

MEDYCYNĄ DOŚWIADCZALNA I SPOŁECZNA

(Dawniej *Przegląd Epidemiologiczny*).

TOM XIX.

WARSZAWA 1935

ZESZYT 5-6

Wpłynęło 3.I.1935

Z Państwowego Zakładu Higieny

Dział Bakteriologii i Medycyny Doświadczalnej (Kier. Prof. Dr. L. Hirszfeld)
i z Sekcji Szczepień Warszawskiego T-wa Medycyny Zapobiegawczej

BADANIA NAD WYSOKOWARTOŚCIOWEMI ANATOKSYNAMI OCZYSZCZONEMI

Podał

J. JAKÓBKIEWICZOWA i R. ZAJDLÓWNA

Pierwszą szczepionką, która po próbach podjętych przez *Dzież-gowskiego* znalazła zastosowanie w profilaktyce przeciwbłoniczej, była opracowana w roku 1913 przez *Behringa* mieszanina toksyny z antytoksyną z nieznacznym nadmiarem toksyny, który powiększano w szeregu następujących po sobie szczepień. Modyfikacje tej szczepionki opracowane, a głównie spopularyzowane przez późniejszych autorów (*Park, Zingher i inni*) różniły się między sobą zwiększoną zawartością w mieszaninie bądź surowicy bądź toksyny. Wszystkie te preparaty znane są w piśmiennictwie pod ogólną nazwą T. A. (toksyna—antytoksyna). Odmianą postacią szczepionek, choć zbliżoną do poprzednich są szczepionki *Schmidta* oraz *Glenny T. A. F.* (Toxin-Antitoxin-Flocken). Są to również kompleksy toksyny z antytoksyną ale wyodrębnione z mieszaniny w postaci kłaczek, pojawiających się w momencie całkowitego zobojętnienia składników. Wymienione szczepionki dawniej używane wyłącznie, dziś już tylko w niektórych krajach, stosowane są w ograniczonych rozmiarach. Zdecydowany zwrot w profilaktyce przeciwbłoniczej miał miejsce od roku 1924, kiedy to *Ramon* nawiązując do prac *Lowensteina* oddał swą anatoksynę na usługi medycyny zapobiegawczej.

Anatoksyna jest pochodną toksyny, która pozbawiona została własności toksycznych, zachowała jednak całkowicie własności antygenowe. Odtąd szczepionka ta dzięki swojej wybitnej wartości swoistej, jakoteż dzięki stwierdzonej nieodwracalności procesu przekształcającego toksynę w produkt atoksyczny, wyparła wszystkie inne szczepionki, które, chociaż dawały odporność, były jednak dość niebezpieczne i wymagały niezwykle ostrożnego postępowania przy przygotowaniu ich.

Anatoksynę opisaną przez *Ramona* w roku 1923 przygotowuje się z toksyny przez działanie formaliny oraz ciepła. Siła antygenowa anatoksyny równa się sile antygenowej toksyny wyjściowej. Można ją mierzyć bądź *in vivo*, zapomocą próby biologicznej na zwierzętach (metoda bardziej złożona), lub prościej—co zazwyczaj stosuje się praktycznie w produkcji—zapomocą odczynu kłaczkowania *Ramona*.

Nie wchodząc w dyskusję co do ścisłości tej metody miareczkowania podamy, że jednostką antygenową nazywa *Ramon* ilość toksyny względnie anatoksyny, która zostaje najszybciej wytracona przez jedną jednostkę antytoksyny.

Anatoksyny przygotowywane w/g *Ramona* do roku 1929 posiadały przeciętnie miano od 5 do 10 jednostek. Klasyczna technika wymagała trzech szczepień w następującej kolejności: I-e szczepienie — $\frac{1}{2}$ cc., II-e po trzech tygodniach — 1 cc., III-e po dwóch tygodniach — $1\frac{1}{2}$ cc.

Jeżeli anatoksyna posiadała 10 J. R., wprowadzano dziecku łącznie $(5 + 10 + 15) = 30$ J. R. podskórnie. Dopiero I miesiąc po ostatniem szczepieniu uważany był za wystarczający do osiągnięcia stanu odporności. Czas łączny zatem do osiągnięcia odporności wynosił 9 tygodni, a więc przeszło dwa miesiące.

Otóż ten tak stosunkowo długi okres uodpornienia stanowił poważną wadę metody, zwłaszcza gdy chodziło o opanowanie zbliżającej się epidemji.

Nadto całkowite przeprowadzenie trzykrotnych szczepień napotyka, jak wiadomo. na duże trudności w praktycznem wykonaniu. Spory odsetek dzieci nie zgłasza się do ostatniego, a nawet do drugiego szczepienia. Dlatego postępowaniem w tym względzie były wprowadzone we Francji od roku 1931 szczepienia dwukrotne anatoksyną wzbogaconą w jednostki antygenowe.

Dzięki ulepszonym pożywkom stosowanym do otrzymania toksyny błoniczej dzisiaj pracownie produkują anatoksynę przynajmniej o 20 wzgl. 30 J. R. w 1 cc.

Technika szczepień dwukrotnych jest następująca: I-e szczep. — 1 cc., po 3-ch tygodniach — 2 cc.; łącznie dziecko otrzymuje (20 + 40) 60 J. R. wzgl. (30 + 60) 90 jednostek antygenowych. Uproszczona ta metoda dającą w/g francuskich autorów 99—100% odporności (dane oparte wyłącznie na kontroli odczynów *Schicka*), została w Polsce wprowadzona do szczepień od 1932 roku.

Dwukrotne szczepienia ochronne upraszczają ogromnie akcję zapobiegawczą. Jasne jest, że szczepienia jednokrotne, gdyby osiągnęły właściwy cel, byłyby ideałem, do którego należy dążyć. Próby w tym kierunku były podejmowane przez badaczy. Miały one na celu skoncentrowanie przy jednoczesnem oczyszczeniu anatoksyny w ten sposób, żeby można było podać osobnikowi jednorazowo odpowiednio dużą liczbę jednostek antygenowych, zdolnych do wywołania odporności u szczepionych.

Takich metod, a raczej prób koncentrowania i jednoczesnego oczyszczania anatoksyny opracowano dość dużo*). Wymienimy tylko te metody, które znalazły zastosowanie praktyczne do szczepień na dzieciach. Do nich należą: metoda absorpcyjna zapomocą wodorotlenku glinu oraz metoda ultrafiltracji.

Metodę absorpcji zapomocą wodorotlenku glinu do antytoksyny błoniczej zastosował duński badacz *Schmidt*.

Autor wzorował się na metodzie opracowanej przez *Wilstätter* dla fermentów. W zastosowaniu do toksyn błoniczych metodę tę opracowali *Lindenström*, *Lang* i *Schmidt*.

Metoda polega na przyrządzeniu specjalnej odmiany wodorotlenku glinu bezpośrednio przed zabiegiem zagęszczania. Przygotowanie wodorotlenku glinu jest dość kłopotliwe. Wodorotlenek glinu dodany do anatoksyny błoniczej wytrąca ją, utworzony osad zostaje rozpuszczony w roztworze fosforanu sodu. W tej postaci anatoksyna była stosowana w Danii przez *Jensena* od roku 1931. Szczepienia przeprowadzane w zamkniętych zakładach, nie objęły dotąd akcji masowej i miały charakter raczej doświadczalny.

*) Piśmiennictwo podane w refer. zbior. *R. Zajdel*. Warszawskie czasopismo lekarskie 1934 r. Nr. 9 i 10.

Drugą metodą, która znalazła zastosowanie praktyczne w szerszym, niż poprzednia, zakresie była metoda ultrafiltracji.

Ultrafiltracja przez błony kolodjonowe, wprowadzona do biologii przez *Bechholda* do oznaczania i oddzielania roztworów o różnej wielkości cząstek, została zastosowana do badań nad toksynami szkarlatynowemi, błoniczemi oraz czerwinkowemi przez *Sierakowskiego*, *Łipowską*, *Przesmyckiego* i *Sparrow*.

Równoczesne użycie 2-ch błon kolodjonowych, z których jedna zatrzymuje białko, druga zaś aktywny czynnik hodowli, zostało po raz pierwszy zastosowane przez *Zajdlównę*, *Sierakowskiego* i *Sparrow* do oczyszczania toksyn szkarlatynowych następnie przez *Sierakowskiego* i *Zajdlównę* — do oczyszczania i zagęszczania toksyn błoniczych. W roku 1933 metodę tę zastosowała do oczyszczania i zagęszczania anatoksyny błoniczej *R. Zajdlówna*, uzupełniając ją w r. 1934. Metoda w zasadzie ta sama, którą autorzy stosowali do oczyszczania i zagęszczania toksyn błoniczych; wprowadzone są jednak pewne zmiany. Zamiast 3% błony kolodjonowej zastosowana jest nieco ściślejsza 4% błona; dzięki niektórym szczegółom technicznym wydajność metody podniesiona jest o 20 — 30%. Nie stosowano przytem wytrącania kwasem, wychodząc z założenia, że zbyt daleko posunięte oczyszczanie toksyny błoniczej dla masowej produkcji jest zbyt kłopotliwe, a dla celów szczepiennych nie jest niezbędne.

Metoda ultrafiltracji korzysta wyłącznie ze środków fizycznych, nie wprowadza zatem do anatoksyny obcych czynników, mogących uszkodzić jej strukturę antygenową. Polega ona na kolejnem filtrowaniu anatoksyny wyjściowej przez błony kolodjonowe 4% i 10%-owe.

4%-owa błona kolodjonowa zatrzymuje prawie całkowicie białko oraz inne ciała o większej drobinie, przepuszcza natomiast anatoksynę. 10%-owa błona kolodjonowa zagęszcza anatoksynę, uwalniając ją od aminokwasów, barwików, formaliny i t. p. W ten sposób można anatoksynę oczyścić i zagęścić do dowolnej liczby jednostek, np. 4 — 8 tysięcy w 1 cm³.

Metodę ultrafiltracji, opartą na stosowaniu błon kolodjonowych w/g *Bechholda* i *Königa*, opisali później w 1934 roku *Wadsworth*, *Quigley* i *Sickless* nie cytując niestety polskich autorów.

O zastosowaniu przez amerykańskich badaczy metody tej do zagęszczania anatoksyny błoniczej i szczepień ochronnych nie było dotąd wzmianek w piśmiennictwie.

Szczepienie zapomocą anatoksyny zagęszczonej i oczyszczonej przy pomocy ultrafiltracji zostały wprowadzone do akcji szczepiennej w Warszawie na terenie szkół i przedszkoli w roku 1933 na ograniczonych terenach.

W pracy niniejszej postawiliśmy sobie za zadanie porównanie wyżej opisanych metod szczepiennych oraz wybór takiej metody, która najbardziej odpowiadałaby następującym wymaganiom:

1) pozwoliłaby w jak najkrótszym czasie osiągnąć największą odporność, 2) byłaby najodpowiedniejsza pod względem technicznym, 3) dawałaby najsłabsze odczyny nieswoiste, drażniące.

W tym celu zapomocą rozmaitych preparatów anatoksyny błoniczej przeprowadzone zostały szczepienia przeciwbłonicze w zamkniętych zakładach na 320 dzieciach.

Materiałem użytym do szczepień była:

- 1) anatoksyna błonicza w/g *Ramona* zawierająca 1 cc w 30–32 J.R.
- 2) anatoksyna błonicza oczyszczona zapomocą metody ultrafiltracji, zawierająca 1 cc w 40 J. R.
- 3) anatoksyna błonicza oczyszczona i zagęszczona zapomocą ultrafiltracji, zawierająca 1 cc w 200 J. R.

Wartość szczepień była sprawdzana dwoma sposobami: zapomocą odczynów *Schicka* oraz przez miareczkowanie przeciwciał przed i po szczepieniu u dzieci, podlegających obserwacji.

Badania porównawcze różnych szczepionek były zwykle wykonywane w ten sposób, iż określano odsetek dzieci, które po uodpornieniu miały odczyn *Schicka* ujemny. Jednak miernik ten nie jest ani wystarczający ani dość ścisły, gdyż stosunkowo mała zawartość antytoksyn może warunkować ujemny odczyn *Schicką*. Miernikiem siły antygenowej może być tylko porównanie wytworzonych antytoksyn.

Dlatego badania nasze w pierwszym rzędzie uwzględniały miareczkowanie przeciwdział pojawiających się we krwi dzieci na skutek uodpornienia.

Odczyn *Schicka* wykonywano w zwykły sposób bezpośrednio przed pobraniem próbek krwi, poraz pierwszy przed szczepieniem i poraz wtóry w jeden miesiąc po zaszczepieniu.

Miareczkowanie przeciwciał błoniczych fizjologicznych (normalnych) oraz odpornościowych uzyskanych dzięki szczepieniu zapobiegawczemu wykonano najnowszą metodą opisaną w r. 1933 przez *Jensena*.

Przy sposobności pragniemy tu podkreślić wysoką wartość metody podanej przez tego badacza. — Napozór złożona, metoda ta okazuje się w zastosowaniu niezmiernie prosta i dokładna.

Ponieważ metoda, oprócz samego *Jensena* i jego najbliższych współpracowników, nie była przez innych autorów stosowana i mało jest znana, podamy kilka jej najistotniejszych cech. Zasada metody taka sama jak u *Römera*. Technika *Römera* jest następująca Do wiadomych ilości mianowanej toksyny, zubożniających się prawie całkowicie zapomocą np. 1/500 J. A., dodaje się badanej surowicy w rozmaitych rozcieńczeniach. Po okresie czasu niezbędnym, dla związania ($45'$ w 37°), zostają wszystkie wykonane mieszaniny wstrzyknięte śwince morskiej doskórnie; odczytuje się wynik na zasadzie tej mieszaniny, która pozostawia na skórze za ledwyte nikły ślad odczynu martwicowego. Jest to poszukiwana dosis *necrotisans minima* (D. n. m.). Znając wartość tej mieszaniny (naszym wypadku = 1/500 J. A.), można z wiadomego rozcieńczenia surowicy, która ten odczyn dała, obliczyć ile dana surowica posiada jednostek antygenowych.

Zasada metody *Jensena* jest, jak już wspomniano, taka sama. Wprowadzone zmiany są jednak niezmiernie korzystne:

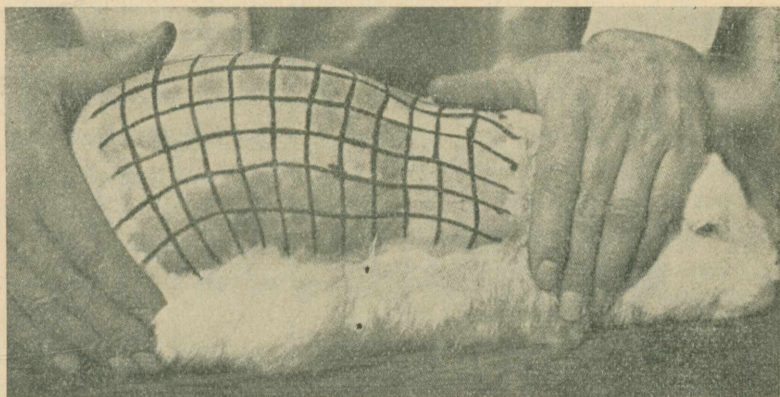
I. Zastosowany został inny rodzaj zwierzęcia. — *Jensen* wykonywa szczepienia na królikach, zamiast na świnkach. Daje to duże korzyści praktyczne. Najlepiej ilustruje tę rzecz fakt, że na króliku wagi 2,5 kg. można wykonać około 150 zastrzyków jednorazowo.

II. Nadto *Jensen* odczytuje nie D. n. m., jak *Römer*, lecz D. r. m. (dosis *reactiva minima*), t. zn. dawkę, która pierwsza w szeregu daje odczyn zapalny skóry po 36 — 48 godz. Jest ona wartością ściślejszą od D. n. m. na co zwrócili już uwagę *Groer* i *Kassowitz* stwierdzając, że odczyn zapalny odpowiada całkowitemu zubożnieniu toksyny przez antytoksynę. Faktem niezmiernie korzystnym dla metody jest przyspieszenie czasu odczytania. Odczyn po 48 godz. jest bardzo wyraźny, ograniczony, nie wymaga późniejszego kontrolnego odczytania. Symbol D. R. M. używamy przez nas w tabelkach, wymaga krótkiego wyjaśnienia. W oryginalnej swojej pracy *Jensen* używa dwojakich symboli: D. r. m. i D. R. M., jednego dla świnek, drugiego dla królików. Dla wygody uprościliśmy symbolistykę, zachowując tylko termin D. R. M., dwa bowiem poprzednie symbole zdają się niepotrzebnie gmatwać pojęcia. Należałoby mówić D. R. M. (królik) względnie D. R. M. (świnia) symbol r. zachowując dla odczynów o mniejszem natężeniu.

III. Należy podkreślić w tem miejscu jeszcze jeden cenny szczegół. Została mianowicie rozwiązana kwestja indywidualnej wrażliwości zwierzęcia. *Jensen* wprowadza wskaźnik wrażliwości dla każdego królika doświadczalnego. Niezależnie od wstrzykiwania badanych surowic, każdy królik otrzymuje również szereg kontrolnych wstrzyknięć, w których toksyna używana do miareczkowania mieszana jest

z różnemi dawkami surowicy wzorcowej międzynarodowej. Oznacza się graniczne D. R. M. dla surowicy wzorcowej, oraz wszystkie D. R. M. dla badanych surowic przelicza się w odniesieniu do uzyskanego wskaźnika; jest nim stosunek D. R. M. surowicy wzorcowej oznaczonej na danym króliku do D. R. M. królika „normalnego“, którego wrażliwość przyjmuje Jensen za podstawę do obliczeń miana antytoksycznego. Przypomina to przeliczanie w chemii płynów mianowanych wg. litra wzgl. miana.

Dla zilustrowania metody miareczkowania przeciwciał, załączamy fotografię królika szczepionego oraz tabliczkę, która wskaże schemat pracy i wyliczeń miana, z uwzględnieniem wrażliwości osobniczej królika.



Dla wyjaśnienia spróbujmy obliczyć miano antytoksyczne dla surowic Nr. 2, 3 i 4 (Prot. str. 240). Ich D. R. M. (t.zn. R. pierwsza w szeregu) odpowiada 4-ej rurce czyli wynosiłoby 0,05 j, gdyby wrażliwość królika odpowiadała normie, t. zn. całkowite zobojętnienie 0,1 cm³ toksyny nastąpiłoby w mieszaninie z 0,1 cm³ surowicy. Jeżeli jednak D. R. M. surowicy wzorcowej dla danego królika odpowiada 0,07 cm³ sur. zamiast 0,1 cm³ (rurka 8), obliczamy miano wg. następn. proporcji:]

$$0,1 \text{ cc} — 0,05 \text{ j}$$

$$0,071 \text{ cc} — x$$

$$X = 0,05 \times \frac{0,071}{0,1} = 0,0355 \text{ j}$$

(wskaźnik
wrażliwości)

Przeprowadzając badania porównawcze nad wartością antygenową danych preparatów, dbaliśmy o to, aby dokonane one były na takiej samej mniej więcej liczbie dzieci, w takich samych

PROTOKUŁ z 9.III 34 r.

Zbadanych 6 surowic

Rozcień. surow.	1:0 Nie rozcień.			1:10			1:80			1:200		
Ilość surowicy	0,2	0,1	0,05	0,2	0,1	0,05	0,2	0,1	0,05	0,2	0,1	0,05
Ilość toksyny	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Ilość płynu. buf.	0	0,1	0,15	0	0,1	0,15	0	0,1	0,15	0	0,1	0,15
Nasilenie odczynów na królika	Sur. Nr 1	—	r	R	RI	RI	RI	RI	RI	RN	RN	RN
	Nr 2	—	—	r	R	R	RI	RI	RI	RN	RN	RN
	Nr 3	—	—	r	R	R	R	RI	RI	RI	RN	RN
	Nr 4	—	—	r	R	R	RI	RI	RN	RN	RN	RN
	Nr 5	—	—	—	—	—	—	r	R	RI	RI	RI
	Nr 6	—	—	—	—	—	—	—	r	R	RI	RI
Liczba jednos- tek antytoksyecz.	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	1	2	4
Numeracja ko- lejna probówek	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Kontrola wrażliwości królika

Surowicy wzor- cowej 1 cc =	0,16 cc	0,14	0,125	0,11	0,1	0,09	0,08	0,071	0,063	0,056	0,15
Płyn buforowy do rozcieńczeń	0,05 cc	0,06	0,07	0,09	0,1	0,11	0,12	0,13	0,14	0,14	0,05
Toksyna	0,1 cc	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Numeracja ko- lejna probówek	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Nasilenie od- czynów	—	—	—	—	—	—	—	R	R	RI	RI

r — małe zaczerwienienie, R — duże zaczerwienienie, RI — nacieczenie (infiltrat), RN — martwica (necrosa).

kategoriach wieku oraz w tem samym środowisku. Szczególnie podkreślamy znaczenie tego ostatniego czynnika. Obserwacje innych badaczy (*Zinsser, Hirszfeldowie, Mayzner, Halberówna, Barański, Brokman i inni*) zarówno jak i nasze wskazują, że czynnika tego nie należy lekceważyć. Przyczyna coprawda jest trudno uchwytna, ale ci wszyscy, którzy praktycznie zajmują się szczepieniem wiedzą dobrze, że szczepienia przeprowadzone zapomocą tego samego produktu pośród dzieci w takim samym wieku, często nawet i spośród tych samych sfer społecznych, lecz znajdujących się w różnych skupieniach, mają przebieg różny; zespoły dla tych czy innych powodów reagują inaczej.

Mogą tu wchodzić w grę różne czynniki jak np. to, że osobniki, żyjące w środowisku zakażonem oraz w dużych skupieniach uodporniają się lepiej; w lecie odporność powstaje łatwiej, niż w innych porach roku wreszcie bliżej nieznaną wpływ na uodpornianie wywierają bodźce nieswoiste jak odżywianie i t. p.

Dla wyżej wymienionych powodów tabele nasze uwzględniają wyniki otrzymane w poszczególnych Zakładach oddzielnie.

Zanim przystąpimy do omówienia wyników szczepień zapomocą różnych anatoksyn, podamy pokrótce metody ich przygotowania:

Produkt Nr. 1: anatoksyna zwykła, wyjściowa, dostarczona nam z Działu Produkcji P. Z. H., jest zwykłą anatoksyną, otrzymywaną z toksyny przez dodatek do niej 6‰ formaliny. Nazwiemy ją anatoks. P. Z. H.

Produkt Nr. 2 i 3: anatoksyna oczyszczona i zagęszczona przygotowywana była pg. wzoru podanego powyżej.

Do badań używałyśmy anatoksyny skoncentrowanej

rozcieńczonej do 40 J w 1 ccm. (produkt Nr. 2)

oraz

rozcieńczonej do 200 J w 1 ccm. (produkt Nr. 3)

Porównując anatoksynę przygotowaną w sposób zwykły (produkt Nr. 1) z anatoksyną oczyszczoną (produkt Nr. 2), zależało nam w pierwszym rzędzie na dokładnem skontrolowaniu, czy usunięcie z produktu dużej ilości ciał pobocznych, nieswoistych nie obniży zdolności antygenowych produktu. Sprawa ta, omawiana

w literaturze teoretycznie, nie była dotąd poddana ścisłym badaniom porównawczym. Zagadnienie, czy anatoksyna, niezależnie od rozczywników, w których się znajduje, będzie jednakowo dobrym antygenem, pozostawało otwarte. Zagadnienie to jest tem bardziej interesujące, że *Ramon*, potęgował produkcję przeciwciał dodając do anatoksyny substancji obcych, drażniących. Należało zatem liczyć się z możliwością, że odczyny zależne od drażniących substancji będą zwiększały siłę antygenową szczepionki; w omawianym zaś wypadku anatoksyna oczyszczona została uwolniona od czynników obcych. Własności fizyczne i chemiczne używanych przez nas produktów były następujące.

Anatoksyna pierwotna	Anatoksyna oczyszczona
1) barwa ciemno-żółta	bezbarwna
2) ciężar własc. 1,0031	1,0008
3) odczyn biuretowy bardzo wyraźny	ujemny lub ślad minimalny
4) ilość N 3 — 4 mg w 1 cm ³	0,04 — 0,06 mg w 1 cm ³

Przy stosowaniu anatoksyny oczyszczonej i zagęszczonej zawierającej w 1 ccm. 200 J. R., chodziło o ustalenie, czy jednorazowe wstrzyknięcie skoncentrowanej ilości anatoksyny wystarczy dla wytworzenia odporności czynnej.

Znaczenie szczepień jednokrotnych jest zupełnie jasne. Przy tego rodzaju systemie szczepień możliwe jest nie tylko przeszczepienie większej liczby osobników w ciągu krótkiego czasu, co posiada wielkie znaczenie dla uniknięcia epidemii, ale nadto znakomicie ułatwia przeszczepianie małych dzieci, do których dostęp dotąd jest najtrudniejszy. Mamy na myśli dzieci bardzo młode w wieku przedszkolnym, a więc to społeczeństwo dziecięce, które nie jest jeszcze zorganizowane, a które stanowi materiał najbardziej wrażliwy na zakażenie. Przy systemie szczepień skojarzonych przeciwospowych i przeciwbłoniczych, które wprowadzone zostały u nas w Łodzi (1931 r.) oraz w Warszawie (1932 r.) na pewnych ograniczonych terenach, akcja ochronna przeciwbłonicza kończyłaby się równocześnie z akcją ochronną przeciwospową.

Według *Jensena* anatoksyna zagęszczona daje bardzo szybkie wzmożenie jednostek antytoksyecznych, co zostało i przez nas stwierdzone. Nadaje się przeto szczególnie do stosowania podczas epidemji, kiedy zależy na szybkim wytworzeniu odporności w otoczeniu,

Wyniki szczepień z uwzględnieniem kategorii wieku, ilości przeciwciał przed i po szczepieniu podają tabele Nr, I i II.

T A B L I C A I a
Zakład w Klarysewie

Szczepienia anatoksyną P. Z. H. 1cc = 30 J. R.

Liczba jednostek przed uodpornieniem	Wiek	Liczba jednostek po uodpornieniu							
		0,0005 — 0,03	0,04 — 0,1	0,2—1	1,5—5	6—10	11—19	20—40	40
0,005 — 0,03	1—3 lat		3	8	2	1	1	1	2
	3—5 „		2	3	2	1	1	2	7
	5—7 „			1	1	1		1	1
0,04 — 0,1	3—5 lat			4				2	4
	5—7 „					1			1
0,2 — 1	3—5 lat			1					
	5—7 „				1				1

Przebadanych było 55 dzieci.

Nie uodporniło się 0.

Uodporniło się 21 dzieci do 1 jednostki

„ „ 10 „ „ 10 „

„ „ 8 „ „ 40 „

„ „ 16 „ wyżej 40 jednostek.

T A B L I C A 1b

Zakład w Klarysewie

Szczepienia anatoksyną oczyszczoną 1 cc = 40 J. R.

Liczba jednostek przed uodpornieniem	Wiek	Liczba jednostek po uodpornieniu							
		0,0005 — 0,03	0,04 — 0,1	0,2—1	1,5—5	6—10	11—19	20—40	40
0,005 — 0,03	1—3 lat			10	8	3		1	2
	3—5 ..			3	1	5	1	2	2
	5—7 ..							1	
0,04 — 0,1	1—3 lat				1				1
	3—5 ..		2	1		1		1	
	5—7 ..								1
0,2 — 1	3—5 lat				2				

Przebadanych było 47 dzieci.

Nie uodporniło się 0.

Uodporniło się 15 dzieci do 1-ej jednostki

" " 20 " " 10 "

" " 6 " " 40 "

" " 6 " powyżej 40 jednostek.

W Zakładzie w Klarysewie przebadano tylko produkt Nr. 1, t. zn. anatoksynę pierwotną oraz produkt Nr. 2 t. zn. anatoksynę oczyszczoną. Szczepiono dwukrotnie, pierwszy raz 1 cc. i poraz drugi po 4-ech tygodniach po 2 cc. Razem dzieci otrzymywały po 90 j, anatoksyny P. Z. H. anatoksyny zaś oczyszczonej po 120 j. Do powtórnego badania pobierano krew po 1 miesiącu od ostatniego szczepienia. Przebadano łącznie 102 dzieci przed i po szczepieniu. Rozumie się, że do obu grup przeznaczona była początkowo jednakowa liczba dzieci.

T A B L I C A II

Zakład im. Boduena

Anatoksyna P. Z. H. wstrzykiwania 2-krotnie 1 cc = 30 J. R.

Liczba jednostek przed uodpornieniem	Wiek	Liczba jednostek po uodpornieniu							
		0,005 — 0,03	0,04 — 0,1	0,2—1	1,5—5	6—10	11—19	20—40	40
0,005 — 0,03	1—2 lat	3	4	8	1		2		
	3—5 „					2			
0,04 — 0,1	1—3 lat				1				
	3—5 „				1				
0,2 — 1	1—2 lat			1					

Przebadanych było 23 dzieci. Nie uodporniło się 3 dzieci.

Uodporniło się 13 dzieci do 1 jednostki

„ „ 5 „ „ 10 „
 „ „ 2 „ powyżej 10 jednostek.

Anatoksyna oczyszczona szczepiona 2-krotnie 1 cc = 40 J.

0,005 — 0,01	1—2 lat		2	2	1				1
	3—5 „				1		1	1	1
0,2 — 1	1—3 lat				1	1			

Przebadano 12 dzieci. Nie uodporniło się 0.

Uodporniło się 4 dzieci do 1 jednostki

„ „ 5 „ „ 10 „
 „ „ 3 „ powyżej 20/40 jednostek.

Anatoksyna oczyszczona i zagęszczona, wstrzyknięta 1-krotnie 1 cc = 200 jedn.

0,005 — 0,03	1—2 lat		1	6	2		1		1
	3—5 „			2					1
0,04—0,1	1—2 lat			3					1
0,2 — 1	3—5 lat								1

Przebadano 19 dzieci. Nie uodporniło się 0 dzieci.

Uodporniło się 12 dzieci do 1 jednostki.

„ „ 3 „ „ 20 „
 „ „ 4 „ powyżej 40 „ jednostek.

Z przyczyn od nas niezależnych nie udało się u wszystkich przeprowadzić badań do końca, dlatego też pierwsza grupa, którą szczepiono produktem Nr. 1 obejmowała 55 dzieci, druga grupa którą szczepiono produktem Nr. 2 — 47 dzieci. Wszystkie dzieci w obu grupach uodporniły się, przyczem miano przeciwciał podniosło się w niektórych wypadkach bardzo wysoko.

Jak widać z tablic, materiał szczepienny w obu grupach był bardzo do siebie zbliżony. W pierwszej grupie mieliśmy 40 dzieci z antytoksyną normalną poniżej 0,005 J. A. (74%), w drugiej grupie — 48 (78%). Były to dzieci, praktycznie biorąc, bez przeciwciał, a więc kategoria dzieci, która najtrudniej wytwarza antytoksyny (*Hirsfeldowie, Sparrow i inni*). Większość dzieci w obu badanych grupach była w wieku od 1 roku do 5-ciu lat.

Z zestawień wynika (tabela Nr. 1), że anatoksyna oczyszczona nie ustępuje pod względem swych własności antygenowych anatoksynie pierwotnej.

Fakt, że w I-ej grupie znalazło się więcej dzieci, które wytworzyły antytoksyny powyżej 40 J. A., tłumaczy się większą liczbą w tej grupie dzieci starszych, a więc serologicznie bardziej dojrzałych, zdolniejszych do produkcji przeciwciał.

Z tabliczki widoczne jest, że w grupie I-ej na 55 dzieci mamy 37 wyżej 3-ech lat (67%), w tem 9-ro wyżej 5-ciu lat, w II-ej grupie na 47 dzieci mamy 23 dzieci powyżej 3-ch lat (49%), w tem 2-je tylko powyżej 5-ciu lat.

Na 16-ro dzieci z grupy I-ej, które wytworzyły powyżej 40 J. A., 3-je miało powyżej 3-ech lat, a 3-je było młodszych. W tej grupie dzieci obserwujemy większy odsetek miana, sięgającego 10 J. A.

Wobec powyższych danych, różnice w stopniu osiągniętej odporności dla obu grup dzieci są znikome.

W Zakładzie im. Boduena szczepiono 54 dzieci za pomocą 3-ch produktów: Nr. 1, 2 i 3.

Tutaj również, ze względów od nas niezależnych, nie wszystkie grupy obejmowały jednakową liczbę dzieci przebadanych całkowicie, t. zn. przed i po uodpornieniu. Produkt Nr. 1 i Nr. 2 były stosowane w ten sam sposób, jak w Zakładzie w Klarysewie, trzeci zaś produkt t. zn. anatoksyna oczyszczona i zagęszczona zawierająca 200 J. R, w 1 cc była wstrzykiwana jeden raz w ilości

1 cc. Próbkę krwi w tym ostatnim wypadku pobierano po 1 miesiącu od chwili szczepienia.

Zawartość antytoksyn normalnych we krwi dzieci przed szczepieniem przedstawiała się następująco:

grupa I-sza (szczepiona anatoksyną wyjściową) obejmowała 87 % dzieci z antytoksyną normalną poniżej 0,005 J. A.

grupa II-ga (szczepiona anatoksyną oczyszczoną) liczyła 83 % dzieci z antytoksyną normalną poniżej 0,005 J. A.

grupa III-cia (anatoksyna zagęszczona) liczyła 74 % dzieci z antytoksyną normalną poniżej 0,005 J. A.

Najwięcej dzieci we wszystkich grupach było od 1 roku do 2-ch lat, a więc pod względem wieku materiał był prawie jednolity.

Z tabeli Nr II wynika, że w I-szej grupie dzieci wzmożła się ilość antytoksyn we krwi stosunkowo najslabiej: 3-je dzieci nie uodporniło się wcale, tylko 2-je osiągnęło miano antytoksyczne powyżej 10 J. A.

W II-ej grupie wszystkie dzieci uodporniły się, u 3-ga dzieci miano antytoksyn podniosło się powyżej 20, względnie 40 J. A. W III-ej grupie wszystkie dzieci uodporniły się; u 4-ga dzieci miano antytoksyn podniosło się powyżej 40 J. A., z nich 3-je dzieci było w wieku do 2 lat.

Wyniki zatem, dotyczące anatoksyny oczyszczonej o sile 40 J. R. w 1 cc potwierdzają dane otrzymane w Zakładzie w Kłarysewie, z pewną nawet przewagą na korzyść anatoksyny oczyszczonej. Wyniki otrzymane w obu Zakładach pozwalają na stwierdzenie co najmniej równowartości obu badanych anatoksyn pod względem antygenowym.

Produkt Nr 3 (anatoksyna oczyszczona i zagęszczona) wykazuje jeszcze lepsze działanie. Jednorazowy zastrzyk anatoksyny zagęszczonej wywołuje wysoką odporność; około $\frac{1}{5}$ dzieci (w wieku do 2 lat) wytworzyło antytoksyny powyżej 40 J. A. Biorąc pod uwagę, że odporność ta została osiągnięta już po miesiącu (a być może i wcześniej) od chwili wstrzyknięcia zapo-

biegawczego, podkreślamy jeszcze raz dużą wartość praktyczną szczepienia jednokrotnego.

Jeżeli zesumować liczbę dzieci zaszczepionych anatoksyną oczyszczoną w obu Zakładach ($47 + 12$), mamy 59 przypadków przebadanych; dla anatoksyny zagęszczonej i zastrzykniętej jednocześnie mamy 19 przypadków. Przypadek złożył się na to, że w tej grupie najwięcej nam dzieci ubyło przy ostatniej kontroli. Pozwalamy sobie przeto przyłączyć do tej grupy dane, które otrzymali *Sparrow* i *Mayzner* w roku 1932, szczepiąc anatoksyną zagęszczoną zawierającą po 50 i 100 J. R. Na 22 dzieci, którym autorzy ci wstrzyknęli po 100 J. R. — 20 podniosło b. wyraźnie miano antytoksyczne, poczynawszy od $\frac{1}{10}$ do 20 — 50 jednostek. Tylko dwoje dzieci, które przed zastrzykiem nie wykazały nawet minimalnych ilości przeciwciał nie uodporniły się. Mamy tedy razem 41 przypadków, co stanowi już materiał, z którego można wysnuć pewne wnioski.

Odczyny poszczepienne. Poruszając to zagadnienie, będziemy się opierać na obserwacjach dotyczących nie tylko dzieci zbadanych w wyżej wymienionych Zakładach zamkniętych, ale również dzieci objętych akcją szczepienną w szkołach i ośrodkach zdrowia w latach 1933 i 1934, kiedy to szczepiono wszystkimi trzema antygenami (anatoksynami).

Dla ścisłości definicji ustaliliśmy następujące kategorie odczynów poszczepiennych:

- Słabe odczyny** — mały odczyn miejscowy, temperatura normalna.
- Średnie odczyny** — miejscowy obrzęk wielkości dłoni, temperatura 37° z kreskami
- Silne odczyny** — miejscowy obrzęk, duże zasinienie, temperatura wyżej 38° .

Specjalną wagę przypisujemy odczynom średnim (dziecko odczuwa bolesność nogi, spowodowaną podniesioną temperaturą często nie przychodzi do szkoły w ciągu 1—3 dni, co utrudnia normalny bieg lekcji).

Anatoksyna wyjściowa dawała około 25 — 50% odczynów średnich. Anatoksyna oczyszczona (40 J. R. w lccm) dawała minimalną

liczbę takich odczynów poszczepiennych, bywały szkoły; gdzie nie zanotowano ani jednego odczynu.

Ciekawe przytem było spostrzeżenie, że, pomimo prawie bezodczynowo przebiegających szczepień przy pomocy anatoksyny oczyszczonej, zdarzały się jednak wśród tej serii szczepionych odczyny zaliczane do kategorii silnych.

Anatoksyna oczyszczona i rozcieńczona do 40 J. R., jest niemal całkowicie pozbawiona czynników ubocznych, a zwłaszcza tych, które mogłyby wywoływać odczyny nieswoiste. Usunięto 98,5% substancji azotowych (pośród których musi się znaleźć w pierwszym rzędzie białko), brak tu również formaliny, która przy wstrzykiwaniu daje pewne nieprzyjemne uczucie pieczenia.

