodporniliśmy trzykrotnymi dawkami podskórnymi anatoksyny w odstępach tygodniowych: 1, 2, 3 ccm. poczem po upływie 10 dni od ostatniego wstrzyknięciu wprowadziliśmy im dootrzewnowo 8-krotną dawkę śmiertelną hodowli buljonowej szczepu uzjadliwionego, świnki kontrolne dostały po 1 dawce śmiertelnej hodowli.

T A B L I C A II.

Własności uodporniające anatoksyny

Nr. zwierzęcia	Zwierzęta uodporn. (zastrz. 8 dawek śmiert.)							Kontrola (zastrz. 1 dawkę śmiert.)						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Po 24 godz.	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
Po 48 godz.	—	—	—	—	—	—	—							
Po 4 dn.	—	—	—	—	—	—	—							
Po 6 dn.	—	—	—	—	—	—	—							
Po 8 dn.	—	—	—	—	—	—	—							
Po 21 dn.	—	—	—	—	—	—	—							

+ padła — żyje

Jak widzimy z tablicy II. padły wszystkie świnki kontrolne w przeciągu 24 godz., natomiast wszystkie świnki uodpornione nie wykazały żadnych objawów chorobowych przez czas 3 tygodniowej obserwacji, mimo wstrzykniętej im 8-krotnej dawki śmiertelnej hodowli uzjadliwionego szczepu.

Próby na ludziach.

Z kolei przystąpiliśmy do prób na ludziach. Na 10 osobnikach określiliśmy dawkę anatoksyny, która nie dając odczynu byłaby dostatecznie wielka dla wywołania odporności. Z braku innego miernika jako miarę uodpornienia przyjęliśmy wysokość miana aglutynacyjnego surowicy po szczepieniu.

T A B L I C A III.

Oznaczenie dawki anatoksyny niepowodującej odczynu ogólnego na ludziach

L. p.	Dawki użyte przy 2-kr. szczep.	Miano Widala	Odczyny poszczepienne
1	{ 0,05 i 0,1 ccm	1 i 400	Brak odczynu ogólnego
2		1 i 400	„ „ „
3		1 i 1600	„ „ „
4	{ 0,1 i 0,2 „	1 i 400	„ „ „
5		1 i 800	„ „ „
6		1 i 1600	„ „ „
7	{ 0,2 i 0,4 „	1 i 3200	Odczyn ogólny ciepłoty $\pm 38^{\circ}$
8		1 i 1600	„ „ „
9		1 i 400	„ „ „
10		1 i 800	„ „ „

Jak widzimy z tablicy III. już wprowadzenie podskórne anatoksyny w ilości ogólnej 0,15 ccm. (2 szczepienia: 0,05 i 0,1 ccm.

w odstępie tygodniowym), powoduje powstanie wysokiego stosunkowo miana aglutynacyjnego (krew pobierano w 10 dni po drugim szczepieniu). Tę więc dawkę uwzględniliśmy przy dalszych szczepieniach.

Chcąc przystosować szczepienie anatoksyną do techniki używanej przy szczepieniu zawiesiną bakteryjną, rozcieńczamy nasz produkt 10-krotnie roztworem soli fizjologicznej i stosujemy dawki: 0,5 ccm. i 1,0 ccm. w odstępie 8-10 dniowym.

Odczyny poszczepienne.

Zanim przystąpimy do omówienia odczynów poszczepiennych uzgodnić należy samo pojęcie odczynu poszczepiennego, który będąc zespołem wrażeń subiektywnych różnie może być oceniany.

W naszej pracy odczyny poszczepienne dzielimy na miejscowe (zmiany jedynie w miejscu wstrzyknięcia) i ogólne (objawy ogólne i miejscowe). Każdy z tych rodzajów odczynów dzielimy jeszcze na: lekkie, średnie i ciężkie w zależności od stopnia nasilenia objawów.

Na ogólną liczbę 3000 osób szczepionych dotychczas naszą anatoksyną, zaledwie w 4% zauważyliśmy wystąpienie odczynu poszczepiennego ogólnego średniego (temperatura do 38, bez przerwania jednakże pracy zawodowej), pozatem wszyscy szczepieni wykazywali jedynie lekki odczyn miejscowy (w postaci niewielkiego, bolesnego na ucisk nacieku w miejscu wstrzyknięcia), temperatura pozostawała w granicach wahań dziennych nie przekraczając 37. Odczynów ciężkich nie stwierdziliśmy w żadnym wypadku.

Chcąc przekonać się o stopniu uodpornienia osiąganego przez szczepienie anatoksyną, przebadaliśmy surowice 50 osobników (w granicach wieku od 6 miesięcy do 54 lat) szczepionych 2-krotnymi dawkami 0,5 i 1,0 ccm. Ponieważ jedynym dotychczasowym sprawdzianem stopnia uodpornienia pozostaje odczyn aglutynacyjny z surowicą szczepionego (obecnie przez niektórych autorów kwestjonowany co do swej wartości bezwzględnej), przero przeba-

TABLICA IV.

Zestawienie osób, szczepionych atoksyczną szczepionką tyfusową
wraz z podaniem odczynu i miana poszczepiennego

Nr	Nazwisko	Wiek	Miano aglutyn.	Odczyny poszczepienne
1	I. M.	$\frac{1}{2}$ r.	1 : 200	Odczyn miejsc. w post. niewielkiego (10 × 10 mm) zaczerwienienia ogólnego odczynu brak
2	E. G.	1 r.	1 : 1600	" " "
3	P. T.	1	1 : 400	" " "
4	E. M.	$2\frac{1}{2}$ l.	1 : 400	" " "
5	C. K.	2	1 : 400	" " "
6	S. K.	4	1 : 1600	" " "
7	S. K.	4	1 : 400	" " "
8	P.	6	1 : 800	" " "
9	A. K.	6	1 : 400	" " "
10	M. G.	7	1 : 800	" " "
11	R. S.	7	1 : 1600	" " "
12	I. K.	7	1 : 1600	" " "
13	C. C.	8	1 : 400	" " "
14	R.	25	< 1 : 100	" " "
15	K.	28	1 : 100	" " "
16	L.	28	1 : 200	" " "
17	G.	26	< 1 : 100	" " "
18	B.	27	1 : 200	" " "
19	M.	24	1 : 200	" " "
20	K.	24	1 : 200	" " "
21	F.	21	1 : 200	" " "
22	P. G.	21	1 : 100	" " "
23	L. W.	22	1 : 200	" " "
24	W. P.	22	1 : 200	" " "
25	A. N.	23	1 : 3200	Odczyn ogólny: Ciepłota 38° samopoczucie złe

Dalszy ciąg tablicy IV.

Nr	Nazwisko	Wiek	Miano aglutyn.	Odczyny poszczepienne
26	G.	24	1 : 800	Nieduży odczyn miejscowy (10×10 mm), odczynu ogólnego brak
27	I.	23	1 : 800	" " "
28	J. Z.	24	1 : 1600	Odczyn ogólny: ciepłota 37,8
29	T. S.	24	1 : 800	Nieduży odczyn miejscowy (10×10 mm), odczynu ogólnego brak
30	B. B.	24	1 : 800	" " "
31	A. G.	25	1 : 800	" " "
32	P. L.	26	1 : 1600	" " "
33	N. J.	26	1 : 1600	" " "
34	L.	26	1 : 200	" " "
35	B. Z.	28	1 : 400	" " "
36	K. T.	36	1 : 1600	" " "
37	N.	31	1 : 400	" " "
38	T. S.	32	1 : 1600	" " "
39	M. P.	23	1 : 400	" " "
40	J. T.	27	1 : 400	" " "
41	G.	36	1 : 800	" " "
42	G.	48	1 : 800	" " "
43	M. B.	40	1 : 200	" " "
44	K. K.	35	1 : 200	" " "
45	J. M.	30	1 : 100	" " "
46	E. P.	22	1 : 400	" " "
47	W. G.	50	<1 : 100	" " "
48	W. B.	54	1 : 200	" " "
49	L.	(lekarka)	1 : 200	" " "
50	C. J.	26	1 : 800	" " "

daliśmy u tej grupy szczepionych anatoksyną miana aglutynacyjne ich surowic pobranych w 10 dni po ostatniem szczepieniu.

