

PRZEGLĄD EPIDEMIOLOGICZNY

TOM VI

POD REDAKCJĄ
PROF. DR MED. JERZEGO MORZYCKIEGO

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH
WARSZAWA

1 9 5 1

	Str.
1. <i>Stefan Kryński</i> : Badania nad działaniem niektórych barwników na R. prowazeki	7
2. <i>Stefan Kryński i Eugeniusz Becla</i> : Badania nad działaniem niektórych barwników na pałeczkę odmienca OX ₁₉	59
3. <i>Stefan Kryński</i> : Wpływ karmiciela na przebieg zakażenia R. prowazeki we wszy	77
4. <i>Aleksandra Pogorzelska</i> : Badania nad wydajnością metod oddzielania bakteriofaga anty-Vi od zawiesiny bakteryjnej	87
5. <i>Jerzy Georgiades</i> : Badania nad wpływem biologicznego oczyszczania ścieków na zawarty w nich swoisty bakteriofag anty-Vi	93
6. <i>Maria Morzycka</i> : Badania nad sezonowymi wahaniami zanieczyszczenia wody morskiej Zatoki Gdańskiej	99
7. <i>Albin Niewiarowski</i> : Badania nad występowaniem i pochodzeniem włoskowców różycy u ryb morskich i pracowników przemysłu rybnego	103
8. <i>Tadeusz Przyborowski</i> : Wpływ warunków meteorologicznych na przesunięcia w czasie okresów największej plenności dzikich szczurów w portach Gdyni i Gdańska. Lata 1946/49	125
9. <i>Zbigniew Kawecki</i> : Badania nad istotą występującego w Polsce epizootycznego zapalenia mózgu i rdzenia u lisów srebrzystych	137
10. <i>Tadeusz Zachorowski</i> : Obserwacje nad przebiegiem gruźlicy rzekomej gryzoni laboratoryjnych	171
11. <i>Stanisław J. Grabiec i Ernest A. Sym</i> : Mikroкультуry prątku gruźlicy otrzymane na pożywce syntetycznej DGK.	181
12. <i>Zbigniew Kozar</i> : Epidemiologiczne zagadnienia toksoplazmozy	185
13. <i>Zbigniew Kozar</i> : Odczyny immunobiologiczne stosowane przy toksoplazmozie	213
14. <i>Bernard Zablocki</i> : Hialuronidaza	229
15. <i>Jerzy Borowski</i> : Przegląd prac polskich nad beztlenowcami w okresie 1945 — 1950 r.	257
16. <i>Tadeusz Zachorowski</i> : Brucelloza w polskim piśmiennictwie powojennym 1945 — 1950 r.	269
17. <i>Jadwiga Lachmajerowa</i> : Problem entomologii lekarskiej w piśmiennictwie polskim w latach 1945—1950	277
18. <i>Zbigniew Kozar</i> : Parazytologia lekarska w Czechosłowacji	287
19. Sekcja parazytologiczna na VI Zjeździe Mikrobiologów Czechosłowackich	295

Stefan Kryński

BADANIA NAD DZIAŁANIEM NIEKTÓRYCH BARWNIKÓW
NA *RICKETTSIA PROWAZEKI* *

(Z Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej
oraz
Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej Akademii Medycznej w Gdańsku)

Ostatnie dziesięciolecie przyniosło duży postęp w dziedzinie chemoterapii duru plamistego i chorób pokrewnych. Wśród licznych badanych środków niewiele stosunkowo wykazało działanie rickettsjobójcze lub rickettsjostatyczne. Niektóre barwniki, szczególnie tioninowe i akrydynowe, dały dodatni wynik.

Niezależnie od prac innych autorów zwróciłem w 1941 r. uwagę na silne rickettsjobójcze działanie błękitu metylenowego. Problem ten został częściowo opracowany wspólnie z *Woyciechowską* (59). W 1948 r. podjąłem ponownie badania nad działaniem barwników na *R. prowazeki* biorąc już pod uwagę nie tylko błękit metylenowy, ale również i inne barwniki.

Wobec tego, że zagadnienie działania barwników na rickettsje łączy się ściśle z całokształtem problemu chemoterapii duru plamistego i chorób pokrewnych, postanowiłem w pierwszej części mej pracy dokonać przeglądu dostępnego mi piśmiennictwa z tego zakresu.

CZĘŚĆ I

ZAGADNIENIE CHEMOTERAPII RICKETTSJOZ
W PIŚMIENNICTWIE

1. Sulfonamidy

Powodzenie sulfonamidów w chemoterapii skłoniło szereg autorów do podjęcia prób z tymi środkami w durze plamistym i cho-

* Praca wykonana częściowo za stypendium udzielone przez Komisję do Spraw Odbudowy Nauki Polskiej przy Prezydium Rady Ministrów.



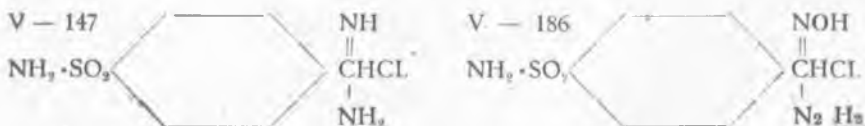
robach pokrewnych. Badania szły dwoma drogami: 1) stosowanie w rickettsjozach sulfonamidów skutecznych w zakażeniach innymi zarazkami i 2) synteza nowych związków i przeprowadzenie z nimi doświadczeń na zwierzętach.

Niektórzy autorzy otrzymali pomyślne rezultaty stosując eubazynę w gorączce okopowej (65, 80) oraz rubiazol, Be 1034 (129), plurazol (135), eubazynę (69), sulfidynę (134) i inne znane sulfonamidy w durze plamistym. Wyniki ich są jednak niezupełnie przekonujące, gdyż liczba obserwowanych przypadków jest mała, często zupełnie nie ma kontroli, poprawa stanu chorych raczej niewielka. W grupie badań nad gorączką okopową brak dostatecznych podstaw diagnostycznych. Sami nawet autorzy (129) podchodzą sceptycznie do swych wyników.

Badania *Toppinga* (cyt. wg 5) ogłoszone w 1939 r. wykazały, że sulfapyrydyna i prontosil posiadają działanie niekorzystne w doświadczalnym durze plamistym i gorączce plamistej Gór Skalistych. Podobne wyniki dały sulfatiazol, sulfatiazol sodowy, sulfaguanidyna i sulfadiazyna (cyt. wg 5). Zwierzęta leczone tymi przetworami ginęły szybciej od kontrolnych (cyt. wg 5).

Sulfonamidy miały natomiast działać na rickettsje *in vitro* (99). Okazało się jednak, że dodatek ich do zawiesiny *R. prowazeki* przedłużał życie zarazka (118). Wyjałowienie normalnej zawiesiny z jelit wszy zakażonych dudem plamistym następowało po 132 godz. Dodatek sulfatiazolu przedłużał ten czas do 156 godz. To samo zjawisko obserwowano w stosunku do *R. pediculi*, gdzie zawiesina kontrolna traciła swą zakaźność po 17 dniach, a z dodatkiem sulfatiazolu — po 26 dniach. Badania *in vitro* potwierdziły wyniki otrzymane *in vivo*.

Niepowodzenia ze znanymi sulfonamidami skłoniły do podjęcia prób syntezy nowych środków z tej grupy i przebadania ich własności przeciwrickettsjowych. Z licznych preparatów jedynie 2 tj. V-147 i V-186 (1, 2, 21) spełniały konieczne warunki: były mało toksyczne dla zwierząt, a działały silnie na rickettsje. Dawka lecznicza V-147 stanowiła 1/6 dawki tolerowanej, a dla V-186 stosunek ten wynosił 1 : 12. Budowa chemiczna obu przetworów jest następująca (2):



Wszelkie zmiany w strukturze wymienionych związków zwiększały ich toksyczność i osłabiały działanie przeciw rickettsjom. Oba

przetwory nie dały się zobojętnić kwasem para-aminobenzo-
esowym (1).

Badania biologiczne przeprowadzono głównie na myszach ze szczepami duru plamistego klasycznego i szczurzego. Jako chorobę uważano występowanie zmian w płucach. Początkowe doświadczenia z V-147 nie dały pomyślnych wyników. Lek podawano raz dziennie w najwyższej tolerowanej dawce, przy czym pierwsza była zastosowana na 2 godz. przed wprowadzeniem zarazka. Okazało się, że V-147 jest szybko wydalany i należy podawać go 2 razy dziennie. Mysz otrzymywała lek sześciokrotnie: 1 raz — przed zakażeniem, następnie przez 2 dni dwa razy dziennie i raz — w 3 dniu choroby. W ten sposób zapobiegano w zupełności rozwojowi zmian wywoływanych normalnie przez *R. prowazeki* w płucach myszy. V-186 działał również dodatnio, może nawet w stopniu silniejszym niż V-147. Lek dawał tym lepsze wyniki, im wcześniej go zastosowano. Wywierał jednak wpływ nawet, gdy podano go w 42 godz. po wprowadzeniu zarazka. Działał zarówno na *R. prowazeki*, jak i na *R. mooseri*. V-147 chronił tylko przed normalnym zakażeniem, bez znaczenia był natomiast w zakażeniu masowym wywołującym śmierć toksyczną. *In vitro* oba leki nie działały na *R. prowazeki*.