Widzimy zatem, że przy stosowaniu anatoksyny oczyszczonej znikają prawie całkowicie odczyny średnie, a pozostają pomimo to, nieliczne coprawda, odczyny silne. Fakty te skłaniają nas do następującego przypuszczenia: Sądzymy, że odczyny silne, które zanotowano przy szczepieniach anatoksyną oczyszczaną, należy przypisać wrażliwości osobniczej na antygen swoisty. Tutaj oczywiście dalsze w oczyszczanie produktu nic nie pomoże (pod tym względem nie zgadzamy się z ujęciem tych spraw przez *Jensena*, który sądzi, że przez zupełne oczyszczenie anatoksyny można będzie całkowicie uniknąć odczynów poszczepiennych). Zawsze będą takie osobniki, które będą silnie reagowały na swoisty antygen. Wobec tych osobników jesteśmy oczywiście bezradni. Możemy osiągnąć jedynie zmniejszenie odczynów nieswoistych, do których prawdopodobnie należy większość odczynów średnich.

Co się tyczy odczynów poszczepiennych po anatoksynie oczyszczonej i zagęszczonej, to musimy tu wydzielić obserwacje nasze do dnia 10.12.1934 r.; pewną liczbę szczepień wykonanych od tej daty omówimy oddzielnie.

W ciągu 1933 i 1934 roku przeszczepiono anatoksyną stężoną w Ośrodkach Zdrowia i Zakładach Wychowawczych 7.656 dzieci jednokrotnie po 200 i 100 J. R., nadto szczepiono w trzech szkołach 899 dzieci i 71 dzieci w przedszkolach, co stanowi 8,626 dzieci. We wszystkich tych wypadkach odczyny poszczepienne były tej samej miary co przy anatoksynie oczyszczonej zawierającej

40 J. R., t.zn. prawie zupełny brak odczynów średnich, minimalny odsetek odczynów silnych.

Dnia 10.12.1934 r. szczepiono w szkołach dzieci anatoksyną stężoną, przyczem zanotowano 11 bardzo silnych odczynów przekraczających normy przez nas przyjęte, nadto duży odsetek odczynów dość silnych. Poza owymi 11-ma przypadkami do których wzywano spośród nas lekarza, reszta nie była przez nas sprawdzona i dane zebrano tylko z wywiadu (tak, iż dokładniejszych wiadomości o nich nie posiadamy).

Podamy opis kilku przypadków z pośród 11-tu wyżej wspomnianych:

I. C. M., 10 lat szczepiona 15/XII.

16/XII Ból uda $t-37,8^{\circ}$

17 „ idem

18 „ idem

19 „ Bardzo silny ból uda w nocy, $t-39,8^{\circ}$. Wymioty, zamroczenia, obrzęk warg, silny obrzęk całego uda i kolana. Powiększenie gruczołów pachwinowych. Tętno przyspieszone, nierówne, 22/XII $t\ 39^{\circ}$. Wymioty ustały. Obrzęk jak poprzednio.

23 „ Idem

24 „ $t-38,2^{\circ}$. Obrzęk znacznie zmniejszony. Zaczerwienienie plamiste w miejscu zastrzyku. Ogólny stan lepszy.

II. B., 12 lat, szczepiona 17/XII.

18/XII, 19 i 20/XII—obecna była w szkole; minimalny obrzęk miejscowy i ból.

22/XII Duży obrzęk uda. Silny ból. Zaczerwienienie plamiste w miejscu zastrzyku $T-39,2^{\circ}$. Tętno b. przyspieszone.

23/XII idem

24 „ $t-37,3^{\circ}$. Objawy utrzymują się.

26 „ Ból mniejszy. Objawy zmniejszają się. T —normalna.

Odczyny, jakie miały miejsce w powyższych szkołach, zaskoczyły nas, tembardziej, że dotąd słyszeliśmy tylko dodatnie opinie o szczepieniach jednokrotnych.

Cały nasz wysiłek został skierowany przeto dla wyjaśnienia tych nieoczekiwanych odczynów. Powtórzono wszelkie kontrole dotyczące produktu, szczepiono ponownie świnki morskie, myszy, sprawdzono jałowość. Wszystkie kontrole wypadły dla produktu

bez zarzutu. Należy przypuszczać, że zbiegło się w tych wypadkach działanie jakichś przypadkowych czynników: to oczywiście nie da się skonstatować. Szukając przyczyn, zwróciliśmy uwagę na jeden moment, na który dotąd może niezbyt wielką zwracano uwagę, a mianowicie, że wszystkie silne odczyny miały miejsce wyłącznie wśród dzieci starszych, począwszy od lat 10-ciu wzwyż.

Kilka silnych odczynów, zaobserwowała również *Sparrow*, szczepiąc anatoksyną stężoną w Zakładzie zamkniętym dorosłe dzieci.

Natomiast nigdy nie spostrzegano silnych odczynów wśród dzieci do lat 9-ciu.

Wywiad wśród lekarzy szczepiących pozwolił nam na ustalenie jeszcze jednego faktu; mianowicie: niektórzy z nich, biorąc pod uwagę, że starszym dzieciom należy dawać mniejsze dawki, szczepiąc połową dawki, odczynów mocnych nawet u starszej młodzieży nie obserwowali.

Ponieważ, jak wykazała dokładniejsza analiza tych spraw (o czym zresztą będzie jeszcze mowa poniżej), dzieci starsze łatwiej produkują przeciwciała, można wobec tego podawać im mniejszą ilość antygeny (pół dawki = 100 J. R.).

W wielkiej akcji szczepiennej, którą przeprowadzono w Chicago w roku 1932, dzieci podzielono na dwie grupy. Wszystkie dzieci poniżej lat 10-ciu otrzymywały dwie dawki anatoksyny, powyżej 10-ciu lat — dostawały mieszanek toksyny z antytoksyną. *Sparrow*, szczepiąc nową anatoksyną wzbogaconą w jednostki antygenowe, podawała dzieciom do lat 9 anatoksynę w dawkach 1 cc — 2 cc starszym $\frac{1}{2}$ i 1 cc.

Jensen opisuje w roku 1932 kilka przypadków silnych odczynów u dzieci szczepionych anatoksyną oczyszczoną i skoncentrowaną (zapomocą metody *Schmidta*). Na 700 dzieci zaszczepionych zaobserwował on 5 wypadków rumienia. Odczyny pojawiały się w trzecim wzgl. szóstym dniu po wprowadzeniu antygeny, nasilenie największe, trwało około 3-ch dni (temperatura — 38,5 — 39°). Autor sądzi, że chodzi tu o alergię lokalną dokoła ładunku anatoksyny.

Ponieważ objawy spostrzeżone u wyżej opisanych 11-ga dzieci przypominały istotnie objawy alergiczne (natury raczej ogólnej)

nastawiłyśmy doświadczenia ze świnkami morskimi, uprzednio uodpornionymi anatoksyną błoniczą sądząc, że w ten sposób wywołamy stan alergiczny. Wyniki jednak nie potwierdziły przypuszczeń.

Sądzimy, że póki przyczyna nie zostanie wyjaśniona teoretycznie, zalecać będziemy szczepienia jednokrotne anatoksyną stężoną tylko dla dzieci do 9 — 10 lat.

Badania wartości antygenowej anatoksyn na zwierzętach

Chcąc porównać różne anatoksyny błonicze z punktu widzenia ich własności uodporniających, szczepiłyśmy świnki anatoksyną błoniczą, a po 4-ch tygodniach wstrzyknęłyśmy im podskórnie po 5 M. L. D. toksyny błoniczej.

Wyszłyśmy z założenia, że trzeba przeprowadzić porównanie anatoksyn, uodporniając zwierzęta minimalną ilością anatoksyny, która ochroni je przy podaniu śmiertelnej dawki toksyny.

Uodporniłyśmy dwadzieścia świnek, wagi od 300 do 500 gramów anatoksyną błoniczą w takim rozcieńczeniu, aby każda świnka otrzymała po 1 jednostce strącalnej. W surowicy krwi świnek przed i po uodpornieniu wymiaraczowałyśmy liczbę jednostek antytoksycznych według systemu doskórniego *Jensena*. Wszystkie świnki przed uodpornieniem miały mniej niż 0,005 J. A. — to jest zupełnie znikomą ilość antytoksyn. Możemy więc powiedzieć, że świnki normalne prawie nie posiadają w surowicy krwi, normalnych antytoksyn błoniczych.

Po uodpornieniu liczba jednostek antytoksycznych podniosła się; jak widzimy z tablicy III miano wahało się między 0,05 i 1,6 jednostek.

Świnki były pod obserwacją w przeciągu czterech tygodni. Po czterech tygodniach wstrzyknięto podskórnie świnkom 5 M.L.D. toksyny błoniczej i obserwowano zwierzęta w przeciągu 20-u dni.

W przeciągu pierwszej doby u wszystkich świnek wystąpił obrzęk tkanek w okolicy wstrzyknięcia toksyny który stopniowo narastał. Po kilku dniach u niektórych świnek pojawiła się martwica tkanki w miejscu obrzęku po 12-tu dniach, jak widzimy z zestawienia tablicy III-ej, toksyna wywołała w sześciu wypad-

kach silną martwicę tkanek, a w 2-ch wypadkach — małą martwicę u świńek, które były uodpornione anatoksyną zwykłą.

T A B L I C A III

Zwierzęta uodpornione jedną jednostką anatoksyny błoniczej; po 4-ch tygodniach dano im po 5 M. L. D. toksyny.

Zwierzęta uodpornione w maju 1 jednostką			
Po miesiącu wstrzyknięto 5 M. L. D. toksyny			
Nr. porz. zwierząt	Liczba jedn. antytoksyny po szczepieniu	Stan zwierząt po 12 dn.	Stan zwierząt po 20 dn.
1	1	nekroza duża	zdrowe
2	0,8	"	"
3	0,8	"	"
4	0,4	"	"
5	0,08	"	"
6	0,05	"	"
7	1,6	nekroza mała	"
8	0,2	"	"
A n a t o k s y n a o c z y s z c z o n a			
1	0,05	nekroza duża	zdrowe
2	0,2	" mała	"
3	0,2	"	"
4	0,8	"	"
Nekroz dużych — 7 — 58%			
" małych — 5 — 42%			

T A B L I C A IV

Zwierzęta uodpornione w grudniu 1 jednostką								
Anatoksyny P. Z. H			Anatoksyny pierw.			Anatoksyny oczysz.		
Liczba J. A. po uodporn.	Stan zwierząt po 10—20 dn. po wstrzykn. 5 M. L. D. toksyny		Liczba J. A. po uodporn.	Stan zwierząt po 10—20 dn. po wstrzykn. 5 M. L. D. toksyny		Liczba J. A. po uodporn.	Stan zwierząt po 10—20 dn. po wstrzykn. 5 M. L. D. toksyny	
0.02	Padło		0.08	Padło		> 0,005	Padło	
	po			po			po	
	10 dn.			5 dn.			2 dn.	
> 0,005	10	„	0.02	4	„	0.02	2	„
0.05	10	„	0.1	3	„	0.01	2	„
0.2	6	„	0.02	3	„	0.2	3	„
0.1	4	„	0.02	3	„	0.2	3	„
0.05	2	„	0.05	3	„	0.08	5	„
> 0,005	neкроза b. duża		0.08	2	„	0.1	6	„
0.2	neкроза mała		0.02	neкроза mała		0.2	zdrowa bez zmian	
0.2	neкроза mała padła		0.2	neкроза mała		0.01	zdrowa bez zmian	
0.05	neкроза mała		Świnka padła po uodp.			0.05	padła po uodpornieniu	
Padło	6		Padło	7		Padło	7	
Wyżyło	4		Wyżyło	2		Wyżyło	2	

Zwierzęta uodpornione anatoksyną 11-gą dały po wstrzyknięciu 5 M L D toksyny w jednym wypadku dużą martwicę tkanki i w trzech wypadkach — małą. Wszystkie zwierzęta pozostały przy życiu, różnica polegała tylko w nasileniu odczynu miejscowego.

Drugie doświadczenie przeprowadziłyśmy na 30-tu świnkach wagi od 400 do 500 gramów. Porównyując w tem doświadczeniu trzy różne anatoksyny, dałyśmy tak samo jak i w pierwszym doświadczeniu każdemu zwierzęciu po 1 J. A. R., a po 4-ch tygodniach — po 5 M. L. D. toksyny błoniczej.

Porównyując wyniki siły uodporniającej tych anatoksyn widzimy, że są one prawie jednakowe, natomiast jeśli będziemy

porównywać wyniki Tablic III i IV-iej, to widzimy znaczną różnicę: a mianowicie:—z 12-tu świnek, uodpornionych anatoksyną P.Z.H. 1 J. A. R. w miesiącu maju — po wstrzyknięciu 5 M. L. D. toksyny nie padło żadne zwierzę, a z 10-iu zwierząt uodpornionych w grudniu 1 J. A. R. tej samej anatoksyny, po wstrzyknięciu tej samej toksyny co w doświadczeniu pierwszym, padło 60 % zwierząt. Przy użyciu w grudniu dwóch innych anatoksyn: anatoksyny pierwotnej i anatoksyny oczyszczonej, mogliśmy zauważyć podobne różnice sezonowe.

Na podstawie powyższego możnaby przypuścić, że zwierzęta uodporniane w maju—uodporniły się lepiej, niż zwierzęta uodporniane w grudniu, co by potwierdzało spostrzeżenia W. Kollego i R. Priggego.

Badania te są oparte na zbyt małym materiale żeby można było wyciągnąć zdecydowane wnioski co do wpływu sezonowości na uodpornienie. Podajemy je jedynie w związku z badaniami na ludziach, jako doświadczenie dodatkowe.

W każdym razie przeprowadzone doświadczenia wskazują że w celu wypróbowywania siły uodporniającej różnych anatoksyn na zwierzętach, uodpornianie ich przeprowadzać należy w tych samych porach roku.

Wobec tego, że doświadczenia w maju były robione na stosunkowo małej liczbie zwierząt, dla otrzymania potwierdzenia naszych dotychczasowych wyników przystępujemy do przeprowadzenia ponownych doświadczeń na większej liczbie zwierząt.

Wyniki jakie osiągnęliśmy, badając dwa ostatnie produkty w grudniu na świnkach morskich, potwierdziły całkowicie wyniki osiągnięte poprzednio na ludziach. Anatoksyna w bardzo dużym stopniu pozbawiona substancji nieswoistych, nie traci nic na własnościach antygenowych. Obie grupy świnek, niezależnie od tego czy były uodpornione jedną jednostką anatoksyny pierwotnej czy jedną jednostką anatoksyny oczyszczonej, zareagowały w zupełnie jednakowy sposób na wstrzyknięcie śmiertelnych dawek toksyny.

Na podstawie danych jakie osiągnęliśmy w badaniach nad dziećmi oraz na świnkach morskich możnaby wnioskować, że anatoksyna jako antygen działa w sposób swoisty, niezależny od ciał, które jej towarzyszą w roztworze buljonowym.

From the Department of Bacteriology and Experimental Medicine, State Institute of Hygiene, Warsaw,
and from the Society of Preventive Medicine, Warsaw (Section of Vaccination)
(Chairman Prof. Dr. L. Hirszfeld)

INVESTIGATIONS ON PURIFIED AND CONCENTRATED ANATOXIN

by

J. JAKÓBKIEWICZ and R. ZAJDEL

SUMMARY

The aim of this work was to examine: if 1) the purified anatoxin deprived in a high degree of its unspecific components (96.4 % of nitrogen substances were removed) keeps its antigenic properties in the degree corresponding to the primary product. 2) a single injection of the concentrated anatoxin produces antitoxins as strong as those obtained after several injections of an ordinary anatoxin.

The investigations were carried on 320 children in two asylums. Children were immunized with 3 kinds of antigens: N° 1-primary anatoxin after Ramon, containing 30 — 32 units in 1 cc. N° 2-anatoxin purified by ultrafiltration containing 40 units in 1 cc. N° 3-anatoxin purified and concentrated by ultrafiltration containing 200 units in 1 cc. Antigens N° 1, i 2 were injected twice (1 cc, 2 cc) while the product N° 3 only once (1 cc).

The immunising power was measured by the Schick test and by titration of antibodies in the serum after Jensen's method.

On account of its antigenic properties the purified anatoxin appeared to be at least equal to the primary anatoxin. The purified and concentrated anatoxin presented the best immunising effect. Immunity was obtained after 1 month; this result renders the method of single inoculation still more valuable.

The primary anatoxin gave 25—50 % of postvaccinal reactions of middle intensity and a small number of strong reactions.

The purified as well as the purified and concentrated anatoxins offered a minimal percentage of middle and of strong reactions.

The majority of middle reactions may be considered as unspecific as they may be avoided by use of the purified anatoxin.

Strong reaction observed after vaccination with purified anatoxin were considered to be a sign of individual susceptibility to the specific antigen.

P I Ś M I E N N I C T W O

1. Bundesen, Fischhein, Nilblak. Jour. of Amer. Med. Assoc. 1933 b. 100.
2. Groer. Bioch. Zeitschr. 138, 1923.
3. Groer, Kassowitz. Zeitschr. für Immunitätsfr. 22, 1914 108, 1915 30, 1920.
4. Hahn i Behring D. IV 1913.
5. Hirszeld. Med. Dośw. i Społ., XIII. 1931 Warsz. Czas. Lekar. 1931 Nr. 30—31.
6. H. i L. Hirszfeldowie Warsz. Czas. Lek. 1931 Nr. 23 i 25 Zeitschr. für Immunitätsfr. 1928, B. 54.
7. H. i L. Hirszfeldowie i H. Brokman. Med. Dośw. i Społ. 1924, II Jour Immun. 1924 IX.
8. W. Halberówna, H. Hirszfeldowa, M. Mayzner Med. Dośw. i Społ. t. 9, 1928.
9. Jensen C. R. S. B. 1931, CVIII, C. R. S. B. T. CX, C. R. S. B. 1932, T. 110.
10. Jensen. Die intrakutane Kaninchenmethode, Lewin & Munksgaard Kopenhagen M. C. M. XXXIII.
11. Jensen Acta patholog. et microbiol. scand, b. 10 1933.
12. Lindeström Lang and S. Schmidt C. K. Labor. Carlsberg b. 18, 3, 1930.
13. M. Nicolle C. R. S. B. T. CXIII, 1933.
14. Park i Zingher. Proceed. N. Y. path. Soc. 1915, XV Med. Assoc. 1922, 79 1923, 81.
15. Przesmycki, Lipowska, Sierakowski C. R. S. B. T. XCVIII, 1928 XCIX, 1928.
16. Przesmycki Warsz. Czas. Lekar. 3—10/V, 1928.
17. Ramon Ann. de l'Inst. Pasteur, 37, 1923.
18. Ramon Debré Ann. de l'Inst. Pasteur 326, 1930 Presse med. 1932, I.
19. Ramon, Timbal, Nelis C. R. S. B. 1932, CIX.
20. Ramon Nelis. C. R. S. B. 1932, CIX.
21. Ramon, Berthelot C. R. S. B. 1932, CX.
22. Ramon, Nelis, Lacomble C. R. S. B. XCIII, 1933.
23. Schmidt C. R. S. B. 1932, CV C. R. B. S., 1931, CVII.
24. Schmidt und Hansen. Bioch. Zeit, 1930, B. 228.
25. H. Sparrow Warsz. Czas. Lekar. 1930, Nr. 7.
26. Sparrow i Kaczyński Zdrowie Nr. 7. 1931.
27. S. Sierakowski i R. Zajdlówna C. R. S. B. BII, 1929 Acta pathologica et microb. scandinavica XX 1930 Med. Dośw. i Społ. XII, 1930.
28. Wadsworth, Quigley, Sickles. Journ. of Immun. 1933, XXV.
29. Wadsworth Quigley Amer. Jour. of Hyg. 1934, b. 20.
30. Zingher. Jour. Amer. Med. Assoc. 1922, 78.
31. R. Zajdlówna i S. Sierakowski i H. Sparrow Med. Dośw. i Społ. X, 1929 C. R. S. B. CII.
32. Róża Zajdel Warsz. Czas. Lekar. 1934 Nr. 9 i 10 C. R. S. B. 1932 CXI, C. R. S. B., 1934, C. XVI, 239 C. R. S. B. C. XVI, 236, 33, W. Kolle i R. Prigge Deutsche Med. Wochschr. Nr. 33, 1934.

Wpłynęło 4.1.1935

Z Państwowego Zakładu Higieny Dział Bakterjologii i Medycyny Doświadczalnej
(Kierownik Prof. Dr. L. Hirsfeld)
i z Sekcji Szczepień Warszawskiego T-wa Medycyny Zapobiegawczej

ZAGADNIENIA SEROLOGJI KONSTITUCYJNEJ W ZWIĄZKU Z ODPORNOŚCIĄ FIZJOLOGICZNĄ, I NABYTĄ NA JADY BŁONICZE

Podały

R. ZAJDLÓWNA i J. JAKÓBKIEWICZOWA

W komunikacie I usiłowaliśmy na podstawie materiału szczepiennego rozwiązać zagadnienie, czy oczyszczona anatoksyna wywołuje ciała odpornościowe równie silne, jak anatoksyna nieoczyszczona, i czy zapomocą odpowiednio silnego, jednorazowego bodźca można wywołać antytoksyny dość mocne, któreby mogły, w myśl współczesnego stanu wiedzy, uchronić dzieci przed zakażeniem zjadliwymi prątkami błoniczemi. Na obydwie zagadnienia można było odpowiedzieć twierdząco. Pod względem antygenowym nie stwierdziłyśmy istotnych różnic pomiędzy działaniem anatoksyn oczyszczonych i nieoczyszczonych, natomiast stwierdziłyśmy, że jednorazowy silny bodziec powoduje powstanie dostatecznej ilości przeciwciał.

Materiał nasz pragnęłybyśmy zanalizować z punktu widzenia nieco szerszego. Medycyna zwraca wciąż większą uwagę na czynnik konstytucyjny w zjawiskach odpornościowych. Wiemy obecnie, głównie dzięki badaczom polskim, że skłonność do błonicy i płonicy, którą mierzyć możemy zapomocą odczynów Schicka i Dicka, jest uwarunkowane konstytucyjnie, że potomstwo osobni-

ków wrażliwych jest prawie zawsze wrażliwe. Badania te znalazły potwierdzenie i bliższe umotywowanie w pracach *Kączkowskiego*, *Szymanowskiego* i *Wachlerówny*, *Schermera* i jego współpracowników nad dziedziczeniem izoaglutynin. Szereg jednak zagadnień, będących w związku z uodpornianiem przeciwko błonicy, nie znalazł jeszcze dotychczas wystarczającego opracowania doświadczalnego. Chodzi tu o następujące zagadnienia: a) jakie kategorie wieku nadają się wogóle do uodporniania, b) czy przeciwciała normalne, które stwierdzamy u osobnika, są rzeczywiście wyrazem konstytucyjnej zdolności do wytwarzania danych przeciwciał, c) czy obecność antytoksyn przeciwbłonicy warunkuje zawsze ujemny odczyn Schicka i vice-versa, czy u dzieci z dodatnim odczynem Schicka, nie spotykamy antytoksyn i wreszcie d) jak wytwarzają ciała odpornościowe dzieci pozbawione antytoksyn fizjologicznych, a jednak posiadające ujemny odczyn Schicka.

W dotychczasowych badaniach starano się stwierdzić jaki odsetek dzieci w różnych kategoriach wieku zmienia po szczepieniu odczyn Schicka dodatni na ujemny. Badania *Sparrow* oraz *Parka* wykazały, że naogół u dzieci młodszych występuje większy odsetek osobników, u których po szczepieniu pozostaje nadal dodatni odczyn, i że odporność nabyta naogół trwa krócej u dzieci młodszych niż u starszych (*Hirszfellowa*, *Mayzner*, *Sparrow*, *Park*, *Ramon*). Badania wyżej wspomnianych autorów wskazują również na to, że w końcu pierwszego roku życia, dzieci są już zdolne do wytwarzania ciał odpornościowych, choć naogół uodporniają się rzadziej. *Hirszfeld* sformułował te prawa w sposób następujący: przeciwciała fizjologiczne pojawiają się i narastają w pewnym wieku. Moment, w którym nasilenie przeciwciał umożliwia ich stwierdzenie, nazywa *Hirszfeld* krytycznym punktem odpornościowym. Zdolność wytwarzania ciał odpornościowych jest zdaniem *Hirszfelda* ceteris paribus zależna od oddalenia od punktu krytycznego. Z tego wynikałoby, że zdolność wytwarzania przeciwciał będzie zależała zarówno od wieku, jak i od obecności pewnej ilości przeciwciał normalnych, które byłyby wyrazem swoistego nastawienia się ustroju w stosunku do danego antygeny.

Prawa wyżej sformułowane, opierają się na stosunkowo niewielkim materiale doświadczalnym. Należy się liczyć bowiem

z możliwością, że jakościowo różne przeciwciała normalne, pojawiają się w rozmaitych granicach wieku, a co zatem idzie, że zdolność wytwarzania ciał odpornościowych może być odmienna dla rozmaitych antygenów, w rozmaitych kategoriach wieku. Specjalnie w stosunku do błonicy dotychczas przeważnie mierzono zdolność uodporniania odsetkiem ujemnych odczynów Schicka, a nie zawartością antytoksyn, które się pojawiły u ludzi pod wpływem uodpornienia. W pracy naszej staramy się wypełnić te luki.

Materiał podany w komunikacie I zestawiliśmy w ten sposób aby umożliwić wnioski i odpowiedzi na wyżej postawione pytania.

Tablica I zestawia całkowity materiał badany podług kategorii wieku i zawartości antytoksyn normalnych.

T A B L I C A I
Zakład w Klarysewie i im. Boduena

Liczba jednostek przed uodpornieniem	Liczba dzieci	Wiek	Liczba jednostek po uodpornieniu							
			0,005 — 0,03	0,04 — 0,1	0,2—1	1,5—5	6—10	11—15	20—40	40
0,005 — 0,03	77	1—3 lat	3	10	34	14	4	4	2	6
	41	3—5 „	—	2	8	4	8	3	5	11
	6	5—7 „	—	—	1	1	1	—	2	1
0,04 — 0,1	7	1—3 „	—	—	3	2	—	—	—	2
	16	3—5 „	—	2	5	1	1	—	3	4
	3	5—7 „	—	—	—	—	1	—	—	2
0,2 — 1	4	1—2 „	—	—	1	1	1	—	—	1
	3	3—5 „	—	—	1	2	—	—	—	—
	2	5—7 „	—	—	—	1	—	—	—	1
1		1—2 „	—	—	—	—	—	—	—	—
		3—5 „	—	—	—	—	—	—	—	—
		5—7 „	—	—	—	—	—	—	—	—

Liczby w rubrykach oznaczają liczbę dzieci szczepionych. www.dlibra.wum.edu.pl

Rozbijmy tę tablicę na dwie, aby móc oddzielnie zbadać powstawanie antytoksyn odpornościowych w zależności od obecności antytoksyn normalnych i od wieku.

T A B L I C A I a

Liczba jednostek antytoksynicznych przed uodpornieniem	Liczba dzieci	Liczba jednostek antytoksynicznych po uodpornieniu							
		0,005 — 0,03	0,04 — 0,1	0,2 — 1,0	1,5—5	6—10	11—19	20—40	40
0,005 — 0,03	124	3	12	43	19	13	7	9	18
0,04 — 0,1	26	—	2	8	3	2	—	3	8
0,2 — 1,0	9	—	—	2	4	1	—	—	2

Tablica Ia wykazuje, że rzeczywiście obecność przeciwciał odpornościowych fizjologicznych jest do pewnego stopnia wyrazem swoistej zdolności wytwarzania antytoksyn odpornościowych. Tak np. na 124 dzieci posiadających poniżej 0,03 jednostki antytoksynicznej w 1 ccm surowicy, 58 wytworzyło ciała odpornościowe w ilości poniżej 1 jednostki (47%), a 66 powyżej 1-ej jednostki.

Zaś na 35 dzieci, które posiadają antytoksyny w ilości powyżej 1/30 jednostki, uznanej przez Schicka zawartość graniczną warunkującą ujemny odczyn Schicka, 12-ro a więc 34% miało przeciwciała w ilości poniżej 1-ej jednostki. Tablica wykazuje również zależność między ilością antytoksyn normalnych i wysokością miana antytoksyn odpornościowych.

Większe jednak różnice w powstawaniu antytoksyn warunkuje wiek dziecka (tablica Ib).

Jak wykazuje tablica Ib na 88-ro dzieci do 3-go roku życia tylko 37-ro wytworzyło antytoksyny w ilości większej od 1 jednostki (42%), wśród 60-ga dzieci od 3—5 roku życia—w 42 przypadkach stwierdzono ilość antytoksyn powyżej 1 jednostki a więc w 70%; zaś na 8-ro dzieci powyżej 5 lat stwierdzamy aż w 7-miu

T A B L I C A 1b

Wiek	Liczba jednostek po uodpornieniu								Liczba dzieci
	0,005—0,05	0,04—0,1	0,2—1,0	1,5—5	6—10	11—13	20—40	40	
1 — 3	3	10	38	17	5	4	2	9	88
3 — 5	—	4	14	7	9	3	8	15	60
5 — 7	—	—	1	2	1	—	2	2	8

przypadkach miano antytoksyn powyżej 1 jednostki. Widzimy zatem, że wpływ wieku na zdolności wytwarzania przeciwciał normalnych, jest dominujący; ze z tych dwóch wyników: wiek i obecność przeciwciał—pierwszy gra rolę naogół większą. Tablica I wykazuje jednocześnie, że dzieci starsze z taką samą zawartością antytoksyn normalnych jak młodsze uodporniają się lepiej, na dowód że obecność pewnej małej ilości ciał odpornościowych zależy nie tylko od czynników konstytucyjnych, ale i od przypadkowego zetknięcia się z zarazkiem.

Reasumując wyniki omawianych doświadczeń powiedzieć możemy, że dzieci od 1 — 3 lat mogą wytwarzać ciała odpornościowe, a co zatem idzie, możliwość uodporniania małych dzieci przeciwko błonicy znajduje zupełne potwierdzenie doświadczalne.

Przejdźmy obecnie do zagadnienia, czy odczyn Schicka ujemny jest, jak sądził *Schick*, wyrazem obecności antytoksyn normalnych w ilości powyżej 1/30 jednostki. Należy nadmienić, że podobne ujęcie sprawy, nieco zanadto upraszcza analizę. Niektóre przeciwciała pojawiają się samoistnie i narastają z wiekiem. W młodym wieku obecność słabych przeciwciał bynajmniej nie musi być wyrazem nieudolności serologicznej. Miano 1/30 podane przez *Schicka*, powinno było być prawdopodobnie już a priori, uzależnione od kategorii wieku. Być może że nieuwzględnienie tego czynnika jest przyczyną rozbieżności zdań rozmaitych autorów. Na zjeździe w Londynie zarysowały się one dość wyraźnie. Szkoła francuska, specjalnie *Ramon*, była zdania, że dodatni odczyn

Schicka, związany jest naogół z brakiem antytoksyn, ujemny odczyn Schicka, przeciwnie oznacza obecność antytoksyn, powyżej $1/30$ J. Doświadczalne prace polskie, podane przez *Sparrow*, wykazały u 34-ga dzieci z ujemnym odczynem Schicka liczbę jednostek antytoksycznych poniżej $1/30$ J. Na takim samym stanowisku stał *Klaus Jensen*. Więcej, podług *Jensena* odczyn Schicka pozostawał dodatni nawet w tych wypadkach, gdy liczba jednostek antytoksycznych znacznie wzrosła i odwrotnie miano antytoksyn mogło nie ulec zmianie mimo osłabienia odczynu Schicka.

Tablica II zestawia stwierdzoną przez nas zawartość antytoksyn normalnych w związku z odczynem Schicka.

T A B L I C A II.

Odczyn Schicka	Liczba jednostek antytoksycznych u dzieci przed uodpornieniem												
	0,005	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,8	2,0
+++	11		3	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
++	19	1	3	—	—	2	1	3	—	1	—	—	—
+	32	4	6	—	—	4	3	1	—	—	—	—	—
Razem dod.	62	5	12	—	—	7	4	4	—	1	—	—	—
Ujemn.	15	3	12	3	1	6	9	23	2	2	—	1	1

Liczby w rubrykach oznaczają dzieci o danej zawartości antytoksyn.

Dla ułatwienia orjentacji zestawiamy w postaci skróconej, materiał podany w tablicy II uwzględniając miano 0,03, jakoby charakterystyczne dla powstania ujemnego odczynu Schicka i w tablicy II-ej podzielimy ten materiał ryczałtem na posiadające poniżej i powyżej 0,03 jednostek antytoksycznych.

Pośród dzieci o dodatnim odczynie Schicka spotykamy zatem 17% takich przypadków, gdzie zawartość antytoksyn była większa od 0,03 J. A., a pośród dzieci o ujemnym odcz. Schicka 38% przypadków, gdzie zawartość antytoksyn była mniejsza od 0,03 J. A.

T A B L I C A IIa

Liczba jednostek antytoksycznych

Odczyn Schicka	< 0,01	0,03	> 0,03
++—	37	—	8
+++	42	—	8
+	30	3	45
—			
Razem	109	3	61

Na 173 zbadanych dzieci, 30 jest ujemnych podług Schicka mimo, że posiadają mniej niż 0,03 jednostek antytoksycznych, a 16-ro dzieci które posiadają powyżej 1/30 jednostki, mają odczyn Schicka dodatni. Widzimy zatem że naogół odczyn Schicka w 26% nie pokrywa się z ilością antytoksyn, uznana przez autora, za warunkującą odczyny dodatnie lub ujemne. Chciałybyśmy podkreślić, że nie oznacza to bynajmniej, by dzieci ujemne podług Schicka, ale bez antytoksyn miały być wrażliwe na zakażenie błonicą. Chodzi tu jedynie o odmienny mechanizm: dzieci takie mogłyby być odporne dzięki anergji—braku powinowactwa tkanki do jadu. Ponieważ dzieci bardzo młode i noworodki odznaczają się takim mechanizmem, to należałoby ująć stan ten, jako pewien infantylizm serologiczny. Natomiast jest rzeczą prawie zupełnie niezbadaną jak reagują dzieci z podobną anergją, tkanki na wstrzyknięcie szczepionki. W myśl teorii łańcuchów bocznych *Ehrlicha* możnaby się spodziewać, że w czasie uodpornienia zwiększa się liczba łańcuchów, a co zatem idzie zwiększa się powinowactwo do tkanki. *Brokman* tłumaczy podobnie zjawisko fazy ujemnej zwiększonym powinowactwem komórki. Rzeczywiście należało się liczyć z możliwością, że uodpornianie takich dzieci, może stworzyć nieistniejącą przedtem reaktywność tkanki. Analiza taka była tem niezbędniejsza ponieważ *Jensen* opisał przypadek ujemny podług Schicka, który pod wpływem uodporniania stał się dodatni.

T A B L I C A III.

Wiek	Zawartość antytoksyn przed uodporn.	Zawartość antytoksyn po uodpor- nieniu
4	0,0009	10,0
3	0,0018	1,2
3	0,0026	4,0
2	0,004	4,0
2 ¹ / ₂	0,005	0,32
3	"	1,2
3	"	2,0
2 ¹ / ₂	"	4,4
4	"	4,4
4	"	7,0
3	"	7,0
3	"	7,1
4	"	9,0
4	0,0	51,2
6	0,0056	0,44
3	0,063	2,2
4	0,008	1,0
4	0,008	45,6
3	0,009	0,8
3	0,009	40,0
6	0,0112	0,11
4	"	0,8
4	"	1,6
4	0,0126	0,32
4	0,018	10,0
4	0,02	0,9
3	0,02	1,134
5	0,02	14,2
6	0,005	35,2
5	"	40,0
6	0,005	40,0
6	"	57,0
5	0,01	58,4
3	0,018	8,0

Odczyn Schicka przed uodpornieniem ujemny

Ponieważ w piśmiennictwie z wyjątkiem przypadku Jensena, nie znajdujemy zupełnie kazuistyki w tym kierunku, to podamy liczby nasze in extenso (tabl. III).

Badania wykazują naogół, że dzieci o ujemnym odczynie Schicka mimo braku zawartości przeciwciał w surowicy wytwarzają antytoksyny. Porównanie dzieci, które nie posiadają antytoksyn normalnych, a mimo to dają odczyn Schicka ujemny z dziećmi o mechanizmie zwykłym, wykazuje tablica następująca.

T A B L I C A IV.

	Liczba dzieci	Wiek	Liczba jednostek po uodpornieniu								
			0,005 — 0,03	0,04 — 0,1	0,2 — 1,0	1,5—5	6—10	11—19	20—40	Σ	
Zawartość antytoksyn fizjologicznych 0,005 — 0,03	Dzieci ujemne w g Schicka	11	1—3 lat	—	2	3	4	1	1	—	—
		18	3—5 „	—	—	3	6	6	—	1	2
		6	5—7 „	—	—	—	—	1	—	1	4
	Razem	35	1—7 „	—	2	6	10	8	1	2	6
	Wszystkie dzieci niezależnie od wieku i od Schicka	77	1—3 lat	3	10	34	14	4	4	2	6
		4	3—5 „	—	2	8	4	8	3	5	11
		6	5—7 „	—	—	1	1	1	—	2	1
	Razem	124	1—7 „	3	12	43	19	13	7	9	18

Tablica IV wskazuje zatem na to, że dzieci mimo b. nieznacznych ilości antytoksyn normalnych, były w stanie wytworzyć przeciwciała odpornościowe i to nawet nieraz w dużym stopniu. Badania nasze nie pozwalają na bliższe sprecyzowanie przyczyny tego zjawiska. Być może przeciwciała znajdowały się w niektórych przypadkach wewnątrzkomórkowo i zostały dopiero pod wpływem bodźca antygenowego wprowadzone do krwiobiegu. Gdyby to było słuszne, to przemawiałoby to za tem, że ujemny odczyn Schicka, w przypadkach wyżej opisanych, polegał nie tyle na braku powinowactwa ko-

mórki, ile na obecności wewnątrzkomórkowych lub wewnątrztkankowych antytoksyn fizjologicznych. Jeśli mamy podkreślić praktyczny punkt widzenia, to nie należałoby obawiać się w tych wypadkach fazy ujemnej, związanej ze spotęgowaniem powinowactwa w czasie uodporniania przy braku ciał odpornościowych w krwiobiegu.