Jak widzimy z tej tablicy miana aglutynacyjne surowic u szczepionych wahają się od 1/100 do 1/3200. W celu lepszego zorientowania się w wynikach, zestawiliśmy wszystkie te przypadki według 3-ech grup: do I-ej grupy zaliczyliśmy miana poniżej 1/100, do II-ej grupy miana 100-400, do III-ej miana od 800 do 3200.

T A B L I C A V.

Zestawienie wysokości miana aglutynacyjnego surowic ludzi szczepionych anatoksyną

Grupa	Miano aglutyn.	Liczba przyp.	%
I	< 100	3	6
II	100 — 400	27	54
III	800 — 3200	20	40

Z tablicy tej wynika, że 94% szczepionych posiada miano aglutynacyjne ponad 100.

Osiągnięcie zapomocą szczepień anatoksyną mian podanych w tablicy V. pozwala nam stwierdzić, że wyniki te nie ustępują wynikom otrzymanym przez różnych autorów przy stosowaniu szczepienia zawiesiną bakteryjną zabita.

Jako jeszcze jeden dowód uodpornienia służyć może fakt znikania dodatniego odczynu skórneg (z toksyną w rozc. 1/1000) u osób szczepionych anatoksyną. Badania dalsze nad tem zjawiskiem są w toku.

Streszczenie.

A. Poddając endotoksynę tyfusową, otrzymaną metodą wielokrotnego zamrażania działania formolu (10 pro mille) i temperatury (3 miesiące w 37°) otrzymano produkt (anatoksynę) o następujących własnościach:

1) Brak toksyczności dla ludzi i zwierząt. Odczyny skórne u ludzi nieszczepionych, które przy endotoksynie występowały w rozcz. 1/10000 z anatoksyną wypadły ujemnie nawet przy dużych stężeniach: 1/10. Zwierzęta nie reagują nawet na bardzo duże dawki anatoksyny.

2) Silne własności antygenowe: króliki uodpornione dawały miana aglutynacyjne 1/3200, świnki morskie szczepione tym produktem znosiły nawet 8-krotne dawki śmiertelne uzjadliwionego szczepu tyfusowego.

B. Określono na ludziach dawkę anatoksyny, która nie powodując odczynu ogólnego, dawała miano aglutynacyjne surowicy dostatecznie wysokie (0,05 i 0,1 ccm. w odstępie 10-dniowym) i przystąpiono do szczepienia ludzi na większą skalę.

1) Na 3000 szczepionych stwierdzono 4% średnich odczynów ogólnych, nie zaobserwowano ani jednego wypadku ciężkiego odczynu z niezdolnością czasową do pracy.

2) U 50 szczepionych w różnym wieku (od 6 miesięcy do 54 lat) przebadano wysokości mian aglutynacyjnych we krwi pobranej w 10 dni po szczepieniu. W 94% miano aglutynacyjne zawarte było w granicach 1/100 — 1/3200.

3) Stwierdzono znikanie u szczepionych odczynów skórnych z toksyną tyfusową (1:1000).

Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut. Abteilung für Bakteriologie und Experimentelle Medizin. Direktor: Prof. Dr. L. Hirschfeld

ÜBER ANTIGENE EIGENSCHAFTEN DER TYPHUSBAKTERIEN II MITTEILUNG

Atoxische Typhusvakzine (toxoid)

V o n

J. MORZYCKI und B. ZABŁOCKI

ZUSAMMENFASSUNG

Aus dem, durch die Einfrierungsmethode erhaltenen Typhus-endotoxin, wurde unter der Einwirkung von Formol (10‰) und

der Temperatur (3 Monate 37°) ein Toxoid erhalten, welches folgende Eigenschaften aufwies:

1. Keine Toxicität für Menschen und Tiere. Intradermale Reaktionen, die bei der Benutzung des Endotoxins noch in der Verdünnung 1:10000 positiv ausfielen, waren mit dem Toxoid in der Verdünnung 1:10 negativ. Ganz grosse Dosen riefen bei Versuchstieren keine Reaktion hervor.

2. Das Typhusanatoxin besitzt starke antigene Eigenschaften. Der Agglutinationstiter betrug bei immunisierten Kaninchen 1:3200. Meerschweinchen, immunisiert mit diesem Toxoid, vertrugen 8 letale Dosen von einem virulenten Typhusstam.

3. Injiziert in der Menge von (0,05) und 0,1 ccm. in 10 tägigem Abstand, rief es bei Menschen einen hohen Agglutinationstiter hervor, ohne allgemeine Erscheinungen zu bewirken. Unter 3000 Vaccinierten traten in 4% der Fälle mässige Allgemeiner-scheinungen hervor; es wurde kein einziger schwerer Fall beobachtet, in welchem die Alltagsbeschäftigungen infolge der Impfung unterbrochen werden müssten. Bei 50 Geimpften, im Alter von 6 Monaten bis 54 Jahren wurde 10 Tage nach der zweiten Injektion der Agglutinationstiter bestimmt, er schwankte zwischen 1:100 bis 1:3200.

4. Bei den mit dem Toxoid Geimpften fielen die Intradermalreaktionen mit Typhustoxin in der Verdünnung 1:1000 negativ aus.



Wpłynęło 1.II. 1934.

Z Państw. Zakł. Higjeny. Dział Produkcji. Oddział szczepienia ospy ochronnej

PRZYCZYNEK DO MIARECZKOWANIA SIŁY WAKCYNY NA KRÓLIKACH

P o d a ł

STANISŁAW DZIĘCIOŁOWSKI

Komitet Higjeny Ligi Narodów na posiedzeniach w dniach 13 i 14 stycznia 1927 roku, odbytych w Berlinie w celu ustalenia zasad i praktycznego zastosowania różnych metod miareczkowania siły krowianki, rozpatrzył przedstawione sobie niżej przytoczone 4 metody: 1) *Calmette'a-Guérina*, 2) *Ginsa*, 3) *Grotha* i 4) *Sobernheima*.

Akademja Medyczna w Paryżu, kontrolująca zakłady produkujące krowiankę, od r. 1914 stosuje nieco odmienną metodę, w zasadzie analogiczną z metodą *Calmette'a-Guérina*. Sposób ten opracował *Würtz*, wraz ze swym współpracownikiem *L. Camusem*.

Po ukończeniu tej pracy Komitet sprecyzował swe wyniki i wydał opinię w celu ujednostajnienia metod pracy we wszystkich zakładach, wytwarzających krowiankę i urzędach kontrolujących.

Oddział szczepienia ospy ochronnej P. Z. H. przystąpił do opracowania i wyboru z pewnemi modyfikacjami odpowiedniej metody z zamiarem wprowadzenia jej u siebie.

Przerabiając wszystkie metody proponowane przez Ligę Narodów, zmuszeni byliśmy przystosowywać się do miejscowych warunków i potrzeb i nieco modyfikować bądź technikę, bądź zasady, Wyniki tych badań, poparte przez przeszło 70 protokołów,

streszczamy w pracy niniejszej. Pracę tę uważam tylko za przyczynek do uregulowania tej ciemnej sprawy, jaką jest dziś miareczkowanie krowianki.

Pierwsza metoda Calmette'a - Guérina polega na obliczaniu czynnych żywotnych elementów na skórze królika po zastosowaniu pewnych rozcieńczeń krowianki. Jest to pomysł szczęśliwy, jedynie racjonalny i obiektywny, bo wyrazem zmagania się sił obronnych ustroju z siłami czynnymi w krowiance jest wykwit — krosta, jej rozwój, forma, nakonec ich ilość. Tu tkwi jedyna miara, bo ilościowa i porównawczo-jakościowa.