V-147 i V-186 nie dały zadawalniających wyników u świnek morskich zakażonych dootrzewnowo *R. prowazeki*. Gorączka u nich miała przebieg zupełnie normalny.

Wyniki otrzymane w klinice nie spełniły nadziei pokładanych w obu sulfonamidach. Pierwsze badania były przeprowadzone w Północnej Afryce i na Środkowym Wschodzie. Wynik otrzymany w Algierze nie był zachęcający: V-186 podawany w 2 tygodniu choroby nie wywierał żadnego wpływu na przebieg duru plamistego i nie zmniejszał odsetka śmiertelności. Wiązano to z późnym przywożeniem chorych do szpitala i doborem szczególnie ciężkich przypadków. W późniejszych badaniach w Północnej Afryce stwierdzono, że V-186 działa w słabym stopniu, skracając nieco czas trwania gorączki. Jeden z chorych otrzymał 75 g. w ciągu 4 dni i lek wywarł toksyczny wpływ na nerki, wskutek czego wystąpiła mocznica.

Dalsze badania przeprowadzono w Neapolu. Tu ani V-186 (31 chorych) ani V-147 (3 chorych) nie dały wyników rzucających się bezpośrednio w oczy. Grupa kontrolna i leczona były starannie dobrane. Zwracano uwagę na okres choroby, wiek i płeć chorego oraz symptomatologię. Czas trwania choroby od chwili przybycia do szpitala u leczonych wynosił 7,2 dni, u kontrolnych — 7,0. Ogól-

ny czas trwania choroby w grupie pierwszej równał się 12,9 dni, a w drugiej — 13,8. Wśród leczonych zmarło 7 na 30, wśród kontrolnych — 5 na 30. Czas rozpoczęcia leczenia nie odgrywał roli (21).

2. Kwas para-aminobenzoesowy (PABA)

a. Badania doświadczalne.

Niepomyślne wyniki otrzymane z sulfonamidami, które nie tylko nie hamowały wzrostu rickettsji, ale wręcz przeciwnie — sprzyjały ich rozwojowi, nasunęły *Snyderowi*, *Maierowi* i *Andersonowi* myśl użycia w celach leczniczych środka antagonisticznego tj. kwasu para-aminobenzoesowego (cyt. wg 5, 42). Wstępne badania przeprowadzone z *R. mooseri* na myszach wykazały, że PABA podany na parę dni lub na parę godzin przed zakażeniem daje pomyślne wyniki. Wśród myszy kontrolnych przeżyło 2 na 35, a wśród tych, które otrzymały lek — 27 na 34. Zmiany zapalne w płucach były u nich mniej liczne i nie tak rozległe, jak u zwierząt kontrolnych.

Kwas meta- i orto-aminobenzoesowy, benzoesan sodowy (37, 41, 42), kwas folowy (39, 102), kwas benzoesowy (42) oraz szereg innych związków chemicznych zbliżonych do kwasu para-aminobenzoesowego były zupełnie nieczynne w stosunku do rickettsji (42, 91, 102). Również nie wykazały rickettsjostatycznego działania: ryboflawina, chlorek tiaminy, chlorek choliny, Bc, biotyna, fizo stygnina i kwas jodoctowy (37). Natomiast sól sodowa kwasu para-aminobenzoesowego NaPAB — działała w tym samym stopniu co i kwas (37).

Myszy rasy dba zakażone durem plamistym szczurzym, którym do pożywienia dodawano 3% PABA, przeżyły chorobę w 100%, podczas gdy kontrola zginęła (37).

Również silne działanie PABA zostało wykazane w hodowli w woreczkach żółtkowych zarodków kurzych (37, 39, 41, 42, 73, 102). Lek ten stosowany w ilościach od 2 do 4 mg na jajo powodował w przypadku zakażenia *R. prowazeki* lub *R. mooseri*: 1) zmniejszenie odsetka śmiertelności (kontrola — 100%, leczenie w durze klasycznym — 79,5%, w durze szczurzym 73,9%), 2) przedłużenie okresu życia tych, które zginęły, 3) zmniejszenie liczby rickettsji (42). Zasadniczą rolę odgrywał czas rozpoczęcia leczenia. Stwierdzono (42), że im później podano lek, tym wynik był słabszy. Dodatni rezultat otrzymano stosując go w 48 godz. po zakażeniu. Po 72 godz. był już nieskuteczny. Natomiast wysokość dawki nie posiadała głębszego znaczenia (37, 42). W dalszych badaniach (41) przeprowadzono doświadczenia z innymi rickettsjami i wirusami.

Okazało się, że najbardziej podatną jest *R. rickettsii*. Zakażenie jaj gorączką plamistą Gór Skalistych powoduje normalnie śmierć zarodków w 4—5 dni po wstrzyknięciu zarazka. W padłych jajach nie stwierdza się zazwyczaj dużych ilości rickettsji, gdyż wywierają one silnie toksyczne działanie na zarodek. Podanie PABA równocześnie z zawiesiną *R. rickettsii* nie tylko przedłużało okres życia, ale również zmniejszało odsetek śmiertelności do 54% wobec 100% u kontroli. Jak widać *R. rickettsii* była podatniejsza na działanie PABA od *R. prowazeki* i *R. mooseri*. Słabsze było działanie kw. para-aminobenzoesowego na inne rickettsje z grupy gorączek plamistych. Południowo-afrykańska gorączka kleszczowa (*tick-lite-fever*) przy leczeniu PABA dała 84% śmiertelności, brazylijska gorączka plamista (tyfus Sao Paulo) — 83%. Jeszcze gorsze wyniki otrzymano z kolumbijską gorączką plamistą — 92% i gorączką guzkowatą (*fièvre boutonneuse*) — 98,3% (41). *R. burneti*, wirusy *psittacosis* i *lymphogranuloma venereum* nie były podatne na działanie PABA (41).

Badania prowadzone na świnkach morskich zakażonych gorączką plamistą Gór Skalistych dały wynik pomyślny (3, 4, 5, 6). Zwierzęta zazwyczaj zachorowują na nią w 72 godz. po wprowadzeniu zawiesiny śledziony lub krwi świnek zakażonych *R. rickettsii*. Choroba trwa 5—8 dni i w 100% kończy się śmiercią. Podawanie PABA rozpoczynano albo 24 godz. przed wprowadzeniem zarazka albo równocześnie z zawiesiną albo też 24, 48 lub 72 godz. po zakażeniu. Leczenie trwało 5—7 dni. Wyniki były tym lepsze, im wcześniej rozpoczęto podawanie leku. Najpomyślniejsze wyniki terapeutyczne otrzymywano dodając PABA do pożywienia. Zwierzę w tych warunkach pobierało go często w niewielkich dawkach. Podawanie pozajelitowe lub doustne przymusowe dawało dużo gorsze wyniki, nawet przy stosowaniu wyższych dawek. Przyczyną tego był szybki spadek poziomu PABA we krwi. W 1 godz. po podaniu leku wynosił on np. 10 mg%, a po 2 godz. spadał już do 1,7 mg%. W razie stosowania drogą pozajelitową należy używać raczej soli sodowej kwasu para-aminobenzoesowego — NaPAB (6).

U świnek leczonych, które nie gorączkowały, stwierdzano jednak zmiany charakterystyczne dla gorączki plamistej w postaci zapalenia płuc i powiększenia śledziony. Również narządy tych zwierząt były zakażne. Należy więc przypuszczać, że działanie PABA jest raczej rickettsjostatyczne niż rickettsjobójcze (3, 4, 5, 6).

Badania nad *R. orientalis* były przeprowadzone na gerbilach (76, 115, 133) i dały wynik dodatni. Użyto szczepów pochodzących z różnych ognisk (Kalkuta, Ceylon, Nowa Gwinea). Lek podawano

w formie soli sodowej NaPAB, którą stosowano w sposób kombinowany — doustnie i pozajelitowo. Złe wyniki, jakie otrzymali *Peterson i Fox* oraz *Grant i Mc Limans* (60), były spowodowane stosowaniem kwasu i to tylko drogą doustną (115). *Gerbile*, które przeżyły *tsutsugamushi* wykazywały pełną odporność nawet wobec szczepów heterologicznych *R. orientalis*. Zdaniem autorów (133) jest to dowód, że lek działa bakteriostatycznie.

Badania prowadzone na wszach dały wyniki sprzeczne. *Weyer* (128) twierdzi, że PABA jest toksyczna dla wszy, a w stosunku do *R. prowazeki*, *R. mooseri* i rickettsji zewnątrzkomórkowych nie wykazuje działania. Natomiast *Starzyk i Westrych* (117, 118, 119) otrzymali wyniki dodatnie w stosunku do *R. prowazeki* i *R. pediculi*. Zawiesina z jelit wszy zakażonych *R. prowazeki* z dodatkiem PABA wyjąławiła się do 66 godz., a kontrolna do 132 godz. PABA wprowadzony razem z zawiesiną zarazka powodował, że zakażało się tylko 79% wszy. Również pomyślne wyniki otrzymali stosując lek zapobiegawczo, natomiast bez rezultatu było jego wstrzykiwanie po zakażeniu wszy. Badania moje przeprowadzone w 1943 r. wspólnie z *Baranowskim i Korzybskim* (nie ogłoszone drukiem) potwierdzają wyniki *Starzyka i Westrycha*. *R. pediculi* jest o wiele mniej wrażliwa na działanie PABA. Zawiesina kontrolna wyjąławiła się po 17 dniach, zawiesina z dodatkiem kw. para-aminobenzoesowego — po 15 dniach.