Wreszcie badania nasze oświetlają zagadnienie, czy dodatni odczyn Schicka musi zniknąć po uodpornieniu, które spowodowało pojawienie się ciał odpornościowych. Wykonałyśmy odczyny Schicka przed i po uodpornieniu w 324-ech przypadkach i stwierdziłyśmy w 6-ciu przypadkach, że odczyn Schicka pozostał dodatni pomimo pojawienia się antytoksyn w ilości powyżej 1/30 J. A. Tablica V odzwierciadla te przypadki.

T A B L I C A V

Nr porządkowy	Wiek	Odczyn Schicka		Zawartość antytoksyn	
		Przed	Po	Przed	Po
1	4 lat	+	+	0,142	0,142
2	3 „	+++	+	0,005	0,32
3	4 „	+++	+++	0,055	1,136
4	3 „	+++	+	0,005	0,22
5	2 „	+++	++	0,005	1,42
6	4 „	++++ ?	+++	0,142	1,28

Wytłomaczenie tego zjawiska jest trudne. Być może, jak sądzi *Brokman*, uodpornianie zwiększa zarówno zawartość antytoksyn w surowicy, jak i powinowactwo tkanki do jadu i że w danym wypadku drugi czynnik okazuje się mocniejszy niż pierwszy. Czy dzieci takie są wrażliwe lub niewrażliwe na zakażenie muszą wykazać dochodzenia epidemjologiczne.

Na zakończenie pragnęłybyśmy podziękować p^r. Dr. *Grodzkiemu*, Dr. *Mazurkowi* oraz Dr. *Szejnmanowi* za pomoc jaką nam okazali przy wykonaniu niniejszych prac przez dostarczanie surowic dzieci szczepionych.

From the Department of Bacteriology and Experimental Medicine, State Institute of Hygiene, Warsaw, and from the Society of Preventive Medicine, Warsaw
(Section of vaccination) Chairman Prof. Dr. L. Hirszfeld

PROBLEMS OF CONSTITUTIONAL SEROLOGY IN CONNEXION WITH PHYSIOLOGICAL AND ACQUIRED IMMUNITY TO DIPHTHERIA TOXIN

By

R. ZAJDEL and J. JAKÓBKIEWICZ

SUMMARY

156 children were immunized with 3 different anatoxins. Correlation was established between the rise of immune antibodies and the presence of normal antitoxins in the serum of vaccinated children and their age. The second factor proved to be of greater importance. On the base of observations of 173 children a divergence between the results of the Schick test and the content of normal antitoxins in the serum was stated in 26% of cases.

32 children having no normal antitoxins, or having less than 1/30 of unit showed a negative Schick test. These children presenting probably a tissue areactivity to diphtheria toxin produced after vaccination antitoxins in some cases in a high degree. 4 children showed a positive Schick test although the titre of antitoxins in their serum was above 1/30 of unit.

In 6 cases after vaccination, the Schick test remained positive in spite of the increased quantity of antitoxins.

PIŚMIENNICTWO

1) P. Feuille, P. Thizy. C. R. S. B. 1934. 115. 2) Hirszfeld. Med. Dośw. i Społ. 1924. T. III; T. XIII. 1931. Warsz. Czas. Lek. 1931. Nr 30 i 31. Klinische Wochenschrift 1931. Nr 47. Naturwissenschaften H. 2. 1926. 3) H. i L. Hirszfeldowie. Warsz. Czas. Lek. 1931. Nr 23 i 25. Zeitschr. für Immunitätsfr. Bd. 54. 1928. Ann. Medec. T. XXIX. 1931. Nr 5. Med. Dośw. i Społ. T. IX. 1928. Zeitschr. für Kinderheilkunde Bd. 54. 1932. 4) W. Halberówna, H. Hirszfeldowa. M. Mayzner. Med. Dośw. i Społ. T. IX. 1928. Zeitschr. für Immunitätsfrsch. Bd. 53.

1927. 5) H. i L. Hirszfelowie i H. Brokman. Med. Dośw. i Społ. 1924. T. II. Jour. of Immun. 1924. IX. 6) Hirszfeld. Konstitutionsserologie und Blutgruppenforschung Springer-Verlag 1928. 7) Hottinger Lorenz. Zeitschr. Kinderheilk. Bd. 54. 1933. 8) C. Jensen. C. B. S. B. T. 108, 1931. 528, 532, 539. C. R. S. T. 108. 1930. C. R. S. B. T. 110. 1932. 9) C. Jensen, Groer, Kasowitz. C. R. S. B. 1930. T. 108. 10) M. Mayzner, H. Sparrow. Med. Dośw. i Społ. 1927. T. VII. 11) Nelis C. R. S. B. 1934. 115. 12) Ramon Annal. de l'Inst. Pasteur 1934. Nr 4.

Wpłynęło 4.I.1935

Z Państwowego Zakładu Higjeny. Dział Bakteriologii i Medycyny Doświadczalnej
(Kierownik Prof. Dr. L. Hirszfeld)
oraz z miejskiego Zakładu dla Dzieci Opuszczonych

SZCZEPIENIA JEDNOKROTNE ZAPOMOCĄ ANATOKSYNY BŁONICZEJ ULTRAFILTROWANEJ Z DODATKIEM AŁUNU

P o d a l i

R. ZAJDLÓWNA i M. MAYZNER

Glenny, Pope, Waddington i Wallace w r. 1926 pierwsi spostrzegli korzystny wpływ ałunu na własności antygenowe anatoksyny błoniczej. Korzystając z tych spostrzeżeń O'Brien i Glenny oraz Glenny (w r. 1929 i 1930) stosowali dodatek ałunu do anatoksyny przy produkcji wysokowartościowych surowic błoniczych i tężcowych. Do szczepień na ludziach pierwsi zastosowali dodatek ałunu Park i Schröder w r. 1932. Autorzy dodawali ałunu do anatoksyny przygotowanej według Ramona, szczepiąc nią dzieci trzykrotnie w odstępach tygodniowych. Autorzy stwierdzili wyższość tego antygenu nad anatoksyną zwykłą oraz mieszkanką toksyny z antytoksyną.

W końcu tegoż roku 1932 amerykańscy badacze Wells, Graham, Havens, wytrącając całkowicie anatoksynę zapomocą roztworu 2—4⁰/₀ ałunu glinowo-potasowego (według opisu Glenny, Barr 1931) i zawieszając strąty w soli, przeszczepili jednokrotnie 98 dzieci (po 1 cm³=20 J. R.), stwierdzając zapomocą odczynów Schicka uodpornienie w 94⁰/₀. Później w roku 1933 Graham, Murphree, Gill szczepią dzieci anatoksyną przygotowaną w podobny sposób jednokrotnie zapomocą 5 wzgl. 10 jedn. anatoksyny z ałunem.



Pośród 798 dzieci autorzy stwierdzili od 92,4—96,5% osobników uodpornionych (kontrola zapomocą odczynów *Schicka*). Tak pomyślny wynik uodpornienia zapomocą jednokrotnych szczepień o małej liczbie jednostek antygenowych, autorzy tłumaczą zgodnie z *Glennym* i na mocy prac doświadczalnych *Glenny, Buttle, Stevens*, że anatoksyna w postaci precypitatu ulega wolniej resorpcji, wolniej jest eliminowana przez ustrój co wpływa korzystnie na produkcję przeciwciał. Opierając się na powyższych danych, jedno z nas zastosowało dodatek do anatoksyny, oczyszczonej zapomocą ultrafiltracji 0,1% ałunu glinowo potasowego i mogło stwierdzić na świnkach morskich korzystny wpływ tego preparatu na produkcję przeciwciał. Modyfikując w ten sposób, opracowaną przez amerykańskich badaczy metodę glinową, autorka wychodziła z założenia, że można do anatoksyny oczyszczonej o ilości $N = 0,015 \text{ mg} - 0,02 \text{ mg}$ w 1 cm^3 (anat. wyjściowa 3 — 4 mg. N w 1 cm^3) dodać znacznie mniejszej ilości ałunu, a jednak wystarczającej dla wytrącenia całkowitego substancji antygenowej. Można wtedy uniknąć niepotrzebnego nadmiaru ałunu wzgl. ciał postronnych, równocześnie wyadsorbowanych z hodowli buljonowej. W związku z tem należałoby również oczekiwać zmniejszenia się liczby odczynów poszczepiennych niezwiązanych z samym antygenem.

Nowy produkt przygotowywany był w ten sposób, że anatoksynę pierwotną sączoną przez błony kolodjonowe 4% i 10%, oczyszczoną i zagęszczoną do określonej koncentracji, rozcieńczano do 15 j. w 1 cm^3 i dodawano 10% jałowego roztworu ałunu glinowo-potasowego w takiej ilości, iżby roztwór zawierał 0,1% ałunu. Ałunu dodaje się powoli, mieszając. Płyn mętnieje, po pewnym czasie (15 do 30') wypadają kłaczk. Przed wstrzyknięciem należy mieszaninę wstrząsnąć.

W zamkniętym Zakładzie dla Opuszczonych Dzieci od początku 1934 roku przystąpiliśmy do badań nad własnościami antygenowymi wyżej opisanego produktu.

Produkt którym szczepiono zawierający 15 j. antygenowych w 1 cm^3 i 0,1% ałunu glin.-pot., wstrzykiwany był jednokrotnie w ilości 1 cm^3 . Dla stwierdzenia własności antygenowych preparatu zmierzono ilość przeciwciał przed uodpornieniem i po uodpornieniu głównie zapomocą metody *Römera*, część oznaczeń wykonano me-

tołą *Jensena*. Przebadanych było początkowo 65 dzieci. Duży odsetek tych dzieci posiadał normalne antytoksyny w ilości dostatecznie dużej; dzieciom tym nie pobrano powtórnie krwi i naogół nie określono im miana przeciwciał po szczepieniu. Tylko nieznaczna liczba dzieci spośród tej grupy została całkowicie przebadana.

Dzieci szczepione były w wieku od 1 roku do 9 lat, najwięcej było dzieci w wieku od 1 roku do 2 lat.

Ilość przeciwciał po uodpornieniu określana była po 1 miesiącu, 2, względnie 3 miesiącach, 6 miesiącach oraz w niektórych wypadkach po 1 roku (8 mies.). Dla kontroli uodporniono kilkoro dzieci anatoksyną w ilości 15 j. w 1 cm³ bez dodatku ałunu

Tablica 1 wykazuje wyniki szczepień:

Jak widać 13-ro dzieci, które nie posiadały antytoksyn lub posiadały je w ilości nie zabezpieczającej ich przed zachorowaniem, uodporniły się, przyczem, niektóre dały wysokie miano antytoksyczne = 8 — 10 j. i powyżej 40 j. Ciekawe do zanotowania są w tej grupie 2 wypadki: rodzeństwo (brat — 12 lat, siostra—9 lat) przed uodpornieniem nie posiadało antytoksyn (poniżej $\frac{1}{500}$ j.). Dwa miesiące po szczepieniu ochronnem, miano przeciwciał nieco wzrosło ale w stopniu niewystarczającym; dopiero po 8 miesiącach zbadano ich krew po raz trzeci i wtedy stwierdzono u obojga podniesienie się miana antytoksycznego do wysokości wystarczającej dla osiągnięcia stanu odporności.

Wynik ten interpretujemy w sposób następujący: efekt działania bodźca swoistego występował w tempie wolniejszym od przeciętnego (od normy) albo wpływ ten ujawnił się dopiero na skutek nowego zetknięcia się z zarazkiem, i wówczas spowodował wzmożoną produkcję przeciwciał odpornościowych. W każdym razie dzieci te należą najprawdopodobniej do rodziny o swoistej konstytucji serologicznej, bardzo trudno produkującej przeciwciała. W przeciwstawieniu do tych dwojga dzieci obserwowaliśmy małe dziecko 4-romiesięczne (o mianie antytoksyn normalnych= $\frac{1}{200}$ j.), które po 2-ch miesiącach wytworzyło 8 jednostek odpornościowych. U pozostałych dzieci (pośród zbadanych całkowicie), które posiadały normalnie nieco antytoksyn, po szczepieniu miano przeciwciał bardzo znacznie się wzmogło. Jedno dziecko sześciolatnie,

T A B L I C A I

Anatoksyna z ałunem 1 cm ³ = 15 J + 0,1% ałunu						Anatoksyna bez ałunu 1 cc = 15 J		
Wiek	Liczba jedn. ant. przed uodp.	Liczba jedn. antyt. po uodpornieniu				Wiek	Liczba jednostek	
		Po 1 m.	Po 2—3 m.	Po 6 m.	Rok wzgl. 18 m.		Przed uodporn.	Po uodpornieniu
4 m.	1/200		8 j.			4 m.	<1/500	1/100
10 m.	<1/500		1/2 j.			10 m.	<1/500	1/20
1 1/2 l.	<1/500		1/20			1 r.	1/500	1/100
1 1/2 l.	<1/500		3		1/10	1 r. 3 m.	>1/500	<1/100
1 r.	<1/500		1/10		1/20	1 r.	<1/100	1/10
1 r.	<1/100		8			1 r. 5 m.	1	3
1 r. 3 m.	<1/500		>40		20	2 l.	1/50	>10
1 l.	<1/500		1/10					
2 l.	1/500	2	3	1	4			
6 l.	1/500	1	8/10	1	8/10			
5 l.	1/100	>2	4					
Zyngier 12 l.	<1/500		1/100		8/10			
Zyngier 9 l.	1/500		<1/100		1/20			
5 l.	1/2		>4					
	1/10	4/10						
	8/10	2						
8 l.	1/10		30		10			
5 l.	1/3		20					
6 l.	1	>50	80	>100				
7 l.	1	4	4	3	6			

posiadające pierwotnie jedną jednostkę antytoksyczną, wytworzyło powyżej 100 jednostek antytoksycznych. U 7-ga dzieci od których nie udało się wziąć krwi wykonano odczyn *Schicka* przed i po szczepieniu. 6-ro zmieniło odczyn *Schicka* wyraźnie dodatni na ujemny, 1-o dziecko z odczynem *Schicka* wybitnie dodatnim (+++) dało ślad dodatniego odczynu *Schicka* (±).

Czy odporność ta jest trwała? Na podstawie naszego materiału możemy powiedzieć co następuje. Po jednym roku obserwacji miano antytoksyn przeważnie utrzymywało się na poziomie z pewnemi tylko wahaniami w dół lub nawet w górę. Jedynie w jednym wypadku na 10 zaobserwowano znaczniejszy spadek przeciwciał. Dzieci szczepione kontrolnie jednorazowo anatoksyną bez ałunu w ilości 15 j. wykazały przeważnie niedostateczny stopień uodpornienia, zwłaszcza te dzieci, które pierwotnie posiadały nieznaczny ślad antytoksyn normalnych. U dzieci, które posiadały już nieco więcej antytoksyn we krwi, nawet tak nieznaczny bodziec jak 15 j. antygenowych, spowodował wyraźne podniesienie miana antytoksycznego surowicy.

Co się tyczy odczynów poszczepiennych, to u 65 dzieci szczepionych oprócz nieznacznego zaczerwienienia i małych guzków w miejscu zastrzyku w nielicznych przypadkach, żadnych reakcji ani miejscowych, ani ogólnych nie zauważono.

Próbowaliśmy dawać anatoksynę zawierającą po 30 j. antygenowych z ałunem. Obserwowaliśmy kilka odczynów z podniesioną temperaturą, wobec tego zaniechaliśmy dalszych prób, zwłaszcza, że wyniki otrzymane przy uodpornianiu 15 j. były dostatecznie zachęcające. W Zakładzie w owym czasie panowała epidemia grypy i właściwie nie wiemy czy podniesienie temperatury u dzieci szczepionych 30-ma j. należało przypisać wyłącznie reakcji poszczepiennej.

Pragnęlibyśmy podziękować na tem miejscu pani Dr. *W. Wittlinównie* za pomoc okazaną nam przy wykonaniu niniejszej pracy.

From the Department of Bacteriology and Experimental Medicine State Institute of Hygiene, and from the Asylum for Abandoned Children Warsaw

IMMUNISATION BY A SINGLE INOCULATION OF ULTRAFILTRATED DIPHTHERIA ANATOXIN WITH ADDITION OF ALUM

By

R. ZAJDEL and M. MAYZNER

SUMMARY

65 children were inoculated with diphtheria anatoxin purified by ultrafiltration with addition of a small percent (0,1%) of alum.

No local or general postvaccinal reactions were stated.

The titre of antitoxins was examined on 20 children before and after the vaccination. In 7 children the Schick test was performed too. In all cases a considerable rise of antitoxins was established. In two cases the rise of antitoxins was stated only after 8 months.

The titre of antitoxins after immunisation remained more or less on the same level during an observation period of one year.

Inoculation with anatoxin containing 15 units without alum gave unsatisfactory results.

PIŚMIENNICTWO

- 1) O'Brien i Glenny. System of Bact. in Relation to Medicine. 1929. 356.
- 2) Glenny Barr. Journ. of Path. and Bact. 34, 1931. 3) Glenny. Pope, Waddington, Wallace. Journ. of Path. Bact. 1926. 31. 4) Glenny. Brit. Med. Jour. 2. 1930. 5) Glenny. Waddington. Journ. of Path. Bact. 1928.
- 6) Glenny, Buttle, Stevens. Journ. of Path. and Bact. 1931. 1. 7) Graham, Murphree, Gill. Journ. of the Amer. Med. Assoc. 100. 1933. 8) Havens, M. Wells. Journ. of inf. Dis. 1933. b. 53. 9) Leonard, Varley. Journ. of Immun. 23. 1932. 10) H. Park, M. Schroder. Amer. Journ. of Public. Health 22. 1932. 11) Ramon, Nélis. C. R. S. B. 1932. T. 109. 12) Ramon, Lementayer. C. R. S. B. 1931. T. 107. 13) Ramon, Lementayer, Richou. C. R. S. B. 115. 1934. 14) Sparrow, Mayzner, C. R. S. B. T. CXI. 1932. 15) Wells, Graham, Havens. Amer. Journ. publ. Health. b. 22. 1932. 16) R. Zajdel. C. R. S. B. 1932. T. CXI, p. 1029. C. R. S. B. 1934. C. XVI, p. 239. C. R. S. B. 1934. C. XVI, p. 236. Warsz. Czas. Lek. 1934. Nr 1—10.

Wpłynęło 1.XII.1934

Ze Stacji Badania Wartości Odżywczej Produktów Spożywczych,
przy Państwowej Szkole Higieny. Kierownik Doc. Dr. G. Szulc

ODBARWIANIE SIĘ SIERŚCI SZCZURÓW NA NIEKTÓRYCH DIETACH SYNTETYCZNYCH

P o d a ł a

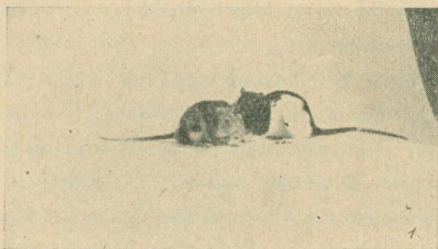
Inż. ZOFJA MARKUZE

Przeprowadzając w pracowni naszej badania biologiczne wartości odżywczej różnych produktów spożywczych, spotkaliśmy się ze zjawiskiem odbarwiania się sierści młodych szczurów czarno białych (łaciatych), lub czarnych pozostających na niektórych dietach. Zjawisko to zaobserwowaliśmy najpierw u kilku szczurów otrzymujących dietę, w której węglowodany podawane były jako cukier, białko—jako kazeina oczyszczana, witamina A i D w postaci tranu, sole—w mieszanice soli wg *Steenbocka*¹⁾, witamina B₂—w drożdżach autoklawowanych i B₁ (w nieznacznej ilości) w wy ciągu z otrąb ryżowych.

Szczury wykazywały częściowe odbarwienie sierści, które zwiększało się, gdy tłuszcze, jak olej słonecznikowy, rzepakowy, smalec zastępowały część cukru w diecie. U szczurów tych jednocześnie występowały objawy, przypominające pelagrę szczurzą (ły sienie, dermatitis). Przeniesione na dietę z drożdżami piwnymi suszonymi poprawiały się, sierść odrastała, lecz znacznie jaśniejsza

¹⁾ *Steenbock i Nelson, J. Biol. Chem. 1923 56, 355.*

od pierwotnej. Po dłuższym okresie podawania drożdży sierść większości tych szczurów ciemniała.



Fotografia 1-a przedstawia z lewej strony szczura łaciatego odbarwionego. Szczur ten przez dłuższy czas otrzymywał drożdże. Jak widać sierść na grzbiecie już ciemniejsza. Szczur z prawej strony jest normalnym szczurem łaciatym podanym tu dla porównania barw.

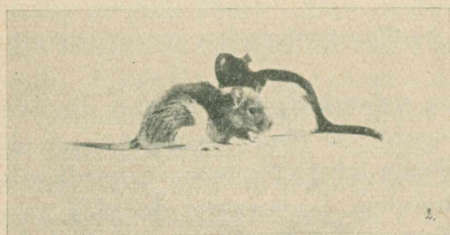
Po raz drugi spotkaliśmy się ze zjawiskiem odbarwiania się sierści u szczurów trzymanyh na diecie o składzie następującym: węglowodany (krochmal pszenney), białko (kazeina oczyszczana), tłuszcze (tłuszcz masła), sole (mieszanka soli wg *Steenbocka*), witaminy A i D (tran), witamina B₁ (wzorcowy preparat), witamina B₂ (mleko, drożdże autoklawowane). Szczury po 2-ch miesiącach przebywania na tej diecie jaśniały w sposób podobny, jak poprzednie; po przeniesieniu na dietę z drożdżami piwnymi z początku wydawało się jakby zjaśnienie było jeszcze intensywniejsze, potem występowało miejscowe zciemnienie; jeden szczur zciemniał całkowicie.

Oba te doświadczenia zdają się wskazywać, że przy dłuższem podawaniu drożdży następuje powrót do pierwotnej barwy, chociaż w początkowem stadjum podawania ich sierść jeszcze bardziej się odbarwia, a dopiero po długotrwałem podawaniu drożdży następuje częściowe, lub zupełne ściemnienie. Sądząc z tych doświadczeń wynikałoby, że powodem odbarwiania jest brak jakiegoś czynnika, który występuje w drożdżach piwnych, a który nie jest witaminą B₁, B₂ i B₄.

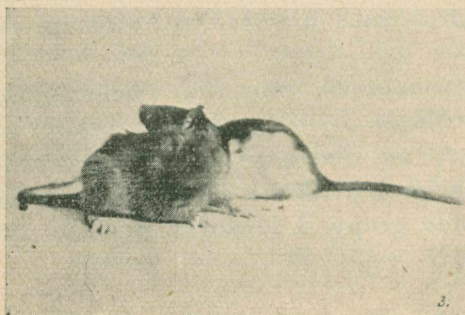
Trzeci przypadek odbarwiania się szczurów miał miejsce w następujących warunkach. Młode 3—4 tyg. szczury czarne lub łciate pozostawały początkowo na diecie, w skład której wchodziły: węglowodany (bulka pszenna), białko (kazeina oczyszczona), witaminy A i D (tran), witaminy grupy B (drożdże piwne). Soli nie dostawały.

Po 2 — 3-ch tygodniach takiej diety, gdy szczury nie rosły i jednocześnie wykazywały objawy odwapniania kości, rozpoczęliśmy podawanie CaCO_3 . Szczury odpowiadały na ten dodatek poprawą wzrostu (zyskiwały około 15 — 20 g tygodniowo) jednocześnie odbarwiała się. Szczury otrzymujące poza dietą od początku doświadczenia mieszanę soli wg *Steenbocka* nie traciły naturalnej barwy. Te zaś szczury, które otrzymywały CaCO_3 od chwili rozpoczęcia doświadczenia, jaśniały w znacznie mniejszym stopniu i to dopiero po dłuższym okresie czasu. Odbarwione szczury próbowaliśmy leczyć za pomocą: 1) naświetlania promieniami pozafiojłkowymi (bez rezultatu); 2) jednemu z odbarwionych szczurów podawaliśmy przez jakiś czas sałatę, a potem marchew, szczur ten nie ściemniał jedynie, sierść jego z srebrno burej stała się ruda, 3) podawaliśmy szczurom sole magnezu lub żelaza; długotrwałe podawanie obu tych soli doprowadziło do zciemnienia zaznaczyć jednak trzeba, że niektóre szczury, które do końca doświadczenia dostawały jedynie CaCO_3 także samorzutnie ciemniały.

Fotografie Nr 2 i 3 przedstawiają z lewej strony szczury odbarwione w wypadku III-im. Na fotografii 2-iej podany jest szczur łaciaty odbarwiony, na 3-iej czarny odbarwiony. Po prawej stronie szczur normalny dla porównania.



Fotografia 2-ga, Przedstawiony jest szczur łaciaty odbarwiony.



Fotografia 3-ia Szczur czarny odbarwiony. Po prawej stronie szczur łaciaty normalny dla porównania.

Ten trzeci opisany przypadek odbarwiania jest o tyle znamienny że, po I-sze, jak dotychczas wszystkie szczury wykazywały bez wyjątku odbarwienie w powyżej wymienionych warunkach, po II-gie zaś. o ile można się było dopatrzeć, jeśli idzie o 2 pierwsze doświadczenia, przyczyny tego zjawiska w braku czynnika, występującego w drożdżach piwnych, to tutaj nie można brać tej ewentualności pod uwagę, gdyż szczury dostawały wystarczającą ilość drożdży piwnych, mianowicie aż 8⁰/₀ w diecie.

Dalsze badania mające na celu wyjaśnienie powyżej opisanego zjawiska odbarwiania są w toku.

Station de recherches sur la valeur nutritive de denrées alimentaires.
Ecole d'Hygiène d'Etat. Directeur Prof. Agr. Dr. G. Szulc

DÉCOLORATION DU POIL DE RATS SOUS L'INFLUENCE DE CERTAINS RÉGIMES SYNTHÉTIQUES

P a r

Z. MARKUZE

R É S U M É,

On a observé le phénomène de la décoloration du poil de rats sous l'influence de 3 régimes synthétiques différents.

Les causes de ce phénomène sont encore inconnues.



Wpłynęło 5.XII.1934

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

O WSZECHOBEĆNOŚCI DROBNOUSTROJÓW ROZKŁADAJĄCYCH BŁONNIK W WARUNKACH TLENOWYCH

P o d a ł a
ZOFJA JUDOWICZ

Rozkład błonnika w przyrodzie odbywa się z udziałem szeregu najrozmaitszych drobnoustrojów, beztlenowych i tlenowych. Z drobnoustrojów tlenowego rozkładu błonnika najważniejszą rolę odgrywa *Cytophaga Hutchinsona* i *Claytona*. Jest to drobnoustrój długości 3 — 11 μ wysmukły, zlekka falisty, o końcach zaostzonych. Rosnąc na błonniku, wytwarza barwik, przeważnie żółty w rozmaitych odcieniach, czasami brązowy, zielony lub czerwonawy. Rozkłada całkowicie błonnik, przetwarzając go na śluzowatą bezbarwną masę. Drobnoustrój ten po raz pierwszy został wyodrębniony z ziemi przez *Hutchinsona* i *Claytona*. *Wino-gradski*, stosując podłoże wybiórcze (galaretkę krzemionkową z dodatkiem soli mineralnych i błonnika) wszechstronnie zbadał jego własności i stwierdził, że jest to główny i najenergiczniejszy czynnik tlenowego rozkładu błonnika. Prócz Cytofag często spotykanym drobnoustrojem, fermentującym tlenowo błonnik, jest *Cellvibrio* — dość krótka, zlekka zgięta, w środku grubsza pałeczka, bardzo ruchliwa, śluzu nie wytwarzająca; znacznie rzadziej występuje *Cellfalcicula* — wygięta w kształcie półksiężyca o końcach zaostzonych, wytwarzająca śluz, przeważnie koloru żółtego.

Własności tych drobnoustrojów omówiłam dokładnie na innym miejscu (Med. Dośw. i Społ. Tom XV, str. 86, 1932 r.).

Częstość występowania drobnoustrojów, rozkładających tlenowo błonnik w glebie, była badana przez *Bermanowq*; ich obecność została wykazana zasadniczo wszędzie—ze 100 próbek ziemi (ogrodowej, piaszczystej, gliniastej) zaledwie w 8 próbkach piasku drobnoustrojów tych nie stwierdzono.

Badania nad obecnością *Cytofag*, *Cellvibrio* i *Cellfalcicula* w przewodzie pokarmowym rozmaitych zwierząt (człowieka i świnki morskiej — *Piotrowska*, konia i krowy — *Dratwer*, ptaków — *Motiu-kówna*) stwierdziły ich obecność w 25 % badanych przypadków u człowieka, w 46% u świnki morskiej, w 46,8% u ptaków, w 86,66% u krowy, w 93,33% u konia.

Zadanie mojej pracy polegało na zbadaniu obecności drobnoustrojów rozkładających tlenowo błonnik w wodzie, powietrzu i kurzu.

Jako podłoże służył mi agar wodny z solami mineralnymi, przyrządzony według metody, podanej przez *Turnerównę*; jest on łatwy do przygotowania, posiada gładką powierzchnię, mało wysycha i daje gwarancję jałowości.

Zbadałam 51 prób: 26 wody, 25 powietrza i kurzu.

Woda, pobierana w ilości 200 cm³, sączona była przez jałowe sączki ilościowe *Durieux* Nr 111 (błonnik), umieszczane na jałowych lejkach, przykryte jałowymi pokrywkami. Po przesączeniu wody sączki przenoszone były na płytki agarowe.

Do zbadania powietrza płytki agarowe, pokryte błonnikiem, otwierane były na pewien czas (od 3 do 8 godzin) w badanym środowisku.

Badany kurz był bezpośrednio wysypywany na powierzchnię podłoża z błonnikiem.

Zasiane płytki pozostawiano w temperaturze pokojowej. Wzrost drobnoustrojów rozkładających błonnik występował po upływie 3-ch dni do 2-ch tygodni.

Wyniki spostrzeżeń zestawia tablica.

Pochodzenie materiału	Liczba prób zbadanych	Ile razy stwier- dzono rozkład błonnik	Drobnoustroje rozkładające błonnik				
			Cytophaga	Cellvibrio	Cellfalcicula	Inne	Jednoczesne występowanie 2-ch drobn- oustrojów
W o d a	Stawy i jeziora . . .	8	8	8	6	—	6
	Wodociąg . . .	3	2	1	—	Pleśniaki	—
	Basen . . .	1	1	1	—	—	—
	Beczka (woda desz- czowa) . . .	3	2	2	1	—	1
	Lód rynsztokowy . .	1	1	1	1	—	1
	Studnia . . .	3	1	—	1	—	1
	Rzeka . . .	7	7	7	6	1 Drobn. rozkładające agar	6
P o w i e t r z e	Pokój . . .	8	3	2	1	—	—
	Pole (śnieg) . . .	3	1	1	—	—	—
	Ulica i podwórko . .	7	2	1	—	—	—
	Las . . .	2	—	—	—	—	—
	Ogród . . .	2	—	—	—	—	—
	Kurz . . .	3	3	3	1	—	—

Na 26 prób wody otrzymałam 22 wyniki dodatnie; z tego w 20 Cytophaga, w 15 Cellvibrio, w 1 Cellfalcicula. W 14 próbach jednocześnie występowały Cytophaga i Cellvibrio, 1 raz Cytophaga i Cellfalcicula.

W jednym przypadku (woda wodociągowa) rozkład błonnika spowodowany był przez pleśniaki; 2 razy (woda rzeczna z Wisły, woda rzeczna z Niemna) obok Cytofag rozwinęły się krótkie pałeczki energicznie rozrzedzające agar.

Cytofagi wytwarzały barwik koloru żółtego w najrozmaitszych odcieniach od jasno cytrynowego do ciemno pomarańczowego. W jednej próbie (woda z basenu kąpielowego) obserwowano barwnik purpurowy bardzo jaskrawy. Wzrost był bardzo ograniczony, rozkład bardzo intensywny.

Cellvibrio wytwarzały barwik żółty, w jednym przypadku zielenkowy jeden raz brunatny.

Cellfalcicula dała barwik kremowy.

Na 25 prób powietrza i kurzu otrzymałam 9 wyników dodatnich, z tego w 6 próbach Cytophaga, 2 Cellvibrio, 1 raz jednocześnie występowały Cytophaga i Cellvibrio. W jednym przypadku—powietrze z ulicy (płytką przez 6 godzin stała na otwartym oknie), otrzymano olbrzymie twory, znacznie większe od bakteryj, o końcach zaostzonych, jakby z bocznym odgałęzieniem. Wytwarzały żółto-brunatny barwik. Błonnik rozkładały nie całkowicie. Nie zostały one dokładnie sklasyfikowane.

Liczne Cytofagi dała w hodowli próbka powietrza w pracowni. (W tym pokoju od szeregu lat przeprowadza się badania nad Cytofagami).

Mała liczba dodatnich wyników zasianych prób powietrza może być wytłumaczona tem, że powietrze (szczególnie w pokoju) jest zbyt mało ruchome, a więc mała jego ilość styka się z powierzchnią błonnika na płytce. Próba powietrza w pokoju dała wynik ujemny, próba powietrza z ulicy dała wynik ujemny, kurz, zebrany z okna w tym pokoju (ta sama ulica) podczas silnego wiatru dał wynik dodatni.

W n i o s k i.

1. Badanie 51 prób wody i powietrza rozmaitego pochodzenia wykazują wszechobecność drobnoustrojów tlenowych rozkładających błonnik.

2. Z drobnoustrojów tlenowego rozkładu błonnika w wodzie i powietrzu najczęstszym jest Cytophaga Hutchinsona i Claytona, rzadziej występuje Cellvibrio, bardzo rzadko Cellfalcicula.

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

SUR L'UBIQUITÉ DES MICROORGANISMES DÉCOMPOSANTS LA CELLULOSE DANS LES CONDITIONS D'AÉROBIE

P a r

S. JUDOWICZ

R É S U M É

L'auteur a examiné 51 échantillons d'eau, d'air et de poussière de différente origine et a constaté l'ubiquité des microorganismes aérobie décomposants la cellulose.

Le plus fréquemment on rencontre la *Cytophaga*, moins souvent le *Cellvibrio* et le plus rarement *Cellfalcicula*.

P I Ś M I E N N I C T W O

- 1) P. Bermanowa: wedł. A. Ławrynowicza Med. Dośw. T. XVII, str. 395.
2) I. Dratwer: Wiad. Wet. Nr 159. 1933 r. 3) Motiukówna: wedł. A. Ławrynowicza Med. Dośw. T. XVII, str. 395. 4) H. Piotrowska: Polska Gazeta Lek Nr 4. 1933 r. 5) R. Turnerówna: Med. Dośw. T. XVII. 1933 r.



Wpłynęło 6.XII.1934

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

CHARAKTERYSTYKA SZCZEPÓW PAŁECZKI OKRĘŻNICOWEJ OTRZYMANYCH Z MLEKA

Podała

ESTERA FEINER-BORTENSTEIN

Pałeczki z grupy okrężnicowej występują w mleku bardzo często. Ich liczba w jednostce objętościowej (miano), jak również ich pochodzenie, są bardzo rozmaite. Główne źródła ich pochodzenia stanowią nawóz, kurz, woda, ręce personelu zatrudnionego w produkcji i handlu. W ocenie sanitarnej mleka pałeczki okrężnicowe mają przede wszystkim znaczenie, jako wskaźnik zanieczyszczenia mleka nawozem.

Ze względu na tak liczne źródła pochodzenia pałeczek okrężnicowych spodziewać się należy występowania w mleku rozmaitych ich typów i odmian.

W charakterystyce fizjologicznej szczepów pałeczek okrężnicowych, otrzymanych z mleka, uwzględniłam, poza rysami podstawowymi ich biochemji, podział Eijkmana na typy pochodzące od zwierząt ciepłostalnych i zmiennocieplnych, również podział na typy jelitowy i ziemny na podstawie wzrostu na podłożach różniczkowych Clarka i Kosera. Nie podaję szczegółów metodyki różniczkowania — jest ona dokładnie przedstawiona w pracy A. Ławrynowicza, Piotrowskiej, Szymańskiej (Med. Dośw. T. XIX, z 1-2, 1934).

Do spostrzeżeń użyłam 250 szczepów pałeczek z grupy okrężnicowej, otrzymanych z mleka rynkowego. Ze względu na własności fermentacyjne dają się one podzielić na pałeczki okrężnicowe typowe, których było 111 (rozkładające wodany węgla z wytwarzaniem gazu, wytwarzające indol) oraz pałeczki z grupy paracoli — 139 szczepów (chodziło w tym przypadku o szczepy nie wytwarzające indolu).

Szczepy te hodowano według Eijkmana na podłożach zawierających glukozę w temp. 37° i 46° równolegle. Pałeczki okrężnicowe typowe (111 szczepów) składały się z 91 szczepów typu zwierząt ciepłostalnych (fermentujących glukozę z wytwarzaniem gazu w temp. 37° i 46°) i z 20 szczepów typu zwierząt zmienno-cieplnych (fermentujących glukozę z wytwarzaniem gazu tylko w temp. 37°). Odpowiednie liczby dla 139 szczepów b. paracoli (b. coli anindolicum) wypadły 116 i 23.

Zasiewając na podłożach Clarka i Kosera 250 otrzymanych szczepów ustaliłam ich zdolność zmiany pH podłoża, odczyn Voges-Proskauera, zdolność wzrostu na podłożach Clarka (kwas moczowy, jako jedyne źródło N i cytrynian sodu, jako jedyne źródło C).

Na podstawie wyników badania podzieliłam szczepy według schematu autorów amerykańskich na ziemne i jelitowe. Na 250 zbadanych szczepów miałam 70 typowych ziemnych i 33 typowe jelitowe, oraz 147 szczepów nietypowych o różnych własnościach (w tem 90 szczepów nietypowych ziemnych i 57 nietypowych jelitowych). Szczepy o cechach typowych stanowiły mniejszość — było ich 103.

Do różniczkowania szczepów obok podłoży Clarka i Kosera zastosowałam podłoże Simmons'a (skład i sposób sporządzenia w pracy A. Ławrynowicza, Piotrowskiej i Szymańskiej). Tablica przedstawia zachowanie się szczepów poszczególnych typów na podłożu Simmons'a.