Zdaniem autorów tej metody za dobrą krowiankę uważać należy taką, która w rozcieńczeniu 1:1000 daje na skórze królika po wtarcu pewnej ilości na pewnej przestrzeni około 3 krost na 1 cm². Przytem przytaczają pewne minimum i maximum, dopuszczalne w sprzedawanym produkcie. Chociaż metoda Calmette'a jest ze wszystkich najbardziej obiektywna i pozwalająca na ścisłe obliczenie, jednak ze względów technicznych i licząc się z indywidualnymi różnicami tak samej krowianki, jak i królików, na których przeprowadza się miareczkowanie, metoda ta daje wyniki różne, nie może więc być miarą, bo powtórzona w innych okolicznościach na innych królikach, daje rezultaty częstokroć rozbieżne. Miano jej odnosi się do krowianki, przygotowanej z miazgi ospowej w stosunku 1:3.

1. Miareczkowanie w metodzie Calmette'a początkowo było wykonywane na 3 królikach (1 królik na każde rozcieńczenie). Obecnie 3 rozcieńczenia jednej krowianki szczepi się na jednym króliku (*Camus*). I tu ze względu na różną wrażliwość każdego królika w stosunku do ospy jest niemożliwością otrzymanie wyników jednakowych, stałych w powtórzeniach, a zatem one nie mogą być miarodajne; o tej samej krowiance, szczepiąc ją królikowi o małej lub bardzo wielkiej wrażliwości, musielibyśmy wydać za każdym razem inną opinię, otrzymać inne miano.

2. Ilość krowianki rozcieńczonej w fizjol. roztworze NaCl, używana przez Calmette'a do wtarcia na oznaczoną powierzchnię skóry, przekracza możliwość wtarcia i wchłonięcia przez skórę. Ciecz jest zbyt wodnista, łatwo ścieka, marnuje się i przez to miano nie może być ścisłe. Pełną ilość, jaką należy wcierać podług

Calmette'a, można byłoby zużytkować, ale etapami, wcierając następną porcję dopiero wtedy, gdy pierwsza podeschnie, wyparuje.

3. *Camus* do rozcieńczeń używa 50 % roztworu gliceryny w wodzie. Przeprowadzone u nas próby zachęciły nas do stosowania tego roztworu zamiast soli fizjol. Do wcierania używamy tylko 0,1 ccm. każdego rozcieńczenia. I w tym wypadku z powodu właściwości indywidualnych skóry niektórych królików niekiedy tak małą ilość materiału nawet w wodzie glicerynowanej trudno utrzymać na określonej przestrzeni skóry.

4. *Calmette* określa miano (średnia liczba krost [na 1 cm², otrzymanych z rozcieńczenia 1:1000, wtartego w ilości 1 ccm. na pewną przestrzeń), wychodząc z jednostki, przygotowanej do szczepień w stosunku do miazgi 1:3. Powtórzyć te próby stosownie do recepty autora w naszych warunkach trudno, bo nasz Zakład stale przygotowuje krowiankę w innych rozcieńczeniach. Oddział szczepienia ospy ochronnej P. Z. H. zamierza w przyszłości przy miareczkowaniu wychodzić z jednostki nie krowianki idącej do sprzedaży, lecz z miazgi. Ona jedna powinna być stałą jednostką. Dopiero po poznaniu wartości surowca, można przygotowywać krowiankę do sprzedaży, doprowadzając ją do miana pożądanego w praktyce. Dla Zakładu jedynie wykonalna droga może być tylko laboratoryjna, t. j. na króliku. Ta miara jest jednak niedostateczna. Miano dla krowianki, przeznaczonej do sprzedaży, powinno być jeszcze sprawdzone klinicznie, na człowieku. Pierwsze miareczkowanie z drugim powinno być ściśle uzgodnione i to dopiero dla Zakładu będzie wskaźnikiem przy przygotowaniu odpowiedniej szczepionki.

Wadą metody *Calmette'a*, w zasadzie bardzo dobrej, jest niedostateczne uwzględnienie przy miareczkowaniu indywidualności królika.

Druga metoda — *Ginsa* — polega na określeniu intensywności zapalenia rogówki i spojówki, występującego po wtarcu pewnych rozcieńczeń krowianki na skaryfikowaną powierzchnię rogówki świnki morskiej (1:500 i 1:1000). Ocena krowianki na podstawie reakcji rogówkowej nie może być miarodajna, gdyż: 1) rogówka w stosunku do ospy zajmuje w ustroju odrębne stanowisko pod względem odpornościowym; nawet przebycie choroby na skó-

rze nie daje odporności na rogówce, a przejście ospy na jednym oku nie daje odporności na drugim; 2) Niema możności przeprowadzenia większej serii prób w różnych rozcieńczeniach na jednym zwierzęciu. Reakcja na oku wykazuje tylko, że mamy do czynienia z czynną krowianką, o ile za każdym razem stwierdzimy obecność ciałek Guarnieri'ego; 3) nie znamy związku pomiędzy dermatotropizmem i keratotropizmem. Gdyby nawet przyjąć, że keratotropizm będzie proporcjonalny do dermatotropizmu, to i tak miareczkowanie tą drogą będzie trudne, niepewne i niepraktyczne. Metoda ta jest bardzo subiektywna i wymagałaby każdorazowego sprawdzania mikroskopowego na obecność ciałek Guarnieri'ego.

Trzecia metoda — Grotha — polega na reakcji, występującej po śródskórnem wstrzyknięciu pewnego rozcieńczenia krowianki. Groth uważa za dobrą taką krowiankę, która w rozcieńczeniu 1:1000 daje widoczny, charakterystyczny odczyn. Robiąc stale śródskórne próby na królikach w pewnych rozcieńczeniach i dla kontroli równoległe próby naskórne w takich samych rozcieńczeniach i w tej samej ilości (0,1), zauważono, że przy prawidłowych wstrzyknięciach pod *stratum corneum* występowała bardzo silna reakcja w rozcieńczeniach 1:10, 1:100, następne odczyny stopniowo się zmniejszały, ginąc przy większych rozcieńczeniach. Te same ilości w tych samych rozcieńczeniach, zastosowane naskórnice, dawały izolowane krosty nawet w rozcieńczeniach bardzo wysokich, choć śródskórnice już nie było żadnej widocznej reakcji. Dla przykładu przytoczę kilka wyciągów z protokołów przy równoległym wstrzyknięciu 0,1 śródskórnice i wtarcia takiej samej ilości naskórnice.

Z tych danych, zdaje się, należałoby wyprowadzić wniosek, że 0,1 ccm. danego rozcieńczenia zawierała dostateczną ilość zarazków, aby wytworzyć pewną liczbę krost, podczas gdy ta sama ilość, zastosowana śródskórnice, nie dawała żadnej widocznej reakcji, chociaż zdawałoby się, że zarazek, znalazłszy się pod *stratum corneum* na małej przestrzeni (pęcherzyk około 1 cm. średnicy), w miejscu pozornie dogodnym do mnożenia się, powinienby wywołać pewną widoczną reakcję. Przy stosowaniu naskórnice tej samej ilości, rozpostartej na stosunkowo dużej przestrzeni, większa część powinna się zmarnować, tem bardziej, że przeła-