PABA *in vitro* zobojętniała toksynę *R. prowazeki* (2—32 dawek toksycznych). Unieczynniony jad był badany na myszkach (99, 100).

b. Badania kliniczne.

Na temat toksyczności PABA dla człowieka zdania są podzielone. Szereg autorów uważa lek ten za nietrujący (19, 52). Inni znów obserwowali leukopenię (89, 90, 122), granulocytopenię (122), kwasicę (30, 89, 90), zaburzenia wątroby (122). Jeden przypadek zakończył się zejściem śmiertelnym zapewne z powodu kwasicy. Poziom PABA we krwi był tam szczególnie wysoki, bo wynosił aż 262 mg% (30). Celem zapobieżenia kwasicy stosowano sól sodową NaPAB (130), względnie podawano mleczan sodowy (89,90) lub dwuwęglan sodu (89, 92, 130). W czasie leczenia za pomocą PABA należy bacznie obserwować poziom leukocytów i w razie wystąpienia leukopenii poniżej 3000 natychmiast przerwać podawanie leku.

Najlepsze wyniki otrzymano z PABA w gorączce plamistej Gór Skalistych (26, 30, 89, 90, 92, 122, 130). Przede wszystkim wśród leczonych nie było śmiertelnych przypadków (89, 122, 130). Przebieg choroby pod wpływem PABA stawał się łżejszy, zmniejszały się objawy toksyczne (122). Choroba trwała krócej (26, 92, 122, 130). Jedni autorzy (130) podają przeciętny czas dla przypadków leczonych 5,8 dni, a dla kontrolnych — 15,7. U innych (26) stosunek ten wynosił 10,5: 17,5. Spadek gorączki rozpoczynał się po 24 godz. (92) względnie po 2—4 dniach (26). Dawkowanie leku było raczej wysokie. Rozpoczynano od 8 (130), a następnie podawano 2—3 g *pro dosi* co 2 godz. (26, 92, 122, 130). Całkowita ilość leku dochodziła do 327 g (26). Poziom we krwi wahał się w szerokich granicach. Najlepsze wyniki otrzymano, jeśli wynosił 30—60 mg% (26, 90, 122, 130), przekraczanie 80 mg% jest ryzykowne (90), gdyż mogą wystąpić objawy zatrucia. Leczenie należy rozpocząć wcześnie (26, 92, 130) do 7—8 dnia choroby (26). Niektórzy autorzy (30) otrzymali poprawę i w okresach późniejszych.

Wyniki przytoczone powyżej są bardzo zachęcające. Należy jednak podchodzić do nich z pewnym zastrzeżeniem, gdyż autorzy albo w ogóle pomijają zagadnienie przypadków kontrolnych (30, 89, 90, 92), albo pochodzą one z innych okresów czasu (26, 122, 130). Również liczba przypadków, na podstawie których wyciągnięto wnioski jest nieduża, przeciętnie wynosi 4 do 10 (26, 30, 89, 90, 122), a najwyżej 17 (130).

Badania nad działaniem PABA w durze plamistym klasycznym były prowadzone w Egipcie i w obozie w Dachau bezpośrednio po ukończeniu II wojny światowej (116, 132). Stwierdzono, że PABA podawany wcześnie, w pierwszym tygodniu choroby, powodował obniżenie gorączki, skrócenie czasu trwania choroby, zmniejszenie liczby powikłań i odsetka śmiertelności. Poziom skuteczny we krwi winien wynosić 10 mg%. Podawanie w drugim tygodniu było o wiele mniej skuteczne (116, 132). Istnieją jednak również głosy przeciwne (22), uważające PABA za lek bez znaczenia w durze plamistym.

Pomyślne wyniki otrzymano w durze szczurzym (19, 20, 52, 113). Czas trwania choroby u leczonych był krótszy (19, 20, 113). Poprawa zaznaczała się po 1—2 dniach (19, 20), a gorączka spadała w ciągu 4 dni (19). Czas trwania choroby u leczonych wynosił przeciętnie 8,7 dni, u kontrolnych — 15 (20). Dawkowanie było podobne jak w gorączce plamistej Gór Skalistych tj. 2 g co 2 godziny (20). Leczenie wczesne dawało dużo lepsze wyniki. Wyniki w II tygodniu choroby były gorsze, a nawet wręcz nieznaczące (74).

Zawiodła natomiast PABA w tsutsugamushi (*scrub typhus*, gorączka rzeczna). Dodatni wpływ obserwowany przez niektórych autorów (123) ograniczał się do skrócenia czasu choroby, zmniejszenia liczby powikłań i odsetka śmiertelności. U większości jednak chorych lek zawodził (cyt. wg 5). Poziom PABA we krwi wien wynosić 30 mg% (116).

Na podstawie wyników doświadczeń na zwierzętach i obserwacji klinicznych możemy stwierdzić, że kwas para-aminobenzoesowy stanowił poważny krok w leczeniu duru plamistego i chorób pokrewnych. Był to pierwszy lek, który dał pewne rezultaty dodatnie działając specyficznie na rickettsje i to nie tylko w doświadczalnych rickettsjozach u zwierząt, ale również i w organizmie człowieka.

3. Barwniki

Działanie barwników na rickettsje zostało po raz pierwszy stwierdzone w 1936 r. przez *Otto* i *Schäfera* (cyt. wg 23), którzy zauważyli leczniczy wpływ błękitu metylenowego w przebiegu doświadczalnego duru plamistego szurzego u myszy. Badanie całego szeregu innych autorów wykazały że barwniki, głównie tioninowe i akrydynowe, posiadają własności rickettsjóbójcze względnie rickettsjostyczne.

A. Barwniki tioninowe

a. Badania doświadczalne

Aktywność w stosunku do rickettsji wykazały następujące barwniki: błękit metylenowy (23, 29, 38, 51, 59, 60, 83, 91), błękit toluidyny (23, 29, 38, 82, 83, 91), azury A, B i C (23, 29, 91), brylantowy błękit krezylu (23, 29, 91), forbisen (82), błękit tioniny (23, 29, 91), nowy błękit metylenowy (23) i chlorowodorek 3-dwutyloamino — 7-dwu-n butyl-aminofenaztioniny (23, 91).

Najwięcej badań przeprowadzono z błękitem metylenowym, który wykazał najsilniejsze działanie w stosunku do rickettsji. Potwierdzono (29,51) dodatni wpływ leczniczy barwnika w przebiegu zakażenia *R. mooseri* u myszy. Również podatkne okazały się *R. orientalis* (29, 60, 83) i *R. prowazeki* (59). Ujemne wyniki otrzymano natomiast z *R. quintanae* (59). Podobnie, choć nieco słabiej działa błękit toluidyny.

Badania nad zastosowaniem obu barwników w doświadczalnym tsutsugamushi były głównie prowadzone na białych myszach.

Stwierdzono (83), że chronią one zwierzęta przed śmiertelnym zazwyczaj zakażeniem *R. orientalis* nawet już po wystąpieniu objawów chorobowych (60, 83). Podanie błękitu metylenowego w pożywieniu (0,2%) w 96 godz. po wprowadzeniu zarazka zmniejszyło śmiertelność z 90—100% do 30—40% (60). Barwnik był skuteczny nie tylko wówczas, gdy zwierzę zakażono dootrzewnowo, ale również przy domózgowym wprowadzeniu zarazka. Stosowanie nawet bardzo wysokich dawek barwników nie przeciwdziałało mnożeniu się *R. orientalis*, ale zapobiegało umiejscowieniu się ich w mózgu (29,83) i występowaniu typowych zmian anatomo-patologicznych w narządach wewnętrznych. Wątroba i krew leczonych myszy były zakażone, lecz nie w tym stopniu co u kontrolnych (29).

Bardzo pomyślne wyniki otrzymano (60) w doświadczalnym tsutsugamushi u myszy stosując jednocześnie z błękitem metylenowym tlen. Śmiertelność obniżyła się do 20—30% nawet wówczas, gdy leczenie rozpoczęto dopiero w 192 godziny po wprowadzeniu zarazka.

Zasadniczą wadą barwników jest ich toksyczność (23, 29, 51, 83). Błękit metylenowy, szczególnie przy wprowadzeniu pozajelitowym, niszczy czerwone ciała krwi (23, 83). O wiele pomyślniejsze wyniki otrzymano podając lek doustnie z pożywieniem. Skuteczność jest niemniejsza, a trujące działanie — słabsze. Próbowano stosować środki odtruwające. Niektórzy autorzy (cyt. wg 23 i 83) otrzymali pomyślne rezultaty z nitroprusydkiem sodowym. Zdaniem innych (83) wpływ ten jest nieznaczny.

In vitro działanie barwników na *R. orientalis* występowało w stosunkowo silnych stężeniach. Z błękitem toluidyny otrzymano dodatnie wyniki w rozcieńczeniu 1:1000, a z błękitem metylenowym — 1:200. Obecność tlenu i światła nie miały znaczenia (29).