W myśl schematu Simmons'a na podłożu szczepy ziemne typowe nie rosną, natomiast szczepy typu jelitowego rosną dobrze. Tablica wykazuje, że naogół przynależność do typów ziemnego i jelitowego na podstawie wzrostu na podłożu Simmons'a może

Podłoże Simmonsa.

	Rosną i zmieniają barwę	Rosną i nie zmieniają barwy	Nie rosną
Ziemne typowe	70	—	—
Ziemne nietypowe	82	2	6
Jelitowe typowe	6	2	25
Jelitowe nietypowe	35	12	10

być ustalona tylko z zastrzeżeniem: wyniki posiewu na podłożu Simmonsa posiadają tylko wartość orientacyjną.

Reasumując te spostrzeżenia, należy stwierdzić, że w mleku występują pałeczki okrężnicowe o rozmaitych własnościach. Pałeczki okrężnicowe nietypowe (*b. coli anindolicum*) przeważają nad typowymi. Przeważająca większość szczepów badanych daje typ fermentacji (według Eijkmana) właściwy szczepom pochodzącym z ustroju zwierząt ciepłostalnych (82,5%). Podział według autorów amerykańskich stwierdza, że znaczna większość szczepów (64%) należy do typu ziemnego (szczepy typowe i nietypowe). Z danych tych wynika bardzo duża różnorodność właściwości pałeczek okrężnicowych stwierdzanych w mleku.

Aus dem mikrobiologischen Laboratorium der Freien Universität in Polen
(Dir. Prof. Dr. A. Ławrynowicz)

ZUR CHARAKTERISTIK DER COLIBAZILLEN AUS DER MILCH ISOLIERT

V o n

E. FEINER-BORTENSTEIN

ZUSAMMENFASSUNG

Die mitgeteilten Beobachtungen zeigen eine grosse Eigenschaftsverschiedenheit der in der Milch festgestellten Colibazillen.

Die Colistämme zeigen in der überwiegenden Mehrzahl atypische Eigenschaften,

Die Einteilung der untersuchten Stämme nach Eijkman gibt in 82,5 % einen Gärungstypus der Colibazillen der warmblütigen Thiere.

Die Einteilung nach amerikanischen Autoren stellt fest, dass in 64% die Stämme zu den Erdetypus gehören.



Wpłynęło 8.XII.1934

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

BADANIA NAD WYKRYWANIEM PAŁECZEK DURU I PARATYFUSÓW W WODZIE

P o d a ł a

JANINA SZPERÓWNA

O cena wody odbywa się zazwyczaj na podstawie stwierdzenia zakażenia jej odchodami ludzkimi lub zwierzęcymi. Świadczy o tem bezpośrednie wykrycie pałeczek okrężnicy lub stwierdzenie w wodzie obecności substancji chemicznych, powstałych z rozpadu ciał organicznych, zawartych w kale lub moczu.

Określenie miana coli jest metodą najmiarodajniejszą w ocenianiu wody, która daje, jak to stwierdzono eksperymentalnie (wg. *Singera*) 8,6% negatywnego błędu, to jest poczytywania złej wody za dobrą, oraz 6,2% pozytywnego błędu, t. j. poczytywania dobrej wody za złą. Wyniki chemicznego badania wody, stwierdzającego obecność amoniaku, azotanów, kwasu fosforowego, siarkowodoru, oraz zwiększonej powyżej 3 mlgr. ilości chlorków w 1 litrze wody, dają 39,6% negatywnego błędu i 9,7% błędu pozytywnego. Błędy pozytywne obu metod nie pociągają za sobą poważniejszych konsekwencji, powodują najwyżej niepotrzebne chlorowanie wody lub zamknięcie studni, natomiast błędy negatywne, których metoda chemiczna daje bardzo wysoki procent, mogą się stać przyczyną tolerowania zakażonej wody i utrzymywania w ten sposób stałego źródła zakażenia.

Wykrycie pałeczek durowych w wodzie należy do spraw bardzo rzadkich. Stwierdzenie zakażenia pałeczkami durowymi wody do picia, jako przyczyny epidemii lub zachorowania, następowało zwykle drogą indukcji, nie analizy bakteriologicznej.

Nieprowadzenie dotychczasowych prób wykrywania z wody bakterji z grupy durowo-paratyfusowej można wytłumaczyć w dwójaki sposób:

1) w chwili pobierania prób wody bakterje durowe nie występują w niej wcale lub też występują w innej, nieznanej nam postaci,

2) metody badania są nieodpowiednie dla stwierdzenia małej liczby bakterji w wodach bardzo zanieczyszczonych.

Wysuwano hipotezy, że bakterje duru tracą w wodzie cechy umożliwiające nam ich wykrycie, a więc cechy biochemiczne i serologiczne, lub też przechodzą w formę niewidzialną, przesączalną. Utrata cech serologicznych z zachowaniem swoistych cech biochemicznych, lub odwrotnie, zmiany własności biochemicznych były spostrzegane doświadczalnie, hipoteza ta zatem może być uważana za możliwą.

Nieobecność bakterji duru w wodzie można tłumaczyć również krótkotrwałością ich życia w stosunku do czasu, upływającego od chwili zakażenia wody do wystąpienia objawów u chorych i stwierdzenia klinicznego duru brzuszego, co wynosi od 2 do 5 tygodni.

Zdolność do życia bakterji durowych w wodzie zależy od czynników natury fizycznej i chemicznej.

Pośród czynników fizycznych, należy przedewszystkiem wymienić wpływ temperatury. *Houston* wykazał, że pałeczki duru żyją w wodzie dłużej przy temperaturach niższych. W temperaturze 0 stopni żyją 9 tygodni, przy 55° — 7 tygodni, przy 10° — 5 tygodni, przy 18° — 4 tygodnie, przy 27° — 3 — przy 37° — 2 tygodnie.

Według badań *Vacka* temperatura powyżej 10 stopni jest niekorzystna dla bakterji duru co tłumaczy autor mniejszą ich odpornością na antagonistyczne działanie bakterji wodnych. Ruch i czynniki absorpcyjne, według badań *Weleminskiego* i *Butschowitza*, nie wywierają większego wpływu na zdolność bakterji do życia. Wpływ światła rozproszonego sprzyja raczej rozwojowi pałeczek duru w wodzie.

Pałeczki durowe w silnym stopniu podlegają również wpływowi substancji chemicznych, rozpuszczonych w wodzie. Według *Singera* wody, zawierające sole

wapnia działają bakterjobójczo. natomiast wody, zawierające siarczany, hamują tylko rozmnażanie się bakteryj. Według *Vacka* pałeczki duru mogą żyć a nawet rozmnażać się w wodzie, zawierającej dodatek substancyj organicznych, np. kału lub moczu, o ile stężenie tych substancyj przewyższa minimum, które *Vacek* obliczył eksperymentalnie.

Stickle zauważył przystosowywanie się pałeczek durowych do organizmów roślinnych, a więc i do roślin wodnych. Wynikiem tego przystosowania jest zmienność drobnoustrojów powodująca trudność wykrycia ich z wody.

Samoczyszczanie się wód naturalnych powoduje również zanikanie bakterij chorobotwórczych. Ważnym czynnikiem samooczyszczania się wód jest plankton. Według badań *Vacka* pałeczki durowe mogą znajdować się obok planktonu w wodzie, jeżeli ilość bakterij i planktonu nie przekracza granicy, powyżej której występuje wybitnie hamujące działanie planktonu. Ten punkt widzenia jest o tyle ważnym, że przy powstawaniu epidemij, woda bieżąca lub często zmieniana, przy stałym źródle zakażającym, jest bardziej niebezpieczna niż woda stojąca, w której mikroflora i mikrofauna hamują rozwój pałeczek durowych.

Bardzo ważnym czynnikiem jest również wzajemny antagonizm bakterijny. W największym stopniu hamują wzrost bakterij durowych następujące drobnoustroje: *staphylococcus pyogenes aureus*, *bacterium prodigiosum*, w mniejszym nieco stopniu: *b. coli* i *b. kiliense*, w najmniejszym — *bacterium fluorescens liquefaciens*. (*Vacek*).

Pośród paratyfusów, według *Mohra* i *Wernera*, wybitny antagonizm w stosunku do szczepów Gärtnera, wykazuje paratyfus B Wrocław; w przypadku obecności szczepów, parat. B Wrocław po dwóch dniach pałeczek Gärtnera już nie można wykryć.

Niemożliwość wykrycia pałeczek durowych z wody przypisuje wielu autorów obecności bakteriofaga durowego. Obecność bakteriofaga durowego w wodzie przemawia za jej zakażeniem; jednak nigdy nie udało się z tych wód wyizolować bakterij tyfusowych, przypuszczalnie wskutek lizy bakterij.

Za przyczynę niepowodzeń przy wykrywaniu pałeczek durowych w wodzie, uważać można również niedoskonałość metod badania.

Metody badania wody napotykają na następujące trudności: wody, nadsyłane do badania są zwykle zanieczyszczone (np. wody ściekowe, szlam), zawierają znaczną ilość bakterij wodnych oraz innych niechorobotwórczych i posiadają przeważnie niskie miano *coli*. Przy posiewie na zwykłe podłoża, wyrasta tak znaczna ilość różnorodnych bakterij, że izolowanie poszczególnych kolonij pałeczek durowych i paratyfusowych jest niemożliwe.

Drugą trudnością jest ewentualnie mała ilość pałeczek durowych w stosunku do objętości wody zakażonej oraz złe warunki

rozmnażania się bakteryj. To też większe prawdopodobieństwo wykrycia bakterij durowych będą miały metody, stosujące większe ilości wody przy badaniu; przy użyciu zaś większych ilości wody osłabia się własności podłoża.

Metody badania wody na obecność pałeczek durowych ze względu na ich działanie, można podzielić na:

1) metody, wzbogacające wzrost wszystkich bakteryj, znajdujących się w wodzie,

2) metody, wzbogacające wzrost pałeczek duru i hamujące wzrost innych bakteryj.

Metody wzbogacające mają na celu zwiększenie ilości bakteryj durowych, znajdujących się w wodzie badanej, przez koncentrację ich drogą strącania lub filtracji wody. Osad, po strąceniu lub filtracji posiewa się na podłoża zwykłe. Metody te mają tę wadę, że obok koncentracji bakterij chorobotwórczych, wzbogacają w równym stopniu wzrost pałeczek okrężnicy i innych drobnoustrojów, obecnych w wodzie badanej. Dzięki temu, badanie w sensie wykrycia pałeczek durowych lub paratyfusowych jest niezmiernie utrudnione.

Do strącania bakterij z wody służą środki chemiczne, jak np.: azotan ołowiu ($Pb./NO_3/2$), kwaśny tiosiarczan sodu ($NaHS_2O_3$) — (metoda *Schüdera*) — siarczan żelaza i soda — (metoda *Fickera*), ferri oxychlorati i soda (metoda *Müllera*) — lub też strącanie odbywa się zapomocą surowic swoistych, durowych lub paratyfusowych. Ten sposób strącania polecają: *Schepilewski*, *Alt-schüler*, *Hagelman* i *Salus*. Oryginalna i dająca duży procent wyników dodatnich przy badaniu wód, zakażonych sztucznie, jest metoda *De la Barrera Sordelli* — strącanie bakterij żywych odbywa się zapomocą znacznych ilości zaglutynowanych martwych pałeczek durowych.

Do metod stosujących w celu koncentracji bakterij filtrację wody przez świecę, należą metody: *Chantemesse'a*, *Ditthorna* i *Gilde-meistra* (zmodyfikowana przez *Kaczyńskiego*).

Następnym etapem w rozwoju metodologii badań wody jest dodatek żółci do pożywek. Żółć wzbogaca bardzo silnie wzrost pałeczek durowych i hamuje bakterjofaga tyfusowego, jednak wzbogaca również a nawet w silniejszym stopniu wzrost pałeczek okrężnicy.

Prócz dodatku żółci do podłoża metody późniejsze stosują szereg środków chemicznych, hamujących wzrost innych bakteryj. Do tych należą metody *Fickera i Hoffmana*, *Lubeiau'a*, w których czynnikami hamującymi są kofeina i fiolet krystaliczny, metoda *Lemkego*, stosująca jako czynnik hamujący zieleń brylantową, *Wilsona i Blaire'a* stosująca siarczyny sodowej, bizmut, zieleń brylantową, alkohol absolutny i sublimat, a jako czynnik wzbogacający podłoże Mac Conkey'a.

Wszystkie wspomniane metody nie spełniały jednak swego zadania gdyż zaledwie kilka z ostatnio opisanych, posługiwało się podłożami hamującymi rozwój innych bakteryj i wzbogacającymi wzrost pałeczek durowych i paratyfusowych.

Jak już wspominałam niezmiernie ważnym czynnikiem jest używanie do badania możliwie dużych ilości wody. Warunek ten spełniają, aczkolwiek nie w wystarczającej mierze, metoda opisana przez 4 autorów rosyjskich: *Rosena, Wagnera, Sacharowa i Sobolewa* jak również i metoda *Hodera*. Zarówno jednak w jednym jak i w drugim przypadku podłoża zostają znacznie rozcieńczone wodą badaną. Autorzy rosyjscy używają jako czynników wzbogacających buljonu Hottingera, zakalkalizowanego kredą i chlorkami sodu, potasu i wapnia a jako substancyj hamujących — siarczynu sodowego i płynu Lugola. Na tem podłożu badają $2\frac{1}{2}$ litra wody. Nie jest to metoda jeszcze dokładnie sprawdzona; należy zaznaczyć, że wymaga ona dużych ilości podłoża. Utrudnieniem jest również używanie naczyń o dokładnie określonej pojemności i badanie określonej ilości wody. Metoda *Hodera* jest najdogodniejsza z dotychczasowych: podłoże, zawierające buljon i żółć jako składnik wzbogacający, a zieleń brylantową jako substancję hamującą, wlewa się do 50 — 100 ccm wody badanej w ilości potrzebnej do otrzymania 10% roztworu; po 20 godzinach inkubacji w t. 37°, przesiewa się kroplę hodowli na płytki. Podłoże to zawiera jednak zbyt mało substancyj hamujących, składniki zaś wzbogacające ulegają znacznemu rozcieńczeniu. *Hoderowi* udało się wykryć tą metodą paratyfus B. w wodzie ściekowej.

Kauffmann stosuje jako podłoże wybiórcze do badania wody na bakterje chorobotwórcze buljon z 1:1000 roztworem zieleni brylantowej w następującym: stosunku 1 cz. badanej wody na 100 cz. bul-

jonu lub 50 cz. badanej wody na 50 cz. dwukrotnie skoncentrowanego buljonu.

Autor podaje, że lepsze wyniki daje dodatek do podłoża 5% żółci, lub użycie podłoża z tetratonatem, ponieważ jednak stosuje on do badania zbyt małe ilości wody (1 ccm wody) ujemnego wyniku badania nie można uważać za miarodajny.

W celu wykrycia w wodzie pałeczek duru i paratyfusu, dążyłam do opracowania metody, której zadaniem byłoby wzbogacanie wzrostu pałeczek durowych i paratyfusowych przy równoczesnem zahamowaniu bakterij niechorobotwórczych, zwłaszcza pał. okrężnicy. Starałam się również umożliwić badanie jak największych ilości wody, bez obawy osłabienia własności wzbogacających i hamujących podłoża. Pierwszemu warunkowi wybiórczego wzbogacania pał. durowych przy jednoczesnem zahamowaniu pał. okrężnicy odpowiadało podłoże z tetratonatem sodu i zielenią brylantową, stosowane przez *Müllera i Kauffmanna* do badania kału i moczu na pałeczki durowe. Zalety tego podłoża przy badaniu kału na dur i paratyfusy podkreśla *Amzelówna*, v. d. *Hoeden*, *Rakieten* i *Reltger*. Pozatem praca autorów japońskich *Yoshuio Aoki*, *Tsutae Tsuda*, *Shoshiro-Takahashi*, wykazuje również przewagę tego podłoża nad podłożem z żółcią, *Endo* i podłożem *Szusiowej*.

Ponieważ przez posiewanie na tem podłożu dużych ilości wody, własności tego podłoża uległyby wskutek rozcieńczenia znacznemu osłabieniu, — należało podłoże to zmodyfikować. Oparłam się na metodzie stosowanej do wykrycia przecinkowców cholery z wody, która jak wiadomo polega na dodawaniu do całkowitej ilości wody badanej 10-ciokrotnie skoncentrowanej wody peptonowej, w stosunku 10 : 1, przez co otrzymuje się podłoże o prawidłowej koncentracji.

W metodzie, opracowanej w celu badania wody na pałeczki durowe i paratyfusowe, użyłam podłoża, którego skład jakościowy odpowiada w zasadzie podłożu z tetratonatem *Müllera-Kauffmanna*. Aby nie osłabiać własności tego podłoża przy dodawaniu do niego całkowitej ilości badanej wody, należało je skoncentrować i przez posiewanie całkowitej ilości badanej wody, doprowadzać je do normalnego stężenia. Koncentracja mechaniczna podłoża *Mül-*

lera-Kauffmanna nie dawała jednak pomyslnych wyników, wobec czego wymiarczkowałam oddzielnie poszczególne składniki i otrzymałam empirycznie odpowiednie podłoża. Stężenie składników podłoża polegało na koncentracji buljonu przez zwiększenie 5-cio-krotne ilości mięsa używanego do przygotowania wyciągu, oraz 3-krotne stężenie żółci przez odparowanie. Skład czynników hamujących został ustalony po całym szeregu doświadczeń.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Badania wody przy pomocy podłoża stężonego z tetratonatem.

Badanie podłoża.

W doświadczeniu pierwszym chodziło o wypróbowanie użyteczności podłoża stężonego przy wykrywaniu bakterij duru z wody, przyczem starałam się określić najmniejszą ilość pałeczek durowych, którą daną metodą można wykryć. Wyniki badania porównywałam z wynikami otrzymanymi przy zastosowaniu metody Fickera. Ażeby nie zaciemniać obrazu czynnikami ubocznymi, dokonywałam badania na wodzie jałowej, zakażonej sztucznie wiadomą ilości bakterij znanego szczepu.

Przebieg doświadczenia:

Posiałam 3 porcje po 800 ccm wody wodociągowej, wyjałowionej w autoklawie, i zakażonej 10-ma bakterjami, 2 bakt. i 1 bakt. duru do butelek, zawierających po 200 ccm podłoża *Müllera-Kauffmanna* mechanicznie stężonego.

Jako kontroli użyłam modyfikacji metody *Fickera*: 3 porcje po 1 litrze jałowej wody wodociągowej, zakażałam również 10-ma, 2-ma i 1-ą bakterjami duru, poczem strącałam osad wodorotlenku, żelaza przez dodanie 0,75 ccm 10%-go chlorku żelaza i 1 ccm 5%-go roztworu sody. Po godzinie posiewałam 10 ccm osadu na 60 ccm żółci. Po 24 i 48 godzinach inkubacji w cieplarni w 37° posiewałam po 2 krople hodowli na płytki Endo, z których po 24-ch godzinach odczytywałam wyniki.

Rozcieńczenia zawiesin bakteryjnych, używanych do zakażenia wody robiłam w następujący sposób:

Do probówki z 10 ccm jałowej wody destylowanej, dodałam świeżo przygotowanej zawiesiny pałeczek durowych wiadomego szczepu w takiej ilości, żeby otrzymane zmętnienie odpowiadało według wzorca 100 milionom bakterij w 1 ccm. Dalsze rozcieńczenia robiłam w ten sposób, że dodawałam jałową pipetą, po dokładnem wymieszaniu, 0,1 ccm zawiesiny do 9,9 ccm jałowej wody destylowanej.



przez co w każdej następnej próbówce uzyskiwałam rozcieńczenie 100 razy większe, a więc 1 milion, 10 tysięcy 100 i 1 bakterję w 1 ccm; stężenie 10 bakterji w 1 ccm otrzymałam przez dodanie 1 ccm zawiesiny zawierającej 100 bakterji w 1 ccm do 9 ccm wody.

PROTOKUŁ 1

Podłoże	Posiano pał. durowe w ilości	Wyrosły po		Uwagi
		24 godz.	48 godz.	
		kolonje		
Tetrationat stęż.	1 bakt.	8	87	kol. rough
Żółć	1 „	b. liczne	b. liczne	kol. smooth
Tetrationat stęż.	2 „	174	liczne	kol. rough
Żółć	2 „	b. liczne	b. liczne	kol. smooth
Tetrationat stęż.	10 „	6	b. liczne	kol. rough
Żółć	10 „	b. liczne	b. liczne	kol. smooth

Jak wskazuje protokół 1 zarówno z podłoża stężonego z tetratonatem, jak i z żółci, wyhodowałam pałeczki duru brzuszego. Kolonje, otrzymane na płytkach z podłoża stężonego, były formy rough, podczas gdy na kontroli z żółcią — smooth.

Wniosek: Zastosowanie podłoża stężonego o składzie odpowiadającym ilościowo podłożu *Müllera-Kauffmanna*, nie okazało się lepsze niż zastosowanie metody *Fickera*; skład podłoża przypuszczalnie stwarza warunki niekorzystne dla wzrostu pałeczek durowych ze względu na zbyt wielką ilość czynników hamujących.

Opierając się na wnioskach z doświadczenia poprzedniego, przeprowadziłam szereg badań z podłożami, w których zmieniałam ilość czynników hamujących, wchodzących w ich skład, zachowując technikę badania taką, jak w poprzednim doświadczeniu. Przy modyfikacji podłoża wyciąg mięsny, żółć i kreda pozostały bez zmiany, zachowałam również początkowo stosunek ilościowy tiosiarczanu sodu i jodu, odpowiadający podłożu *Müllera-Kauffmanna*, a zmieniałam ich stosunek do zieleni brylantowej.

WYRÓB POLSKI

Uricedin

jest połączeniem soli zasadowych kwasów roślinnych z podstawowymi składnikami siarczanymi wód zdrojowych.

Przez dowóz alkali kwasów owocowych i przez potęgowanie działania siarczanów, Uricedin pozwala niezasobnym zastępować kosztowną kurację zdrojową leczeniem w domu.

Własności:

rozpuszcza i wydalą kwas moczowy,
zmienia reakcję kwaśną moczu na zasadową,
wzmaga utlenianie,
zwiększa rezerwy zasadowe krwi,
usuwa zastoje w krążeniu krwi, zwłaszcza w obrębie żyły wrotnej,
pobudza perystaltykę i diurezę.

Wskazania:

dna, gościec, rwa kulszowa,
choroby nerek i pęcherza,
choroby wątroby i pęcherzyka żółciowego,
zaburzenia żołądkowe, zaparcie, otyłość,
cukrzyca, miażdżyca tętnic

Dawkowanie:

2 — 3 razy dziennie po łyżeczce Uricediny w szklance wody na $\frac{1}{2}$ godziny przed jedzeniem. Ciepły roztwór Uricediny potęguje działanie.

ZAKŁADY PRZEMYSŁOWE CHEMICZNO-FARMACEUTYCZNE

P R O T O N

WARSZAWA, ŚW. STANISŁAWA 9 — II



Do doświadczenia użyłam 3 podłoży:

Podłoże 1—w którym zachowałam normalną ilość zieleni brylantowej, zmniejszałam natomiast ilość tiosiarczanu sodu i jodu:

I. Wyciąg mięsny stężony przez użycie 5-cio krotnej ilości mięsa 100,0 ccm NaCl 2,5 gr. Pepton 5,0 gr. Żółć stężona 3-krotnie przez odparowanie 8,0 ccm.

Składniki te gotuje się razem, doprowadza do Ph 7,8 i wyjaławia w autoklawie pod ciśnieniem 1 atmosfery.

II. Węglan wapnia chemicznie czysty w ilości 22,5 gr wyjałowić w autoklawie do 1 atmosfery.

I i II zmieszać na zimna i dodać jałowo świeżej mieszaniny:

Tiosiarczanu sodu . . . 15 gr
Jodu w jodku potasu. . . 6 gr
Zieleni brylantowej 0,1% . . 5 ccm

Podłoże 2 — w którym zmieniałam ilość tiosiarczanu sodu, jodu i zieleni brylantowej:

Składniki I i II jak w podłożu 1, następnie:

Tiosiarczanu sodu . . . 20 gr
Jodu w jodku potasu. . . 8 gr
Zieleni brylantowej 0,1% . . 4 ccm

Podłoże 3 — w którym zachowałam normalną ilość tiosiarczanu i jodu, a zmniejszyłam znacznie ilość zieleni brylantowej:

Składniki I i II jak w podłożu 1 następnie:

Tiosiarczanu sodu . . . 25 gr
Jodu w jodku potasu. . . 10 gr
Zieleni brylantowej 0,1% . . 3 ccm

Do butelki z każdym podłożem dodałam po 1 litrze wody zawierającej 2 bakterie.

Kontrolę wykonałam jak poprzednio przez strącanie osadu wodorotlenku żelaza i posiew jego na żółć.

PROTOKUŁ 2

Podłoże	Stężenia: a) tiosiarczanu, b) jodu i c) zieleni	Posiano bakt. durowych	Wyrośli b. ty po 24 godz.	Uwagi
Tetratonat stęż.	a b c 15 — 6 — 5	2	liczne	smooth
„ „	20 — 8 — 4	2	b. liczne	smooth
„ „	25 — 10 — 3	2	liczne	smooth
Żółć		2	b. liczne	smooth

Przy użyciu podłoża o składzie wyżej podanym, otrzymałam wzrost kolonii durowych typu smooth.

Wniosek: Podłoże zawierające 20 gr. tios. sodu, 8 gr. jodu, 4 ccm zieleni brylantowej okazało się najlepsze, ponieważ wyrosło na niem najwięcej bakterij. Ponieważ jednak przy wykrywaniu pałeczek durowych z wody metodą *Fickera* otrzymałam również bardzo obfity wzrost pałeczek durowych, należałoby liczbę posiewanych bakterij doprowadzić do najniższej granicy wykrywalnej na podłożu stęż., aby przekonać się czy w tym wypadku badanie metodą *Fickera* da dodatnie wyniki.

W dalszych zatem doświadczeniach zmieniałam skład czynników hamujących podłoża i zmniejszałam ilość posiewanych pałeczek durowych (1 pał. durowa na 2 litry wody). Technika doświadczenia nie różniła się niczem od doświadczeń poprzednich.

PROTOKUŁ 3

Podłoża	Stężenia: a) tiosiarczanu, b) jodu i c) zieleni	Posiano bakterij ty	Wyrosło po	
			24 godz.	48 godz.
Tetrationat stęż.	a b c 15 — 7 — 4	1 bakt.	—	—
„ „	20 — 8 — 4	1 „	b. liczne	∞
„ „	20 — 7 — 3	1 „	—	—
„ „	20 — 7 — 4	1 „	—	—
„ „	20 — 5 — 4	1 „	—	—
„ „	20 — 6 — 4	1 „	b. liczne	∞
„ „	25 — 7 — 4	1 „	—	—
Żółć		1 „	—	—

Jak wykazuje protokół Nr 3 przy posiewie 1 bakt. na 2 litry wody otrzymałam „nieskończoną“ ilość bakterij durowych na podłożach zawierających 20 gr $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 8 gr J. w KJ., 4 ccm zieleni

brylantowej oraz 20 gr $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 6 gr J. KJ. i 4 ccm zieleni brylantowej.

Wniosek: Skład pożywek: I — 20 gr tiosiarcz., 8 gr J, 4 ccm zieleni brylantowej oraz II — 20 gr tiosiarcz., 6 gr, J 4 ccm zieleni brylantowej okazał się najlepszy gdyż otrzymałam już po 24 godzinach bardzo obfity wzrost prawidłowych kolonii duru, przyczem własności biochemiczne i serologiczne otrzymanych szczepów okazały się niezmienione w porównaniu ze szczepem wyjściowym. W tych samych warunkach na żółci nie otrzymałam wzrostu pałeczek durowych.

Metoda, stosująca podłoże stężone, o optymalnym składzie czynników hamujących, okazała się w powyższych doświadczeniach czulsza niż metoda *Fickera*, ponieważ udało się przy jej zastosowaniu wykryć mniejsze ilości pałeczek durowych z wody, zakażonej sztucznie.

Badanie antagonizmu pałeczek duru i okrężnicy przy zastosowaniu podłoża stężonego z tetratonatem i metody Fickera

Po otrzymaniu podłoża, na którym pałeczki durowe, zawarte w wodzie badanej rosły dobrze i prawidłowo, oraz można było wykryć mniejszą ich ilość niż przy stosowaniu metody *Fickera*, przystąpiłam do badania na tych podłożach antagonistycznych własności bakterii okrężnicy w stosunku do pałeczek duru. Doświadczenie miało na celu sprawdzenie czy i w jakim stopniu podłoża stężone z tetratonatem hamują wzrost pałeczek okrężnicy oraz czy uda się wyizolować czyste hodowle tyfusu z mieszaniny tych bakterii z pałeczkami okrężnicy.

Na dwóch odmianach podłoży stężonych z tetratonatem posiewałam, obok stałej najmniejszej ilości pałeczek duru, równą i dwa razy większą ilość bakterium coli. Stężone podłoża w ilości 200 ccm. rozcieńczałam, jak w doświadczeniach poprzednich, odpowiednią ilością wody wodociągowej wyjałowionej. Rozcieńczenia zawiesin bakterii duru i okrężnicy robiłam, jak poprzednio. Kontrolę przeprowadzałam w analogicznych warunkach metodą *Fickera*. Otrzymane na płytkach kolonie wyizolowałam i sprawdziłam ich biochemiczne i serologiczne własności.

PROTOKUŁ 4

Podłoże	Stężenia: a) tiosiarczanu, b) jodu i c) zieleni	Posiano bakt.		Wyrośli po ty 48 godz.	
		ty	coli	tyf.	coli
Tetrationat stęż.	a b c 20 — 6 — 4	1	1	—	—
" "	20 — 8 — 4	1	1	∞	—
Żółć		1	1	—	—
Tetrationat stęż.	20 — 6 — 4	1	2	58	—
" "	20 — 8 — 4	1	2	∞	—
Żółć		1	2	—	∞

Wynik: Na podłożu o składzie 20 gr tiosiarcz., 6 gr. J., 4 ccm zieleni brylantowej przy zakażeniu 1 pałeczką tyfusu i 1 okrężnicy, nie otrzymałam wzrostu tych bakteryj; przy zakażeniu tego podłoża 1 pałeczką duru i 2-ma okrężnicy, otrzymałam wzrost pałeczek duru, wzrost zaś pałeczek okrężnicy został zahamowany. Na podłożu o składzie 20 gr tics., 8 gr J., 4 ccm zieleni brylantowej pałeczki duru posiane w ilości 1 bakt. wyrosły bardzo obficie, posiane zaś w tej samej ilości pałeczki okrężnicy uległy zahamowaniu. Przy zastosowaniu metody *Fickera*, pałeczek durowych nie udało się wykryć. Posiewając wodę zakażoną 2 pał. okrężnicy na płytki otrzymałam bardzo obfity wzrost tych pałeczek.

Wniosek: Przy uwzględnianiu czynnika antagonizmu bakteryj, podłoże stężone o składzie 20 gr tiosiarcz., 8 gr J., 4 ccm zieleni okazało się lepsze niż podłoże o składzie 20 gr tiosiarcz., 6 gr J., 4 ccm zieleni brylantowej gdyż otrzymano na niem bardzo obfity wzrost pałeczek durowych. Podłoże to nazywam T.T.S. conc. (Tetrationat sodu conc.).

A zatem po szeregu doświadczeń, ustaliłam następujący skład podłoża, optymalny w naszych warunkach do badania wody.

I.

Wyciąg mięsny, stężony przez użycie 5-cio krotnej ilości mięsa	100,0 ccm
NaCl	2,5 gr
Pepton	5,0 gr
Żółć, stężona 3-krotnie przez odparowanie	8,0 ccm

Składniki te gotuje się razem, doprowadza do Ph 7,8, wyjaławia w autoklawie, pod ciśnieniem 1 atmosfery.

II.

Węglan wapnia, chemicznie czysty w ilości 22,5 gr. wyjałowić w autoklawie do 1 atmosfery.

Składniki I-szy i II-gi zmieszać na zimno, dodać jałowo świeżej mieszaniny:
Tiosiarczanu sodu 20 gr. w 40 ccm. wody przekropl.
Jodu w jodku potasu 8 ccm. (20 gr. J. i 25 gr. KJ w 100 ccm. wody przekropl.)
Zieleni brylantowej 0,1 % 4 ccm.

Podłoże nie powinno być przechowywane dłużej niż 3 dni, jego części składowe natomiast można przechowywać długo oddzielnie i w razie potrzeby mieszać w odpowiedniej ilości.

Można wyjaławiać w jednym naczyniu większe ilości podłoża i dodawać je w odpowiedniej ilości do badanej wody. Podłoże przed dodaniem do wody należy dokładnie zmieszać, tak aby węglan wapnia nie tworzył osadu na dnie naczynia.

Badanie wody według metody, opracowanej przez nas, polega na tem, że do dowolnej ilości wody badanej np. 1 litra, dodaje się stężonego podłoża w stosunku: 1 cz. podłoża do 4 cz. wody pozostawia się 24 godziny w 37°, poczem przy badaniu wód mniej zanieczyszczonych, posiewa się z głębi hodowli 1 — 2 krople na płytkę Endo; jeśli woda jest bardziej zanieczyszczona (szlam, ścieki), przesiewa się z 24 godzinnej hodowli na podłożu stężonym 2 krople do probówki z podłożem *Müllera-Kauffmanna*, skąd po 24-o godzinnej inkubacji w temperaturze 37° — 1 kroplę na płytkę Endo.

Badanie antagonizmu pałeczek duru i okrężnicy na podłożu T.T.S. conc.

W dalszych doświadczeniach posługiwałam się podłożem T.T.S. conc. Posiewałam na niem wodę jałową, zakażoną stałą, najmniejszą ilością bakterij duru i różnemi, coraz większ em

ilościami bakterij okrężnicy. Kontrolę wykonywałam, jak w doświadczeniach poprzednich. Ponieważ w doświadczeniach kontrolnych po strącaniu z wody osadu wodorotlenku żelazowego i posianiu jego na żółci nie otrzymałam wzrostu pałeczek durowych, nasunęła się koncepcja, że dodatek chlorku żelaza wpływa hamująco na wzrost tych bakterij; wobec tego posiałam 10 ccm wody, zakażonej 1 pałeczką duru i 200, 1000 oraz 2.000 pałeczek okrężnicy bezpośrednio na 60 ccm żółci.

P R O T O K O Ł 5

Podłoże	Posiano bakt.		Wyrośło po 24 g.		Wyrośło po 48 g.	
	ty	coli	ty	coli	ty	coli
T. T. S. conc.	1	20	liczne	—	∞	—
Żółć (Ficker)	1	20	—	∞	—	∞
T. T. S. conc.	1	100	b. liczne	—	∞	—
Żółć (Ficker)	1	100	—	∞	—	∞
T. T. S. conc.	1	200	∞	—	∞	—
Żółć (Ficker)	1	200	—	∞	—	∞
Żółć bezp.	1	200	—	∞	—	∞
T. T. S. conc.	1	1.000	∞	—	∞	—
Żółć (Ficker)	1	1.000	—	∞	—	∞
Żółć bezp.	1	1.000	—	∞	—	∞
T. T. S. conc.	1	2.000	—	—	—	—
Żółć (Ficker)	1	2.000	—	∞	—	∞
Żółć bezp.	1	2.000	—	∞	—	∞
T. T. S. conc.	1	10.000	34 rough	—	∞ smooth	—
Żółć (Ficker)	1	10.000	—	∞	—	∞
T. T. S. conc.	1	20 milj.	—	—	—	13
Żółć (Ficker)	1	20 milj.	—	∞	—	∞

Na podłożu T. T. S. conc. wzrost pałeczek durowych otrzymałam nawet przy posiewie 1000-krotnie większych ilości pałeczek

okrężnicy, (1 pałeczka duru + 1000 pał. okrężnicy). Po 48 godzinach otrzymałam wzrost pał. durowej nawet z mieszaniny z 10.000 razy większą ilością b. coli Podłoże stężone hamuje bardzo znacznie wzrost pałeczek okrężnicy, ponieważ dopiero po posianiu 10 milionów bakterij okrężnicy można było otrzymać po 48 godzinach pojedyncze kolonie tych bakterij. W posiewach kontrolnych dokonanych drogą strącenia bakterij z wody za pomocą FeCl_3 i sody i posiewie osadu na żółci, otrzymałam bardzo obfity wzrost pałeczek okrężnicy, natomiast wzrostu pałeczek durowych nie otrzymałam zupełnie. Nawet z posianych w równych ilościach pałeczek okrężnicy i duru nie można było wykryć pał. duru.

Wniosek: Niewykrywanie pałeczek durowych z wody metodą Fickera nie zależy od hamujących własności chlorku żelaza, lecz od wzbogacających wzrost pałeczek okrężnicy własności żółci. Wykrycie pałeczek durowych z wody przy zastosowaniu podłoża T.T.S. conc. nie przedstawia w warunkach zakażenia sztucznego, żadnych trudności, gdyż podłoże to hamuje w znacznym stopniu wzrost pałeczek okrężnicy, natomiast wzbogaca wzrost pałeczek durowych.

Badanie antagonizmu pałeczek paratyfusowych i pałeczek okrężnicy na podłożu T. T. S. conc.

Badanie antagonistycznych własności pałeczek paratyfusów i okrężnicy przeprowadzałam w analogiczny sposób jak w doświadczeniach z pałeczkami duru i okrężnicy. Odrzucając pałeczki paratyfusu A, jako prawie niespotykane u nas, oraz Gärtnera, jako nietypowe dla etiologii epidemij wodnych, przebadalam szczepy paratyfusów B. i C.

1 ccm zawiesiny zawierającej 1 bakterję paratyfusu B. i 1 ccm zawiesiny zawierającej 1 bak. paratyfusu C. oraz 1 ccm zawiesiny zawierającej 100 bakterij okrężnicy posiałam na płytki Endo. Przekonawszy się, że przygotowane zawiesiny istotnie zawierają odpowiednie ilości drobnoustrojów, przystąpiłam do właściwego doświadczenia. Technika doświadczenia nie różniła niczem od doświadczenia poprzedniego, użyłam tylko innego szczepu pałeczek okrężnicy. Wodę zakażałam bakterjami paratyfusu B. i C. w ilości 1 bak.

w 400 ccm wody oraz bakteriami okrężnicy w ilościach 100, 1000 i 5000 razy większych.