Rozcieńczenia	1:100	1:500	1:1000	1:5000	1:10000	1:50000	1:100000
Prot. Nr 43a.							
Śródskórnice	1,2	1,0	1,4	1,2	0,4	—	—
Naskórnice	zlana	zlana	zlana	8 krost	5 krost	3 krosty	—
Prot. Nr 43b.							
Śródskórnice	1,1	1,0	0,6	0,2	—	—	—
Naskórnice	zlana	zlana	zlana	14 krost	9 krost	2 krosty	—
Prot. Nr 45							
Śródskórnice	1,4	0,7	0,2	—	—	—	—
Naskórnice	zlana	zlana	zlana	strup	5 krost	?	9 krost
Prot. Nr 48							
Śródskórnice	0,9	0,6	0,9	1,5	—	—	—
Naskórnice	zlana	zlana	zlana	częśc. zl.	12 krost	24 krosty	—

mać musi zaporę z twardej rogowej warstwy, przeto pozostać może czynny tylko ten zarazek, który podczas wcierania dostanie się przez ujście torebek usuniętych włosów, gdzie znajdzie uszkodzoną pochewkę włosa i jego obnażoną brodawkę. Ta część zarazków tylko może się mnożyć; komórki podstawowe sieci Malpighiego, brodawek włosów, znajdujące się w stanie bujania, miejsce ulubione dla rozwoju zarazków, dają początek charakterystycznemu wykwitowi, t. j. kroście. Zdaniem *Grotha* „śródskórne szczepienie daje najlepsze warunki do rozwoju zarazków i najlepiej nadaje się do mierzenia siły”. Wniosek, zdaje się, niesłuszny. Jeżeli przy naskórnem szczepieniu pomimo marnowania się z konieczności pewnej ilości zarazków (czego przy śródskórnem niema) powstaje jeszcze pewna liczba krost, a stężenia znacznie nawet większe, zastosowane śródskórnice, nie dają już najmniejszego odczynu, dowodzi to, że warstwy naskórka pod *stratum corneum* nie dają

warunków do mnożenia się i zarazek, który niewątpliwie musiał się tam dostać, nietylko się nie rozmnaża, ale bez żadnego widocznego odczynu ginie w ciągu kilku dni, podczas gdy przy naskórnem szczepieniu dopiero po 4-5 dniach zaczyna się uwidaczniać. Reakcja śródskórna nawet przy większych stężeniach kończy się wtedy, kiedy naskórna dopiero się zaczyna. Innemi słowy reakcja śródskórna, pociągająca za sobą niszczenie zarazków, umieszczonych pod *stratum corneum*, dobiega końca wtedy, gdy reakcja mnożenia się na uszkodzonych brodawkach włosowych lub w pochwach rozpoczyna się. Jeżeli 0,1 ccm. rozcieńczenia wtartego na pewną powierzchnię dało, przypuśćmy. kilkanaście krost (a napewno część zarazków zmarnowała się, nie dając krost), a przy śródskórnem wstrzyknięciu już rozcieńczenie 1:1000 przeważnie nie daje widocznej reakcji, to należy wyprowadzić wniosek, że zarazek bezsprzecznie był, ale się nie mnożył, był za mało czynny, aby się przeciwstawić naturalnym siłom obronnym, przeto został zniszczony. Reakcja mniejszych rozcieńczeń (1:500, 1:100, a nawet 1:10) po 4 dniach walki zarazka z otaczającą tkanką stopniowo zaczyna się zmniejszać, kiedy w tym czasie w procesie mnożenia się zarazka rozpoczyna się występowanie guzka. Rozcieńczenia 1:10 — 1:500 dają naskórną zawsze ospę złąną, przy śródskórnem szczepieniu występuje wówczas niekiedy mniejsza lub większa martwica. Charakterystyczne jest wystąpienie łuszczenia się po reakcji śródskórnej nawet i w tych miejscach, gdzie nie było widocznego odczynu. Przy nieudanych zastrzykach, t. j. przy uszkodzeniu igłą warstwy podstawowej niekiedy powstaje na miejscu zastrzyku rozrost zarazka, wtedy tworzą się krosty ospowe, ale dopiero po 5-6 dniach, kiedy występuje rzeczywiście mnożenie się, a nie niszczenie.

W pracy swej o śródskórnem miareczkowaniu krowianki Groth pisze: „...przy technice zastrzyków śródskórnych zarazki zostają w najlepszym miejscu dla ich rozwoju i stwarza się im takie pomyślne warunki do rozmnażania się, jakich one nigdy nie mają przy zwykłych szczepieniach na skórze”. Na zasadzie wyżej przytoczonych obserwacji zgodzić się z tem nie można. Na skórze i w większych rozcieńczeniach występują wykwity, jako dowód mnożenia się zarazka. Widać, że przy śródskórnym zastrzy-

kach istnieją jakieś czynniki hamujące, czego dowodem jest brak krosty.

Groth zaznacza, że trzeba zwracać uwagę na intensywność wszystkich objawów, przyczem otrzymanie dodatnich wyników zależy od pewnej techniki przygotowania zwierzęcia do doświadczeń. Wobec wielkiej wrażliwości skóry królika względem zarazka ospowego mogą przy wstrzyknięciu śródskórnym występować typowe krosty zamiast zwykłego odczynu. W takim wypadku rozwój krosty występuje ze znacznym opóźnieniem. To zjawisko obserwowaliśmy na jednym bardzo wrażliwym króliku (Prot. Nr 53). Po 8 dniach pojawiły się krosty na miejscu zastrzyków śródskórnych.

Wnioski. Odczyn *Grotha* nie może być wskaźnikiem mnożenia się zarazka ospowego. Zarazek ospowy może się rozwijać jedynie w warstwie podstawowej sieci Malpighi'ego (komórki cylindryczne). Mitozy komórek nabłonkowych, jako wyraz przyspieszonego dzielenia się, spotykamy tylko w tej warstwie. Pozostałe warstwy naskórka nie mnożą się same przez się, lecz tylko są odpychane nazewnątrz i zastępowane przez świeże komórki zgłębi. Wiemy dobrze, że tylko komórki w tej formie przyspieszonego dzielenia się mogą być opanowane przez zarazek. Warstwa zaś, do której dostał się zarazek przy śródskórnym zastrzyku, nie stanowi odpowiedniego podłoża dla mnożenia się zarazka; komórki, broniąc się przed jego destrukcyjnym wpływem, starają się go opanować, zniszczyć, a następnie usunąć przez *vis a tergo*. Wyrazem tego usuwania i wytężonej pracy w tym kierunku jest łuszczenie się, obecne nawet w tych miejscach, gdzie już widocznego odczynu nie znajdowaliśmy.

Metoda czwarta — Sobernheim — polega na reakcji rogówkowej i skórnej po skaryfikacji. Niewiele nam ona mówi o ilości i jakości zarazka. *Sobernheim* używa do mierzenia wakcyny wielkich rozcieńczeń (1:5000 i 1:10000). Miano przyjmuje w rozcieńcz. 1:5000. Używa wielkiej stosunkowo ilości materiału, wcierając stopniowo kroplami cały centymetr sześć. danego rozcieńczenia w 4 nacięcia skóry po 4 cm. dług., aż wszystko się wessie. Na rogówkę również wpuszcza kroplami aż 2 cm³. danego rozcieńczenia, wcierając stopniowo, dopóki nie wpuści całej ilości. Przy tej technice i ilości cieczy nie można mówić

o sile podstawowego rozcieńczenia. Czy nie lepiej byłoby w takim razie zamiast całego cm^3 . wielkiego rozcieńczenia wziąć 10 razy mniejszą ilość odpowiednio słabszego rozcieńczenia? Na rysach występują nie izolowane krosty, które możnaby obliczyć, lecz paski ciągłe lub przerywane, a zatem o ilościowych stosunkach również trudno mówić.

Mierzenie siły krowianki.

Wszystkie wyżej przytoczone reakcje są pomocą do empirycznej oceny krowianki. Dla uznania jej za nadającą się do użytku praktycznego należy ją uprzednio sprawdzić na dziecku. Każda z tych metod ma większe lub mniejsze braki, daje jednak doraźne praktyczne wskazówki, ale nie daje obiektywnego sposobu mierzenia siły krowianki. Mierzenie bowiem jest to obiektywne porównanie wyników ujętych w liczby, z inną współmierną wielkością, przyjętą za jednostkę.

Siły żywotne zarazka.