Badania nad działaniem barwników na *R. mooseri* były również przeprowadzone na myszach (29, 51, 82). Podawanie błękitu toluidyny dało pomyślne wyniki (82). Barwnik zaczynano stosować na 24 godz. przed zakażeniem. Najlepsze rezultaty otrzymano wówczas, gdy zwierzętom podawano po 5 do 20 mg błękitu toluidyny dziennie. Znaczny odsetek leczonych myszy nie wykazywał objawów chorobowych i nie ginął. W nielicznych przypadkach śmiertelnych dało się stwierdzić przedłużenie życia w porównaniu z kontrolą (82). Błękit toluidyny w stosunku do *R. mooseri* wykazał również działanie *in vitro* w stężeniu 1:10.000. Na *R. prowazeki* miał słabszy wpływ (82).

Doświadczenia z *R. prowazeki* zostały przeprowadzone na wszach (59). Błękit metylenowy okazał się bardzo aktywny w zawiesinie z zakażonych jelit, nie dał natomiast rezultatów przy stosowaniu leczniczym i zapobiegawczym.

b. Badania kliniczne

Błękit metylenowy nie dał zadawalających wyników w leczeniu tsutsugamushi (cyt. wg 23 i 82). Słabe działanie barwnika przy podawaniu doustnym skłoniło autorów do wstrzykiwania go dożylnie. Doprowadzało to czasami do powstawania zakrzepów. U wszystkich leczonych występował spadek liczby czerwonych krwinek i ilości hemoglobiny. Dobór bardzo ciężkich przypadków chorobowych uniemożliwił ostateczną ocenę wartości leku. Pewne dane wskazywały, że barwnik zastosowany wcześniej i u lżej chorych może wywrzeć dodatni wpływ (cyt. wg 82).

B. Związki akrydynowe

a. Badania doświadczalne

Fussganger stwierdził, że niektóre połączenia akrydynowe chronią mysz zakażoną *R. mooseri* przed śmiercią (cyt. wg 101).

W dalszych badaniach (101) użyto 2 podstawowych przetworów: 1) nitroakrydyny 3582 (dwuchlorowodorek-6-nitro-9 (dwuetyloamino-hydroksy propy-amino)-akrydyny) i 2) rutenolu, który jest solą arsenową nitroakrydyny 3582. Doświadczenia przeprowadzano w hodowli w woreczkach żółtkowych zarodków kurzych ze szczepami *R. prowazeki*, *R. mooseri*, *R. rickettsji* i *R. orientalis*. Stwierdzono, że istnieje mała rozpiętość między dawką leczniczą a dawką toksyczną. Stosunek ten wynosi 1:2 lub 1:4, podczas gdy dla PABA — 1:10. Najsilniejsze działanie oba leki wywierały na *R. mooseri*, *R. Rickettsji*, najsłabsze — na *R. orientalis*.

b. Badania kliniczne

Nitroakrydynę 3582 i rutenol stosowano w durze plamistym (47, 48). Wynik był raczej wątpliwy. To samo można powiedzieć o atebrynie (67, 68) i sontoquinie — SN 6911 (cyt. wg 101).

C. Inne barwniki

Zbadano bardzo wiele barwników, ale nie wykazywały one na ogół właściwości rickettsjobójczych. Wyniki otrzymano z selenowym błękitem metylenowym, związkiem bardzo zbliżonym chemicz-

nie do błękitu metylenowego. Zamiast siarki występuje tu selen (cyt. wg 23 i 29). Poza tym pewne rezultaty dała zieleń malachitowa (91).

4. Penicylina

a. Badania doświadczalne

Greiff i Pinkerton (36) stwierdzili w 1944 r., że penicylina wywiera działanie rickettsjostatyczne w hodowli w woreczkach żółtkowych zarodków kurzych. Autorzy badania swe przeprowadzili ze szczepem typu szczurzego. Zakazili nim 36 jaj. Połowa służyła jako kontrola. Penicylinę użyli w formie żółtej soli sodowej w ilości 325 j. ox. *pro dosi*. Z 18 jaj leczonych 6 otrzymało antybiotyk w 2, 4 i 6 dniu, a 12 — w 3, 5 i 7 dniu. Wyniki oceniono na podstawie czasu, jaki upłynął od chwili wprowadzenia zarazka, do śmierci zarodka oraz stopnia zakażenia woreczków żółtkowych. Kontrola padła między 9 a 13 dniem. Liczba rickettsji była wysoka. Zarodki leczone, z wyjątkiem 4, które zginęły przed okresem masowego zakażenia, pozostały żywe, lecz można było w nich stwierdzić mikroskopowo obecność rickettsji, mniej jednak licznych niż w kontrolnych. Świniki morskie zakażone zawiesiną zarówno z woreczków żółtkowych kontrolnych, jak i leczonych zachorowały na dur plamisty szczurzy w sposób typowy. Dowodzi to, że penicylina działa jedynie hamująco. Antybiotyk ten szybko znika w woreczkach żółtkowych i należałoby podawać go częściej, ale obraz doświadczenia zaciemniałoby zbyt liczne przypadki śmierci pourazowej zarodków.

Działanie rickettsjostatyczne otrzymano (36, 37) stosując 1000 jedn. penicyliny na jajo, natomiast 10 i 100 jedn. dawało słabe zahamowanie. Równocześnie przeprowadzone badania na myszach rasy dba (72) potwierdziły wyniki otrzymane w hodowli w woreczkach żółtkowych. Najlepsze rezultaty dało dootrzewnowe wstrzykiwanie antybiotyku w ilości 640—1100 jedn. w 6—48 godz. po wprowadzeniu zarazka.

W latach 1945—1946 zauważono, że penicylina straciła swe rickettsjostatyczne właściwości (40). Po wyodrębnieniu poszczególnych frakcji okazało się, że najsilniej działa na rickettsje penicylina X (40, 91). Penicylina G zdaniem jednych (40) zajmuje drugie miejsce, według innych (91) jest najmniej skuteczną frakcją w stosunku do rickettsji. Badania te nie wyjaśniły jednak przyczyny silnego działania penicyliny w 1944 r., gdyż nie mogła

ona zawierać czystej frakcji X. Bardzo prawdopodobne, że ilościowy stosunek poszczególnych frakcji posiada znaczenie decydujące (40).

Działanie penicyliny na rickettsje zostało również stwierdzone w badaniach prowadzonych na wszach (87, 120, 121, 128). Antybiotyk wywierał wpływ bezpośredni na *R. prowazeki* w zawieszynie, która pod wpływem penicyliny wyjałowiała się po upływie 108 godzin, a kontrolna — dopiero po 132 godz. (121). Wszy, którym wstrzyknięto zawieszinę zarazka bezpośrednio po dodaniu do niej penicyliny, zakażały się z opóźnieniem (87, 120), a u pewnego odsetka osobników w ogóle nie stwierdzało się obecności rickettsji (120, 121, 128). Również otrzymano dodatnie wyniki stosując penicylinę wszom zapobiegawczo (120) i leczniczo (120, 128).

Leczenie świnek morskich zakażonych *R. rickettsji* dało wynik niepomyślny (24). Podawanie antybiotyku rozpoczęto dopiero po wystąpieniu objawów chorobowych. Penicylina nie złagodziła przebiegu doświadczalnej gorączki plamistej i wszystkie zwierzęta padły. Wynik był gorszy niż w kontroli, gdzie na 16 zginęło 8.

b. Badania kliniczne

W klinice rickettsjoz penicylina zawiodła. Badania przeprowadzone w durze plamistym klasycznym (21), tsutsugamushi (10) i gorączce Q (77) dały wynik całkowicie ujemny.

5. Streptomycyna

Streptomycyna, podobnie jak penicylina, dała dodatnie wyniki w doświadczalnych rickettsjozach, natomiast w klinice nie odegrała żadnej roli (91).

Najsilniejsze działanie w hodowli w woreczkach żółtkowych wykazała streptomycyna w stosunku do *R. akari* (102) i *R. burneti* (49). Gorsze wyniki otrzymano z *R. prowazeki* i *R. mooseri* (73, 102) oraz *R. rickettsji* (102). *R. orientalis* okazała się w ogóle nie podatną na działanie tego antybiotyku.

Streptomycyna krystaliczna dała gorsze wyniki lecznicze (102). Bardzo pomyślne rezultaty szczególnie w stosunku do *R. prowazeki*, *R. mooseri* i *R. rickettsji* otrzymano (102) łącząc streptomycynę z PABA lub nitroakrydyną. Autorzy przypuszczają, że wymienione środki działają synergetycznie.

Wyniki leczenia streptomycyną w doświadczalnych rickettsjozach u zwierząt były również pomyślne (32, 49, 73, 102).

Antybiotyk ten wywierał także działanie na rickettsje *in vitro*. Wykazano to po próbie skórnej u królików (32) i w doświadczeniach na wszach (121). Zdaniem *Starzyka* (121) streptomycyna w stosunku do *R. prowazeki* jest słabszą od penicyliny.