PROTOKUŁ 6

Podłoże	Posiano bakterji		Wyrośło bakterji	
	paratyfusuB	coli	paratyfusuB	coli
T.T.S. conc.	1	100	∞	17
T.T.S. conc.	1	1000	∞	104
T.T.S. conc.	1	5000	∞	—

PROTOKUŁ 7

Podłoże	Posiano bakterji		Wyrośło bakterji	
	paratyf. C	coli	paratyf. C	coli
T.T.S. conc.	1	100	—	—
T.T.S. conc.	1	1000	∞	24
T.T.S. conc.	1	5000	∞	37

Wynik: Po zastosowaniu podłoża T.T.S.conc. i przesianiu z niego kropli hodowli na płytki Endo, otrzymałam bardzo obfity wzrost pałeczek paratyfusów. Badany szczep coli wyrósł również na tem podłożu, jednakże wzrost jego był tak znacznie zahamowany, że nie przeszkadzał zupełnie wyizolowaniu z płytek bakterij paratyfusów. Własności biochemiczne i serologiczne wyhodowanych pał. paratyfusowych B i C były zupełnie typowe.

Obliczenie indeksu antagonizmu *Nissle'a* t. j. ilości bakterij chorobotwórczych, przypadających na 100 bakt. coli, było niemożliwe ze względu na to, iż na kilkadziesiąt kolonii okrężnicy otrzymano jednolity wzrost pałeczek paratyfusów, pokrywających całą powierzchnię płytek.

Wniosek: Podłoże T.T.S. conc. wzbogaca bardzo znacznie wzrost pał. paratyfusów, hamując w dużym stopniu wzrost pałeczek okrężnicy.

Tempo wzrostu pałeczek durowych i pałeczek okrężnicy na podłożu T. T. S. conc.

W dalszym ciągu doświadczeń, starałam się zbadać jakie jest tempo wzrostu pałeczek durowych i okrężnicowych na podłożu T. T. S. conc. Badania porównawcze przeprowadziłam na żółci.

Przedewszystkiem należało ustalić, czy istnieją jakiekolwiek różnice w wynikach doświadczeń przy pobieraniu hodowli z różnych głębokości podłoża.

2 porcje po 400 ccm jałowej wody wodociągowej, zakażonej 1000 bakterij tyfusu (1-sza porcja) i 1000 b. okrężnicy (2-a porcja), posiałam na 2 porcje po 100 ccm podłoża T.T.S. conc. Podobnie zakażone 2 porcje po 100 ccm wody posiałam na żółć. Po 24 godzinach inkubacji w 37° posiałam po 2 krople hodowli, pobrane z powierzchni i z głębi na płytki Endo.

Wzrostu bakterij okrężnicy na podłożu stężonem nie otrzymałam zupełnie. Wzrost bakterij durowych na obu podłożach i wzrost pałeczek okrężnicy na żółci był znacznie obfitszy przy pobieraniu materiału do posiewu z głębi podłoża.

P R O T O K U Ł 8

Podłoże	Posiano bakt.		Z powierzchni podł. wyrosło		Z głębi podł. wyrosło	
	ty	coli	ty	coli	ty	coli
T.T.S. conc.	1000	○	liczne	○	∞	○
T.T.S. conc.	○	1000	○	—	○	—
Żółć	1000	○	b. liczne	○	∞	○
Żółć	○	1000	○	b. liczne	○	∞

○ = nierobione. — = wynik ujemny.

Wniosek: Przy badaniach wody na obecność pałeczek durowych należy posiewać na płytki materiał z głębszych warstw podłoża T. T. S. conc.

Badania, dotyczące tempa wzrostu pałeczek durowych na podłożu T. T. S. conc. prowadzone były w sposób następujący:

100 ccm podłoża stężonego dodałam do 400 ccm wody zakażonej sztucznie 1000 bakteryj duru brzuszego. To samo zrobiłam z drugą porcją wody, zakażoną 1000 bakteryj okrężnicy. Takimi samymi ilościami bakteryj duru i coli zakażałam 2 porcje po 10 ccm wody jałowej wodociągowej i posiałam je do buteleczek z 60 ccm żółci. Co 2 godziny posiewałam po 2 krople płynu, pobranego z głębi hodowli na płytki Endo. Po 24 godzinach przetrzymywania w cieplarni odczytałam wyniki, licząc otrzymane kolonie. Kolonie pałeczek durowych, które wyrosły na płytkach, zostały sprawdzone pod względem ich własności biochemicznych i serologicznych.

PROTOKUŁ 9

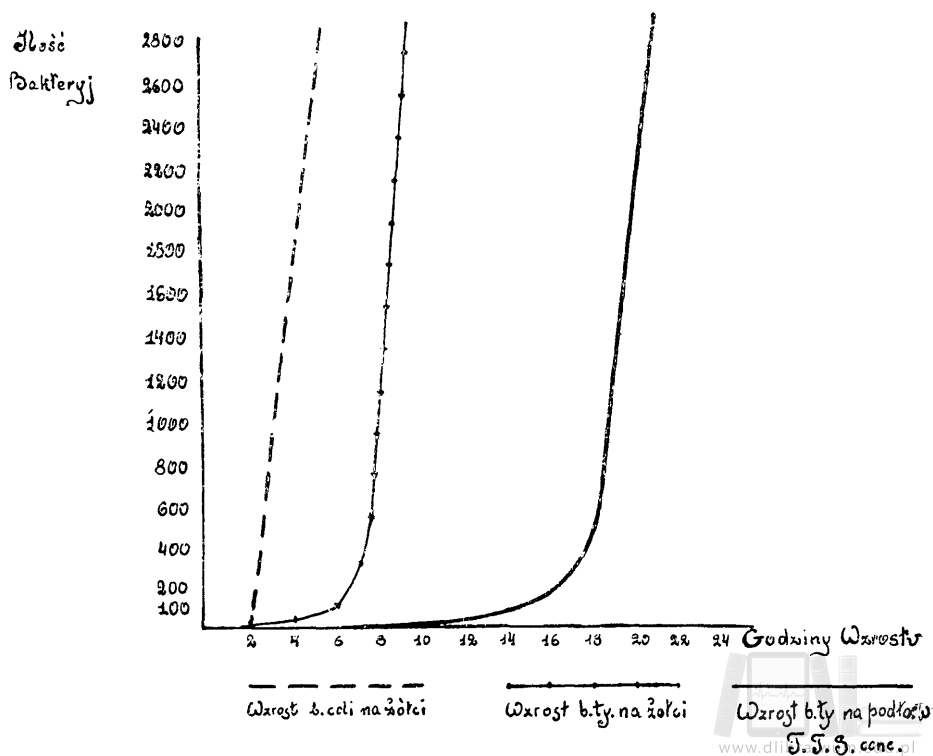
Godziny wzrostu na podłożach	Podłoże T.T.S. conc		Żółć	
	ty	coli	ty	coli
2	—	—	24	8
4	1	—	24	1724
6	5	—	102	3296
10	24	—	8606	∞
12	41	1	∞	∞
14	111	—	∞	∞
16	166	—	∞	∞
18	410	1	∞	∞
22	∞	—	∞	∞
24	∞	—	∞	∞

Jak wykazuje protokół 9 na podłożu T. T. S. conc. bakterje okrężnicy wyrosły bardzo skąpo, (1 kolonia po 12 godz. i 1 — po 18 godz.). Ta sama ilość bakteryj, posiana na żółć już po 4 godzinach wykazała niezmiernie obfity wzrost. Pałeczki tyfusu na

podłożu T.T.S. conc. rosły początkowo mniej obficie niż na żółci, jednakże po 22 godzinach otrzymałam na obu podłożach jednakową ilość bakterij.

Możemy zatem wnioskować, że podłoże T. T. S. conc. w pierwszych godzinach wzrostu bakterij wywiera słabsze działanie wzbogacające na pałeczki durowe niż żółć. Żółć jednak wzbogaca w większym stopniu wzrost pałeczek okrężnicy niż bakterij tyfusu. Wykrycie zatem małych ilości pałeczek durowych obok wielkich ilości okrężnicy, jak to ma miejsce w wodzie, jest niemożliwe, co zresztą wykazały i doświadczenia poprzednie. Podłoże T. T. S. conc. ma tę znaczną przewagę nad żółcią, że hamuje wzrost bakterij okrężnicy, natomiast jego działanie wzbogacające na wzrost bakterij durowych, występuje wybitnie choć dopiero po dłuższym czasie inkubacji; w temperaturze 37° — po 22 godzinach.

Ażeby uplastyczyć wyniki doświadczenia, przedstawiłam wzrost pałeczek durowych i okrężnicy na obu podłożach graficznie. Otrzymane krzywe przedstawiają się w następujący sposób:



Pracując ze zwykłym podłożem Müllera-Kauffmanna, zauważono, że niewszystkie szczepy okrężnicy ulegają całkowitemu zahamowaniu. Niektóre szczepy rosną na tem podłożu, chociaż nie tak obficie, jak na innych podłożach. Zastanawiałam się zatem, jak będzie się przedstawiał na podłożu T. T. S. conc. wzrost szczepu okrężnicy, odpornego na działanie tetratonatu i zieleni brylantowej. W tym celu zakaziłam 400 ccm jałowej wody wodociągowej 1000 pałeczek okrężnicy, pochodzących ze szczepu, który wyrósł po posiewie kału na podłożu Müllera-Kauffmanna. Wodę posiałam na 100 ccm podłoża T. T. S. conc. oraz na zwykłe podłoże Müllera-Kauffmanna. Co 2 godziny przesiewałam po 2 krople hodowli na płytki Endo. Wyniki posiewów odczytałam po 24 godz.

PROTOKUŁ 10

Godziny wzrostu na podłożach	Wyrośło na podł. T.T.S. conc. kolonij	Wyrośło na podłożu Müllera-Kauf- manna kolonij
2	2	31
4	7	32
6	522	6
18	∞	2
20	∞	309

Jak widać z protokołu 10 zarówno na podłożu Müllera-Kauffmanna, jak i na podłożu T. T. S. conc. otrzymano wzrost pałeczek okrężnicy. W pierwszych godzinach, podłoże T. T. S. conc. hamuje silniej wzrost tych bakterij, poczem działanie hamujące w stosunku do tego szczepu słabnie.

Po określeniu tempa wzrostu tego szczepu na podłożu T. T. S. conc. należało zbadać czy posiany łącznie z pałeczkami duru, wywiera on pewne działanie antagonistyczne na wzrost pałeczek durowych.

Zakaziłam 400 ccm wody 1000 bakterij duru i 1000 b. okrężnicy. poczem posiałam ją na 100 ccm podłoża T. T. S. conc. Hodowlę umieściłam w cieplarni w t. 37° i co kilka godzin przesiewałam po 2 krople hodowli na płytki Endo

Wyniki doświadczenia przedstawione są w następującym protokole:

PROTOKUŁ II

Godziny wzrostu	Wyrośło bakt.	
	ty	coli
2	6	—
5	15	—
7	92	—
19	liczne	—
24	b. liczne	—

Jak wykazuje protokół II na podłożu T. T. S. conc. nie otrzymałam wzrostu pałeczek okrężnicy z posianej mieszaniny tych bakterij z pałeczkami durowymi, otrzymałam natomiast, zwłaszcza po dłuższej inkubacji, obfity wzrost czystej hodowli pał. durowych.

Wynik: Przy posiewie na podłożu T.T.S. conc. mieszaniny pałeczek durowych i okrężnicy wyrastają przy posiewie mieszaniny wyłącznie pałeczki durowe, podczas gdy pałeczki okrężnicy, które w czystej hodowli rosną na tem podłożu obficie, w tych warunkach są całkowicie zahamowane.

Wynik tego doświadczenia zgadza się w zupełności z wynikami pracy badaczy japońskich *Yoshuio Aoki* i jego współpracowników, którzy przeprowadzali badania antagonizmu pałeczek okrężnicy i duru na podłożu Müllera-Kauffmanna. Używali oni prawdopodobnie do badań szczepu okrężnicy, odpornego na działanie tetratonatu i zieleni brylantowej.

Badanie wód naturalnych.

W drugiej części pracy przystąpiłam do badania na podłożu T. T. S. conc. prób wody studziennej, rzecznej i ściekowej. Część prób tej wody była przysłana do P. Z. H. do badania, część pochodziła ze studni otwartych, kopanych, z przedmieścia Warszawy, których woda nie służyła do picia.

Wody przeważnie nie były podejrzane o zakażenie durem, więc ażeby sprawdzić czy ujemny wynik badania zależał od nieobecności bakterij durowych w danej wodzie, czy od niemożności wykrycia ich wskutek niedoskonałej metody, zakażałam część badanej wody bardzo małą ilością pałeczek durowych i starałam się wykryć je naszą metodą. Początkowo robiłam również próby ze strącaniem wodorotlenku żelaza i posiewem osadu na żółć.

Sposób badania wody polegał na tem, że posiewałam po 400 ccm wody na 100 ccm podłoża stężonego, po 24 godz. inkubacji w 37° przesiewałam po 2 krople hodowli na płytki Endo. Przebadałam tym sposobem 8 prób wody: 2 ściekowe z Tczewa, 2 próby wody i 1 szlamu ze źródła, 2 próby wody i 1 szlamu z rzeki.

Z jednej z wód ściekowych wyizolowałam na podłożu T. T. S. conc. szczep pałeczek paratyfusu B. Własności biochemiczne szczepu były typowe, niemożność aglutynacji z surowicą swoistą antyparatyfusową B. wynosiła 1 : 3.200, z surowicą przeciwdurową 1 : 200. Wzrost na podłożach syntetycznych Pescha-Brauna był typowy dla pałeczek paratyfusu B. typu Schottmüllera. Należy dodać, że przy zastosowaniu metody strącania wodorotlenku żelaza, bakterij chorobotwórczych z tejże wody nie wykryłam.

Poza tym szczepem paratyfusu B. w innych badanych próbach wodnych bakterij durowych ani paratyfusowych nie wykryto.

Ponieważ przy powyższych badaniach otrzymałam na podłożu T. T. S. conc. dość obfity wzrost bakterij rosnących w postaci białych kolonij, spróbowałam czy nie udałoby się zahamować wzrostu tych bakterij przez prowadzenie jakgdyby drugiej barjery hamującej. Za taki drugi czynnik hamujący przyjęłam podłoże Szustowej. Postępowałam w sposób następujący: badaną wodę posiewałam na podłoże T. T. S. conc. a po 24 godz. na płytki Szustowej. Sposób ten jednakże nie okazał się dogodny

ponieważ wzrost innych bakterij nie był dostatecznie zahamowany co utrudniało izolowanie szczepów podejrzanych.

W następnych doświadczeniach zwiększałam możliwości zahamowania innych bakterij w ten sposób, że po 24 godz. od chwili posiewu wody na podłoże T. T. S. conc. przesiewałam po 2 krople hodowli do probówki z 10 ccm podłoża Müllera-Kauffmanna i dopiero po drugich 24 godz. inkubacji, posiewałam po 2 krople na płytki Endo. Sposób ten okazał się bardzo dogodny: wody niezakażone nie dawały wzrostu żadnych bakterij, lub dawały wzrost bardzo skąpy; w wodach zakażonych 1 i 5 bakterjami duru brzuszego, wykrywałam te bakterje.

Opisane serje doświadczeń, dotyczące badania wód zakażonych sztucznie pałeczkami durowemi, porównałam z wynikami, otrzymanymi metodą *Fickera*.

Okazało się, że podłoże T. T. S. conc. po zastosowaniu podwójnego zahamowania wielokrotnie przewyższa żółć: na 57 posiewów wody, zawierającej w pół litrze jedną pałeczkę durową, w 22 otrzymałam dodatni wynik posiewu, podczas gdy analogiczne doświadczenia na żółci, wypadły ujemnie. Zaznaczyć należy, że przy zakażeniu wody, posługiwałam się metodą rozcieńczeń. Wodę zakażałam 1 ccm soli fizjologicznej, w której na zasadzie odpowiedniego rozcieńczenia, znajdowała się 1 pałeczka durowa. Zakażając wodę 1 ccm tej zawiesiny, posiewałam równocześnie taką samą jej ilość na płytkę Endo, celem skontrolowania ilości bakterij w niej zawartych. Niejednokrotnie na podłożu Endo nie otrzymałam żadnego wzrostu, a więc nie można mieć zupełnej pewności, że przy zakażeniu wody 1 ccm zawiesiny, wprowadzałam do niej istotnie pałeczkę duru brzuszego. Spostrzeżenie to utrudnia nieco interpretację wyników, ponieważ wyniki ujemne w pewnym odsetku przypadków można przypisać nieobecności pałeczki durowej w badanej wodzie.

W jednym z doświadczeń badałam na podłożu T. T. S. conc. wzrost bakterij w wodzie zakażonej 1 i 5 bakterjami duru oraz niezakażonej, w zależności od czasu wzrostu oraz od sposobu pobrania próby wody.

Do 3 prób po 100 ccm wody studziennej, pobranej z powierzchni i głębi studni i 100 ccm szlamu z dna studni kopanej dodałem po 25 ccm podłoża T.T.S. conc. Po 2 godzinach przetrzymania w cieplarni, posiałam 2 krople hodowli na płytki Endo oraz po 2 krople na podłoże Müllera-Kauffmana. Po 6 godzinach pobytu hodowli wyjściowej w cieplarni, posiałam znów po 2 krople na płytki Endo, po 2 na podłoże Müllera-Kauffmana. Z poprzedniej t. j. po 2 godzinach posianej hodowli na podłoże Müllera-Kauffmana posiałam po 2 krople na płytki i po 2 na drugą porcję podłoża Müllera-Kauffmana.

W żadnym wypadku nie otrzymałam wzrostu bakterij bez względu na czas wzrostu i warstwę z której pobrana była próba wody. Prawdopodobnie woda badana nie zawierała bakterij duru ani paratyfusów, wzrost zaś innych bakterij na tem podłożu został zahamowany.

Dwie 100 ccm próby tej samej wody, zakaziłam 1 i 5 bakterjami durowymi, po 6 godzinach inkubacji w cieplarni przesiałam po 2 krople na podłoże Müllera-Kauffmana; po 24 godzinach powtórzyłam to samo. Z pożywek Müllera-Kauffmana przesiałam po 24 godzinach po 2 krople na płytki Endo.

Następujący protokół 12 przedstawia wyniki tych doświadczeń.

Przy zakażeniu sztucznem 1 i 5 bakterjami duru, przy stosowaniu podłoża T. T. S. conc, można było wykryć obecność tych drobnoustrojów. Należy zaznaczyć, że większe prawdopodobieństwo wykrycia mniejszych ilości pałeczek durowych z wody otrzymujemy po dłuższej inkubacji hodowli na podłożu stężonem T. T. S. conc.

Ogółem przebadalam 81 prób wody. W jednym przypadku wykryłam szczep paratyfusu B. z wody ściekowej.

Z 67 prób wody, zakażonej 1 bakterją duru brzuszego, otrzymałam dodatnie wyniki w 24 przypadkach, t. j. w 36 %. Ujemne wyniki możnaby częściowo przypisać temu, że przy tak znacznem rozcieńczeniu zawiesiny bakteryjnej, którą zakażałam wodę, 1 bakterja durowa mogła się do wody nie dostać. Przypuszczenie to potwierdzają wyniki kontroli zawiesin, służących do zakażania.

PROTOKUŁ 12

Woda pobrana	Zakażono b. ty i posiano na podłożu T. T. S. conc	Czaspośrodkowym z podłoża T. T. S. conc prze- siano na podło- że Müllera- Kaufmanna	Wyrosto b. ty
Z pow.	1	6 g.	—
Z głębi	1	6 „	—
Szlam	1	6 „	—
Z pow.	5	6 „	ty
Z głębi	5	6 „	ty
Szlam	5	6 „	—
Z pow.	1	24 „	—
Z głębi	1	24 „	ty
Szlam	1	24 „	ty
Z pow.	5	24 „	ty
Z głębi	5	24 „	ty
Szlam	5	24 „	—

Z 40 prób wody zakażonej 5 bakterjami duru, otrzymałam wyniki dodatnie w 26 przypadkach t. t. w 65%.

Przy dwukrotnem zakażeniu wody 10 bakterjami durowemi, w obu wypadkach wykryłam te drobnoustroje.

Na zakończenie pragnęłabym podziękować Panu Profesorowi Dr. *L. Hirszfeldowi* za podanie mi tematu niniejszej pracy oraz za cenne uwagi, jakich mi nie szczędził w toku pracy i Pani *R. Amzelównie* za rady i pomoc przy wykonywaniu i opracowaniu tematu.

Streszczenie.

1. Podłoże T. T. S. conc. do badania wody działa wzbogacająco na pałeczki durowe i paratyfusowe, hamując równocześnie

wzrost bakterij niechorobotwórczych, a przede wszystkim pałeczek okrężnicy. Niektóre szczepy okrężnicy nie rosną na niem zupełnie, inne rosną w czystych hodowlach, natomiast posiane łącznie z pałeczkami durowymi, nie wyrastają wskutek antagonizmu bakteryjnego.

2. Wzrost pałeczek durowych na podłożu T. T. S. conc. w pierwszych godzinach od chwili posiania, jest mniej obfity niż na żółci; po kilkunastu jednak godzinach różnica się zaciera, wzrost pałeczek durowych jest bardzo obfity. Przewaga podłoża T. T. S. conc. w porównaniu z żółcią polega na tem, że żółć wzbogaca silniej pałeczki okrężnicy, podczas gdy podłoże T. T. S. conc. hamuje wzrost okrężnicy, wzbogacając równocześnie pałeczki durowe.

3. Podłoże T. T. S. jest stężone i dla doprowadzenia do normalnej koncentracji, należy je rozcieńczyć wodą badaną. Praktycznie skutecznia się to w ten sposób, że do badanej wody, w dowolnej ilości np. do 1 litra, dodaje się podłoża T. T. S. conc. w stosunku: 1 część podłoża do 4 części wody.

4. Przy zastosowaniu podłoża T. T. S. conc. wykryliśmy pałeczki duru w 36 % w wodach, zakażonych sztucznie i bakterią duru, oraz w 65 % przy zakażeniu tych wód 5 pałeczkami duru (wody miały przeważnie bardzo niskie miano coli, co dowodzi ich znacznego zanieczyszczenia).

5. Pałeczek durowych w wodach nie zakażonych sztucznie nie wykryłam. Były to wody przeważnie nie podejrzane o zakażenie durem i żadna z nich nie spowodowała epidemii.

6. Posługując się tą metodą, wykryłam w wodzie ściekowej pałeczkę paratyfusu B. typu Schottmüllera.

7. Podłoże T. T. S. conc. jest niezbyt kosztowne, łatwe do przygotowania; przeprowadzenie badania na tem podłożu nie powoduje żadnych trudności technicznych.

8. Podłoże T. T. S. conc. nie powinno być przechowywane dłużej niż 3 dni, jednak jego części składowe t.j.: wyciąg mięsny stężony, żółć stężona, tiosiarczan sodu, jodek w jodku potasu, zieleń brylantowa, można oddzielnie przechowywać przez czas dłuższy i w razie potrzeby, mieszać w odpowiedniej ilości.

Aus dem Staatlichen Institut für Hygiene. Abteilung für Bakteriologie und experimentelle Medizin. Direktor Prof. Dr. L. Hirszfeld

WASSERUNTERSUCHUNG AUF DIE ANWESENHEIT DER TYPHUSBACILLEN

V o n

J. SZPER

ZUSAMMENFASSUNG

1) Der für die Wasseruntersuchung benutzte konzentrierte Natriumtetrathionatnährboden stellt einen Anreicherungs-nährboden für Typhus und Paratyphusbacillen dar, welcher gleichzeitig das Wachstum nicht pathogener Bakterien, in erster Reihe der Colibakterien, hemmt. Manche Colistämme wachsen überhaupt nicht, andere nur in Reinkulturen, dagegen zusammen mit Typhusbacillen geimpft, kommen infolge des Bakterienantagonismus nicht zur Entwicklung.

2) Das Wachstum der Typhusbacillen ist in den ersten Stunden nach der Verimpfung auf diesem Nährboden spärlicher, als auf der Galle, aber schon nach 14 Stunden wird das Wachstum sehr üppig.

3) Unserer Natriumtetrathionatnährboden ist konzentriert und er wird mit dem untersuchten Wasser in Verhältnis: 4 Teile Wasser auf 1 Teil Nährbodens verdünnt.

4) Bei Benutzung dieses Nährbodens konnte man in 36% der Fälle Typhusbacillen feststellen, wenn 1000—500 ccm Wasser künstlich mit einem Typhusbacillus, und in 65%, wenn dieselbe Menge Wasser mit 5 Typhusbacillen inficiert wurden (der Colititer des untersuchten Wassers war sehr niedrig, was für eine grosse Verunreinigung des Wassers spricht).

5) In nicht künstlich infiziertem Wasser konnten Typhusbacillen nicht festgestellt werden, es handelte sich aber um Fälle wo kein Verdacht auf die Anwesenheit von Typhusbacillen vorlag, denn in keinem Falle verursachte das betreffende Wasser eine Epidemie.

6) Bei Benutzung dieser Methode wurden in einem Falle aus dem Abwasser Paratyphusbacillen B Schottmüller herausgezüchtet.

7) Die Zusammensetzung des empfohlenen Nährbodens ist folgende.

I. Konzentrierter Fleischextrakt durch Verwendung der 5-fachen Fleischmenge 100 cc, NaCl 2,5 gr, Pepton 5,0 gr, Galle durch Verdampfung 3 mal konzentriert 8,0 cc.

Die Mischung wird gekocht auf 7,8 Ph eingestellt und im Autoklav sterilisiert.

II. Calcium Carbonat chemisch rein 22,5 gr im Autoklav sterilisieren.

I und II wird in der Kälte gemischt und folgende Substanzen in der Kälte zugesetzt: Natriumthiosulfat 20 gr in 40 cc Aqua, Jod in Jodkalium 8 cc (20 gr Jod, 25 gr KJ in 100 cc Aqua), Brillantgrün 0,1% 4 cc.

8) Dieser Nährboden ist nicht teuer, er ist leicht herstellbar und die Wasseruntersuchung bietet keine technischen Schwierigkeiten dar.

9) Dieser Nährboden ist nur 3 Tage haltbar, dagegen können die betreffenden Bestandteile (konzentrierter Fleischextrakt, konz. Galle, Natriumthiosulfat, Jod in Jodkali und Brillantgrün) längere Zeit aufbewahrt und vor dem Gebrauch in entsprechenden Mengen vermischt werden.

P I Ś M I E N N I C T W O

Aoki, Yoshio, Tsutae Tsuda, Shoshiro Tagahaski. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. t. 116 z. 3. str. 253, 1934. — Amzel R. C. R. Soc. Biol. t. 104, str. 1081—1082, 1933. — Amzelówna R. — Med. Dośw. i Społ. t. XVIII z. 1-2, 1934. — De la Barrera Sordelli. Ztrbl. f. d. ges. Hyg. Ref. t. 12 str. 396, 1926. Rev. asoc. med. Argentina t. 37, str. 307, 1924. — Drbohlav, Czas. lek. czes. 1930. Ficker. Zeitschr. f. Hyg. t. 75, str. 147, 1913. — Fraenkel. Zeitschr. f. Hyg. t. 2, str. 521, 1887. — Hoder. Ztrbl. f. Bakt. t. 102, str. 313, 1927. — Hübener. Cyt. wg. Singera Ztrbl. f. Bakt. t. 95 Nr. 17/18 1929. — Houston. Cyt. wg. Singera Ztrbl. f. Bakt. t. 95 Nr. 17/18 1929. — Kaczinski. Zeitschr. f. Hyg. t. 74, str. 188, 1913. — Kyriasides. Zeitschr. f. Hyg. t. 112, str. 350—364, 1931. — Kauffmann u. Boecker. Bakteriologische Diagnostik J. Springer 1931 Berlin. — Kollé, Kraus, Uhlenhuth. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, t. X str. 99, t. III str. 817 III str. 1205. — Müller. Ann. f. Hyg. t. 75, str. 189 1912. — Müller. C. R. Soc. Biol. t. 89, str. 434, 1923. — Müller. C. R. Soc. Biol. t. 93, str. 433, 1925. — Müller. C. R. Soc. Biol. t. 95, str. 728, 1926. — Müller. C. R. Soc. Biol. t. 99, str. 1064, 1928. — Rozen, Wagner, Sacharova, Soboleva. Ztrbl. f. Bakt. t. 100, str. 293, 1926. — Rozen, Soboleva. Med. Mysl. Usbekistana Nr. 9-10, 1929.

Wpłynęło 21.I.1935.

Z Zakładu Bakterjologicznego Wydziału Weterynaryjnego Uniw. Warszawskiego
(Dyrektor Prof. Dr. Z. Szymanowski)

BADANIE PRZEBIEGU EPIDEMJI BIEGUNKI WŚRÓD MAŁP I OKREŚLENIE SEROLOGICZNE ZARAZKA, POWODUJĄCEGO CHOROBE

Podała

L. FENIGSTEINÓWNA

Pierwszym badaczem, który zetknął się z zarazkiem czerwonki był japoński badacz *Shiga*. Wykrył on ten zarazek w epidemji biegunki w r. 1898 i nazwał go b. dysenteriae. Niedługo potem *Kruse* w Niemczech i *Flexner* w Stanach Zjednoczonych i na Filipinach wykryli zarazek czerwonki, który jednak różnił się od poprzedniego. *Kruse* nazwał go b. pseudodysenteriae. Od tego czasu datują się próby usystematyzowania bakterij wykrytych przez tych trzech badaczy. W roku 1902 ukazała się praca *Lentza i Martiniego*, która oddzieliła ostatecznie b. dysenteriae *Shiga* od szczepów, rozkładających mannit, objętych nazwą b. pseudodysenteriae albo *Flexner*. W roku 1904 *Hiss* podał bardziej szczegółową klasyfikację, którą oparł na własnościach biochemicznych i serologicznych. Odróżnił on cztery rasy: B. *Shiga*, nierozkładający mannitu, B. *Flexner*, B. *Strong*, B. *Y* — wszystkie trzy rozkładające mannit, przyczem B. *Flexner* rozkłada oprócz tego maltozę B. *Strong* — maltozę i sacharozę. Ten podział był w użyciu przez długi czas, chociaż było rzeczą ogólnie wiadomą, że zdolności fermentacyjne są zbyt niestałe, aby mogły służyć za podstawę

klasyfikacji. Wszystkie następne prace, dążące do usystematyzowania bakterij czerwonki, za podstawę przyjmują przede wszystkim własności serologiczne. Pierwszą próbą klasyfikacji, już na tych podstawach opartej, była praca wydana w 1907 roku przez *Krusego* i jego współpracowników, a dotycząca grupy bakterij *Flexner*. Stworzyli oni klasyfikację opartą na własnościach aglutynacyjnych i aglutynogenowych. Zapomocą aglutynacji i prób absorpcyjnych wyodrębnili szereg ras serologicznych, które oznaczyli pierwszymi literami alfabetu. Klasyfikacja ta nie była pełna, gdyż wiele szczepów nie znajdowało w niej miejsca; zresztą nie wszystkie rasy udało się autorom określić dokładnie.

W r. 1919 autorzy angielscy *Andrewes* i *Inman*, mając możliwość operowania wielką liczbą szczepów, pochodzących z różnych stron świata, z frontów wojennych, i posługując się surowicami chorych, podali szczegółową klasyfikację b. *Flexner*. Innymi bakteriami grupy czerwonkowej zajmowali się o tyle, o ile to było potrzebne przy różnicowaniu gatunku *Flexner*. Otóż gatunek *Flexner*, według nich, daje się określić przez własności biochemiczne, charakter serologiczny, aglutynację w roztworach kwaśnych i w mniejszym stopniu przez własności chorobotwórcze. B. *Flexner* rozkłada mannit, reakcja indolowa jest zmienna. Jest grupą serologicznie niejedolitą, obejmuje szereg ras, różniących się serologicznie, ale zarazem mających wiele ze sobą wspólnego, na co wskazuje istnienie aglutynacji grupowej. Wykazuje przytem pewne powinowactwo serologiczne z b. *alkalescens*, b. *Schmitz* i niektórymi szczepami, rozkładającymi laktozę. Naogół nie daje aglutynacji kwaśnej podług *Michaelisa*¹⁾. Wstrzyknięty dożylnie jest słabo chorobotwórczy dla królika. B. *Shiga* charakteryzuje się tem, że nie rozkłada mannitu, nie daje indolu; wytwarza przesączalną toksynę; jest typem jednolitym serologicznie i serologicznie odrębnym. Oprócz tych dwóch gatunków autorzy rozróżniają w grupie czerwonkowej b. *ambiguum* identyczny z b. *Schmitz*, a różniący się od b. *Shiga* wytwarzaniem indolu — b. *alkalescens*, rozkładający dulcyt i tem różniący się od b. *Flexner*, trudno się

¹⁾ Z doświadczeń *Zylbertala* wynika, że dotyczy to przeważnie postaci S. Postać R b. *Flexner* zlepia się w środowisku kwaśnem w P_H 2,2 — 4,2.

zlepiający i zupełnie pozbawiony chorobotwórczości — b. Saïgon — i wreszcie chorobotwórcze dla zwierząt i rozkładające laktozę szczepy, które odpowiadają prawdopodobnie pałeczce Sonne.

Biorąc pod uwagę własności zlepne, zdolności aglutynogenowe i stosując próbę absorpcyjną, autorzy rozróżniają w obrębie gatunku Flexner 5 serologicznych ras, które nazywają: V, W, X, Y, Z i dwie podrasy: odmianę rasy V — VZ i odmianę rasy W — WX. Badacze angielscy wykazali obecność conajmniej czterech składników antygenowych: V, Z, X i W, które w każdej poszczególniej rasie występują, ale w nierównej ilości i które z surowicy, odpowiadającej tym rasom, mogą wyabsorbować odpowiadają im składniki. Rasa Y różni się od innych ras brakiem dominującego elementu — zresztą struktura antygenowa Y wymaga jeszcze wyjaśnienia; być może, że zawiera ona 5-ty składnik antygenowy. *Andrewes i Inman* przeprowadzili tę klasyfikację na 21 szczepach a następnie zbadali jeszcze przeszło sto szczepów Flexnera. Aglutynacja tych szczepów z surowicami, odpowiadającymi wyżej podanym rasom, najczęściej wystarczała do umieszczenia ich w odpowiedniej grupie. Autorzy angielscy spotkali się jednak z pewną liczbą szczepów, których nie można było wykluczyć z gatunku Flexner, a które jednak w ramach tej klasyfikacji się nie mieściły. Klasyfikacja, podana przez *Andrewsa i Inmana*, odpowiada w znacznej mierze klasyfikacji *Krusego*. Zgadza się ona także z badaniami, które w czasie wojny przeprowadzili niezależnie od siebie *Murray i Gettings*. Według klasyfikacji *Andrewesa i Inmana* b. Strong i b. Y nie występują jako jednostki systematyczne równorzędne z b. Flexner, jak to podawała klasyfikacja *Hissa*, ale są włączone do gatunku Flexner: pewne szczepy b. Y zostały uznane za rasę Y, inne, jak np. t. zw. „Y“ z laboratorium w Oxfordzie, należą do grupy W; b. Strong także należy do rasy W. Typowy Flexner laboratoriów europejskich odpowiada rasie V.

Zagadnieniem klasyfikacji b. Flexner zajmowali się także badacze japońscy: *Aoki* ze swymi współpracownikami. Wreszcie w ostatnich latach *Sartorius* w szeregu swoich prac przeprowadza syntezę dotychczasowych klasyfikacji i podaje podział bardzo wyczerpujący bakterij gatunku Flexner. Zgromadził on wielką liczbę szczepów europejskich i z innych części świata, uwzględnił dotych-

czasowe wyniki badaczy niemieckich, angielskich i japońskich. Ze wszystkich szczepów, któremi operował — tylko 2 nie mieściły się w ramach jego klasyfikacji. Według niego daje się w obrębie tego gatunku wydzielić 12 grup, które oznacza literami alfabetu, zachowując oznaczenia *Krusego*, *Andrewesa* i *Aokiego*, o ile to dotyczy grup, już przez tych badaczy określonych. Poniższa tabelka ukazuje stosunek szczepów określonych przez *Sartoriusa* do szczepów innych autorów.

Autor	R a s y s z c z e p ó w F l e x n e r a									
Kruse	A	BC	H	D	—	—				
Andrewes	VZ	V	Z	W	X	YI-2				
Aoki	—	V	II	I	X	—	III/VI	IV/XII	IX	
Sarterius	A	BC	H	D	X	YI-2	F	G	K	L

Oprócz metod dotychczas stosowanych w klasyfikacji b. Flexner stosuje on nowe kryteria różniczkowe: jednym jest zdolność dawania kwasu na sacharozie, przyczem okres obserwacji trwa przynajmniej 8 dni; drugim — zachowanie się w stosunku do bakteriofaga, wyhodowanego z kału kur. Te dwie ostatnie metody, jak wskazuje poniższa tabelka, pozwalają na rozbitcie całego gatunku Flexner na większe grupy i na szybkie określenie szczepu.

R a s y	A	BC	YI, Y2	L	G	K	H	D	X	F
Wpływ Bg	—	—	—	—	ujemny lub słabo +	+	+	+	+	+
Sacharoza po 8 dniach	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
		niekt. —	z opóź. albo —	alk.	+	+	+	+	+	+

Z zarazkiem czerwonki zetknęliśmy się w badaniach nad przebiegiem epidemii biegunki, która wybuchła w styczniu 1934 r. wśród małp z gatunku *Macacus Rhesus* w Ogrodzie Zoologicznym w Warszawie.