Siły żywotne wyczerpują się z biegiem czasu, nawet w najlepszych warunkach bytowania, lecz częściej w nieodpowiednich warunkach środowiska (w środowisku nie odświeżanem). Jak wymierzyć te siły lub je przywrócić?

W następnych pokoleniach zarazki ospowe coraz więcej wyczerpują swe żywotne siły. Znamy sposoby częściowego wzmocnienia, a nawet przywrócenia tych zanikających sił, lecz od mierzenia ich narazie jesteśmy bardzo dalecy. Zjadliwość krowianki zaraz po zbiorze jest częstokroć za duża. Zakłady produkujące krowiankę dobrze znają tę zjadliwość i liczą się z nią empirycznie, np. nie wypuszczając w obieg krowianki zaraz po zbiorze, lecz wyczekując pewien czas, żeby utraciła nieco z nadmiaru swej żywotności, a zarazem pod wpływem gliceryny pozbyła się nadmiaru saprofitycznych drobnoustrojów. Wypuszczona wcześniej powoduje zbyt silną reakcję. Miarą dla zakładu wytwarzającego krowiankę jest czas: za młoda jest za żywotna, zbyt zjadliwa, stara zaś jest za słaba; wtedy osłabienie żywotności jest związane ze zmniejsze-

niem ilości zarazków. Wymierające zarazki giną stopniowo, nie razem; pozostaje ich coraz mniej, aż znajdują się w takiej ilości i sile, że już nie są zdolne do wytworzenia swoistego wykwitu t.j. krosty. Obliczenie ilości, chociażby przybliżone, jest możliwe, ale żywotności, niezależnej od ilości, narazie obiektywnie wymierzyć nie możemy. Dla uzupełnienia brakującego „mierzenia siły żywotnej” zakłady produkujące i kontrolujące muszą starannie wniknąć w warunki bytowania zarazka, pozwalające zrozumieć i ocenić siłę żywotności, względnie jej zanik. To mierzenie subiektywne narazie jest jedynie miarodajne. Duża nawet siła rozrodcza przy małej lub niedostatecznej zjadliwości zarazka nie zawsze wystarcza (np. przy rewakcytacji) dla otrzymania pożądaney odporności tak co do czasu, jak i natężenia. Otrzymać więcej żywotną ospę możemy zapomocą pasażu zarazka przez zwierzę innego gatunku: przez osła lub królika. Ospa po przejściu przez zwierzę innego gatunku staje się bardziej czynna. Wzmocnienie siły ospy idzie tu drogą naturalną; zarazek, przechodząc do środowiska odmiennego, do którego nie był przystosowany, wzmacnia biologicznie swe żywotne siły.

Niektóre czynniki fizyczne wpływają jeżeli nie na wzmocnienie, to na konserwację, utrzymanie nabytych już sił. Z tych czynników znamy wpływ temperatury, szczególnie poniżej 0°. Niektóre środki chemiczne, jak gliceryna, przyspieszają spadek zjadliwości wzgl. żywotności. Tę możność regulowania żywotności zakłady dobrze znają i starają się wyzyskać w celu praktycznym. Jednem słowem zakłady mają swoje wypróbowane sposoby regulowania niektórych własności krowianki, często je praktycznie stosują, ale narazie mierzyć ich nie umieją.

Siła mnożenia (rozrodcza).

Drugiem zagadnieniem, mającem również wielkie znaczenie dla oceny siły krowianki, jest siła rozrodcza. Na siłę rozrodczą pewne światło rzuca zestawienie wyników porównawczych przy badaniach reakcji śródskórnej i naskórnej. Opiszę jeden z ciekawych przypadków. Było to przy zbiorze serji Nr. 1146. Zbiór był względnie obfity, przeszło 220 gr miazgi bardzo ładnej, lecz

paski były nierówne, miejscami nierozwinięte, miejscami gronkowe, na linii źle rozwiniętej wykwiły z silnym rozrostem, przedstawiającym się w postaci gron. Zbiór ilościowo przekraczał dość znacznie normę średnią. Nie można było narazie objaśnić sobie tak odmiennego obrazu rozrostu pasków. Szczegół ten został odnotowany w książce zakładowej w przypuszczeniu, że może w przyszłości da się coś wyjaśnić. Przypadkowo uderzył nas rezultat badań tej serii na królikach. Przytaczam wyciągi z protokołów odnoszących się do tej serii:

Rozcieńczenia	1:100	1:500	1:1000	1:5000	1:10000	1:50000	1:100000
Prot. Nr 40							
Śródk.	b. dob.	b. dobry	b. dobry	b. dobry	dobry	dobry	dobry
Naskórn.	zlana	41 krost	6 krost	—	—	—	2 krosty
Prot. Nr 41							
Śródk.	b. dob.	b. dobry	dobry	dobry	dobry	dobry	—
Naskórn.	zlana	42 krosty	13 krost	8 krost	7 krost	6 krost	8 krost
Prot. Nr 56							
Śródk.		1,3	1,0	1,0	1,0		
Naskórn.		8 krost	9 krost	5 krost	6 krost		
Prot. Nr 57							
Śródk.		1,4	1,3	1,2	0,8		
Naskórn.		13 krost	6 krost	2 krosty	—		

Jeszcze kilka razy przeprowadzałem badanie tej serii i zawsze z podobnym wynikiem. Wszędzie odczyn śródkórny wypadł bardzo silny, nawet w największych rozcieńczeniach, w odpowiednich zaś rozcieńczeniach występowała znikoma liczba krost. Jak objaśnić sobie ten paradoksalny wypadek w zestawieniu krowianki

na jałowce Nr 1146 i tej samej na królikach w 4 próbach, przytoczonych powyżej? Wszędzie dodatni i silny wynik odczynu śródskórnego nawet w rozcieńczeniach bardzo wysokich (1:100000) niezbicie wskazuje, że serja ta jest bardzo bogata w zarazki ospowe. Jednocześnie ta sama ilość, zaszczipiona na skórze tego samego królika, dała znikomą liczbę krost, co dowodziłoby, że wiele z zarazków utraciło swą siłę rozrodczą. Obserwując i zestawiając reakcje śródskórne i naskórne, jeszcze kilkakrotnie spotkałem analogiczne wypadki, lecz nigdy w tak jaskrawym stopniu.

Zdaje się, że zestawienie tych dwóch odczynów da nam w przyszłości możność uświadomienia sobie siły rozrodczości zarazka. Za mało mamy materiału i za krótko pracujemy nad tem zagadnieniem, aby odważyć się stawiać już dziś konkretne wnioski. W każdym razie fakty te powinny zachęcić do pracy w tym kierunku, tem bardziej, że od siły rozrodczości wzgl. zaniku jej zależy powstawanie i rozrost wykwitów, ich przerzuty i szerzenie się zakażenia.

Siła tropizmu.

Trzecim też niemało ważnym czynnikiem jest tropizm, t. j. siła powinowactwa zarazka do tkanek, pochodzących od zewnętrznego listka zarodkowego (ektodermy) i jego odcinków: mózgu i rogówki. W krowiance najważniejszy jest dermatropizm. Normalnie powinowactwo krowianki do mózgu jest bardzo słabe. Stopniowanie tropizmu krowianki do tkanek jest następujące: skóra — dermatropizm największy; rogówka — keratotropizm średni; mózg — neurotropizm fakultatywny, słaby i rzadko występujący. Dermatropizm jest w pewnym antagonizmie z neurotropizmem. O ile neurotropizm krowianki jest większy (neurowakcyna), o tyle dermatropizm się zmniejsza. Keratotropizm i neurotropizm są w odmiennym stosunku i oba nie są pożądane. Neurotropizm jest zjawiskiem rzadkiem; udało się dopiero po żmudnych pracach otrzymać krowiankę neurotropową, utrwalić tę cechę i uzyskać „*virus fixe*” neurotropowy.