6. Chloromycetyna (chloramphenicol)

Chloromycetyna została otrzymana przez *Ehrlicha* i współpracowników ze *Streptomyces venezuelae n. sp.*. Wykazała ona wybitną aktywność w stosunku do rickettsji, *Borrelia recurrentis*, grzybków i niektórych Gram ujemnych pałeczek. Działa również na *mycobacterium tuberculosis*, lecz w słabszym stopniu od streptomycyny (114). Chloromycetyna syntetyczna, wyprodukowana przez *Crooksa* i współpracowników dała identyczne wyniki z naturalną (106).

a. Badania doświadczalne

Chloromycetyna okazała się mało toksyczną dla zwierząt (114). Dawka w wysokości 0,1 g na kg wagi wstrzyknięta dożylnie myszy lub domięśniowo psu jest dobrze znoszona. Przy długotrwałym stosowaniu pozajelitowym rozwija się u psów niedokrwistość. Podawanie doustne nie wywołuje zupełnie szkodliwego działania. Lek jest niszczoney względnie całkowicie wydalany w czasie od 6 do 9 godzin. W moczu możemy znaleźć zaledwie 10% dawki. Reszta jest usuwana innymi drogami lub też niszczona przez organizm (114).

Smadel i *Jackson* (112) w 1947 roku przeprowadzili badania na zarodkach kury zakażonych szczepem Breinla (dur klasyczny). Przy opracowaniu wyników nie brali pod uwagę jaj, które zginęły przed 4 dniem po zakażeniu ich zawiesiną zarazka. Doświadczenie prowadzili przez 14 dni. Pozostałe przy życiu zarodki zabijali i badali mikroskopowo. Pierwsze doświadczenia były robione z surowym przesączem i nie dały wyników zadawalających. Dopiero użycie czystej, krystalicznej chloromycetyny przyniosło bardzo pomyślne rezultaty. Leczenie zarodków rozpoczynano w 3 dniu po wprowadzeniu zarazka. Antybiotyk wstrzykiwano 4-krotnie. Jedna grupa otrzymała w sumie 167 mg, druga — 333 mg, a trzecia — 667 mg. Już najslabsza dawka powodowała przedłużenie życia zarodków i zmniejszała liczbę rickettsji. W drugiej grupie wynik

był lepszy, a w trzeciej 8 jaj na 24 nie zginęło do 14 dnia, a tylko 3 z nich wykazywały obecność rickettsji.

Badania zostały rozszerzone i na inne rickettsje (107). Użyto szczepów *R. prowazeki*, *R. mooseri*, *R. rickettsji*, *R. orientalis*, *R. akari* i *R. burneti*. Doświadczenia prowadzono z krystaliczną chloromycetyną w hodowli w woreczkach żółtkowych zarodków kurzych. Wstrzykiwanie antybiotyku na $\frac{1}{2}$ —1 godziny przed zakażeniem dało pomyślniejsze wyniki niż stosowanie go w 24—48 godzin po wprowadzeniu zarazka. Wyjątek stanowiła *R. burneti*, która jest najmniej podatna z rickettsji na działanie chloromycetyny. Lepsze wyniki otrzymano tu w leczeniu niż zapobieganiu (107).

Dalsze badania przeprowadzono na myszach (107). *R. akari* i *R. mooseri* okazały się podatne. Zwierzęta zakażone typem szczurzym i leczone chloromycetyną ginęły w mniejszym odsetku niż kontrolne. Zpełnego zabezpieczenia antybiotyk nie dawał. Wyniki z *R. rickettsji* były słabsze od otrzymanych w hodowli jajowej. Z tkanek leczonych zwierząt zarazków nie wyhodowano. Podatność *R. orientalis* zależała od szczepu. Najlepsze wyniki otrzymano z „Karp“ i „Kostival“. Większość myszy pozostała żywa. Najślabiej reagowały „Serangayee“ i „Buie“. Tu należało stosować dawki większe i przez dłuższy czas, by otrzymać dodatnie wyniki. Dwa inne szczepy zajmowały stanowisko pośrednie. Z tkanek zwierząt leczonych można było wyhodować *R. orientalis* (107).

Czy chloromycetyna działa tylko rickettsjostatycznie, czy również i rickettsjobójczo, zdania są podzielone. *Smadel*, *Jackson* i *Cruise* (107) nie stwierdzili działania *in vitro* i są zdania, że działanie antybiotyku ma charakter wyłącznie rickettsjostatyczny. *Giroud* i współpracownicy (33, 34, 35) na podstawie swych badań przeprowadzonych za pomocą testów skórnych u królików wykazali również i właściwości rickettsjobójcze. Zawiesina z płuc zakażonych myszy zmieszana z chloromycetyną i trzymana przez 20 godzin w -5° C zmniejszała swą zakaźność: 15 mg tkanki płucnej poddanej działaniu antybiotyku odpowiadało 3 mg kontroli (35). 0,1 mg chloromycetyny zobojętniał całkowicie 3 mg zakażonej tkanki płucnej, a częściowo — 9 mg i 15 mg (34). Właściwości antygenowe rickettsji były w pełni zachowane (35).

Poważnym postępowaniem było wprowadzenie preparatu syntetycznego. Badania (106) przeprowadzone w hodowli w woreczkach żółtkowych zarodków kurzych z *R. akari*, *R. mooseri*, *R. orientalis*, *R. rickettsji* oraz wirusami *psittacosis* i *lymphogranuloma vene-*

reum wykazały, że lek syntetyczny działa tak samo jak naturalny antybiotyk. W doświadczeniach na myszach (106) stwierdzono, że syntetyczna chloromycetyna zabezpiecza przed 40 dawkami śmiertelnymi *R. orientalis*. Podobnie działała w *psittacosis* (106). W porównaniu z kwasem para-aminobenzoowym, streptomycyną i błękitem metylenowym chloromycetyna dała wyniki bez porównania lepsze (114).

b. Badania kliniczne.

Chloromycetyna jest środkiem mało toksycznym. W pojedynczych przypadkach stwierdzono (109) wystąpienie lekkiej bezsenności i euforii. Wymioty pojawiające się czasami w przebiegu leczenia (85) należy raczej wiązać z przykrym smakiem leku. Są przypuszczenia (79), że chloromycetyna jest korzystna dla organizmu człowieka działając tonizująco na mięsień sercowy. Bardzo pomyślne wyniki otrzymano stosując chloromycetynę w durze plamistym klasycznym (78, 79, 103, 105, 108), gorączce plamistej Gór Skalistych (85) i *tsutsugamushi* (104, 105, 108, 111).

Przetwór syntetyczny dawał te same wyniki co i naturalny antybiotyk (110). Leczenie w durze plamistym (103) rozpoczynano od 40 mg na kg wagi. W dalszym ciągu podawano 35 mg na kg *pro die* dawkami co 2 godziny. Z chwilą wystąpienia oczywistej poprawy stanu chorego ilość leku zmniejszano na 20 mg na kg *pro die*. Leczenie prowadzono do 13—14 dnia od początku choroby. Inni autorzy (78, 79) stosowali 1,5 gr *pro die* przez 3 dni. Lek można podawać zarówno doustnie jak i dożylnie. Pod wpływem chloromycetyny objawy chorobowe szybko cofały się (78, 79). Już w 3 godziny po pierwszym wstrzyknięciu dożylnym ustępował ból głowy i zaburzenia psychiczne (78), a ciepota wracała do normy po 24—54 godzinach (79). Przy podawaniu doustnym wynik opóźniał się o 11—12 godzin (79).

W gorączce plamistej Gór Skalistych (85) pod wpływem stosowania chloromycetyny objawy ustępowały przeciętnie w 2,2 dni od chwili rozpoczęcia leczenia, a zakaźność — w 2 dni.

Badania nad działaniem antybiotyku w *tsutsugamushi* były przeprowadzone w Kuala Lumpur (104). Leczenie rozpoczynano między 3 a 11 dniem choroby. Objawy ustępowały w 10 do 90 godzin. Równocześnie ze spadkiem gorączki znikająca wysypka i zakaźność. Miano z OX—K natomiast wzrastało. Wśród leczonych nie było ani powikłań, ani przypadków śmierci.

Przeprowadzono również badania nad działaniem zapobiegawczym antybiotyku. Szczepionki w tsutsugamushi zawiodły na całej linii (109), a zapadalność na terenach hyperendemicznych była bardzo duża (84). Podawanie zapobiegawcze chloramphenicolu nie spełniło pokładanych nadziei. Co prawda choroba występowała z opóźnieniem (109), miała przebieg łagodny (110), ale za to dawała częste nawroty, nie spotykane w przebiegu normalnym (111).

Na podstawie wyników doświadczalnych i danych klinicznych możemy stwierdzić, że chloromycetyna jest pierwszym środkiem niezaprzecalnie działającym na rickettsje i posiadającym istotnie lecznicze działanie w durze plamistym i chorobach pokrewnych.

7. Aureomycyna (duomycyna)

Aureomycyna została otrzymana w 1948 r. przez *Duggara* ze *Streptomyces aureofaciens* n. sp. Czysty produkt jest żółtawożółtym krystalicznym chlorowodorkiem. W wodzie łatwo się rozpuszcza, ale w tej formie szybko ulega zepsuciu. Kwasowość antybiotyku powoduje bolesność przy wstrzykiwaniu podskórnym, dlatego należy stosować z 1% roztworem prokainy. Działa on na wiele Gram-dodatnich i Gram-ujemnych bakterii, ale na szczególną uwagę zasługują właściwości rickettsjo- i wirusobójcze (7, 8, 91, 131).

a) Badania doświadczalne.