Przypadki naturalnego zakażenia czerwonkowego u małp były opisywane w literaturze. Tematu tego dotyczą badania *Raveau i Doptera* nad małpami z rodzaju *Macacus*, przeznaczonemi do badań nad kiłą w klinice paryskiej r. 1915 — 1916 i badanie *Bowmana* w Państwowym Instytucie Bakterjologicznym w Manilli. W obu przypadkach wyodrębniono b. *Flexner*. Źródła infekcji autorzy nie określili; chodziło najpewniej o zakażenie laboratoryjne. *Bernhardt i Markoff* w „Instytucie Chorób Zakaźnych Roberta Kocha” w Berlinie stwierdzili u *Macacus* b. Y. Czystemi hodowlami b. Y autorzy wywołali przez doustne podanie typową czerwonkę. *Jonesco-Michaiesti i Combiesco* (1914 r.) obserwowali epidemię laboratoryjną u *Macacus* i wydzielili z małp chorych szczepy czerwonki mało jadowne; nie określili ich jednak serologicznie. *Kruse* również wydzielił z kału małpy chorej mało zjadliwe szczepy czerwonkowe. Nie mógł on jednak nigdy wywołać czerwonki przez karmienie małp hodowlą *Shiga-Kruse*; z tego wnioskował, że w jelicie małpy ulegają one zniszczeniu. *Bach* donosi o epidemii w pewnej rodzinie, która wybuchła jego zdaniem wskutek zakażenia się od małpy pałeczkami Y. Z jelita grubego padłej małpy i kału siedmiu osób, które zachorowały, wydzielił pałeczkę czerwonkową Y. *Sonne* wykazał, że można drogą doustną zakazić małpę pałeczkami *Kruse-Sonne*. (Cytowane z dzieła „Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen” O. Lentz und R. Prigge. T. III str. 1387 wyd. III 1931 r.).

Z powyższego wynika, że najczęstszą przyczyną czerwonki u małp są bakterje typu *Flexner*.

Biegunka wśród małp, których dotyczą nasze badania, dawała się obserwować u nich zwykle w chłodnych porach roku jeszcze w czasach poprzedzających zimę 1933/34 r., kiedy to przybrała formę szczególnie ostrą. W ciągu paru tygodni 10 małp padło wśród objawów ostrej biegunki. Sekcje, robione w naszym laboratorium, wykazały w kilku przypadkach zmiany anatomiczno-patologiczne w postaci owrzodzeń jelitowych. Objawy te naprowa-

dziły na myśl, że schorzenie jest powodowane przez zarazek z grupy czerwonej. Posiewy z jelit grubego i cienkiego, śledziony i wątroby w kilku przypadkach dawały na płytce Endo wzrost drobnych kolonii bezbarwnych, których preparaty wykazały obecność krótkich pałeczek gramoujemnych, nieruchomych w kropli wiszącej. Drobnoustroje te nie rozkładają laktozy, sacharozy i dulcytu, rozkładają bez wydzielenia gazu glukozę i mannit, maltozy naogół nie roszczepiają lub co najwyżej dają słabe tylko jej zakwaszenie; nie wytwarzają indolu. Wreszcie aglutynują się do pełnego miana z surowicą Flexner-Pasteur z Instytutu Higjeny. Zaznaczamy, że szczep Flexner-Pasteur nie jest dokładnie zbadany podług klasyfikacji angielskiej. Na podstawie powyższych własności zaliczamy wyizolowany zarazek do gatunku B. Flexner.

Drobnoustrój powyższy przyjęliśmy za zarazek, odgrywający dominującą rolę w etiologii tej epidemii na podstawie, że zgrubsza wykonane badanie aglutynacyjne zapomocą surowic z Zakładu Higjeny wykazały, że szczep ten powtarzał się najczęściej.

W badaniach wstępnych spośród padłych 10 małą—u 3 znaleziono opisany zarazek.

Od lutego roku 1934 zaczęliśmy systematyczne badania małą znajdujących się w tem pomieszczeniu, gdzie panowała biegunka. Badania te były systematyczne o tyle, że co kilka tygodni pobieraliśmy od wszystkich małą materiał do badania: t.j. krew i kał. Jednak mały te nie znajdowały się pod naszą bezpośrednią obserwacją, a były pod opieką lekarza weterynarii, urzędującego w Ogrodzie Zoologicznym, p. dr. Paszkowiczowej. Mały te miały swoją kartotekę, w której notowany był stan ich zdrowia; z niej właśnie robiliśmy odpowiednie wyciągi. Mały te były umieszczone w kilku klatkach i obsługiwane przez tych samych dozorców. W ciągu badania były one często przemieszczane, ale ich każdego rozmieszczenia nie uwzględnialiśmy, gdyż o izolacji w danych warunkach nie mogło być mowy, a tylko w tym wypadku czynnik rozmieszczenia mógłby mieć znaczenie dla badania przebiegu epidemii.

Badanie małą polegało: 1) na badaniu obecności zarazka w kale; 2) na badaniu miana zlepnego surowicy krwi małą w stosunku do zarazka swoistego (jako antygenu do aglutynacji używa-

liśmy szczepu, powtarzającego się najczęściej, wyosobnionego z jelita jednej z padłych małąp, oznaczonego nr 19). Badamy miano zlepne w celu przekonania się, jaka jest współzależność między mianem a występowaniem zarazka w kale, względnie — występowaniem biegunki, a przede wszystkim jak ono się zmienia wraz z rozpowszechnieniem zarazka w środowisku zakażonym. Przyjmujemy, że już miano surowicy równe 1:50 wzbudza podejrzenie, że ustrój zetknął się z zarazkiem. W związku z tem dzielimy badane małąpy na trzy grupy: do I-ej należą te, których miano zlepne surowicy jest niższe od 1:50, do II-ej — małąpy o mianie równym 1:50, do trzeciej — o mianie wyższym od 1:50, a więc równym 1:100 1:200. Naogół aglutynacji wyższej niż 1:200 nie otrzymaliśmy. W naszych zestawieniach już miano 1:50 uważamy za dodatnie.

Krew pobieraliśmy w ten sposób, że nakłuwaliśmy żyłę na uchu małąpy i zbieraliśmy krew do kapilary, którą z jednej strony zatapialiśmy, a z drugiej zalepialiśmy plasteliną. Przed przystąpieniem do aglutynacji odłamywaliśmy zalepiony koniec rurki i wyciągaliśmy skrzep; kapilarę z surowicą poddawaliśmy wirowaniu. Pobrany kał posiewaliśmy najwyżej po kilku godzinach na płytki Endo¹⁾ i po 20 godz. badaliśmy podejrzone kolonje: robiliśmy preparaty, próbną aglutynację szkiełkową, następnie zwykłą z surowicą Flexner-Pasteur, wreszcie zbadaliśmy zachowanie się na cukrach i na wodzie peptonowej (indol).

Wyniki badań zestawione są w dwóch tablicach, z których jedna (I) rozpatruje stosunki w dwóch grupach małąp: chorych i zdrowych oddzielnie; druga tablica (II) rozpatruje stosunki w całym zespole bez uwzględniania różnicy stanu zdrowia. Wobec niemożności bezpośredniej obserwacji małąp przez nas, uważamy drugą tablicę za bardziej miarodajną dla charakterystyki całokształtu stosunków. W tablicach posługujemy się obliczeniem procentowem dla uzyskania większej plastyki obrazu, aczkolwiek zdajemy sobie

¹⁾ Badanie bakterjologiczne na czerwonkę napotyka na dwie trudności: jedną jest nietrwałość zarazka, który ginie w kale już po kilkunastu godzinach, drugą jest brak metod wzbogacających. Zdajemy sobie dokładnie sprawę z tego, że, wysiewając próbki kału na małych płytkach, nie możemy liczyć na wyniki dodatnie w każdym przypadku obecności zarazka w ustrój.

dokładnie sprawę z tego, że liczba małp badanych jest zbyt mała aby można było mówić o stosunkach procentowych w ścisłym znaczeniu tego wyrazu.

Badanie I dokonane w ciągu miesiąca lutego.

Przebadaliśmy ogółem 39 małp (1 Makak Chiński, 1 Koczkodan, 6 Kapucynek i 31 Rezusów), z tego 8 miało biegunkę w anamnezie, 31 nie chorowało.

Z 8-miu, które przebyły biegunkę (tablica IA):

2 mają miano surowicy niższe od 1:50, co stanowi 25% chorych.

1 ma miano surowicy równe 1:50, co stanowi 12%

5 ma miano wyższe od 1:50 — 63%

B. Flexner wyhodowano z 3 małp t.j. 37%.

Z 31 małp zdrowych (tablica ID):

14 ma miano niższe od 1:50 t.j. 45% małp zdrowych.

8 ma miano równe 1:50 — 26%

9 ma miano wyższe od 1:50 — 29%

B. Flexner wyhodowano z 6 małp t.j. 19%.

Jeżeli teraz zestawimy wyniki w grupach IA i ID, to zobaczymy w grupie małp chorych przeszło dwa razy tyle małp o wysokiej aglutynacji i prawie dwa razy tyle z dodatnim wynikiem posiewu.

Dane, dotyczące ogólnej liczby małp, bez uwzględnienia klinicznego stanu ich zdrowia — przedstawia tablica IIA:

otóż ogółem 16 małp ma miano niższe od 1:50—co stanowi 41% wszystkich małp

9 małp ma miano równe 1:50 — 24%

14 ma miano wyższe od 1:50 — 36%

B. Flexner znaleziono u 9 małp — 24%.

Na tablicy II odsetek małp, u których znaleziono zarazek w kale, przedstawiony został w oddzielnej kolumnie, a prócz tego zaznaczony w kolumnach, dotyczących miana zlepnego—w odniesieniu do wysokości miana.

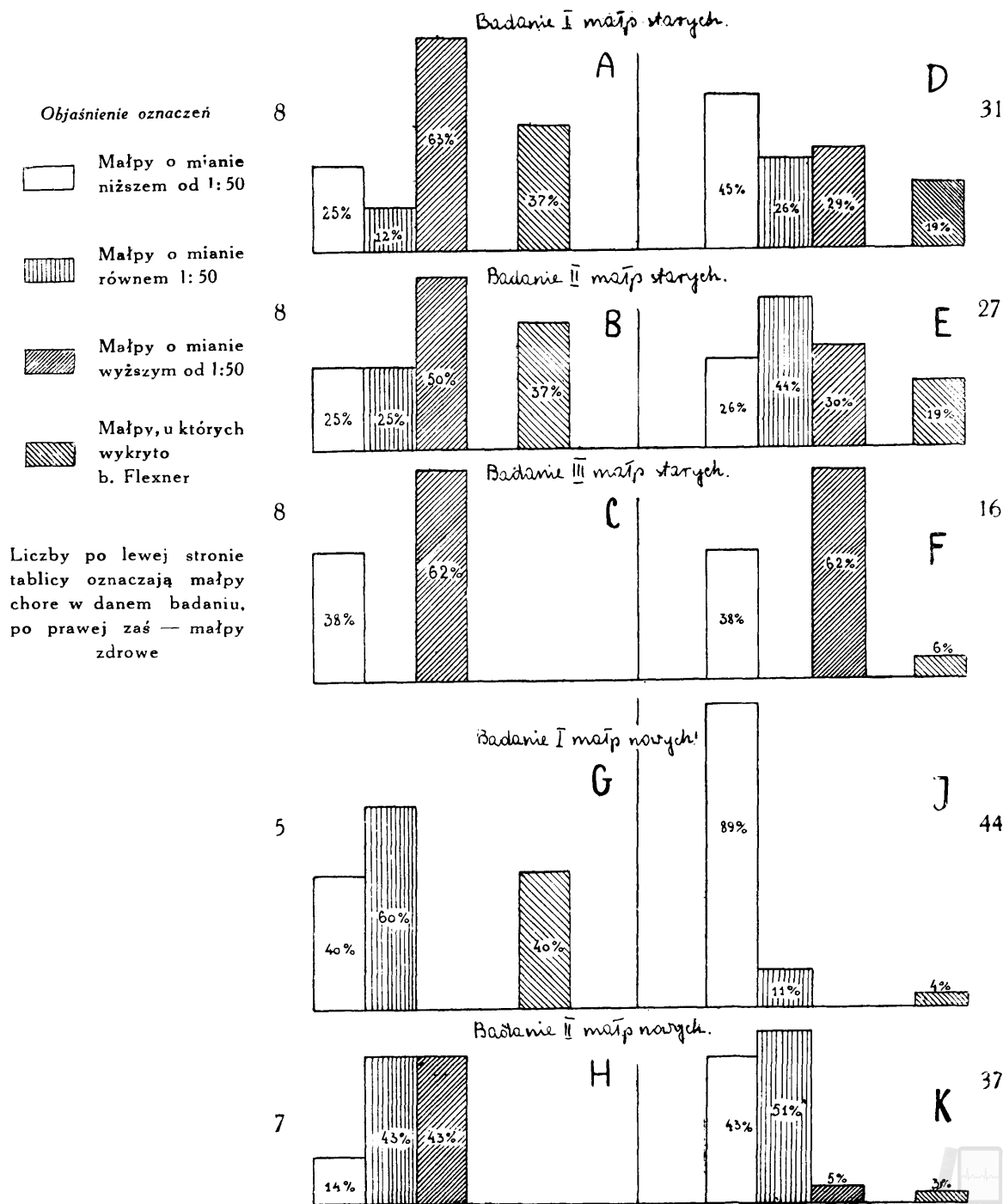


TABLICA I

Porównanie wysokości miana zlepnego sur. i częstości występowania zarazka u małp zdrowych i chorych

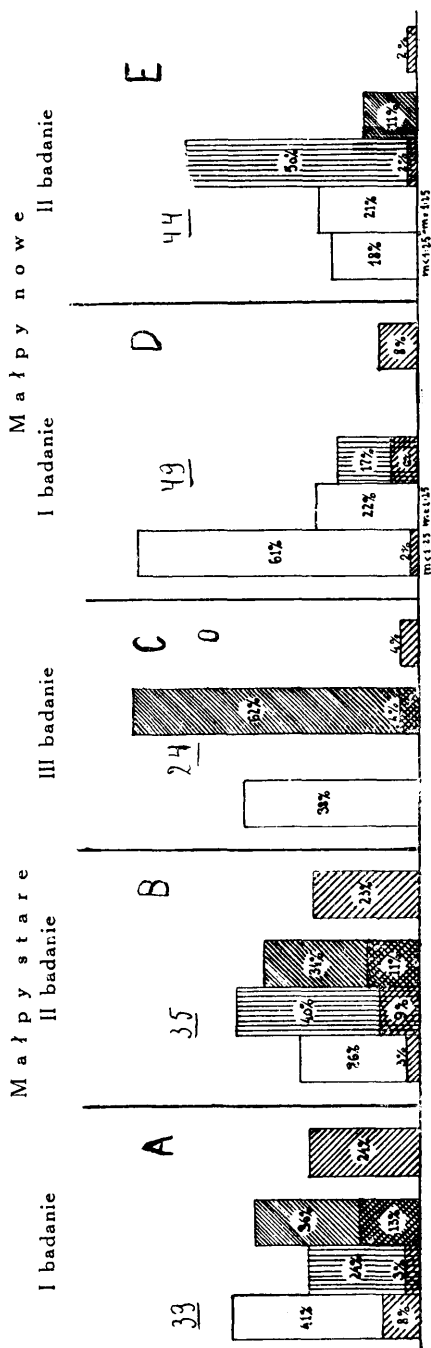
Małpy chore
(lub z biegunką w anamnezie)

Małpy zdrowe



TABLICA II

Porównanie wysokości miana zlepnego surowicy i częstości występowania zarazka u małąp bez uwzględnienia ich stanu klinicznego



O b j a ś n i e n i e o z n a c z e ń

— Małąp o mianie niższym od 1:50
 — Małąp o mianie równym 1:50
 — Małąp o mianie wyższym od 1:40
 — Małąp, u których wykryto b. Flexner

Z 9 małp (24%), u których znaleziono zarazek (tablica II A):

3 małpy t. j. 8% przypada na grupę o mianie niższym od 1:50

1 t. j. 3% znajduje się w grupie o mianie równym 1:50

5 t. j. 13% przypada na grupę o mianie wyższym od 1:50.

Co się tyczy stosunku między wysokością miana a częstością nosicielstwa, to z pewnem odchyleniem, dotyczącem grupy pośredniej, stwierdzić można, że tam, gdzie miano zlepane jest wyższe, tam zarazek daje się częściej wykryć w ustroju.

Badanie II dokonane w ciągu miesiąca marca.

Z 39 małp, które były badane za pierwszym razem — jedna została sprzedana, 3 padły na biegunkę. Ogółem więc przebadaliśmy za drugim razem 35 małp, z których 8 miało biegunkę w czasie badania lub ją przeżyło, a 27 było zdrowych.

Z 8 chorujących na biegunkę (tablica II B):

2 mają miano niższe od 1:50 — 25%

2 mają miano równe 1:50 — 25%

u 4 jest ono wyższe od 1:50 — 50%

B. Flexner wyhodowano z 3 małp t. j. 37%.

Z 27 małp zdrowych (tablica II E):

u 7 miano jest niższe od 1:50 — 26%

u 12 wynosi 1:50 — 44%

miano 8 jest wyższe od 1:50 — 30%

B. Flexner wyhodowano z 5 małp — 19%.

Ogółem (tablica II B):

9 małp ma miano surowicy niższe od 1:50 — 26%

14 małp — równe 1:50 t. j. 40%

12 ma wyższe od 1:50 — 34%

Znaleziono b. Flexner u 8 małp t. j. u 23%.

Porównyując miano surowicy i wyniki posiewów kału, otrzymujemy następujące zestawienie:

tam, gdzie miano surowicy jest niższe od 1:50, mamy tylko jednego nosiciela t. j. 3%

tam, gdzie miano surowicy jest równe 1:50, odsetek dodatnich wynosi 9% (3 małpy)

tam, gdzie miano surowicy jest wyższe od 1:50, mamy 4 nosicieli t.j. 11% posiewów dodatnich.

Prawidłowość wzajemnego stosunku aglutynacji do posiewów dodatnich występuje tym razem dokładnie.

Badanie III dokonane w czerwcu.

Od drugiego badania padły 4 małpy, 7 przeniesiono gdzieś indziej. Zbadaliśmy więc 24 małpy, z których 8 miało biegunkę w anamnezie, 16 nie chorowało wcale.

Z 8, które przedtem chorowały (tablica IC):

3 ma miano surowicy niższe od 1:50 — 38%

5 ma miano wyższe od 1:50 — 72%

B. Flexner nie wyhodowano z żadnej.

Z 16 zdrowych małp (tablica IF):

u 6 jest miano niższe od 1:50 — 38%

u 10 wyższe od 1:50 — 62%

B. Flexner wyhodowano z jednej małpy t.j. 6%.

Ogółam (tablica IIC):

9 małp aglutynuje niżej od 1:50 — 38%

15 małp posiada miano wyższe od 1:50 — 62%

B. Flexner wyhodowano w jednym tylko przypadku, co stanowi 4% wszystkich małp, przyczem miano surowicy również było wysokie: wyższe od 1:50.

W tem III-em z kolei badaniu zaciera się zupełnie różnica między małpami chorem i zdrowymi, jeżeli pominiemy jedną z posiewem dodatnim.

Porównanie wyników 3-ch badań.

Od I-go do II-go badania

miano surowicy podniosło się u 10 małp

pozostało bez zmiany u 18 małp

spadło u 7 małp.

Od II-ego do III-ego badania
miano surowicy podniosło się u 12 małp,
nie zmieniło się u 9 małp,
spadło tylko u 3.

Porównyując tablice II A, B, C, widzimy wyraźny wzrost miana zlepnego surowicy. Od I-ego do drugiego badania nastąpiła wyraźna zmiana w kolumnach pierwszej i drugiej: spadł odsetek małp, mających miano niższe od 1:50, a wzrósł odsetek o mianie równym 1:50. Badanie drugie i trzecie wykazuje znaczny wzrost w liczbie małp o mianie wyższym od 1:50, mianowicie: z 34% w drugim badaniu do 62% w trzecim. Jednocześnie widać gwałtowny spadek od drugiego do trzeciego badania w częstości występowania zarazka. Na tablicy I daje się obserwować następujące ciekawe zjawisko: podczas gdy w pierwszym badaniu są znaczne różnice w wysokości miana zlepnego między małpami zdrowymi z jednej strony a choremi lub z biegunką w anamnezie z drugiej, w drugim badaniu już te różnice są trochę mniejsze, a w trzecim zupełnie się zacierają.

Od dnia 8 lutego t. j. od czasu, gdy zaczęliśmy badanie, do lipca padło małp 9: w lutym — 3, w marcu — 2, w kwietniu — 4, w maju, czerwcu i lipcu nie było ani jednego zgonu. Przytem nie wszystkie małpy padły na biegunkę. Dostarczono nam zwłok 5-ciu. Posiewy z narządów w jednym tylko przypadku wypadły dodatnio, w pozostałych przypadkach b. Flexner nie udało się wykryć. Możliwe, że dałoby się to wytłumaczyć tem, że z przyczyn natury technicznej posiewy robione były na drugi dzień lub jeszcze później po zgonie. W jednym przypadku, gdy z posiewu kału małpy padłej otrzymaliśmy wzrost Flexnera, posiew był wykonany w kilka godzin po zgonie.

Na początku kwietnia sprowadzono do Ogrodu Zoologicznego kilkadziesiąt sztuk nowych małp—Rezusów. Umieszczono je w dużej klatce, w której przedtem siedziały małpy stare, a którą wymyto i wydezynfekowano. Małpy te jednak większą część dnia spędzały na t. zw. „wybiegu“, t. j. tam, gdzie biegały przedtem małpy stare. Nowe małpy już po niedługim czasie zaczęły chorować.

Badanie I dokonane w kwietniu.

Przebadaliśmy 49 małp: 44 zdrowe i i 5 chorujących na biegunkę. Z 5 małp chorych (tablica I G):

2 maja miano surowicy niższe od 1 : 50, co stanowi 40 %
małp chorych,

3 maja miano równe 1 : 50 — 60 %

B. Flexner znaleziono u dwóch małp t. j. u 40 %.

Z 44 małp zdrowych (tablica I J):

39 ma miano niższe od 1 : 50 — 89 %

5 ma miano wyższe od 1 : 50 — 11 %

B. Flexner znaleziono u 2 małp — 4 %.

Należy podkreślić, że w czasie I-go badania małp nowych nie było wśród nich ani jednej takiej, którejby miano przekraczało wysokość 1 : 50, natomiast uderzająco duża była liczba małp, których miano zlepne było mniejsze od 1 : 25. Dla podkreślenia tego faktu w tablicy, przedstawiającej stosunki ogólne, a odnoszącej się do małp nowych (II D i II E), grupę o mianie niższym od 1 : 50 rozbiliśmy na dwie: jedną o mianie niższym od 1 : 25, drugą o mianie równym 1 : 25.

Ogółem (tablica II D):

miano surowicy mniejsze od 1 : 25 ma 30 małp — 61 %

miano równe 1 : 25 posiada 11 małp — 22 %

miano równe 1 : 50 posiada 8 małp — 17 %

B. Flexner wykryto u 4 małp, co stanowi 8 %. Z tego
1 małpa t. j. 2 % ogólnej liczby przypada na grupę
o mianie niższym od 1 : 25

3 małpy t. j. 6 % znajduje się w grupie o mianie równym 1 : 50.

W badaniu tem różnice między małpami zdrowymi a chorem są wielkie zarówno o ile chodzi o wysokość miana zlepnego jak i częstość występowania zarazka. Na tablicy II D rzuca się w oczy znaczny odsetek (61 %) małp o mianie mniejszym od 1 : 25.

Badanie II dokonane w maju.

Od I-go badania padła jedna małpa, 4 zostały sprzedane, przebadaliśmy więc 44 małpy: 37 zdrowych i 7 chorych lub z biegunką przebytą.

Z 7 małp, które chorowały w czasie badania lub przedtem (tabl. I H):

1 małpa ma miano surowicy niższe od 1 : 50 — 14 %

3 mają miano równe 1 : 50 — 43 %

u 3 występuje miano wyższe od 1 : 50 — 43 %

B. Flexner nie znaleziono wcale.

Z 37 zdrowych małp (tabl. I K):

u 16 małp miano surowicy jest niższe od 1 : 50 — 43 %

u 19 równa się 1 : 50 — 51

u 2 jest wyższe od 1 : 50 — 5 %

B. Flexner znaleziono u jednej t. j. u 3 %.

Ogółem (tablica II E):

miano surowicy mniejsze od 1 : 25 jest u 8 małp — 18 %

miano surowicy równe 1 : 25 występuje u 9 małp — 21 %

miano równe 1 : 50 — u 22 małp — 50 %

miano wyższe od 1 : 50 jest u 5 małp — 11 %

B. Flexner znaleziono u jednej małpy, co stanowi 2 %, przyczem miano zlepane jej surowicy było równe 1 : 50.

W badaniu tem różnice między małpami zdrowymi a chorem są wielkie, jak to wskazują tablice I H i I K; podczas gdy u pierwszych jest tylko 14 % o mianie niższem od 1 : 50 i aż 43 % o mianie wyższem od 1 : 50, to w drugiej grupie stosunki są wręcz przeciwne: widzimy tu aż 43 % małp o mianie niskiem, a tylko 5 % o mianie wyższem od 1 : 50 %.

Porównanie wyników obu badań:

miano surowicy podniosło się u 30 małp,

pozostało bez zmiany u 13 małp,

spadło tylko u jednej małpy.

Porównanie tablicy II D i II E wykazuje bardzo wielkie różnice w wysokości miana. Podczas gdy w I-em badaniu ilość małp o mianie niższym od 1 : 25 wynosiła 61% ogólnej liczby, to w drugim, po miesięcznej przerwie, spadła do wielkości 18%; dalej, gdy w pierwszym badaniu miano 1 : 50 posiadało tylko 17% małp, a miano wyższego od 1 : 50 nie spotkałimy wcale, to w badaniu drugim liczba małp o mianie 1 : 50 podniosła się do 50%, a miano wyższe od 1 : 50 występowało już u 11% małp.

Od początku badania do lipca padły z nowych małp 2 sztuki: jedna w kwietniu, jedna w maju. Posiewy z narządów nie dały wzrostu b. Flexner.

Badania powyższe, które obejmują około 100 przypadków, wskazują na to, że:

1) Miano zlepne surowicy w środowisku zakażonem jest wyższe niż w środowisku zdrowym. Wniosek ten nasuwa się przy porównaniu wyników badania małp starych i nowych: większej liczbie zgonów i zachorowań wśród małp starych odpowiada wyższe miano zlepne — natomiast epidemji zaczynającej się dopiero rozwijać i przebiegającej jeszcze słabo wśród małp nowych odpowiada miano zlepne o wiele niższe. Jaskrawo to widać na tablicy II; szczególnie porównanie badania III małp starych z I badaniem małp nowych wykazuje ogromną różnicę: u małp starych mamy 38% o mianie niższym od 1 : 50 — u małp nowych jest ich 61% + 22% = 83%; u małp starych aż 62% o mianie wyższym niż 1 : 50, u małp nowych — 0%.

2) Porównanie zmieniającego się z biegiem czasu nasilenia zgonów i zachorowań wśród małp starych ze zmianą ich miana zlepnego prowadzi do wniosku, że zmniejszaniu się liczby zgonów i zachorowań czyli przechodzeniu epidemji w stan chroniczny — towarzyszy stałe zwiększanie się miana zlepnego. Można to odczytać na tablicy II A, B, C.

3) Rozwijaniu się epidemji, które można obserwować u małp nowych, towarzyszy również wznoszenie się miana zlepnego (tablica II D, E) i to wznoszenie się o wiele raptowniejsze niż w wypadku poprzednim. I i II badania małp nowych są pierwszymi etapami rozwoju epidemji, której dalsze etapy ilustrują trzy badania małp starych.

4) Zarazek swoisty w kale wykrywano nietylko u małp, u których klinicznie dała się stwierdzić biegunka, lecz także u małp, które jeszcze wcale nie chorowały. Tu wysuwa się kwestja nosicielstwa. Badania serologiczne i bakterjologiczne nie wykazują różnicy między osobnikami zdrowymi a chorem lub z biegunką w anamnezie. Zarówno u jednych jak i u drugich miano surowicy może być niższe, wyższe lub równe 1 : 50; u jednych i u drugich spotyka się zarazek w kale. Istnieją jednak różnice w częstości występowania wysokiego miana zlepnego jak i w częstości wykrywania zarazka w kale. Oczywiście osobniki chore lub z biegunką w anamnezie mają naogół miano wyższe i częściej się u nich wykrywa zarazek. Różnica ta jest bardzo wyraźna w początkowych stadjach przebiegu epidemji, jednak w miarę przechodzenia epidemji w stan chroniczny — zupełnie się zatracą. Porównanie danych, przedstawionych na tablicy I w kolejności następującej: I i II badania małp nowych, potem I, II i III badania małp starych — wykazuje nam stopniowe zmniejszanie się tych różnic. Na jednym końcu stoją wyniki badań przedstawionych na tablicach G—J, gdzie różnice są ogromne, na drugim końcu — wyniki, przedstawione na tablicach C—F, gdzie różnic niema żadnych.

Zarazek, wyhodowany z przypadków biegunki u małp, określiliśmy jako b. Flexner. Pozostało nam jednak zagadnienie bliższego określenia tego zarazka i umieszczenie go w grupie b. Flexner. W naszych badaniach wzorowaliśmy się na pracy *Andrewesa* i *Inmana* i dążyliśmy do umieszczenia zarazka, powodującego biegunkę u małp, w ramach klasyfikacji autorów angielskich. Szczepy wyodrębnione przez nas i określone jako b. Flexner, zachowywały się, o ile chodzi o własności biochemiczne, zupełnie jednolicie, natomiast badanie serologiczne wykazało, że różnią się one między sobą. Coprawda wszystkie te szczepy aglutynują się jednakowo z surowicą Flexner-Pasteur (do pełnego miana), nie wszystkie jednak zachowują się jednakowo w stosunku do surowicy, otrzymanej przez uodpornienie królika szczepem 19: obok 25 szczepów, które aglutynowały się z surowicą anty-19 do pełnego miana t. j. do rozcieńczenia 1 : 6400, było kilka szczepów, które aglutynowały

się z tą surowicą zaledwie do rozcieńczenia 1 : 400. Szczepy te zachowywały się też odmiennie niż szczepy homologiczne ze szczepem 19 w stosunku do surowic, odpowiadających rasom angielskim. Mielśmy więc tutaj do czynienia z dwiema grupami bakteryj, przy czem w obrębie każdej z tych grup szczepy zachowywały się jednolicie. W pracy niniejszej zajęliśmy się określeniem serologicznem szczepu, nazwanego przez nas nr 19, który jest przedstawicielem zarazków, powtarzających się częściej. Zbadanie drugiej grupy szczepów powierzono zostało innemu pracownikowi Zakładu.

Do określenia szczepu 19 posługiwaliśmy się pięcioma szczepami angielskimi, otrzymanymi z laboratorium londyńskiego. Szczepy te są przedstawicielami pięciu ras serologicznych, są to:

Nr. 1 Cable typ W

Nr. 6 Hiss and Russel typ Y

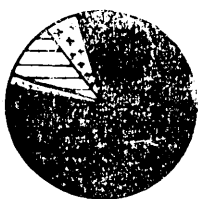
Nr. 2 Hughes typ X

Nr. 7 Whittington typ Z

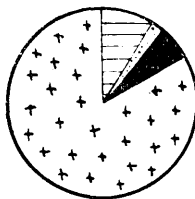
Nr. 3 Oxford typ V

Skład antygenowy tych szczepów jest przedstawiony na następujących diagramach:

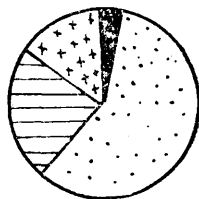
T A B L I C A III



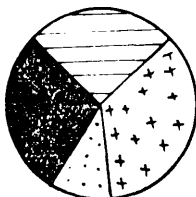
Cable typ W



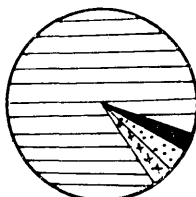
Oxford typ V



Hughes typ X



Whittington typ Z



Hiss and Russel typ Y

W tablicy powyższej antygeny swoiste dla poszczególnych typów (ras serologicznych) zostały oznaczone w sposób następujący: kolorem czarnym oznaczono antygen charakterystyczny dla rasy W, krzyżykami — antygen rasy V, kropkami — antygen rasy X i kreskami antygen rasy Z.

Z tych szczepów przygotowaliśmy surowicie przez dwukrotny zastrzyk dożylny w odstępie tygodniowym 0,5 cm.³ i 1 cm.³ hodowli buljonowej, zabitej formaliną (jedna część formaliny na 1000 części płynu). Jeżeli miano nie było dość wysokie, królik dostawał jeszcze trzeci i ewentualnie czwarty zastrzyk w odstępie tygodniowym. Oprócz surowic, odpowiadających szczepom angielskim, posługiwaliśmy się surowicą anty-19, przygotowaną w sposób wyżej wyszczególniony. Dla badania szczepu stosowaliśmy metodę aglutynacji i metodę wysycień. Technika aglutynacji była następująca: w szeregu próbek przygotowaliśmy wzrastające rozcieńczenia surowicy, zaczynając od 1:100, czasem 1:50. Probówki były wstawione do ciepłarki o temperaturze 37°C na dwie godziny, następnie zostawiane w temperaturze pokojowej do następnego dnia i odczytywane. Zamiarodajne uznane było krańcowe miano pełnej aglutynacji.

Pierwszem doświadczeniem była aglutynacja surowic angielskich ze szczepem 19 i odwrotnie szczepów angielskich z surowicą 19. Aglutynacje te nie pozwoliły zidentyfikować szczepu 19 z żadną z ras angielskich autorów (tabelka IV). Surowica Z aglutynuje szczep 19 do pełnego miana, ale i surowica Y aglutynuje go dość wysoko. Doświadczenie odwrotne — aglutynacja szczepów angielskich z surowicą 19 wykazuje także powinowactwo szczepu 19 ze szczepami Y i Z. Tu jednak na odwrót — szczep Y jest silniej aglutynowany przez surowicę 19 (do pełnego miana) niż szczep Z.

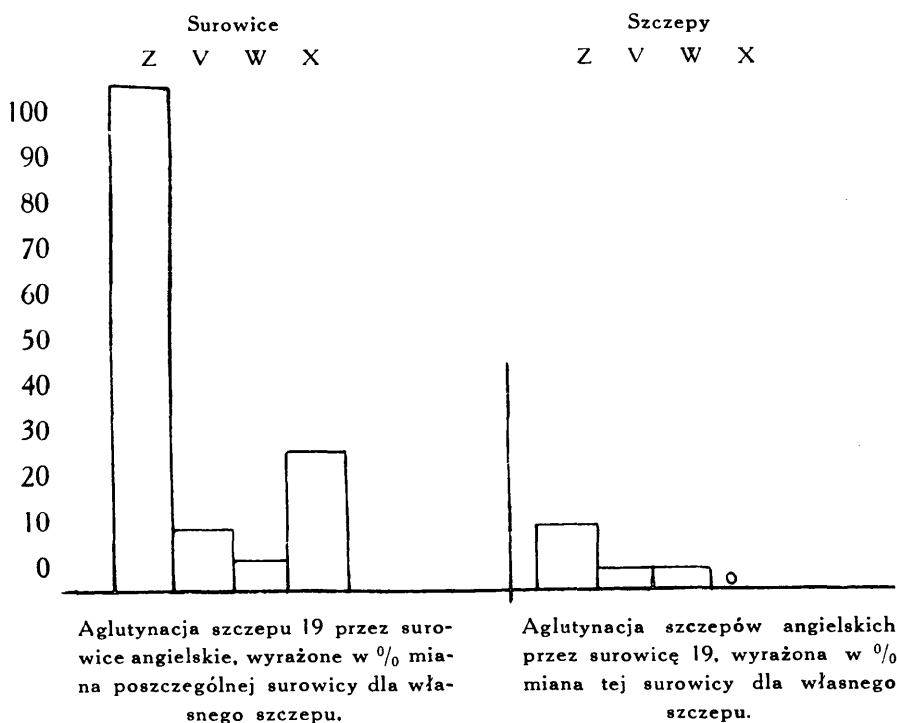
T A B L I C A IV.

Aglutynacja surowicy 19 ze szczepami angielskimi		Aglutynacja surowic angielskich ze szczepem 19		
Szczepy	Surowica 19 (miano 1: 6400)	Surowice	Miano	Szczep 19
Gable W	1: 200	Gable W	1: 3200	1: 200
Hughes X	0	Hughes X	1: 800	1: 200
Oxford V	1: 200	Oxford V	1: 3200	1: 400
Hiss and Russel Y	1: 6400	Hiss and Russel Y	1: 6400	1: 1600
Whittington Z	1: 800	Whittington Z	1: 6400	1: 6400

Z aglutynacji surowicy 19 zdaje się oprócz tego wynikać, że surowica ta, a więc prawdopodobnie i odpowiadający jej szczep 19, nie posiadają składnika antygenowego X. To, że odwrotnie surowica X aglutynuje szczep 19 należy raczej przypisać obecności w niej innych składników W, V i Z, które występują w niej w znacznej ilości, a które również są obecne w 19, co zostało wykazane na innej drodze. Zresztą już autorzy angielscy podkreślają fakt, że surowica X aglutynuje prawie wszystkie szczepy gatunku Flexner i ze szczep X jest po szczepie Y najmniej czystym antygenowo ze wszystkich ras. Wyniki prób aglutynacyjnych są przedstawione graficznie na tabelcy V. Daje ona pojęcie o zdolności aglutynacyjnej i sile aglutynogenowej szczepu 19.

T A B L I C A V

Zdolność aglutynacyjna i aglutynogenowa szczepu 19.



Z prób aglutynacyjnych wynika więc, że szczep 19 jest zbliżony pod względem charakteru serologicznego do ras Z i Y, ale nie jest z żadną z nich identyczny. Zadanie więc sprowadziło się do tego, aby zapomocą metody wysycień określić skład antygenowy naszego szczepu. Technika prób absorpcyjnych była następująca: płynem fizjologicznym zmywaliśmy z kilku agarów skośnych 24-godzinne hodowle szczepu, który służył do wysycenia. Zawiesinę poddawaliśmy wirowaniu. Płyn z nad osadu odciągaliśmy, a do osadu dodawaliśmy surowicy w rozcieńczeniu 1:100 lub 1:50. Po wymieszaniu surowica z zawiesiną bakterij pozostawiona była przez 2 godziny w temperaturze 37°C, potem w pokojowej; następnego dnia poddawano ją wirowaniu. Po odciągnięciu surowicy z nad osadu, nastawialiśmy aglutynację, pamiętając o kontroli surowicy ze szczepem wysycającym. Tylko w wypadku, gdy surowica wysycona nie dawała aglutynacji ze szczepem wysycającym, wyniki próby absorpcyjnej były miarodajne. Równolegle nastawiamy aglutynację szczepów badanych z surowicą niewysyconą. Przy ocenianiu zdolności absorpcyjnej stosowaliśmy metodę ilościową, którą się w swej pracy posługiwali autorzy angielscy. Miano surowicy niewysycionej dla danego szczepu przyjmujemy za 100%, a miano surowicy wysycionej dla tego samego szczepu wyraża się w procentach miana surowicy niewysycanej.