W celu wykrywania w krowiance własności neurotropowych stosowano w Oddziale następujący sposób: 1) ażeby przełamać

naturalny wał ochronny, jaki przedstawia w naturalnych warunkach tkanka mózgowa i jej naczynia dla zarazków ospowych. wprowadzonych do krwiobiegu, stosujemy po skutecznieniu trepanacji u królika wstrzykiwanie do mózgu 0,2-0,5 ccm. jałowego fizjol. roztworu NaCl; 2) po kilku godzinach sztucznie stwarzamy posocznicę krowiankową, wprowadzając do żyły ucha dużą ilość krowianki sprzedażnej (0,5-1,0 ccm). Jeżeli krowianka posiada chociażby najmniejsze powinowactwo do mózgu, to w tych warunkach powstaje zapalenie mózgowia i królik pada po 5-11 dniach. Jednocześnie próba ta pozwala stwierdzić, czy w danej serji krowianki niema jakich bakterij ropotwórczych.

Wyżej opisaną metodą zbadano w Zakładzie 13 seryj krowianki, używając młodych królików w przypuszczeniu, że mózg takich zwierząt będzie wrażliwszy. Z 13-tu jeden królik padł po 5 dniach. Krew i mózg okazały się wolne od jakichkolwiek zakażeń bakteryjnych. Emulsję z tkanki mózgowej tego królika zaszczepiono na skórze drugiego królika. Otrzymano ładne paski ospowe i kilka oddzielnych krost, co niezbiecie dowodzi, że królik padł z powodu swoistego zapalenia mózgowia. W przypuszczeniu, że ten tropizm mózgowy zależał więcej od wrażliwości młodego królika, niż od neurotropizmu tej serji, zaszczepiono tę samą krowiankę w taki sam sposób królikowi starszemu, który do dziś żyje i jest zupełnie zdrow. Z tego wniosek, że tropizm mózgowy zależny był w danym przypadku od indywidualnej wrażliwości młodego królika.

Po rozważeniu wszystkich właściwości i sił, które powinny podlegać mierzeniu, przystąpiliśmy do wykonania dalszych prac w celu ustalenia metody i wprowadzenia jej w życie. Ponieważ siłę krowianki chcieliśmy mierzyć na króliku, musieliśmy przeto w pierwszym rzędzie zdać sobie sprawę, czy istnieją duże różnice indywidualne wrażliwości królików na zarazek ospowy. Przeprowadzając doświadczenia na kilkudziesięciu królikach, zauważyliśmy wielkie wahania indywidualne wrażliwości, które utrudniały, a niekiedy wprost uniemożliwiały pracę.

Należało więc stworzyć sobie warunki zaopatrywania się w materiał króliczy możliwie jednolity, aby indywidualne, niepożądane wahania wrażliwości sprowadzić do minimum. Osiągnąć to można. Niekiedy otrzymywaliśmy z pomiędzy królików rynkowych taki materiał, z którego byliśmy pod każdym względem zadowoleni.

Królik powinien być duży, długi, z dużą powierzchnią skóry, dobrze utrzymany, o ładnej białej skórze, bez żadnych uszkodzeń, chorób skóry, okaleczeń. Barwa skóry nie zawsze idzie w parze z zabarwieniem sierści. Czysto białe króliki bez łat kolorowych, pstrych, nawet na uszach, z reguły mają białą skórę bez odcieni o zabarwieniach innych, które sprawiają wielkie trudności w ocenie charakteru odczynu na skórze. Czarne lub srebrzyste króliki niekiedy mają ładną białą skórę, na szarych często spotykamy plamy i łatki o zabarwieniu czarnem, szarem, żółtem, miedzianem, które uwidaczniają się dopiero po depilacji. Dlatego, aby uniknąć zawodu, trzeba wybierać króliki czysto białe. Najlepiej byłoby, gdyby zakład produkujący krowiankę i szczególnie zainteresowany w otrzymywaniu materiału dobrego, równego, sam dobierał lub produkował króliki, jakie uważa dla siebie za najwłaściwsze. Wtedy będzie miał pewność, że posiada materiał możliwie stały, bo zmienny tylko w granicach jednego gniazda. Ten ostatni warunek jest najważniejszy.

Groth radzi brać do prób ośmiomiesięczne białe króliki albinosy, *Calmette* — białe, szare lub czarne, lecz koniecznie o białej skórze. Wszyscy wymagają, aby królik był duży, dobrze utrzymany, wagi około $3\frac{1}{2}$ kg, bez ran, chorób skórnych i t.p. Jednak selekcja materiału do prób szczególnie naskórnych musi być dokładniejsza, połączona z wyborem rasy i gniazda dla uniknięcia szerokich wahań indywidualnych.

Przy wyborze materiału duże też znaczenie ma płeć. Pod wieloma względami do prób lepiej się nadają samice: są one bardziej czułe na ospę, mają skórę delikatniejszą, cienką warstwę rogową naskórka, a nadewszystko łatwiej się poddają depilacji. Samce są trudniejsze do depilowania.

Przygotowanie terenu operacyjnego na króliku.

Równie ważnym momentem, jak wybór królika, jest odpowiednie przygotowanie jego skóry, stałe i równe. Różne przygotowanie musi dać różne rezultaty, a zatem i różną ocenę krowianki. Przed wyborem sposobu przygotowania trzeba było szczegółowo je poznać.

Groth uzależnia otrzymanie rezultatów dodatnich od techniki przygotowania zwierzęcia. Za odpowiednią uważa depilację chemiczną. Nie można się z tem zgodzić: 1. Depilacja chemiczna skóry jest niepewna, zależna od indywidualnej czułości skóry królika na odczynnik chemiczny. Niejednokrotnie trudno obliczyć, kiedy przerwać działanie depilatora, aby nie przetrzymać i przez to nie wywołać mniej lub więcej ciężkiej choroby skóry, wymagającej dłuższego leczenia. *Groth* uważa, że zwykła depilacja chemiczna wymaga 7-10 dni (przy stosowaniu leczenia wazeliną), póki skóra nie wróci do takiego stanu, kiedy można będzie przeprowadzić szczepienie. Jest to niedogodne; pracownik staje się zależny od ubocznych okoliczności, musi czekać, choć nieraz zależy na prędkim przystąpieniu do pracy w celu wydania opinii o sile krowianki. 2) Po przeprowadzeniu prób z różnymi depilatorami okazało się, że te depilatory, które działają bardzo skutecznie, prędko, jak siarczek barowy, pozostawiają głębokie uszkodzenia, wymagające dłuższego leczenia, inne działały bardzo słabo, albo wcale nie depilowały (siarczek strontu). Siarczek wapnia stosowano samcowi 3 razy; dopiero po trzecim wtarciu i trzymaniu przez 35 minut szerść zaczęła wychodzić. Depilacja nie była zupełna, trzeba było dogolić. Szerść zaczęła porastać nie po 3 tygodniach, jak twierdzi *Groth*, lecz znacznie wcześniej (może to być zależne od pory roku, t. j. wiosny). Przy silniejszym uszkodzeniu i konieczności dłuższego leczenia włosy zaczynają porastać w jednych miejscach, kiedy w innych są jeszcze duże strupy i niezagojone uszkodzenia. Takie przygotowanie skóry powoduje nadmierne podrażnienie głębszych warstw naskórka; często występuje martwica, która przy innym przygotowaniu zjawia się rzadziej i w mniejszym stopniu. 3. Depilacja chemiczna wymaga zastosowania dużej ilości wody do starannego usunięcia odczynnika ze

skóry, a króliki są wogóle wrażliwe na kąpiel i mycie; często po tej manipulacji chorują, a nie jest wyłączona i śmierć. Są króliki, które dobrze znoszą kąpiel, ale z reguły jest inaczej.

Depilacja mechaniczna też ma swoje ujemne strony, ale zato uniezależnia pracownika od chwiejnych rezultatów działania depilatora na skórę, nie wymaga następczego leczenia i wy czekiwania na możliwość rozpoczęcia pracy; przygotować zwierzę do szczepienia można *ex tempore*. To rozwiązuje ręce operatorowi, który może obliczyć, kiedy otrzyma rezultat badania. Często nie można czekać długo i odkładać badania ze względów praktycznych.