Wong i *Cox* (cyt. wg 91) w 1948 r. stwierdzili, że aureomycyna w hodowli w woreczkach żółtkowych przedłuża życie zarodków lub wręcz zapobiega ich śmierci w zakażeniu rickettsjami duru szczurzego, klasycznego, tsutsugamushi, gorączki plamistej Gór Skalistych, gor. guzkowatej, południowo-afrykańskiej gor. kleszczowej, ospy rickettsjowej, północno-queenslandzkiej gor. kleszczowej i gorączki Q. Ci sami autorzy wykazali lecznicze działanie aureomycyny w doświadczalnej gor. plamistej Gór Skalistych, durze klasycznym i gor. Q u świń morskich, a ospy rickettsjowej, duru szczurzego i tsutsugamushi u myszy (cyt. wg 91). *Anigstein*, *Whitney* i *Beninson* (7, 8) potwierdzili wyniki *Wonga* i *Coxa*, lecząc aureomycyną doświadczalny dur plamisty i gorączkę plamistą Gór Skalistych u świń morskich. Ustąpienie lub zmniejszenie gorączki w obu chorobach otrzymali stosując antybiotyk bezpośrednio po wprowadzeniu zarazka lub

w 24—48 godzin po zakażeniu. Leczyli przeważnie 7 dni, wstrzykując codziennie po 1 do 3 mg aureomycyny podskórnie. Dobre wyniki otrzymali również stosując antybiotyk co drugi lub co trzeci dzień. U wszystkich zwierząt leczonych aureomycyną stwierdzili odporność na następowe zakażenie szczepem homologicznym, co zdaniem autorów prowadzi bakteriostatycznego działania antybiotyku (7, 8).

Wong i *Cox* (cyt. wg 86) są zdania, że aureomycyna *in vitro* nie działa rickettsjobójczo, tylko hamująco. Wyniki otrzymane przez *Giroud* (34) oraz doświadczenia przeprowadzone na wszach przemawiają przeciw tym poglądom. *Giroud* na podstawie swych badań przeprowadzonych za pomocą testów skórnych u królików stwierdził, że 0,1—0,25 mg aureomycyny zobojętnia 15 mg tkanki płucnej zakażonej myszy, a 0,01 mg — 3 mg tkanki. Jeszcze dawka 0,0001 neutralizuje częściowo 3 mg tkanki.

W doświadczeniach prowadzonych na wszach (86) stwierdzono, że *R. prowazeki* w 0,1% roztworze aureomycyny ginie natychmiast. Wszy, którym wstrzyknięto taką zawiesinę, nie zakaziły się. Roztwór 0,05% działał wolniej, ale w każdym razie po godzinie zginęła większość zarazków, czego dowodem było zakażenie się zaledwie 0,5% wszy i to dopiero w 17 dniu. Aureomycyna w stężeniu 0,01% wykazała jeszcze słabszy wpływ, powodując jednak w ciągu godziny osłabienie zawiesiny. Wszy zakażone nią czerwieniały z opóźnieniem. Autorzy (86) są zdania, że aureomycyna 0,01% wywiera wpływ już nierickettsjobójczy, lecz tylko rickettsjostatyczny. Wniosek ten wydaje się jednak niesłuszny, gdyż każdy środek bakteriobójczy w słabszych stężeniach działa wolniej. Podobnie sprawa przedstawia się z wpływem aureomycyny na zarazek duru plamistego. Okazało się (121), że nawet 0,0001% roztwór antybiotyku zabijał *R. prowazeki*, ale dopiero po 30 godzinach. Kontrola wyjałowiła się po 132 godzinach. Otrzymano również dodatnie wyniki stosując aureomycynę leczniczo u wszy uprzednio zakażonych (86). Autorzy podkreślają, że rickettsje wyizolowane z jelit wszy nie różniły się ani morfologicznie, ani serologicznie od kontrolnych.

b) Badania kliniczne.

Aureomycyna jest lekiem mało toksycznym powodującym czasami nudności i wymioty (18, 94, 95), ale to tylko po pierwszych dawkach (94). Wielką zaletą jest wchłanianie się w jelicie. Umożliwia to leczenie doustne. W celach terapeutycznych podajemy 3—6 g

pro die (18, 44, 94). Bardzo dobre wyniki dał następujący sposób stosowania antybiotyku (94): dawka początkowa wynosiła 2 do 5 mg na kg wagi. Powtarzano ją dwukrotnie z przerwą jednogodzinną, potem co 2 godziny aż do drugiego dnia po spadku gorączki, następnie co 4 godziny. Leczenie trwało cztery i pół dnia, a całkowita dawka wynosiła średnio 9,5 g.

Aureomycyna dała pomyślne wyniki w szeregu rickettsjoz: w gorączce plamistej Gór Skalistych (13, 18, 44, 94), w chorobie Brilla (97), durze plamistym szczurzym (95) i południowoafrykańskiej gorączce kleszczowej (31, 46). Wyleczenie następowało po 24 — 72 godzinach od chwili rozpoczęcia podawania antybiotyku. W przeciwieństwie do PABA aureomycyna działała również w późniejszych okresach choroby.

8. Inne środki chemoterapeutyczne o działaniu przeciwrickettsjowym

Poza dotychczas wymienionymi środkami chemoterapeutycznymi przebadano setki związków organicznych i nieorganicznych. Niektóre z nich wykazywały bezsprzeczne działanie i wymagają dalszych badań, wiele jest wątpliwej wartości, a większość nie posiada żadnego znaczenia leczniczego.

Omówię kilka najważniejszych.

Związki antymonowe.

Otrzymano (81) pomyślne rezultaty stosując w 8 przypadkach gorączki okopowej *tartarus stibiatus*.

Sole miedzi.

Siarczan miedzi o stężeniu 0,0002 — 0,002% działał zabójczo na *R. prowazeki in vitro*. Wstrzykiwany wszom zapobiegawczo i leczniczo nie dał wyników (57). *R. pediculi* była niepodatna na działanie 0,002% CuSO_4 *in vitro* (57).

Iperyt azotowy.

Iperyt azotowy wyjaławiał zawiesinę z jelit wszy zakażonych *R. prowazeki* w ciągu 96 godzin. (Kontrola po 132 godzinach). Dawka wynosiła 10,7 mg na wesz.

Związki salicylowe.

Kwas salicylowy posiada w pewnym stopniu właściwości rickettsjostatyczne (91). Są one jednak o wiele słabsze niż PABA. PAS w ogóle nie działa na rickettsje.

Niektórzy autorzy (22) otrzymali dobre wyniki podając w durze płamistym aspirynę.

Preparat Pb 852.

Jest to 2, 2, 2, — trójchloro — 1,1 — dwu (4' — nitrofenyl) — etan. Związek ten jest nierozpuszczalny w wodzie, a rozpuszczalny w oliwie lub preparacie „Solvent M“. Toksyczność jego jest niewielka. Dopiero 40 mg wstrzyknięte podskórnie lub 70 mg podane doustnie zabija myszkę wagi 20 g. Pomyślny wynik leczniczy w zakażeniu *R. mooseri* otrzymano stosując 2,5—5,0 mg przez 6 dni (11).

Kwas askorbinowy.

Kwas askorbinowy wykazywał działanie lecznicze w doświadczalnym durze płamistym u świnek morskich (cyt. wg 91) i w hodowli w woreczkach żółtkowych (91).

Nukleinian sodu.

Nukleinian sodu (50) dał pomyślny wynik u chorego na dur płamisty.

CZĘŚĆ II

BADANIA WŁASNE

1. Metodyka badań

A. Barwniki i ich przygotowanie.

Barwniki odważano w jałowych naczyniach na wadze analitycznej i rozpuszczano w odpowiedniej ilości jałowego płynu fizjologicznego. Roztworu barwnika nie wyjaławiano. Wykonywano jedynie posiew na bulionie. Barwnik przechowywano bądź w lodówce w $+ 4^{\circ} \text{C}$, bądź też w ciepłocie pokojowej (ok. $+ 20^{\circ} \text{C}$) w erlenmayerkach zamkniętych korkiem i zaparafinowanych. Punktem wyjściowym były roztwory 0,2%.



Używano następujących barwników:

- a. Błękit metylenowy: Methylenblau medic. chem. rein u. chlorzinkfrei (*Methylenum coeruleum*). Błękit ten nie zawiera cynku, który mógłby zaciemniać obraz doświadczenia.
- b. Błękit toluidyny.
- c. Błękit Wiktorii 4R.
- d. Zieleń malachitowa.
- e. Rivanol.
- f. Eozyna
- g. Czerwień Kongo.

B. Szczepy.

Do badań użyto 4 szczepy *R. prowazeki*: „Bełżyce 4“ (pow. Puławy rok 1945), „Tomaszów“ (pow. Tomaszów Lubelski rok 1945), „Wołyń“ (szczep od repatrianta z Wołynia otrzymany ze szpitala w Tomaszowie Lubelskim rok 1945), „Bog.“ (szczep z zakażenia laboratoryjnego od nie szczepionego 5-letniego chłopca, prawdopodobnie pochodny szczepu „Bełżyce 4“ rok 1946). Wszystkie te szczepy były pasażowane wyłącznie na wszach. Szczegółowa charakterystyka ich została podana w innej pracy (56). Poza tym użyto szczepu „Tomaszów“ parokrotnie pasażowanego przez myszy i potem znów przez wszy („66“) oraz tego samego szczepu pasażowanego raz przez zarodek kury i z powrotem przez wszy („KT-3“).