Czynnikiem, utrudniającym nasze badania jest to, że niestety nie rozporządzamy czystymi antygenami W, X, V i Z i odpowiadającymi im czystymi aglutyninami. Nasze szczepy angielskie i odpowiadające im surowice zawierają oprócz składników dominujących, nadających swoiste piętno serologiczne rasom, do których należą jeszcze w różnej ilości poboczne składniki. Oprócz tego nieuniknione niedokładności prób absorpcyjnych wynikają z tego, że własności zlepne szczepu są różne od jego zdolności aglutynogenowych. Zresztą na powstawanie aglutynin w ustroju królika składa się zarówno działanie antygenowe wprowadzonego zarazka, jak i reakcja ustroju, wyrażająca się w powstaniu aglutynin. Otóż poszczególne składniki mozaiki antygenowej, reprezentowanej przez drobnoustrój, mogą być niejednakowo silnymi bodźcami, wywołującymi powstawanie aglutynin. A więc skład aglutynin w surowicy odpornościowej nie jest dokładnem

odbiciem składu antygenowego odpowiadającego jej zarazka. W naszych doświadczeniach spotykaliśmy się z faktami, wskazującymi na to, że w danej surowicy poprostu brak pewnego składnika, chociaż znajduje się on w szczepie, odpowiadającym tej surowicy.

Kilkoma drogami dążyliśmy do przekonania się, z jakich antygenów cząstkowych składa się szczep 19.

1. Wysycaliśmy szczepem 19 pokolei angielskie surowice. Jeżeli np. surowica W, której miano dla własnego szczepu wynosi 1:6400, po wysyceniu szczepem 19 aglutynuje swój szczep do rozcieńczenia 1:3200, a więc szczep 19 usunął z niej 50% aglutynin, to znaczy, że szczep 19 zawiera antygen cząstkowy W, Z surowic angielskich, poddanych wysycaniu szczepem 19, wyłączone była surowica anty-Hughes X, gdyż, jak to będzie wyjaśnione później, zdawała się nie zawierać głównego antygenowego składnika, na którym nam właśnie w tych wysyceniach zależało. Surowica ta z tego właśnie względu wogóle nie nadawała się do doświadczenia, a oprócz tego miała zbyt niskie miano aglutynacyjne — 1:800. Mimo trzykrotnych prób uodporniania królika, nie udało się nam otrzymać surowicy lepszej. Rezultaty wysyczeń przedstawia tablica VI.

T A B L I C A VI

Surowice angielskie wysyczone szczepem 19	Miano własnego szczepu		Ilość zab- ranych aglu- tynin w %
	Przed wysyc.	Po wysyc.	
Whittington Z	1:6400	1:1600	75 %
Oxford V	1:6400	1:3200	50 %
Cable W	1:6400	1:3200	50 %
Hiss and Russel Y	1:1600	1:400	75 %

Widać z niej jasno, że szczep 19 zawiera antygen Z w znacznej ilości, w mniejszej ilości antygeny W i V. Usunięcie z surowicy Y 75% aglutynin potwierdza zawartość w szczepie 19 antygenów V, W i Z, które, jak wiadomo z badań autorów angielskich,

występują także w dużej ilości w rasie Y, nie posiadającej charakterystycznego dla niej dominującego składnika. O składniku X na podstawie wysycenia surowicy Y nic nie możemy powiedzieć, gdyż, chociaż istnieje on w szczepie Y, to jednak fakt nieaglutynowania szczepu X przez surowicę Y wskazuje na to, że w naszej surowicy Y aglutyniny X wcale nie występują. Jeżeli chodzi o wysycenie surowic Z, V i W — to możnaby było mieć wątpliwości co do tego, czy szczep 19 rzeczywiście absorbuje czyste anty-Z, any-V i anty-W, czy też spadek miana tych surowic dla własnych szczepów zależy być może od usunięcia innych aglutynin pobocznych. Tak jednak nie jest, gdyż na podstawie dalszych doświadczeń (patrz niżej) można przyjąć surowicę anty-Cable i anty-Oxford za czyste anty-W i anty-V; szczep Whittington Z natomiast ma tak minimalne ilości składników pozostałych, że, gdyby nawet surowica, odpowiadająca mu, miała ich więcej, to i tak wyabsorbowanie samych anty-X, V, W nie mogłoby spowodować tak wielkiego spadku miana.

II. Wysycamy surowicę anty-19 pokolei angielskimi szczepami. Jeżeli np. wysycenie szczepem Z powoduje spadek miana surowicy 19 dla własnego szczepu od 1:6400 do 1:1600, a więc usunięcie 75% aglutynin, to znaczy, że w surowicy 19 aglutyniny Z znajdują się w pokaźnej ilości — a więc w odpowiadającym tej surowicy szczepie 19 antygen Z zajmuje również znaczne miejsce. Wysycenie surowicy 19 angielskimi szczepami niezupełnie się pokrywa, jak wskazuje tabelka VII, z wysyceniami odwrotnymi.

T A B L I C A VII

Surowica 19 wysycona szczepami angielskimi	Miano dla własnego szczepu		Ilość zabra- nych aglu- tynin w %
	Przed wysyceniem	Powysyceniu	
Whittington Z	1:6400	1:1600	75%
Oxford V	1:1600	1:1600	0%
Cable W	1:1600	1:1600	0%
Hiss and Russell Y	1:6400	1:3200	50%

Tylko obecność składnika Z występuje, tutaj silnie, natomiast istnienia aglutynin V i W nie udało się zapomocą tego doświadczenia wykazać. Surowica 19 szczepem X nie była wysycana, gdyż go nie aglutynowała.

III. Oprócz powyższych wysyczeń były robione wysycenia surowic angielskich innemi angielskimi szczepami i badane w stosunku do szczepu 19. Podobnie surowica 19 wysycana była szczepami angielskimi i badana w stosunku do innych angielskich szczepów. Po wysyceniu spadek miana surowicy nie dla własnego szczepu wskazuje na to, że szczep, odpowiadający danej surowicy, szczep, aglutynowany przez tę surowicę i szczep wysycający — mają antygeny wspólne. Naprzykład surowica Y, wysycana szczepem 19, traci dla szczepu V wszystkie aglutyniny, co świadczy o istnieniu w szczepie 19 antygenu V. Doświadczenia te potwierdziły istnienie w szczepie 19 antygenów W, V i Z. Najciekawsze były wysycenia surowicy Y, która, posiadając w dużej ilości wszystkie trzy składniki, pozwalała na wysycenia, usuwając dowolny składnik. Dla nas ciekawe jest, jak się zachowuje surowica Y w stosunku do innych szczepów po wysyceniu jej szczepem 19 i jak się zachowuje w stosunku do szczepu 19 po wysyceniu jej innemi szczepami. Tabelki poniższe dają nam obraz tego zachowania się. Pominiey jest tu szczep X, którego surowica Y nie aglutynuje.

T A B L I C A VIII

Aglutynacja surowicy Y,
wysycanej szczepem 19, ze szczepami angielskimi

Szczepy	Miano surowicy		Ilość zabranych aglutynin w %
	Przed wysyceniem	Po wysyceniu	
Whittington Z	1: 200	0	100 %
Oxford V	1: 400	0	100 %
Cabls W	1: 400	1: 200	50 %



T A B L I C A IX

Aglutynacja surowicy Y,
wysycanej szczepami angielskimi, ze szczepem 19

Szczepy	Miano surowicy		Ilość zabra- nych agluty- nin w %
	Przed wysyceniem	Po wysyceniu	
Whittington Z	1:1600	1:100	94 %
Oxford V	1:1600	1:100	94 %
Cable W	1:1600	1:400	75 %

Tablica VIII wyjątkowo silnie uwydatnia zdolność absorbowania przez szczep 19 aglutynin Z i V i w mniejszym stopniu aglutynin W. Wynik drugiego doświadczenia wskazany na tablicy IX, w zupełności się pokrywa z pierwszym. Usunięcie z surowicy Y pokolei antygenów Z, W i V odbija się natychmiast w olbrzymim stopniu na aglutynacji szczepu 19. Podobne wyniki, chociaż znacznie mniej ostre, daje wysycenie surowicy 19 szczepem Y.

T A B L I C A X

Aglutynacja surowicy 19,
wysycanej szczepem Y, ze szczepami angielskimi

Szczepy	Miano surowicy		Ilość zabra- nych agluty- nin w %
	Przed wysyceniem	Po wysyceniu	
Whittington Z	1: 800	1: 200	75 %
Oxford V	1: 50	0	100 %
Cable W	1: 200	0	100 %

Jak wynika z tabelki X, wysycenie to powoduje odrazu spadek miana aglutynacyjnego surowicy 19 dla szczepów Z, V, W.

Jeżeli więc szczep Y, zawierający te trzy składniki, potrafi je wyabsorbować, to jasna rzecz, że muszą one w danej surowicy istnieć. To doświadczenie jest jednak mniej przekonujące, bo z wyjątkiem szczepu Z, szczepy te wykazują niską aglutynację z surowicą 19. Te same próby z innymi surowicami nie dały i nie mogły dać takich wyników z powodu znacznie bardziej jednolitego charakteru.

IV. Wreszcie stosowaliśmy wysycanie surowicy dwoma lub trzema szczepami jednocześnie, co miało na celu, jeżeli chodzi o surowicę 19, przekonanie się, czy zawiera ona jeszcze jakieś składniki antygenowe oprócz tych, które występują w szczepach angielskich. Otóż, wiedząc na podstawie poprzednich absorpcyj, że szczep 19 zawiera antygeny W, Z, V, wysyciliśmy surowicę 19 wszystkimi trzema szczepami jednocześnie, co spowodowało, jak wskazuje tabelka XI, spadek miana dla szczepu 19 prawie o 90%.

T A B L I C A X I

Aglutynacja surowicy 19, wysyconej szczepami Whittington Z,
Oxford V, Cable W jednocześnie, z własnym szczepem

	Surowica 19		Ilość zabra- nych agluty- nin w ‰
	Przed wysyc.	Po wysyc.	
Szczep 19	1:1600	1:200	88 ‰

Ponieważ surowica 19 nie aglutynuje wcale szczepu X, więc wydaje się, że tego składnika wcale nie posiada odpowiadający jej szczep 19. A więc powyższe wysycenie świadczyłoby o istnieniu w szczepie 19 odrębnego składnika, nieobecnego w szczepach angielskich.

Jeżeli chodzi o surowice angielskie, to wysycając każdą z nich jednocześnie przez inne angielskie szczepy, których składniki dominujące odpowiadają zawartym w danej surowicy składnikom pobocznym, próbowaliśmy otrzymać w ten sposób surowice o czystych aglutyninach W, V, X i Z. W ten sposób mogliśmy operować temi wysyconymi surowicami, już o jednolitym składzie aglu-

tyninowym, wysycać je szczepem 19 i, jeżeliby wtedy wysycenie spowodowało spadek miana aglutynacyjnego surowicy dla własnego szczepu, możnaby było mieć pewność co do tego, jakie mianowicie aglutyniny zostały przez szczep 19 usunięte. Jednak próby otrzymania czystych aglutynin nie dały naogół pożądanych wyników. Nie zapominajmy bowiem, że nie mamy możliwości wysycania czystymi antygenami i że szczepy wysycające zawierają również ten składnik, który chcemy otrzymać nietknięty w surowicy. Wobec tego zdarzało się tak, że surowice, wysycone jednocześnie odpowiednimi szczepami, traciły wszystkie aglutyniny i dla własnego szczepu. Tak np. było z surowicą Z, która, wysycona szczepami V, X i W w celu usunięcia z niej obecnych w drobnych ilościach aglutynin V, X i W, przestała aglutynować własny szczep. Tu nasuwają się dwa sposoby interpretacji: albo w surowicy anty-Whittington nie istniały aglutyniny Z, chociaż istnieją w szczepie Whittington, albo szczep absorbujący, posiadając antygen Z, wyabsorbował anty-Z z surowicy. Bardziej prawdopodobna wydaje się ta druga możliwość, gdyż szczep Hughes obok antygeny X zawiera dość dużo antygeny Z i najpewniej zabrał z surowicy Z nie tylko aglutyniny X, ale również i aglutyniny Z. Zupełnie tak samo było z surowicą X, która, wysycona szczepami V, W i Z, straciła wszystkie aglutyniny dla własnego szczepu. Tu właściwą się wydaje raczej interpretacja ta, że w surowicy anty-Hughes brak aglutynin X — niż ta, że jeden ze szczepów wysycających zabrał te aglutyniny. W trzech szczepach wysycających antygen X występuje tylko w minimalnej ilości. A więc wydaje się, że nasza surowica anty-Hughes X jest pozbawiona dominującego elementu X, chociaż element ten w szczepie Hughes według autorów angielskich występuje.

Sprawa ta wymaga jednak dalszych badań.

Krańcowo różnie zachowywały się surowice V i W, które, po wysyceniu odpowiednimi szczepami, nie straciły nic za glutynacji dla swoich szczepów. Te surowice widocznie nie posiadały wcale aglutynin pobocznych, a aglutynowały inne szczepy dzięki obecności w tych ostatnich składników pobocznych, odpowiadających składnikom głównym surowic W i V. A więc nasze surowice anty-Cable i anty-Oxford można uważać za czyste anty-W i anty-V,

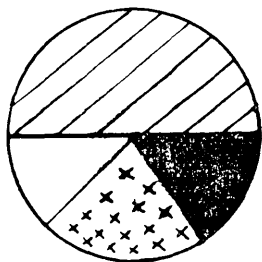
a spadek ich miana dla własnego szczepu po wysyceniu 19 uważać za jeszcze jeden dowód istnienia w szczepie 19 antygenów cząstkowych W i V.

W naszych badaniach spotkaliśmy się ze zjawiskiem, które trudno wytłumaczyć tylko temi dwoma czynnikami, zaciemniającymi wyniki prób absorpcyjnych, które już wyżej wymieniliśmy—mianowicie: 1) brakiem czystych elementów i 2) nieidentycznością składu antygenowego zarazka i składu aglutyninowego surowicy jemu odpowiadającej. Jak wytłumaczyć naprzykład brak równoległości we wzajemnem wysyceniu? Surowica 19 wysycona szczepem W nie traci nic z aglutynacji dla własnego szczepu, podczas gdy wysycenie odwrotne: surowicy W szczepem 19 — powoduje spadek miana dla własnego szczepu z 1:6400 do 1:3200. Pytanie dotyczy tego, czy w surowicy 19 niema anty-W, czy też w surowicy W są inne aglutyniny, które zostały przez szczep 19 wyabsorbowane i to właśnie spowodowało spadek miana surowicy W dla własnego szczepu. Doświadczenie rozstrzygnęło tę drugą ewentualność w sensie negatywnym: surowica W jest czystym anty-W, bo wysycenie jej szczepami, które powinnyby usunąć aglutyniny poboczne, nie spowodowało spadku jej miana dla własnego szczepu. Czy wobec tego w surowicy 19 brak anty-W? Chętniej jednak zgodzilibyśmy się na jakąś trzecią możliwość, bo inne doświadczenia przemawiają raczej zatem, że składnik W w surowicy 19 istnieje; a więc aglutynacja szczepu W przez surowicę 19 (Tablica IV) zależy raczej od anty-W, zawartego w surowicy 19, niż od antygenów pobocznych, które w drobnej ilości znajdują się w szczepie W. Podobnie brak aglutynacji dla szczepu W po wysyceniu surowicy 19 szczepem Y (Tabela X) także zależy raczej od anty-W, wyabsorbowanego przez szczep Y, niż od innych aglutynin, które szczep Y wyabsorbował. Wszystko, co dotyczy braku równoległości wysycenia surowicy 19 szczepem W i surowicy W szczepem 19, jak również cały wywód, dotyczący tego, daje się z drobnymi zmianami powtórzyć z zamianieniem w niem litery W na V. Za istnieniem w surowicy 19 anty-W i anty-V przemawia jeszcze i to, że surowica ta wysycona szczepami W, V i Z traci dla swego szczepu 88% aglutynin, (tabela XI), podczas gdy wysycenie samym szczepem Z zabiera tylko 75% (Tabela VII). Te fakty przema-

wiają za tem, że aglutyniny W i V w surowicy 19 istnieją, ale szczepy W i V nie potrafią ich stamtąd usunąć albo być może, usuwają je w tak niewielkim stopniu, że to nie odbija się na mianie surowicy.

Te wątpliwości jednak, czy składniki W i V występują w surowicy 19, nie dotyczą zupełnie istnienia tych składników w szczepie 19. To bowiem nie ulega najmniejszej wątpliwości. A o istnieniu niewspółmierności aglutynacyjnymi między własnościami a zdolnościami aglutynogenowemi była już mowa. Niewspółmierność ta w szczepie i w surowicy 19 silnie się uwydatnia; na co wskazuje tabelka V.

Biorąc przeciętną wyników absorpcyjnych, możemy przyjąć że skład antygenowy szczepu 19 przedstawia się mniej więcej w ten sposób, jak to wskazuje poniższy diagram:



Dokładnie oznaczyć stosunków ilościowych nie jesteśmy w stanie. Oprócz antygenów Z, W i V występuje tutaj jeszcze jeden składnik. Być może, że jest to piąty składnik antygenowy, nie występujący w szczepach angielskich, nie można jednak wykluczyć tego, że jest to składnik X.

Na tem miejscu pozwalam sobie złożyć serdeczne podziękowania tym, którzy okazali mi pomoc w mej pracy: pp. dyrektorowi Żabińskiemu, profesorowi Łopatyńskiemu, doktor Paszkowiczowej, Kuratorowi zbiorów angielskich i doktorowi Brillowi; przede wszystkim zaś serdecznie dziękuje panu profesorowi Szymanowskiemu, pod którego kierownictwem niniejsza praca została wykonaną i składam Mu wyrazy wdzięczności za łaskawe podanie tematu, troskliwe zajęcie się pracą i cenne wskazówki, jakich mi w czasie jej wykonania nie skąpił.

Laboratoire bactériologique de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université
de Varsovie. (Dir. Prof. Dr. Z. Szymanowski)

ÉTUDE D'UNE ÉPIDÉMIE DE DYSENTERIE DES SINGES ET DÉFINITION SÉROLOGIQUE DE L'AGENT PATHOGÈNE

P a r

L. FENIGSTEIN

R É S U M É

L'objet de nos recherches fut une épidémie de diarrhée qui éclata parmi les singes *Macacus Rhesus* du Jardin Zoologique de Varsovie. L'agent pathogène était un bacille du type Flexner. Il s'agissait d'analyser le cours de l'épidémie et de préciser aussi près que possible le caractère du bacille. Voici les résultats obtenus:

1. Dans un milieu infecté le taux d'agglutination du sérum des individus malades et bienportants envers la souche pathogène est plus haut que dans un milieu sain.

2. A mesure que l'épidémie augmente le titre de sérum et la quantité d'individus à un taux positif augmentent aussi.

3. On trouve le taux positif autant chez les individus malades que chez les porteurs sains. Chez les uns et les autres on peut déceler l'agent pathogène dans les masses fécales.

4. Au commencement de l'épidémie la différence entre les individus malades et bienportants est plus accusée que plus tard. Et quand l'épidémie devient chronique, sans accidents mortels, la différence s'efface complètement.

L'analyse sérologique de la souche Flexner, qui était la cause de l'épidémie, fut exécutée d'après le schéma d'Andrewes et d'Inman. Notre bacille s'est démontré le plus voisin de la souche Y et Z, mais paraît contenir un antigène partiel spécial et différent.

PIŚMIENNICTWO

W. Andrewes and A. C. Inman. Med. Res. Council Spec. Rep. Ser. 1919 r. Sartorius. Centralbl. f. Bakt. 1929 r. t. 111.226. Sartorius. Centralbl. f. Bakt. 1931 r. t. 122.135, Sartorius. Klinische Wochenschrift 1931 r. str. 2216. Sartorius. Zeitschrift f. Immunitätsforschung 1932 r. t. 74 str. 313. Sartorius. Medizinische Klinik. 1932 r. str. 777. S. Zylbertal. Medyc. Dośw. i Społ. 1931 r. t. XIII str. 373, Raveau. Dopter. Mém. soc. méd. des hôp. de Paris. 1915/16 r. t. 31 str. 846. Jonesco-Michaiesi i Combiesco. Comp. Rend. de Soc. Biol. 1914 r. t. 76 str. 827.

Wpłynęło 23.1.1935

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

O ZMIANACH W SUROWICY W PRZEBIEGU GRUŻLICY Część serologiczna

Podały

Z. MILIŃSKA-SZWOJNICKA i W. HALBERÓWNA

Spośród odczynów serologicznych, które były używane dla rozpoznania gruźlicy, odchylenie dopełniacza znalazło najszersze zastosowanie. *Widal*, *Le Sourd*, *Camus*, *Bordet* i *Gengou* byli pierwsi, którzy wprowadzili tę metodę we Francji, zaś *Behring* i *Koch* -- w Niemczech. Nie będziemy opisywały metod i modyfikacji wprowadzonych przez poszczególnych autorów, zaznaczymy tylko, że wyniki tych odczynów nie zadawałniały ani serologów, ani klinicystów, ponieważ: a) były one dodatnie tylko w pewnym odsetku przypadków gruźliczych, b) były one dość często dodatnie i w innych schorzeniach.

W zależności od użytych antygenów odsetek odczynów nieswoistych wahał się w granicach od 10—30 %. Pozatem stwierdzono, że surowice gruźlicze często reagują z antygenami, które nie mają nic wspólnego z prątkami gruźliczymi. Te niepomysłne wyniki nasuwały myśl, że ustrój ludzki wogóle nie jest zdolny do wytwarzania ciał odpornościowych pod wpływem zakażenia gruźliczego i że wszystkie odczyny z antygenami gruźliczymi, czy to w postaci aglutynacji, precypitacji czy też odchylenia dopełniacza są jedynie wyrazem labilności surowic. Jednakże, jak się później okazało,

zdanie to było niezupełnie uzasadnione. Przyczyny tego niepowodzenia stały się zrozumiałe, gdy uwzględniono, że surowice gruźlicze wykazują zwiększoną wypadalność frakcji globulinowej i dają tak zwane odczyny labilne, z drugiej zaś strony, że prątki gruźlicze, które zawierają dużo substancyj woskowych i lipoidalnych, łatwo reagują z surowicami przy innych schorzeniach, zwłaszcza przy kile. Po uświadomieniu sobie tych faktów niektórzy badacze zwłaszcza we Francji *Bocquet*, *Négre* i *Besredka* podjęli nanowo próby opracowania serodjagnostyki gruźlicy. Próby udoskonalenia techniki szły przedewszystkiem w kierunku oczyszczenia antygenów gruźliczych od substancyj lipoidalnych. Podobne badania podjęli w Niemczech *Wassermann*, *Klopstock* i *Neuberg*. Nie będziemy tutaj opisywały techniki przygotowania antygenów (odnośne dane zestawione są w artykule *Halberówny*: „O serjodjagnostyce gruźlicy“ w *Warszawskim Czasopiśmie Lekarskim* Nr. 31 i 32 1934 r.).

Wyniki, które otrzymano, wykazały, że założenie autorów było słuszne, gdyż przy użyciu odpowiednio oczyszczonych i uczulonych antygenów odsetek dodatnich odczynów w przypadkach gruźlicy, zwłaszcza gruźlicy płuc, wzrósł do 70–85 % jednocześnie znacznie spadł odsetek odczynów nieswoistych. Ciekawe wyniki dała metoda, którą opracowali *Witebsky*, *Klingenstein* i *Kuhn*¹⁾. Technikę przygotowania antygeny i sposób wykonania odczynu podamy później. Postęp, który się tu zaznaczył, pozwalał przypuszczać, że antygeny gruźlicze posiadają swoiste powinowactwo do surowic gruźliczych a co zatem idzie, że surowice gruźlicze zawierają ciała odpornościowe dla prątków gruźliczych. *Witebsky*, który zastosował badania absorpcyjne i metodę tak zwanych „przeciwciał czystych“, dowiódł, że tak jest istotnie i że odczyn odchylenia dopełniacza jest wyrazem swoistego połączenia przeciwciał z antygenem gruźliczym. Fakt ten przyczynił się do szerszego zastosowania metod serologicznych w djagnostyce gruźlicy.

*Klingenstein*²⁾, badając wartość kliniczną odczynu *Witebsky'ego* postawił sobie następujące pytania, na które starał się na mocy zebranego materiału odpowiedzieć.

¹⁾ *Klinische Wochenschrift* Nr. 23. 1931.

²⁾ *Klinische Wochenschrift* Nr. 51. 1931.

1. Czy przeciwciała gruźlicze występują tylko u gruźlików? (a więc jaka jest swoistość odczynu)?

2. Czy są one wyrazem czynnej gruźlicy? (jaka jest wartość dajagnostyczna odczynu)?

3. Czy obecność ich jest pomyślnym czy też niepomyślnym objawem (czy mają one wartość prognostyczną)?

4. Czy występują one we wszystkich klinicznie stwierdzonych przypadkach gruźlicy, a jeżeli ich brak, to przy jakich postaciach?

W odpowiedzi na pierwsze pytanie autor zaznacza, że swoistość tego odczynu jest daleko idąca, lecz nie absolutna. Na wiele tysięcy przebadanych surowic nie znalazł ani jednego schorzenia, przy którym odczyn ten występowałby z pewną regularnością. Zwłaszcza przy schorzeniach, gdzie surowice wykazują zwiększoną chwiejność koloidalną jak np. przy nowotworach, stanach zapalnych, ciąży i t. p. odczyn ten był prawie zawsze ujemny. Autor podkreśla fakt, że chwiejność koloidalna i obecność ciał odpornościowych nie idą w parze, gdyż bywa tak, że opadanie krwinek jest bardzo przyspieszone, zaś odczyny serologiczne ujemne. Bywa to w pierwszych okresach schorzenia, pozatem w gruźlicy kości, skóry i t. p. W innych zaś przypadkach, np. w okresie zdrowienia, opadanie krwinek jest normalne, podczas gdy odczyny serologiczne jeszcze są silnie dodatnie.

Odczyn gruźliczy bywa jednak niekiedy dodatni i w innych schorzeniach np. w kile. Zdaniem *Meinickego* odczyny z antygenem niehomologicznym występują przeważnie wówczas, gdy surowice wykazują wysokie miano przeciwciał antylipoidalnych. Nie należy więc, jego zdaniem, uważać tych odczynów tylko za wyraz labilności surowic. Również i ze względów praktycznych fakt ten nie obniża wartości dajagnostycznej odczynu, gdyż wiadomo na zasadzie prac *Witebsky'ego*, że można przy użyciu pewnej techniki odróżnić odczyny swoiste od nieswoistych, a nawet z jednej i tej samej surowicy wyodrębnić przeciwciała dla kilku antygenów. *Witebsky* mianowicie opisuje przypadek, gdzie udało mu się tą drogą stwierdzić w surowicy jednocześnie przeciwciała kiłowe, gruźlicze i rzeżączkowe.

Od odczynów nieswoistych należy odróżnić tak zwane odczyny biologicznie swoiste, ale klinicznie niecharakterystyczne, które występują wtedy gdy zarazki, wchodzące w grę wykazują podobieństwo serologiczne. Otóż prątki gruźlicze są pod względem antygenowym bardzo zbliżone do zarazków trądu i błonicy. Na drodze badań serologicznych niepodobna schorzeń tych odróżnić. Do schorzeń, przy których surowice dość często reagują z antygenami gruźliczemi, należy również malarja.

W odpowiedzi na drugie pytanie autor stwierdza, że przeciwciała występują nie tylko przy gruźlicy czynnej, ale są obecne i po wyleczeniu, gdy już ani klinicznie ani rentgenologicznie żadnych zmian gruźliczych w ustroju wykryć nie można. Stanowi to raczej analogię do odczynu Widala, niż do odczynu Bordet-Wassermanna, albowiem jak wiadomo przy kile odczyn naogół znika wraz z wyleczeniem. Dodatni odczyn serologiczny nie może więc być uważany za wyraz czynnej gruźlicy. Tem samym należy stwierdzić, że odczyn ten nie posiada bezwzględnej wartości diagnostycznej, gdyż nie pozwala odróżniać gruźlicy czynnej od nieczynnej, co dla klinicysty miałoby największe znaczenie. Obecność przeciwciał w surowicy nie posiada również wartości prognostycznej, gdyż udało się nawet we krwi pobranej przy sekcji stwierdzić przeciwciała o bardzo wysokim mianie.

Wreszcie w odpowiedzi na ostatnie pytanie autor zaznacza, że ciała odpornościowe występują nie u wszystkich gruźlików. Najwięcej odczynów dodatnich dają surowice przy gruźlicy płuc, odsetek ten dochodzi do 80%, gruźlica kostna daje tylko 30% odczynów dodatnich, gruźlica skóry reaguje jeszcze rzadziej. U dzieci we wczesnych okresach schorzenia odczyn gruźliczy jest również prawie zawsze ujemny, co ze względów praktycznych bardzo obniża jego wartość. Odczyn ten bywa również często ujemny u ciężko chorych. Zdarza się tak, że na kilka tygodni przed śmiercią odczyn dodatni zanika, co jest zdaniem autorów wyrazem charłactwa.

Wyniki otrzymane przez *Klingensteina* wskazują na to, że odczyn odchylenia dopełniacza jest biologicznie swoisty, gdyż polega, jak to stwierdził *Witebsky*, na istnieniu ciał odpornościowych dla antygenów gruźliczych.

Zagadnienie swoistości biologicznej i klinicznej niektórych odczynów i ich wartości djagnostycznej było przedmiotem badań w Państwowym Zakładzie Higieny. Pierwsze badania były przeprowadzone nad rakiem. *Hirszfeld i Halberówna*¹⁾ przy współpracy klinicznej *Floksztrumpfa i Kołodziejskiego* opracowali odczyn odchylenia dopełniacza i uważali go za biologicznie, swoisty pomimo tego, że występuje on również w niektórych innych stanach patologicznych i fizjologicznych. Jednakże inni autorzy stanęli na stanowisku, że odczyn ten, podobnie jak wszystkie inne dotychczas opracowane jest jedynie wyrazem labilności surowic. Jednym z głównych zarzutów było, że surowice kiłowe reagują z antygenem rakowym. Zdaniem *Hirszfelda i Halberówny* fakt ten jest zupełnie zrozumiały, gdyż wyciąg alkoholowy z tkanki rakowej zawiera nie tylko substancje rakowe, ale i lipoidy normalne, które reagują z surowicami kiłowymi, dając odczyn Bordet-Wassermanna. Zarzut ten polega więc na zasadniczym niezrozumieniu istoty zjawiska. Sprawa czy odczyn rakowy jest wyrazem swoistości, czy labilności była bezpośrednio trudna do rozstrzygnięcia, gdyż, jak wspomniano, operuje się nie antygenem rakowym chemicznie czystym, lecz mieszaniną najrozmaitszych lipoidów, wydobytych z nowotworów. W celu odróżnienia odczynów biologicznie swoistych od odczynów labilnych, *Hirszfeld, Halberówna i Szwojnicka*²⁾ obrali drogę pośrednią i przeprowadzili badania w dwóch kierunkach:

1) przebadali na materiale rakowym i kontrolnym równolegle z odczynem odchylenia dopełniacza z antygenem rakowym kilka innych odczynów, które są naogół uważane za odczyny labilne, aby się przekonać, czy istnieje pomiędzy nimi jakaś korelacja. Wychodząc bowiem z założenia, że one wszystkie są wyrazem tej samej funkcji, powinny dawać dodatni współczynnik korelacji.

2) wybrali schorzenie przy którym zarazek jest znany, przy którym jednak surowica podobnie jak w raku, wykazuje zwiększoną chwiejność koloidalną, — schorzeniem tem jest gruźlica.

¹⁾ Extrait du Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres t. II. 1930—31. Klinische Woch. Nr 8. 1930. Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 67, t. 3/4. 1930.

²⁾ Klinische Woch. Nr 5. 1935.

Na surowicach gruźliczych przeprowadzili równoległe badania z antygenem swoistym a pozatem wykonali kilka odczynów, które są uważane za labilne¹⁾. Wyniki badań nad pierwszym zagadnieniem są opublikowane w innym miejscu. Zagadnienie drugie jest przedmiotem niniejszej pracy.

Jako odczyn swoisty wybrano odchylenia dopełniacza z antygenem gruźliczym podług *Witebsky'ego*²⁾, a jako odczyny dodatkowe: odczyn Bordet-Wassermanna, odchylenie dopełniacza z antygenem rakowym podług *Hirszfelda-Halberówny*, odchylenie dopełniacza z cholesteryną podług *Eislera-Jacobsohna*³⁾ i strącanie lecytyny podług *Sachsa*⁴⁾, jako odczyn par excellence labilny wybrano odczyn Daranyi'ego⁵⁾.

Odczyn Witebsky'ego, Klingensteina i Kuhna polega na wiązaniu dopełniacza. Jako antygen używa się benzolowego wyciągu prątków gruźliczych z dodatkiem lecytyny, która zdaniem autorów zmniejsza samozahamowanie antygeny. Zasada przygotowania antygeny gruźliczego polega na usunięciu substancji rozpuszczalnych w zimnym alkoholu, które reagują z surowicami kiłowemi.

Sposób przyrządzenia antygeny: wysuszoną hodowlę prątków gruźliczych łąguje się przez 2 — 3 godziny 96° alkoholem na gorąco w chłodnicy zwrotnej, dając 20 ccm alkoholu na 1 gram wysuszonych prątków gruźliczych. Po wystudzeniu alkoholowego wyciągu sączy go się i osad łąguje gorącą pirydyną w aparacie Soxleta na łaźni z oliwą. Po odparowaniu wyciągu pirydynowego łąguje się pozostałość ponownie w aparacie Soxleta gorącym acetonem. Wreszcie osad, który jest nierozpuszczalny w acetonie, należy wysuszyć i rozpuścić w benzolu w takim stosunku, aby otrzymać 1% roztwów. Ten 1% roztwór jest wyjściowym antygenem, do którego dodaje się lecytyny w następujący sposób. 0,3 lub 0,6 ccm 1% alkoholowego roztworu lecytyny Mercka należy odparować i osad rozpuścić w 1 ccm wyjściowego antygeny. W ten

¹⁾ Extrait du Bulletin de L'Academie des Sciences et des Lettres. Classe de Médecine 1933.

²⁾ Klinische Woch. Nr 23. 1931.

³⁾ Zeitschrift für Immunitätsf. Bd. 70. H. 3/4. 1931.

⁴⁾ Zeitschrift für Krebsforschung Bg. 35. 1932.

⁵⁾ Wiener klinische Wochenschrift Nr 45. 1922.

sposób przygotowany wyciąg należy do odczynu 10-krotnie rozcieńczyć benzolem. Wyciąg benzolowy stanowi właściwy antygen do odczynu.

Ponieważ niektóre surowice gruźlicze reagują z bardziej, a inne z mniej stężonym antygenem, to używa się do odczynu antygeny w 5-ciu różnych rozcieńczeniach, a mianowicie: 1/3, 1/9, 1/27, 1/81 i 1/243. Rozcieńczenia te przygotowuje się w następujący sposób: odmierzoną ilość antygeny, potrzebną do odczynu należy odparować na szkiełku zegarkowym na łaźni wodnej przy 60 — 80° C. dosucha. Otrzymany osad należy rozpuścić w 0,9% NaCl, dając pierwszy centymetr roztworu soli częściowo np. 0,1 ccm, 0,1 ccm, 0,3 ccm i 0,5 ccm potem 1 ccm i 1 ccm. Po każdorazowym dodaniu roztworu soli kuchennej należy osad dokładnie rozetrzeć pałeczką szklaną, aby otrzymać jednolitą zawiesinę. W ten sposób otrzymuje się rozcieńczenie wyjściowe 1:3, dalsze zaś uskutecznia się przez 3-krotne rozcieńczenie poprzedniego 0,9% roztworem soli kuchennej.

Odczyn gruźliczy *Witebsky'ego* nastawia się w 6 probówkach jak to wykazuje tablica I.

T A B L I C A I.

Nr. probówki	1	2	3	4	5	6
Rozcieńczenie antygeny	1:3	1:9	1:27	1:81	1:243	—
Dawka antyg.	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—
Surowica nieczynna 1:3	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
NaCl fizjolog.	—	—	—	—	—	0,25
komplement 1:15	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25

Po zmieszaniu zawartości każdej probówki wstawia się je na łaźnię wodną (37°C) na półtora godziny, poczem dodaje się do każdej probówki po 0,5 ccm 3% uczulonych krwinek barana.

miesza się i ponownie stawia na łaźnię (37°C) na 30 minut, po upływie których odczytuje się wynik. Za surowicę dodatnią uważa się taką, która przynajmniej z trzema rozcieńczeniami antygeny daje zahamowanie hemolizy.

Badania nasze przeprowadziłyśmy z oryginalnym antygenem *Witebsky'ego*. Ponieważ w pierwszej serii badań otrzymałyśmy tylko w 50% przypadków gruźlicy odczyn dodatni, to starałyśmy się odczyn ten uczulić. Udało to się przez zwiększenie dawki badanej surowicy do 0,2 ccm. Zapomocą tej modyfikacji zbadałyśmy cały materiał nadsyłany ze Szpitala Wolskiego i ze Szpitala na Czysem. Ogółem zbadano 197 surowic, z czego szpital Wolski nadesłał 110, szpital na Czysem 87.

Surowice nadesłane przez Dra *Kobrynera* są dokładnie omówione w drugiej części tej pracy. Co się tyczy surowic, nadesłanych przez Dr. *Gołqba*¹⁾, bliższych danych nie posiadamy, wiemy tylko, że pochodziły one od chorych z daleko posuniętą gruźlicą.