Nie każdy królik daje się jednakowo dobrze depilować. Nao gół samce zwłaszcza stare depilować jest bardzo trudno, a niekiedy wprost niemożliwe. Lepiej do tej roboty brać samice. Do mecha nicznej depilacji należy brać tylko takie sztuki, które dają się depi lować bez użycia nadmiernej siły. Trzeba przytem mieć na uwa dze, że sztuki depilujące się zbyt łatwo, często są chore, słabe, wycieńczone, a takie są nieprzydatne dla naszych celów.

Obezwłosienie należy przeprowadzić umiejętnie: brać szerść małemi wiązkami, za silnie nie szarpać, aby nie uszkodzić za bar dzo skóry i zbytnio jej nie drażnić. Osobniki wrażliwsze reagują silniej na takie obezwłosienie, dostają pokrzywki, która jednak po kilku godzinach przechodzi. Puszek, który pozostaje po depi lacji, trzeba usunąć przezgolenie: na koniec całą skórę wyciera się starannie eterem. Do szczepienia należy przygotować możliwie dużą powierzchnię skóry.

Uzasadnienie depilacji mechanicznej. (p. prace *Levcđitiego i Nicolau*: „Rola obezwłosienia w umiejscowieniu skór nem krowianki” i tychże autorów „Badania nad neurowakcyną”). Badania histologiczne nieco wyjaśniły nam proces rozwoju krosty i rozmnażania się samego zarazka w brodawkach włosów i uszko dzonych torebkach, a głównie w ich pochewkach, stanowiących przedłużenie sieci Malpighiego. Według tych prac zarazek ospowy wtedy dopiero zaczyna się rozmnażać, kiedy znajdzie przygoto wany dla siebie grunt, a jest nim stadjum djapedezy i proliferacji, a głównie stadjum podziału karjokinetycznego i powstawanie w większej ilości form mitotycznych i wakuolizacji komórek na-

błonkowych. Mechaniczne wyrywanie przygotowuje ten odpowiedni grunt dla rozwoju zarazka i tworzenia krost; dopiero na tem tle rozwija się zakażenie, a wakuolizacja oraz częste formy karjokinezy i mitozy sprzyjają powstawaniu i rozwojowi wykwitów ospowych. Depilacja mechaniczna ułatwia tę jedyną drogę rozwoju: należy to wyzyskać. Droga chemicznego obezwłosienia wywołuje proces zapalny idący za daleko, wymagający leczenia i cofnięcia procesu do pożądanego stanu, odpowiedniego dla rozwoju zarazka. Uchwycić odpowiedni moment trudno i albo już za późno i trzeba napowrót, drażniąc jakąś inną drogą, wywołać odpowiedni stan, albo proces jest jeszcze za ostry i wtedy sumują się dwie sprawy: do procesu zapalnego, zależnego od podrażnienia chemicznego, przyłącza się proces zakaźny, stworzony przez nas sztucznie. Wprawdzie efekt reakcji będzie silniejszy, ale nie będzie to czysty proces ospowy, którego siłę chcemy mierzyć. Przy depilacji mechanicznej proces zapalny jest słaby i prędko się kończy (uraz), wtedy kiedy drugi, t. j. zakaźny, się rozpoczyna i sam oddzielnie idzie naprzód. Na tej zasadzie uważam, że należy stosować przygotowanie pola operacyjnego nie chemiczne, lecz mechaniczne.

Po mechanicznem usunięciu włosów i wyrównaniu przez dogolenie wyciera się skórę eterem. Samo szczepienie wykonywa się bezpośrednio po obezwłosieniu, kiedy jeszcze otworki po wyrwanych włosach (ujścia woreczków włosowych) są świeże, nie zasklepione.

Przedmiot badania — krowianka.

Wakcyna jest zawiesiną, składającą się z rozdrobnionych cząsteczek naskórka, strzępków tkanki nabłonkowej. Utrudnia to jej miareczkowanie, albowiem niemożność rozbicia jej na poszczególne równie małe cząstki komplikuje sprawę mierzenia i obliczania. Zarazek w krowiance u krowy rozmieszczony jest w mięszu; wakuolizacja z procesem litycznym w chorej komórce nie jest tak zaznaczona, jak u dziecka, przeto limfy z jałówek zebrać nie można lub bardzo mało. U dzieci zbiera się limfa ospowa w wakuolach, zarazek ospowy znajduje się tam w rozproszeniu, nie jest uwięziony. Podobne pęcherzyki spotykamy u owcy, przy owczej ospie

(clavelée). To jest jedna z najważniejszych przyczyn trudności mierzenia siły krowianki. Limfa, zebrana z dziecka, daje w rozcieńczeniu 1:10, 1:100, 1:500 ospę złą, dwa lub trzy następne rozcieńczenia dają jeszcze proporcjonalnie mniejszą liczbę izolowanych krost, dalsze rozcieńczenia nie dają już krost, bo przekroczyły możliwość skupienia ilości zarazka niezbędnej dla uformowania krosty. Z krowianką bywa nieco inaczej: często większe rozcieńczenia mogą dać kilka krost, a mniejsze wcale lub mniej; zależy to od przypadkowej obecności w tym wielkiem rozcieńczeniu większych strzępków, które znalazłszy się w danym punkcie mogą same wywołać krostę. W limfie w większych rozcieńczeniach bezwątpienia też są zarazki, ale w takim rozproszeniu, że już nie dają krost. W krowiance, która jest zawiesiną, dużą rolę grać może mielenie. Strzęp powinien być tak mały, zawierać w sobie tylko tyle zarazka, żeby sam nie mógł wywołać krosty. Przy dzisiejszym stanie mielenia tego osiągnąć nie można. Znalezienie 1-3 krost w rozcieńczeniu 1:100000 mówi nie o sile wakcyny, lecz o grubszym mieleniu. Badania, równoległe przeprowadzone z krowianką i z limfą, zebraną z dziecka, wykazały nam wyraźnie wyżej przytoczony postulat dobrego i równego mielenia. Gliceryna nie nadaje się do delikatnego mielenia i otrzymania pożądanej wielkości strzępów. Np. zawiesina z tkanki mózgowej bez gliceryny otrzymuje się bardzo prędko, kiedy przeciwnie z mózgu który jakiś czas przechowywany był w glicerynie, trudno otrzymać dobrą zawiesinę mimo długiego i usilnego rozcierania. W dzisiejszym stanie techniki wyrobu krowianki nie można uniknąć przy mieleniu stosowania gliceryny. Żeby te braki usunąć i zatrzymać większe strzępy komórek nabłonkowych, *Groth* filtruje rozcieńczoną wakcynę przez specjalną bibułę; *Calmette* cedzi przez gęsty jedwab. To nie polepsza sprawy, bo przy tem postępowaniu wprawdzie zatrzymują się strzępy niedostatecznie zmielone, ale jednocześnie zmniejszamy ilość czynnych elementów, t. j. zmniejszamy siłę krowianki, którą chcemy mierzyć i ocenić. Wtedy miano nie będzie odpowiadało rzeczywistości, t. j. zawartości zarazka w miadze. Cedzenie, osadzanie i centryfugowanie należy przy mierzeniu siły wakcyny wykluczyć. Pomimo nalegania na konieczność filtrowania w przepisach autorów metod miareczkowania, przed-

stawionych Lidze Narodów, Komitet wyraźnie zaznaczył, że mierzenie odbywać się powinno bez usuwania jakkolwiek drogą niedomielonych strzępów.

Miareczkowanie.