C. Materiał doświadczalny.

Wszystkie doświadczenia były przeprowadzone na wszach, które zakażano metodą Weigla. Ogółem użyto w tej pracy 150 000 wszy. Jedną zawiesiną zakażano 100 lub 150 lub też 200 wszy. W poszczególnych doświadczeniach pochodziły one od jednego karmiciela. Jeżeli używano wszy z paru klatek wówczas mieszano je przed zakażeniem. Wiek wynosił 12—13 dni. (+34° C.). Ostatnie karmienie odbywało się 18 godzin przed zabiegiem.

D. Przygotowania zawiesiny.

Temat ten został już omówiony w innej pracy (58), więc ograniczę się jedynie do pewnych szczegółów. Jelita rozcierano w małych moździerzykach Weigla i odpowiednio rozcieńczano płynem fizjologicznym, po czym rozlewano zawiesinę do probówek po 0,5 ml. Do kontroli dodawano 0,5 ml płynu fizjologicznego, a do doświadczalnych po 0,5 ml roztworu barwnika. Probówki z zawiesi-

ną przebywały w ciepłocie pokojowej (ok. $+ 20^{\circ}$ C). Inne warunki zmieniały się zależnie od doświadczenia.

E. Zakażanie wszy.

Zagadnienia techniczne związane z zakażaniem wszy doświadczalnych metodą Weigla zostały opracowane przez *Radkowiaka* (88), więc nie będę ich tu omawiał, nadmienię tylko, że czas potrzebny do nabrania zawiesiny, dokładnego i spokojnego jej wstrzykiwania, skontrolowania wszy, usunięcia uszkodzonych i zamknięcia do klatki wynosił dla 200 wszy 15 minut, a dla 100 — 10 minut (zespół dwuosobowy). W doświadczeniach nad fotodynamicznym działaniem światła zastosowano czarne mikrokapilary (88).

F. Postępowanie z wszami zakażonymi.

Po zakażeniu wszy umieszczono w $+ 34^{\circ}$ C. na przeciąg 2—6 godzin, po czym karmiono je przez 30 minut. Pierwsze sortowanie odbywało się w 24 godziny po zakażeniu, dalsze — w 15—18 godzin po każdym karmieniu. Codziennie obliczano liczbę czerwonych, białych niezdolnych do dalszego życia (forma porażenna) oraz straty (wyschnięte). Klatkę likwidowano, gdy liczba białych nie przekraczała 20%. Jeżeli w ciągu 15 dni wszy nie poczerwieniały kończono doświadczenie. Poza tym stosowano typowe postępowanie (54). Zakażenie wszy i ich hodowla były prowadzone przez moich współpracowników: *Eugeniusza Beclę*, *Helene Ćwiklińską*, *Annę Kisielową* i *Dobrosława Radkowiaka*.

G. Ocena wyników.

Przy ocenie ostatecznej wyników brano pod uwagę następujące dane:

- a) w którym dniu po wstrzyknięciu zawiesiny pojawiły się pierwsze wszy czerwone (początek czerwienienia),
- b) dzień likwidacji klatki z wszami zakażonymi,
- c) wskaźnik czerwienienia tj. stosunek liczby wszy czerwonych do liczby dni, które upłynęły od wstrzyknięcia zawiesiny do likwidacji klatki,
- d) odsetek białych niezakażonych,
- e) odsetek strat,
- f) stopień zakażenia (na podstawie preparatów mazanych),
- g) kształt rickettsji, występowanie form nietypowych itp.

Tabelki podane w pracy zawierają średnie obliczone na podstawie kilku identycznych doświadczeń.

Objaśnienie skrótów używanych w tabelkach:

P. cz.	= początek czerwienienia
L. k.	= dzień likwidacji klatki
W. cz	= wskaźnik czerwienienia
% b. n.	= odsetek białych wszy, które nie zakaziły się
% str.	= odsetek strat (wyschniętych, uszkodzonych)
st. zak.	= stopień zakażenia
dośw.	= doświadczenie
f.	= formy
ob.	= obecność (oznacza niezbyt wielką liczbę danych osobników)
poj.	= pojedyncze (bardzo nieliczne i rzadko występujące formy)
l.	= liczne
b. l.	= bardzo liczne
olb.	= olbrzymie (postacie rikettsji dochodzące do 5 mikr. dług.)
d.	= duże (postacie rikettsji dochodzące do 2 mikr. długości)
nie zak.	= nie zakażone lub nie zakaziły się
wszyst.	= wszystkich.

2. Badania nad toksycznym działaniem barwników na wszy

Przed przystąpieniem do doświadczeń nad działaniem barwników na *R. prowazeki* ustaliłem ich stężenia toksyczne dla wszy.

Doświadczenie A i B.

TEMAT: Oznaczanie dawki toksycznej błękitu metylenowego.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: wszy pochodzące z 1 klatki podzielono na 5 grup po 100 wszy. Błękit metylenowy użyto w stężeniach: 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,2%. Roztwory barwnika wstrzykiwano met. Weigla. Kontrola otrzymała płyn fizjologiczny. Wszy trzymano po 10 dni postępując w sposób typowy. W wynikach podano wysokość wskaźnika strat tj. stosunek odsetka strat do liczby dni, która upłynęła od wstrzyknięcia barwnika do likwidacji klatki.

WYNIK:

L. p.	K.	0,01 ^o / _o	0,05 ^o / _o	0,1 ^o / _o	0,2 ^o / _o
A	2,9	2,8	3,0	2,6	7,2
B	3,1	3,1	3,4	3,8	5,4

Roztwór 0,2% okazał się toksyczny. Wszy były zabarwione na niebiesko wskutek przechodzenia barwnika przez uszkodzony nabłonek do jamy ciała (59).

Doświadczenie C i D.

TEMAT: Oznaczenie dawki toksycznej błękitu toluidyny.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach A i B.

WYNIK:

L. p.	K.	0,01 ‰	0,05 ‰	0,1 ‰	0,2 ‰
C	2,8	3,9	—	3,9	14,5
D	3,1	3,5	3,1	5,4	7,4

Roztwór 0,2% błękitu toluidyny okazał się toksyczny. W doświadczeniu D również część wszy zginęła pod wpływem 0,1% roztworu. Owady, które zginęły po 48 godzinach były barwy ciemno-niebieskiej.

Doświadczenie E.

TEMAT: Oznaczenie dawki toksycznej czerwieni Kongo.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach A i B.

WYNIK: Czerwień Kongo 0,2% okazała się zupełnie nie toksyczna dla wszy.

Doświadczenie F.

TEMAT: Oznaczenie dawki toksycznej zieleni malachitowej.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu A i B z roztworami: $1 \cdot 10^{-2}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$.

WYNIK:

Kontr.	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$
7,6	7,2	5,6	20,4	96,0

Zieleń malachitowa okazała się toksyczną w dawce $1 \cdot 10^{-3}$, a roztwór $1 \cdot 10^{-2}$ zabił wszy w ciągu pierwszej doby. Owady były barwy brunatno-zielonej.

Doświadczenie G i H.

TEMAT: Oznaczenie dawki toksycznej riwanolu.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu A i B z roztworami: $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-2}$, $1 \cdot 10^{-1}$, $2 \cdot 10^{-1}$.

WYNIK:

Kontr.	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-1}$	$2 \cdot 10^{-1}$
3,2	5,4	6,2	8,4	9,6	—
2,7	5,7	5,5	6,7	9,0	13,0

Riwanol wywierał na niektóre wszy działanie toksyczne już w stężeniu $1 \cdot 10^{-4}$. Zdecydowanie trujący wpływ miał roztwór 0,2%.

Doświadczenie I.

TEMAT: Oznaczenie dawki toksycznej błękitu Wiktorii.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu A i B z roztworami: $2 \cdot 10^{-5}$, $2 \cdot 10^{-4}$, $2 \cdot 10^{-3}$, $2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-1}$.

WYNIK:

Kontr.	$2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-1}$
1,2	2,6	2,0	1,4	31,2	99,0

Błękit Wiktorii okazał się silnie toksyczny w dawce $2 \cdot 10^{-2}$, a roztwór $2 \cdot 10^{-1}$ zabił wszy po 24 godzinach.

Doświadczenie J.

TEMAT: Oznaczenie dawki toksycznej eozyny.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach A i B.

WYNIK: Eozyna 0,2% okazała się dla wszy zupełnie nie toksyczna.

Omówienie wyników:

Eozyna i czerwień Kongo okazały się nietrującymi dla wszy w stężeniu 0,2%. Błękit metylenowy wywierał umiarkowanie toksyczny wpływ w stężeniu 0,2%, a błękit toluidyny — w 0,1% i 0,2%. Najsilniej toksyczną dla wszy okazała się zieleń malachitowa zabijająca owady po 24 godzinach w stężeniu 0,01%, a słabe trujące działanie wywierał już roztwór 0,001%. Również 0,02% błękit Wiktorii był bardzo szkodliwy dla wszy a 0,2% uśmiercał je po 24 godz. Rivanol powodował niewielkie straty niezależnie od stężenia (0,0001% — 0,1%).