Wyniki badań były następujące: w 79 przypadkach odczyn był silnie dodatni (+++) w 36 — dodatni (++) , w 32 — słabo dodatni (+), w 8 — wątpliwy (±), a w 42 przypadkach ujemny. A zatem odczyny dodatnie otrzymałyśmy w 74,3% przypadków. 132 surowice zbadałyśmy równolegle na odczyn oryginalny i na modyfikację, wyniki obydwu odczynów wykazuje tablica II.

T A B L I C A II.

		Odczyn gruźliczy oryginalny				Razem	%
		+	%	±	—		
Odczyn gruźliczy modyfikacja	+	65		8	18	91	
	±				7	7	
	—				34	34	
	Razem	65	49.3	8	59	132	69

¹⁾ P. Dr. *Gołqbowi* składamy na tem miejscu serdeczne podziękowanie.

Jak widać z powyższego zestawienia 18 surowic, które dały dodatnie odczyny przy użyciu większej ilości surowicy były ujemne przy metodzie oryginalnej, różnice wynoszą więc na zbadanym materiale 16.4%.

Odsetek dodatnich odczynów przy modyfikacji wynosi na tym materiale 69%, jest więc niższy, niż na materiale całkowitym, gdzie wynosił 74,3%. Może to polegać na tem, że przeważały tu przypadki z mniej posuniętą gruźlicą.

Jak się okazało odczyn zmodyfikowany jest bardziej czuły niż odczyn oryginalny, chodziło nam o sprawdzenie czy nie stał się jednocześnie i mniej swoisty. W tym celu przebadaliśmy równolegle obydwa odczyny na surowicach kontrolnych, w skład których wchodziło 240 surowic nadesłanych na odczyn Bordet-Wassermanna, 119 surowic rakowych i 72 surowice kobiet ciężarnych.

Surowice nadesłane na odczyn Bordet-Wassermanna przebadane na obydwa odczyny dały następujące wyniki (tablica III):

T A B L I C A III

Odczyn Bordet-Wass.		Odczyn gruźliczy oryginalny			Odczyn gruźliczy modyfikacja		
		+	±	—	+	±	—
+	48	3		45	3		45
±	6	1	1	4	2		4
—	186	20		166	21		165
Razem	240	24	1	215	26		214

Jak widać z powyższej tablicy różnica w odsetku dodatnich odczynów jest minimalna, gdyż na 240 zbadanych surowic otrzymaliśmy w odczynie oryginalnym 24 wyniki dodatnie, co czyni 10%, a przy użyciu modyfikacji 26 wyników dodatnich, co wynosi 10,8%.

Zbadałyśmy następnie, czy zaznaczają się jakieś różnice między obu odczynami przy użyciu surowic, które wykazują większą

chwiejsność. W tym celu wybrałyśmy surowice rakowe i surowice kobiet ciężarnych. Wyniki tych badań wykazuje tablica IV:

T A B L I C A I V

Odczyn rakowy		Odczyn gruźliczy oryginalny			0% odczynów dodatnich	Odczyn gruźliczy modyfikacja			0% odczynów dodatnich
		+	±	—		+	±	—	
+	53	4	3	46		4	3	46	
—	66	4	4	58		13	4	49	
Razem	119	8	7	104	6,8	17	7	95	14,6

Widzimy z powyższej tablicy, że przy użyciu większej dawki surowicy odsetek odczynów dodatnich na materiale rakowym wynosi, 14,6% podczas gdy metoda oryginalna daje tylko 6,8% a więc, modyfikacja która okazała się czulsza w stosunku do urowic gruźliczych, okazała się jednocześnie mniej swoistą w zastosowaniu do surowic rakowych.

Przebadaliśmy również 72 surowice kobiet ciężarnych. W tej liczbie otrzymaliśmy 19 odczynów dodatnich (26,4%) i to zarówno przy użyciu metody oryginalnej jak i zmodyfikowanej. Odsetek ten jest znacznie wyższy niż podaje *Witebsky*. Przypuszczaliśmy, że różnica polega na tem, że używałyśmy początkowo krwi łożyskowej. Jednakże dalsze badania wykonane z krwią żylną wykazały taki sam odsetek odczynów dodatnich jak z krwią płożyskową.

Jak widzimy, na materiale nadsyłanym na odczyn Bordet-Wassermanna i na materiale ginekologicznym użycie większej dawki surowicy daje takie same wyniki, jak metoda oryginalna *Witebsky*'ego.

Dość znaczne różnice w odsetku dodatnich odczynów wystąpiły na materiale rakowym. Jaka jest przyczyna tego faktu nie możemy narazie rozstrzygnąć.

Odczyn *Witebsky*'ego jest uważany za odczyn swoisty, ponieważ używa się antygenu otrzymanego z zarazka gruźliczego.

Witebsky uzasadnił biologiczną swoistość odczynu zapomocą t. zw. przeciwciał czystych. Na mocy naszych badań należy również uważać odczyn ten za biologicznie swoisty, ponieważ znika on po absorpcji surowic gruźliczych prątkami gruźliczymi, jak to wykazuje tablica V.

T A B L I C A V

Odchylenie dopełniacza z antygenem gruźliczym

Rozcieńczenie antygeny	1:3	1:9	1:27	1:81	1:243
Surowica przed absorpcją	+++	+++	+++	+++	+++
Po absorpcji prątkami gruźl.	—	—	—	—	—

Chcąc się przekonać, czy odchylenie dopełniacza z antygenem gruźliczym jest wyrazem swoistego powinowactwa surowic gruźliczych do antygeny homologicznego, czy też surowice te reagują również z innymi lipidami, wykonaliśmy kilka odczynów kontrolnych, gdzie również wchodzi w grę wyciągi alkoholowe. Prawie wszystkie surowice gruźlicze zbadano na odczyn Bordet-Wassermanna. Wyniki te ilustruje tablica VI. Jako wynik odczynu Wassermanna dałyśmy średnią odczynów Mc Intosha i Bordet-Ruelensa

T A B L I C A VI

		Odczyn Bordet-Wassermanna			Razem
		+	0/0	—	
Odczyn gruźliczy modyfikacja	+	12		123	135
	±	—		8	8
	—	4		40	44
	Razem	16	8,7	171	187

Na ogólną liczbę zbadanych 187 surowic gruźliczych — 16 dało dodatni odczyn Bordet-Wassermanna, co czyni 8,7 %. Nie mając bliższych danych anamnestycznych, zwłaszcza w kierunku kiły z danych tych żadnych wniosków wyciągnąć nie możemy.

Jako następny odczyn kontrolny wybrałyśmy odchylenie dopełniacza z alkoholowym wyciągiem tkanki rakowej podług *Hirschfelda i Halberówny*.

Technika odczynu rakowego: do dwóch probówek nalewa się po 0,05 ccm. nieczynnej surowicy i po 0,5 ccm. soli fizjologicznej (0,85%), następnie dodaje się do pierwszej probówki 0,2 ccm., do drugiej 0,1 ccm. rozcieńczonego alkoholowego wyciągu rakowego i po 0,25 ccm. rozcieńczonego, poprzednio wymiareczkowanego komplementu (5 dawek hemolitycznych). Probówki wstawia się do cieplarki (37°C) i po upływie godziny dodaje się po 0,5 ccm. uczulonych 3% krwinek barana. Wstawia się ponownie do cieplarki i po 15 — 20 minutach odczytuje się wynik.

Rozcieńczenie antygeny rakowego: do probówki wlewa się pipetą 1 ccm. alkoholowego wyciągu rakowego, drugą pipetą dolewa się 0,2 — 0,3 ccm. 1% roztworu cholesteroliny w alkoholu absolutnym, następnie dolewa się szybko 6—7 ccm. soli fizjologicznej (0,85%). Za dodatnie uważa się tylko te wyniki, gdzie odczyn wypada na +++ lub co najmniej na ++, słabszych odczynów nie uwzględniamy.

Liczba zbadanych tą metodą surowic wynosiła 183. Wyniki podaje tablica VII.

T A B L I C A VII

		Odczyn rakowy			Razem
		+	%	—	
Odczyn gruźliczy modyfikacja	+	25		106	131
	±			8	8
	—			44	44
	Razem	25	7,5	158	183

Spośród tych 25 surowic z dodatnim odczynem rakowym należy odliczyć 12, które dały również dodatni odczyn Bordet-Wassermanna, ponieważ wiadomo, że surowice takie reagują z antygenem rakowym. Pozostało więc 13 przypadków na ogólną liczbę zbadanych 183 surowic gruźliczych, co czyni 7,5%. Odsetek ten jest prawie taki sam, jaki otrzymaliśmy przy badaniu surowic rakowych na odczyn gruźliczy. W jednym i drugim przypadku antygen homologiczny dał około 50% odczynów dodatnich, antygen niehomologiczny dał około 7%. Wyniki te przemawiają do pewnego stopnia za swoistością obu tych odczynów.

Surowice osobników chorych na raka, gruźlicę, surowice kobiet ciężarnych i t. p. reagują jak wiadomo z lecytyną, z cholesteryną, dają przyspieszone opadanie krwinek, większą wypadalność frakcji globulinowej i t. p. Czy wszystkie te odczyny występują wspólnie, czy też poszczególne stany chorobowe dają częściej jeden lub drugi odczyn — nie wiemy. Nawet teoria tych odczynów nie jest jeszcze ustalona. Podczas gdy większość autorów sądzi, że lecytyna, cholesteryna i t. p. są jedynie wskaźnikiem labilności surowic, szereg danych doświadczalnych wskazuje na możliwość istnienia odczynów odpornościowych w stosunku do tych ciał, jako do poszczególnych produktów rozpadu tkanki. Chcąc się przekonać jakie zmiany charakteryzują w tym względzie surowice gruźlicze, przebadaliśmy je na następujące odczyny:

Odczyn lecytynowy: *Sachs* i *Klopstock* podali w roku 1923, że surowice przy różnych schorzeniach stracają lecytynę z dodatkiem chlorku wapnia. Surowice gruźlicze dawały 45% odczynów dodatnich, surowice rakowe 37,5% i t. d. Ostatnio *Sachs* opisał drugi odczyn, gdzie używa lecytyny bez dodatku chlorku wapnia. Odczyn ten miał, zdaniem *Sachsa*, rzadziej występować w przypadkach gruźlicy, natomiast częściej przy raku. Na naszym materiale rakowym nie mogliśmy potwierdzić danych *Sachsa*, gdyż odsetek dodatnich odczynów wynosił tylko 16,5%. Odczyn ten, który przez *Sachsa* uważany jest za labilny zastosowaliśmy do badania surowic gruźliczych.

Technika odczynu lecytynowego *Sachsa*: do 0,1 ccm. nieczynnej surowicy dodaje się 0,25 ccm. pięciokrotnie rozcieńzonego 1-procentowego roztworu lecytyny. Statywy z próbów-

kami trzęsie się przez 3—5 minut i po dodaniu 0,5 ccm. soli fizjologicznej odczytuje wynik.

Na odczyn ten równolegle z odczynem gruzliczym zbadałyśmy 183 surowice gruzlicze, wyniki wykazuje tablica VIII.

T A B L I C A VIII

		Odczyn lecytynowy Sachsa			Razem
		+	0/0	—	
Odczyn gruzliczy modyfikacja	+	98		35	133
	±	5		3	8
	—	20		22	42
	Razem	123	67,2 ⁰ / ₀	60	183

Z tablicy wynika, że surowice gruzlicze strącają lecytynę w 67,2⁰/₀ przypadków. Widocznej korelacji pomiędzy odczynem gruzliczym i odczynem lecytynowym nie ma. Jest rzeczą ciekawą, że surowice gruzlicze w tak dużym odsetku przypadków strącają lecytynę. W jakim stopniu występowanie tego odczynu jest zależne od pewnych okresów klinicznych wykaże zestawienie Dr. *Kobrynera*.

Zbadałyśmy również czy surowice gruzlicze wykazują pewne powinowactwo do cholesteryny. W tym celu użyłyśmy metody podanej przez *Eislera i Jacobsohna* dla surowic rakowych.

Technika odczynu *Eislera-Jacobsohna*: do 0,05 ccm. nieczynnej surowicy dodaje się 0,5 ccm. mieszaniny 1⁰/₀ alkoholowego roztworu cholesteryny z rozcieńczonym komplementem. Mieszaninę tę przyrządza się w sposób następujący: do 0,15 ccm. 1⁰/₀ cholesteryny w alkoholu absolutnym dodaje się 0,35 ccm. alkoholu 96⁰ i 4,5 ccm. względnie 9,5 ccm. dwudziestokrotnie rozcieńczonego świeżego komplementu. Probówki trzyma się przez godzinę w cieplarni (37⁰C), poczem dodaje się po 0,5 ccm. uczulonych krwinek barana, wstawia się powtórnie do cieplarki i po 15—20 minutach odczytuje się wynik.

Na odczyn Eislera i Jacobsohna zbadaliśmy 185 surowic gruzliczych równolegle z odczynem gruzliczym zmodyfikowanym. Wyniki tych badań podaje tablica IX.

T A B L I C A IX

		Odczyn cholesterynowy			Razem
		+	%	—	
Odczyn gruzliczy modyfikacja	+	25		109	134
	±	1		7	8
	—	7		36	43
	Razem	33	17,7	152	185

A zatem 17,7% zbadanych surowic gruzliczych daje odchylenie dopełniacza z cholesteryną. Tablica wykazuje jednocześnie brak korelacji pomiędzy odczynami z antygenem gruzliczym i z cholesteryną. Należy stwierdzić, że surowice gruzlicze wykazują większe powinowactwo do lecytyny niż do cholesteryny, natomiast surowice rakowe częściej reagują z cholesteryną niż z lecytiną.

Zwiększona chwiejność frakcji globulinowej surowic gruzliczych jest często używana dla stwierdzenia gruzlicy czynnej. Jako wskaźnika chwiejności użyliśmy odczynu Daranyi'ego, który polega na strącaniu białka surowicy pod wpływem rozcieńzonego alkoholu i ogrzewania.

Technika odczynu Daranyi'ego: 0,2 ccm świeżej, czynnej surowicy wlewa się do wąskich probówek długości 20—30 cm i miesza się z 1,1 ccm rozcieńzonego 96% alkoholu (jeden ccm 96% alkoholu rozcieńcza się 4,1 ccm 2% NaCl). Mieszaninę surowicy z rozcieńczonym alkoholem ogrzewa się przez 20 minut przy 62°. Wynik odczytuje się po 1, 2, 3 i 24 godzinach.

Na odczyn Daranyi'ego zbadano 179 surowic gruzliczych, wyniki podaje tablica X.

T A B L I C A X

		Odczyn Daranyi'ego			Razem
		+	%	—	
Odczyn gruźliczy modyfikacja	+	100		28	128
	+	4		3	7
	—	27		17	44
	Razem	131	73,2	48	179

Jak widać z tablicy, na ogólną liczbę zbadanych 178 surowic w 133 przypadkach otrzymano wyniki dodatnie, co wynosi 73,2%. Można więc z pewnem prawdopodobieństwem powiedzieć, że ujemny odczyn Daranyi'ego przemawia przeciwko gruźlicy czynnej.

Jeżeli zestawimy wyniki niniejszej pracy, to widzimy, że na materiale gruźliczym oryginalna metoda Witebsky'ego dała tylko 49,5% odczynów dodatnich, czyli że połowa przypadków nawet z daleko posuniętą gruźlicą nie daje się na tej drodze stwierdzić. Znacznie lepsze wyniki otrzymuje się przy użyciu większej dawki surowicy chorego (74,3%). Odbywa się to jednak do pewnego stopnia kosztem swoistości, gdyż surowice rakowe dają w tych warunkach dość znaczny odsetek dodatnich odczynów (14,6%). Odczyn Witebsky'ego nie pokrywa się z żadnym z używanych przez nas odczynów, współczynnik korelacji jest bardzo niski, jak to wykazuje następujące zestawienie.

Współczynnik korelacji między odczynem Witebsky'ego

a odczynem lecytynowym	+ 0,21
„ Daranyi'ego	+ 0,11
„ rakowym	+ 0,04
„ cholesterynowym	+ 0,03
„ Bordet-Wassermanna	+ 0,02

Jaką wartość mają poszczególne odczyny dla kliniki—omówi dokładnie Dr. Kobryner w drugiej części niniejszej pracy.

Streszczenie.

W celu stwierdzenia zmian, zachodzących w surowicach gruźliczych i poznania wartości dajagnostycznej odczynu swoistego i t. zw. odczynów nieswoistych — zbadano 187 surowic gruźliczych na następujące odczyny; przyczem otrzymano następujące wyniki:

- | | |
|---|-------|
| 1) gruźliczy Witebsky'ego (oryginalny) — wyników dodatnich otrzymano. | 49,3% |
| 2) gruźliczy Witebsky'ego ze zwiększoną dawką surowicy | 74,3% |
| 3) lecytynowy Sachsa | 67,2% |
| 4) Daranyi'ego | 73,2% |
| 5) Bordet-Wassermanna | 8,7% |
| 6) cholesterynowy Eislera-Jacobsohna | 17,7% |
| 7) rakowy Hirszfelda-Halberówny | 7,5% |

Surowic kontrolnych zbadano 436, pośród których było 240, nadesłanych na odczyn Bordet-Wassermanna; dały one zarówno przy odczynie oryginalnym Witebsky'ego, jak i przy użyciu większej dawki surowicy 10% wyników dodatnich.

Na 119 surowic rakowych otrzymano z oryg. odczynem Witebsky'ego 6,8%, a przy użyciu większej dawki surowicy 14,6% wyników dodatnich.

Na 72 surowic kobiet ciężarnych otrzymano zarówno przy odczynie oryginalnym, jak i z większą dawką surowicy 26,4% dodatnich wyników.

Odczyn Witebsky'ego nie jest więc dość czuły w przypadkach gruźlicy, ani dostatecznie swoisty klinicznie.

Odczyny Sachsa i Daranyi'ego, które są uważane jedynie za wyraz chwiejności koloidalnej surowicy dają w przypadkach gruźlicy większy odsetek wyników dodatnich, niż biologicznie swoisty odczyn Witebsky'ego.

OCENA KLINICZNA ODCZYNU ODCHYLENIA DOPEŁNIACZA WEDŁUG WITEBSKY'EGO I T. ZW. ODCZYNÓW LABILNYCH W SERODJAGNOSTYCE GRUŻLICY PŁUC

P o d a ł

Dr. A. KOBRYNER, ordynator Szpitala na Czystem

Odczyn odchylenia dopełniacza w serodjagnostyce gruźlicy przyjmuje istnienie w surowicy chorych przeciwciał dla laseczника Kocha. To też antygeny sporządzone są z laseczników.

Poprzez szereg modyfikacyj (*Koch, Bordet, Wassermann, Besredka, Klopstock, Witebsky*) serologja dążyła do stworzenia antygeny, któryby najbardziej odpowiadał zasadom swoistości. Każdy z tych antygenów był poddawany próbom klinicznym, lecz żaden z nich nie odpowiadał zasadniczym wymogom. Wszystkie one dawały dodatnie odczyny nietylko u gruźlików, lecz i u niegruźlików; odczyn nie występował u wielu chorych na gruźlicę niekiedy b. daleko posuniętą; — nie występował w gruźlicy początkowej, gruźlicy zagojonej i t. d. Również antygen Witebsky'ego jako ostatni w tym łańcuchu, poddawany był niejednokrotnie krytyce klinicznej (*Klingenstein, Höring, Beck i Schedwoler, Horster i Hämel* i inni).

Aczkolwiek % dodatnich wyników w gruźlicy płuc przy tym antygenie wzrósł u niektórych do 81%, a w przypadkach niegruźliczych znacznie się obniżył — do 4%, — to jednak i on posiada te same wady, co poprzednie. Wobec tego, że niektórzy badacze uważają odchylenie dopełniacza w gruźlicy za wyraz chwiejności

koloidów, surowicy, przeprowadziliśmy wraz z odczynem, Witebsky'ego jeszcze szereg innych odczynów, dla gruźlicy nieswoistych, a więc o.o. Daranyi'ego, Sachsa i Eislera. Przy stwierdzeniu stosunku korelacyjnego pomiędzy odczynem Witebsky'ego, a innymi wymienionymi odczynami, które są uważane za wyraz chwiejności koloidów, możnaby było oświetlić biologiczne podstawy tego odczynu swoistego.

Kliniczną ocenę tych odczynów, tak poszczególną jak porównawczą przeprowadziłem, przyjmując pod uwagę a) rozległość procesu gruźliczego, b) charakter jego przebiega oraz c) obecność prątków Kocha w płwocinie. Znane bowiem są przypadki daleko posuniętej gruźlicy płuc, gdzie chorzy wyrzucają ogromne ilości płwociny, a w płwocinie tej tygodniami nie udaje się stwierdzić laseczników Kocha. Nie znaczy to bynajmniej, że ich niema gdzieś w głębszych warstwach gruźliczo zmienionej tkanki płucnej; może być, że laseczników wogóle jest b. mało. Wszak badając histologicznie, niekiedy długo trzeba szukać, póki się znajdzie laseczники. Należało się spodziewać, że tam, gdzie z płwociną wyrzucane zostają laseczники, to więcej ich jest w schorzałej tkance, a więc i większe ilości produktów rozpadu ich wsysają się i powodują powstawanie ewentualnych przeciwciał. Materiał poddany badaniu pochodzi z oddziału gruźliczego Szpitala na Czystem w r. 1932. Na ogólną liczbę 83 surowic, zbadanych na odczyn Witebsky'ego 80 zbadano również na odczyny Daranyi'ego, Sachsa i Eislera.

Wyniki otrzymane przedstawia tablica I.

T A B L I C A I

%	O. Witebsky'ego	O. Daranyi'ego	O. Sachsa	O. Eislera
+	63	62	62	28
—	37	38	38	72

Widzimy, że odczyny Witebsky'ego, Daranyi'ego i Sachsa dały jednakowy % dodatnich wyników.

Jedynie odczyn Eislera z cholesteryną dał znacznie mniejszy % dodatnich wyników.

Odczyny Witebsky'ego, Sachsa, Daranyi'ego i Eislera w zależności od rozległości procesu gruźliczego.

Jeżeli rozpatrzmy wyniki tych odczynów w zależności od wielkości obszaru, zajętego przez proces gruźliczy, to zn., jeżeli podzielimy wszystkie przypadki na phtisis incipiens, — declarata i — consumptiva, to otrzymamy następującą tablicę II:

T A B L I C A II

Pht. incip. (5 przyp.)				Pht. decl. (21 przyp.)				Pht. consump. (54 prz.)			
O. Eisler.	O. Wit.	O. Dar.	O. Sachs.	O. Eisler.	O. Wit.	O. Dar.	O. Sachs.	O. Eisler.	O. Wit.	O. Dar.	O. Sachs.
60%—	100%—	100%—	100%—	71%—	44%—	44%—	61%—	72%—	29%—	14%—	20%—
40%+	0%+	0%+	0%+	29%+	56%+	56%+	39%+	28%+	71%+	86%+	80%+

Wynika stąd, że odczyny Witebsky'ego, Sachsa i Daranyi'ego zachowują się jednakowo w stosunku do rozległości procesu; to znaczy, że im rozleglejszy jest proces gruźliczy, tem większy jest % dodatnich wyników.

Widzimy również, że nieswoisty odczyn Sachsa, a jeszcze wyraźniej — Daranyi'ego, dają znacznie większy % dodatnich wyników w gruźlicy daleko posuniętej, niż swoisty odczyn Witebsky'ego (71% — 80% — 86%).

Wszystkie te odczyny nie dały ani jednego dodatniego wyniku w gruźlicy płuc początkowej. Jedynie nieswoisty odczyn Eislera dał wynik dodatni w 2-ch z 5-ciu przypadków początkowej gruźlicy; natomiast w przypadkach pht. declarata i consumptiva dał ten odczyn nieporównanie mniejszy % dodatnich wyników niż odczyny Witebsky'ego, Sachsa i Daranyi'ego.

Odczyny Witbesky'ego, Sachsa, Daranyi'ego i Eislera w zależności od przebiegu procesu gruźliczego.

Jeżeli zestawimy wyniki tych odczynów, uwzględniając zależność od przebiegu procesu gruźliczego, t. zn. jeżeli podzielimy wszystkie przypadki na pht. pulm. chronica, — subacuta i — acuta, to otrzymamy następującą tablicę III:

T A B L I C A III

Pht. chron. (55 przyp.)				Pht. subacuta (15 przyp.)				Pht. acuta (10 przyp.)			
O. Eisler.	O. Wit.	O. Dar.	O. Sachs.	O. Eisler.	O. Wit.	O. Dar.	O. Sachs.	O. Eisler.	O. Wit.	O. Dar.	O. Sachs.
65 ⁰ / ₀ —	38 ⁰ / ₀ —	36 ⁰ / ₀ —	52 ⁰ / ₀ —	80 ⁰ / ₀ —	47 ⁰ / ₀ —	33 ⁰ / ₀ —	6 ⁰ / ₀ —	60 ⁰ / ₀ —	30 ⁰ / ₀ —	40%—	10 ⁰ / ₀ —
35 ⁰ / ₀ +	62 ⁰ / ₀ +	64 ⁰ / ₀ +	48 ⁰ / ₀ +	20 ⁰ / ₀ +	53 ⁰ / ₀ +	67 ⁰ / ₀ +	94 ⁰ / ₀ +	40 ⁰ / ₀ +	70 ⁰ / ₀ +	60%+	90 ⁰ / ₀ +

Z tego zestawienia wynika, że przebieg proc. gruźliczego nie wpływa specjalnie ani na wynik swoistego odczynu Witebsky'ego, ani też na wynik nieswoistych odczynów Daranyi'ego i Eislera, gdyż % dodatnich wyników jest prawie jednakowy w pht. chronica i acuta.

Jedynie w odczynie Sachsa (z lecytyną) różnice są bardzo wyraźne (48⁰/₀ w pht. pulm. chronica, 90⁰/₀ w pht. acuta i 94⁰/₀ w pht. subacuta). Odczyn ten występuje częściej w gruźlicy ostro przebiegającej i zdecydowanie częściej, niż swoisty odczyn Witebsky'ego i nieswoiste Daranyi'ego i Eislera.

Odczyny Witebsky'ego, Daranyi'ego, Sachsa i Eislera w zależności od prątkowania.

T A B L I C A IV

Koch — (10 przypadków)				Koch + (70 przypadków)			
O. Eislera	O. Witebsk.	O. Daran.	O. Sachsa	O. Eislera	O. Witebsk.	O. Daran.	O. Sachsa
60 ⁰ / ₀ —	90 ⁰ / ₀ —	90 ⁰ / ₀ —	100 ⁰ / ₀	70 ⁰ / ₀ —	32 ⁰ / ₀ —	26 ⁰ / ₀ —	29 ⁰ / ₀ —
40 ⁰ / ₀ +	10 ⁰ / ₀ +	10 ⁰ / ₀ +	0 ⁰ / ₀	30 ⁰ / ₀ +	68 ⁰ / ₀ +	74 ⁰ / ₀ +	71 ⁰ / ₀ +

Wynika stąd że odczyn Witebsky'ego i Daranyi'ego zachowują się jednakowo w stosunku do gruźlicy nieprątkującej i prątkującej, i że w tej ostatniej części wypadają te odczyny dodatnio.

Odczyn Sachsa wystąpił dodatnio tylko w gruźlicy prątkującej. Zaś odczyn Eislera występuje najrzadziej.

Widzimy więc, że z 4-ch wykonanych odczynów, odczyn Eislera praktycznie w grę nie wchodzi. Dalej musimy wnioskować, że zarówno o. Witebsky'ego, jak odczyny Sachsa i Daranyi'ego ustosunkowały się mniej więcej jednakowo do procesu gruźliczego w płucach. Więcej, — musimy stwierdzić, że nieswoiste odczyny Daranyi'ego i Sachsa pod pewnymi względami okazały się bardziej czułe niż swoisty odczyn Witebsky'ego. (rozległość i przebieg procesu gruźliczego).

Jeżeli teraz zwrócimy uwagę na przypadki gruźlicy płuc początkowej, na których klinice najbardziej pod względem rozpoznawczym zależy, to musimy niestety stwierdzić, że wszystkie te odczyny serologiczne wypadły ujemnie.

Nie przesądzamy bynajmniej znaczenia rozpoznawczego odczynu odchylenia komplementu w gruźlicy. Musimy się jednak zastanowić nad zasadniczym zagadnieniem: czy odchylenie dopełniacza surowicy gruźliczej z antygenem z laseczników Kocha oznacza odporność w sensie klinicznym. Od tego, bowiem, zależy zasięg możliwości klinicznych tego odczynu.

Fakty kliniczne przemawiają przeciwko temu, żeby przeciwciała, istniejące w niektórych surowicach gruźlików, grały dużą rolę w przebiegu gruźlicy,

Gdyby tak było, to niezrozumiałem jest, dlaczego u dorosłych i dzieci z pierwotnem ogniskiem, w którym histologicznie stwierdza się obecność laseczników, wynik odczynu jest ujemny; dlaczego w gruźlicy kości jest b. mało dodatnich wyników, a w gruźlicy skóry wynik jest dodatni tylko w postaci wysiękowej, i to nie we wszystkich przypadkach. Dlaczego w izolowanej gruźlicy gruczołów i w gruźlicy prosówkowej płuc, wynik jest również ujemny. Gdyby, te ciała obronne przeciwko lasecznikowi, miały warunkować odporność to jest niezrozumiałem, dlaczego w gruźlicy początkowej, ukrytej i zagojonej reakcja ta wypada ujemnie, natomiast w przypadkach gruźlicy ciężkiej, które kończyły się

śmiertelnie, stwierdzano bardzo dużą koncentrację „przeciwciał“ nie tylko za życia lecz i we krwi pobranej przy sekcji. Te fakty, zaobserwowane przez cały szereg autorów, każą przypuszczać, że przeciwciała, przyjmujące udział w odczynie odchylenia dopełniacza, nie są u gruźlików wyrazem skutecznej obrony ustroju,

Zastanawiającem jest, że największy % dodatnich odczynów, to zn. najczęściej, stwierdzono przeciwciała w gruźlicy rozpadowej płuc i w wysiękowej postaci gruźlicy skóry. Odnosi się wrażenie, że przeciwciała wytwarzają się przy rozpadzie tkanki gruźliczo-zmienionej. Czy rozpad tkanki gruźliczo zmienionej warunkuje silniejsze wchłanianie prątków gruźliczych, dzięki czemu odczyny odpornościowe są silniejsze, czy też przeciwnie, pewne odczyny odpornościowe nie niszczą pr. gruźliczych, lecz poprzez odczyny alergiczne potęgują zmiany miejscowe — nie mogę odpowiedzieć. Również i sprawa odczynów w stosunku do tkanki gruźliczo zmienionej i jej swoistości wymaga dalszego pogłębienia. — Materiał podany przezemnie, który jest tylko częścią materiału zbadanego przez p. *Szwojnicką* i *Halberównę* jest zbyt mały, by można z niego wyciągnąć daleko idące wnioski. Podaję go jednak dlatego, że w piśmiennictwie sprawa stosunku odczynów swoistych do nieswoistych nie była badana z punktu widzenia klinicznego. — Wnioski mojej pracy mają charakter negatywny, gdyż wykazują, że wczesne stany gruźlicy nie mogą być uchwycone zapomocą dotychczasowych metod serologicznych. Pod tym względem serodjagnostyka gruźlicy, pomimo że czynnik etjologiczny jest znany — nie stoi wyżej, niż np. serodjagnostyka raka.

Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut in Warschau. Abteilung für Bakteriologie
und experimentelle Medizin. Direktor Prof. Dr. L. Hirszfeld

UEBER SERUMVERÄNDERUNGEN BEI TUBERKULOSE

V o n

Z. MILIŃSKA-SZWOJNICKA und W. HALBER (Serologischer Teil)

A. KOBRYNER (Klinischer Teil)

ZUSAMMENFASSUNG

Um die Serumveränderungen bei Tuberkulose zu erfassen und den diagnostischen Wert der spezifischen Komplementbindungsreaktion von Witebsky und der s. g. Labilitätsreaktionem festzustellen, wurden 187 Tbc-Sera auf folgende Reaktionen und mit folgendem Ergebnis untersucht:

- | | |
|--|-------|
| 1) Die Tbc-Reaktion nach Witebsky (orig.) positive | 49,3% |
| 2) Die Tbc-Reaktion nach Witebsky mit grösserer
Serumdosis (0,2 ccm.) | 74,3% |
| 3) Die Lecithin-Reaktion nach Sachs | 67,2% |
| 4) Fällungs-Reaktion nach Daranyi | 73,2% |
| 5) Cholesterin-Reaktion nach Eisler-Jacobsohn. | 17,7% |
| 6) Bordet-Wassermann-Reaktion | 8,7% |
| 7) Krebs-Reaktion nach Hirszfeld-Halber | 7,5% |

Das Kontrollmaterial umfasste 436 Sera:

240 Sera, die für die Bordet-Wassermann reaktion zugeschickt wurden, ergaben sowohl mit der orig. Methode von Witebsky, wie bei Benutzung der grösseren Serummengung positive Resultate in 10,5%.

Auf 119 Krebssera erhielt man bei der orig. Methode 6,8%, bei Benutzung der grösseren Serummengung in 14,6% positive Reaktionen.

Auf 72 Gravidensera erhielt man mit der orig. Methode sowohl wie mit der grösseren Serummengung in 26,4% positive Reaktionen

Bei Benutzung einer grösseren Serummengung (0,2 ccm) wird die Tbc-Reaktion empfindlicher in Tbc Fällen. sie wird aber weniger spezifisch, besonders in bezug auf Krebssera.

Die s. g. Labilitätsreaktionem von Sachs und Daranyi geben in Tbc-Fällen mehr positive Reaktionen, als die biologisch spezifische Reaktion nach Witebsky.

In bezug auf die Klinik kommt demnach weder der spezifischen Komplementbindungsreaktion nach Witebsky, noch den „unspezifischen“ Reaktionen kein absoluter Wert zu, denn positive Reaktionen sprechen nicht immer für eine bestehende Tuberkulose, und eine negative Reaktion schliesst keineswegs eine Tuberkulose aus.



Treść zeszytu 5-6. Sommaire.

<i>J. Jakóbkiewiczowa i R. Zajdlówna.</i> Badania nad wysokowartościowymi anatoksynami oczyszczonymi. — Recherches sur les anatoxines purifiées et concentrées.	233
<i>R. Zajdlówna i J. Jakóbkiewiczowa.</i> Zagadnienia serologii konstytucyjnej w związku z odpornością fizjologiczną i nabytą na jady błonicze. — Sur les problèmes de sérologie constitutionnelle en rapport avec l'immunité physiologique et acquise envers les toxines diphtériques. . .	258
<i>R. Zajdlówna i M. Mayzner.</i> Szczepienia jednokrotne zapomocą anatoksyny błoniczej ultrafiltrowanej z dodatkiem ałunu. — Vaccinations uniques avec l'anatoxine diphtérique ultrafiltrée additionnée d'alun. . . .	270
<i>Z. Markuze.</i> Odbarwianie się sierści szczurów na niektórych dietach syntetycznych. — Décoloration du poil de rats sous l'influence de certains régimes synthétiques.	276
<i>Z. Judowicz.</i> O wszechobecności drobnoustrojów rozkładających błonnik w warunkach tlenowych. — Sur l'ubiquité des microorganismes décomposants la cellulose dans les conditions d'aérobie.	280
<i>E. Feiner-Bortenstein.</i> Charakterystyka szczepów pałeczki okrężnicowej otrzymanych z mleka. — Sur les coli-bacilles isolés du lait.	285
<i>J. Szperówna.</i> Badania nad wykrywaniem pałeczek duru i paratyfusów w wodzie. — Sur l'isolation de bacilles typhiques et paratyphiques de l'eau.	289
<i>L. Fenigsteinówna.</i> Badanie przebiegu epidemii biegunki wśród małp i określenie serologiczne zarazka, powodującego chorobę. — Étude d'une épidémie de dysenterie des singes et définition sérologique de l'agent pathogène.	317
<i>Z. Milińska-Szwojnicka i W. Halberówna.</i> O zmianach w surowicy w przebiegu gruźlicy. Część serologiczna. — Réactions sérologiques au cours de la tuberculose.	347
<i>A. Kobryner.</i> Ocena kliniczna odczynu odchylenia dopełniacza według Witebsky'ego i t. zw. odczynów labilnych w serodjagnostyce gruźlicy płuc. — Valeur clinique de la réaction de Witebsky et des réactions de labilité dans le sérodiagnostic de la tuberculose des poumons. . .	364

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

REGULAMIN

ogłaszania prac w „Medycynie Doświadczalnej i Społecznej”.

1) „Medycyna Doświadczalna i Społeczna“ zamieszcza prace oryginalne z dziedziny: a) medycyny doświadczalnej (fizjologii, patologii, chemii fizjologicznej, farmakologii i t. d.), b) bakteriologii i serologii, c) higieny i medycyny społecznej, epidemiologii, statystyki i t. p., oraz referaty zbiorowe. Prace są drukowane w obrębie każdego działu z zachowaniem kolejności złożenia w redakcji.

2) Rękopisy należy nadsyłać pod adresem: Redakcja „Medycyny Doświadczalnej i Społecznej“, Państwowy Zakład Higieny, Warszawa, Chocimska 24, lub do jednego z członków Komitetu Redakcyjnego.

3) Autorowie proszeni są o dołączenie do swych prac streszczeń w jednym z języków obcych (angielskim, francuskim, niemieckim).

4) Tablice i fotografie mogą być wykonane w wyjątkowych tylko przypadkach z funduszków wydawnictwa. Objętość artykułu, zajmującego się poszczególną sprawą naukową, nie może przekraczać 1½ arkusza. Pismo przyjmuje jednak również prace oryginalne w opracowaniu monograficznym w większych rozmiarach. Autorowie, którzy życzą sobie ogłosić prace w rozszerzonej formie, proszeni są o uprzednie porozumienie się z redakcją.

5) Celem uniknięcia zwłoki, korekty będą posyłane autorom pozamiejscowym tylko na specjalne żądanie, lub o ile redakcja uzna to za konieczne.

6) Autorowie otrzymują po 25 odbitek swych prac na koszt wydawnictwa.

Biblioteka Główna WUM

A.048



400000001341



libra.wum.edu.pl