Nie posiadamy krowianki wzorcowej, któraby miała stale równą „siłę”, zależną od jakości i ilości i któraby w praktyce okazywała się zawsze zadowalniającą tak co do natężenia reakcji podczas przebiegu szczepienia, jak i w skutkach nabycia trwałej odporności; wzorca takiego posiadać nie możemy, bo krowianka jest to produkt żywy i jako taki musi być zmienny. Niekiedy nie dające się nawet uchwycić warunki bytowania zarazka zmieniają jego charakter i siłę. Nie posiadamy zatem jednostki miary siły. Pozostaje nam jednak bądź stwierdzenie stosunku krowianki do różnych królików, bądź badanie porównawcze różnych seryj na jednym i tym samym króliku. Wielokrotne, wszechstronne przeprowadzone badania porównawcze wykazują rezultaty reakcji w liczbach stale zmiennych, ale w stosunkach stałych. Biorąc to pod uwagę, wyrabiamy sobie pojęcie o danej krowiance, o poszukiwanej jej sile, już częściowo oparte nie na liczbach, a na stosunkach porównawczych. Ten tylko stosunek może być dla nas miarą.

Siłę krowianki stwierdzamy na podstawie porównania liczby wykwitów (krost) i ich charakteru z obecnością i natężeniem reakcji śródskórnej, w różnych rozcieńczeniach, ale odpowiednio jednakowych i równych ilościowo (0,1 ccm), wstrzykniętych doskórnice i wtartych naskórnice. Przystępując do miareczkowania krowianki, musimy najpierw przygotować szereg rozcieńczeń. Krowianka jest zawiesiną, przygotowaną w różnym rozcieńczeniu. Te zmienne jednostki sprowadzamy zawsze do jednakowego rozcieńczenia, 1:10. Tę krowiankę, nieco słabszą od sprzedażnej, przyjmujemy za jednostkę wyjściową. Siła miazgi jest dziesięciokrotnie większa. Ten dziesiętny rachunek ułatwia nam później obliczenie, ile pojedynczych, izolowanych krost otrzymaliśmy z jednego grama bądź miazgi, bądź krowianki sprzedażnej. Według naszych obliczeń bardzo wystąpiła krowianka dawała po roku jeszcze w 1 ccm.

150 do 250 tysięcy pojedynczych krost (1 gram miazgi $1\frac{1}{2}$ do $2\frac{1}{2}$ milionów). Gram krowianki wystarczyć może do zaszczepienia 100 osób. Krowianka świeża, tylko co zebrana, dawała od 5 do 12 milj. krost w 1 ccm. miazgi. Obliczenia te dalekie są od rzeczywistości ze względu na jeszcze nie ustaloną technikę. Przy ulepszonej technice, doborze równych, umiarkowanie wrażliwych królików i obliczeniach, przeprowadzonych na większej liczbie seryj, cyfry te wypadną zapewne inaczej.

Mając na uwadze wszystko to, co wyżej przytoczyłem, zatrzymałem się narazie na przeprowadzeniu prób w następujący sposób:

1. Robiłem próby zwykle na 2 królikach jednocześnie, stosując u każdego tę samą technikę i te same rozcieńczenia.

2. Śródskórne i naskórne szczepienia zawsze przeprowadzałem równolegle. Do jednego i drugiego zawsze stosuję jednakowe ilości objętościowe.

3. Jeżeli mam do czynienia z nieznaną mi krowianką, stosuję możliwie większą skalę rozcieńczeń, od 1:10 do 1:100000. Skórę rozdzielam na 7-8 części o powierzchni około 20-40 cm². w zależności od tego, ile mam zastosować rozcieńczeń.

4. Przy pierwszej próbie badam po 2 serje na jednym króliku.

5. Przy kręgosłupie robię śródskórne szczepienia, boki przeznaczam na naskórne.

Pierwsze miareczkowanie, przeprowadzone na 2 królikach z dwiema serjami, pozwala przez zestawienie poznać natężenie sił żywotnych zarazków każdej z nich, siłę ich rozrodczości, jak również ilość czynnych elementów. Zakres tego poznania jest za szczupły, nie może jeszcze być miarodajny, ale dla pierwszej orientacji jest niezbędny. Następnie przechodzimy do porównawczego badania po 4 serje razem na jednym króliku. Skalę rozcieńczeń zwięzamy, stosujemy tylko rozcieńczenia środkowe: 1:500, 1:1000, 1:5000, 1:10000. Na jedną serję przeznaczamy czwartą część powierzchni skóry grzbietu i boków królika. Na jedno szczepienie wypada powierzchnia 20-30 cm². Prawą połowę dzieli się na 2 części, dla każdej serji jedna część, lewą podobnie dla dwóch pozostałych. U grzbietu stosujemy dla każdej serji 4 zastrzyki

śródkórne, niżej szczepimy te same rozcieńczenia w tej samej ilości naskórnie. Identyczną robotę z temi samemi serjami przeprowadzam tego samego dnia na drugim króliku. Wtedy można porównywać rozwój 4 seryj na 2 królikach. Z tych porównań układa się tabelkę stosownie do różnych odczynów, wyrażonych możliwie w liczbach i wymiarach. W ten sposób badamy całą produkcję krowianki po 4 serje, przyczem do każdej czwórki koniecznie należy wstawić jedną serję z poprzednio badanej czwórki. Wtedy cała produkcja może być zaszeregowana co do mocy w kilka grup. Dopiero wówczas możemy sobie powiedzieć, że znamy właściwości i siłę całej produkcji i z tego znanego sobie surowca przygotować odpowiednią krowiankę bądź do pierwszych szczepień, bądź dla rewakcynantów, wojska i t. d.

Pracę tę zakład może prowadzić tylko na królikach i na nich mierzyć siłę swego produktu. Z natury rzeczy nie jest w stanie sprawdzić ani przemiareczkować swego materiału na ludziach w różnym wieku i stopniu odporności. To dać może tylko klinika, ona powinna dać wskazówki, co umożliwi uzgodnienie wyników obu sposobów badań — na człowieku i na króliku. Na tem polegać powinna istota praktycznego zastosowania miareczkowania dla urzędów kontrolujących.

Treść zeszytu 3-4. Sommaire.

<i>L. Fleck.</i> Studja z dziedziny serologii kiły. — Sur la sérologie de la syphilis.	115
<i>J. Frendzłowa i Z. Szymanowski.</i> Dalsze badania nad paraglutynacją. Próby różniczkowania antygenu H i O. — Recherches sur la paragglutination. II partie. Différenciation des antigènes H et O	132
<i>J. Frendzłowa i Z. Szymanowski.</i> Doświadczenia nad immunoizoaglutyninami we krwi świń. — Les immunoisoagglutinines dans le sang du porc	143
<i>St. Förster.</i> Wpływ ergotaminy na gospodarkę cieplną ustroju. — Influence d'ergotamine sur la régulation thermique de l'organisme	152
<i>E. Redler.</i> O stałości i zmienności cech pałeczki błonicy rzekomej. — De la constance et de la variabilité des propriétés de bacilles pseudodiphthériques.	176
<i>H. Nowikówna.</i> Charakterystyka szczepów pałeczki okrężnicowej otrzymanych z gleby. — Étude des souches de b. coli provenantes du sol	184
<i>B. Zabłocki i J. Morzycki.</i> Z badań nad własnościami antygenowemi pałeczek duru brzuszego. Doniesienie I. Endotoksyna tyfusowa otrzymana metodą wielokrotnego zamrażania. — Sur les propriétés antigéniques de bacilles typhiques. I communication. Endotoxine typhique obtenue au moyen de congélations multiples	189
<i>J. Morzycki i B. Zabłocki.</i> Z badań nad własnościami antygenowemi pałeczek duru brzuszego. Doniesienie II. Atoksyczna szczepionka tyfusowa. Sur les propriétés antigéniques de bacilles typhiques. II communication. Vaccin anti-typhique atoxique	201
<i>St. Dzięciołowski.</i> Przyczynek do miareczkowania siły waccyny na królikach. — Titrage de vaccin contre la variole sur les lapins	212

Redaktorzy i wydawcy: **L. Hirszfeld, M. Kacprzak i Z. Szymanowski.**