3. Badania nad wpływem barwników na *R. prowazeki* *in vitro* w zależności od stężenia i czasu działania

A. Błękit metylenowy.

Doświadczenie 1—5.

23. XI. 48 — 14. XII. 48 r.

TEMAT: Działanie 0,01%, 0,001% i 0,0001% błękitu metylenowego na *R. prowazeki* w zawiesinie z jelit wszy zakażonych.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: zawiesina z barwnikiem i kontrola były trzymane w ciepocie pokojowej (około + 20°C.) i w świetle. Poza tym postępowanie typowe.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P. cz.	L. K.	W. cz.	$\frac{\%}{b. n.}$	$\frac{\%}{str.}$	stop. zak.	U w a g i
b.m. 0,0001 $\frac{\%}{o}$	6,2	8,8	8,3	4,2	21,8	+++	W 2 dośw. wszy niezak.
b.m. 0,001 $\frac{\%}{o}$	7,4	11,2	2,5	34,2	40,2	++ - +++	
b.m. 0,01 $\frac{\%}{o}$	6,8	11,8	1,52	31,4	46,7	+ - ++	
Kontrola	3,4	5,6	17,82	0	10,8	+++	

Uwaga: Straty występowały głównie w późniejszych dniach doświadczenia i były powodowane prawdopodobnie naturalnym wymieraniem wszy, a w pewnej mierze uszkodzaniem w czasie codziennego sortowania.

Doświadczenie 8—11

9. XII. 48 — 4. I. 49 r.

TEMAT: Działanie 0,001% błękitu metylenowego w czasie od 0 min. do 60 minut.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: zawiesinę z barwnikiem podzielono na 3 części: I. zaczęto wstrzykiwać natychmiast (czas wahał się od 0 minut do 12 minut), drugą — po 30 minutach (od 30 min. do 42 min.), trzecią — po 60 min. (60 min. do 72 min.). Dalsze postępowanie typowe.

WYNIK: Na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P. cz.	L. k.	W. cz.	$\frac{\%}{b. n.}$	$\frac{\%}{str.}$	St. zak.	Uwagi
0 min.	4,4	6,8	10,9	0	18,0	+++++ +++++	W dośw. 8 ob. f. d.
30 min.	6,0	10,0	3,8	10,0	43,1	+ - +++++	W dośw. 8 ob. f. d.
60 min.	8,0	12,7	1,9	27,2	44,7	++	W dośw. 9 wszy nie zak.
Kontrola	3,2	5,2	15,6	0	12,8	+++++ +++++	

Doświadczenie 12—14

14. XII. 48 — 6. I. 49 r.

TEMAT: działanie 0,01% błękitu metylenowego w czasie od 0 do 60 min.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 8—11.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P. cz.	L. k.	W. cz.	$\frac{\%}{b. n.}$	$\frac{\%}{str.}$	St. zak.	Uwagi
0 min.	4,3	8,3	6,4	0	32,2	+++	W dośw. 14 — polimorlizm
30 min.	10,0	11,5	0,32	42,3	54,5	++	W dośw. 12 — wszy nie zak. W dośw. 13 — 1 wesz zak.
60 min.	8,5	11,5	0,2	57,0	40,0	++	W dośw. 12 — wszy nie zak. W dośw. 13 = 9 wszy zak.
Kontrola	4,0	5,0	16,1	0	12,2	+++++ +++++	

Doświadczenie 15—32

14. XII. 49 — 22. I. 50 r.

TEMAT: wpływ błękitu metylenowego w zależności od stężenia i czasu działania.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: błękit metylenowy w stężeniach od $1 \cdot 10^{-2}$ do $1 \cdot 10^{-7}$ rozpoczynano wstrzykiwać wszom po 0,30 i 60 minutach działania.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina		P. cz.	L. k.	W. cz.	$\frac{v}{b}$ b. n	$\frac{v}{g}$ str.	st. zak.	Uwagi
czns	stężenie							
0'	$1 \cdot 10^{-2}$	4,6	10,0	6,2	29,0	16,5	+++ +++++	W dośw. 18 ob. f. d. W dośw. 20 ob. f. olb.
	$1 \cdot 10^{-3}$	4,6	10,0	6,4	8,5	22,0	+++ +++++	
	$1 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,0	17,6	0	4,3	+++ +++++	
	$1 \cdot 10^{-5}$	3,7	5,0	16,8	0	8,7	+++ +++++	
	$1 \cdot 10^{-6}$	3,7	5,0	16,0	0	4,2	+++ +++++	W dośw. 25 ob. f. olb.
	$1 \cdot 10^{-7}$	4,0	4,7	16,5	0	7,0	+++ +++++	
	30'	$1 \cdot 10^{-2}$	7,6	11,3	2,9	29,0	33,3	+++
$1 \cdot 10^{-3}$		6,6	11,3	1,6	58,0	18,3	+++	W dośw. 16 ob. f. olb.
$1 \cdot 10^{-4}$		4,0	6,0	13,0	0	16,3	+++	W dośw. 21 ob. f. olb.
$1 \cdot 10^{-5}$		3,3	5,0	16,2	0	9,0	+++	W dośw. 26 ob. f. olb.
$1 \cdot 10^{-6}$		4,0	5,0	14,4	0	5,2	++++ +++++	
$1 \cdot 10^{-7}$		4,0	5,0	14,7	0	5,3	+++ +++++	
60'		$1 \cdot 10^{-2}$	8,3	12,0	1,1	65,7	19,7	+ + + + + + + +
	$1 \cdot 10^{-3}$	8,6	10,3	0,12	79,8	16,8	+ + + + +	W dośw. 18 ob. f. olb.
	$1 \cdot 10^{-4}$	4,3	7,3	7,2	0	32,8	+ + + + +	W dośw. 21, 22, 23 ob. f. olb.
	$1 \cdot 10^{-5}$	3,3	6,3	13,2	0	16,8	+ + + + +	W dośw. 26 ob. f. olb.
	$1 \cdot 10^{-6}$	4,0	4,7	14,7	0	9,0	+++	
	$1 \cdot 10^{-7}$	4,3	5,0	16,3	0	5,5	+++ +++++	
	Kontrola		3,4	4,9	17,3	0	4,5	+++ +++++

Omówienie wyników:

Błękit metylenowy w stężeniu $1,10^{-2}$ i $1,10^{-3}$ zaczynał działać rickettsjobjęzo już w pierwszych minutach. Dowodem na to było niezakażanie się pewnego odsetka wszy, późniejsze czerwienienie i znaczne obniżenie wskaźnika czerwienienia. Natomiast liczba rickettsji we wszach, które zakaziły się, była niemniejsza niż w kontrolnych. Po pół godziny następował gwałtowny spadek zakaźności, a nawet czasami wyjąłowanie zawiesiny. Wskaźnik czerwienienia był bardzo niski, odsetek wszy nie zakażonych wzrastał. Tu również dał się zauważyć wpływ roztworu $1,10^{-4}$ polegający na nieznacznym zmniejszeniu się wskaźnika. Liczba rickettsji we wszach, które zakaziły się, niewiele różniła się od kontroli. Po jednej godzinie zakaźność zawiesin z błękitem metylenowym w rozcieńczeniu $1,10^{-2}$ i $1,10^{-3}$ spadała w dalszym ciągu. Tu dały się już zauważyć różnice i w stopniu zakażenia, który był nierównomierny i niższy niż w kontrolnych. Roztwory $1,10^{-4}$ i $1,10^{-5}$ wywierały również pewien wpływ po 1 godzinie. Przejawiał się on mniejszym lub większym obniżeniem wskaźnika czerwienienia. Na specjalną uwagę zasługuje pojawianie się form patologicznych rickettsji. We wszach zakażonych zawiesiną z błękitem metylenowym nawet w słabych stężeniach ($1,10^{-5}$ — $1,10^{-6}$) pojawiały się rickettsje dużo większe od normalnych, przy czym kształt ich był zupełnie prawidłowy. Podzieliłem je na formy duże dochodzące do 2 mikr. długości i formy olbrzymie, które osiągały aż 5 mikr. Podobne zjawisko obserwowaliśmy już z *Czuczwarem* (55) w działaniu fenolu w stosunku do *R. prowazeki*, a *Herzig - Weiglowa* — w stosunku do *R. pediculi* (Rozpr. P.A.U. t. 8 r. 1947). Postacie duże i olbrzymie były wynikiem zahamowania podziałów komórki bakteryjnej. Barwnik poza działaniem bakteriobójczym wywierał działanie bakteriostatyczne. Prawdopodobnie dochodziło tu do poważniejszego uszkodzenia rickettsji, skoro jeszcze w przeszło 10 dni po wprowadzeniu zawiesiny do wszy mogliśmy spotkać formy patologiczne.

B. Błękit toluidyny.

Doświadczenie 33 — 37.

2. III. 49 — 26. III. 49. r.

TEMAT: działanie 0,01%, 0,001% i 0,0001% błękitu toluidyny.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 1—5.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P. cz.	L. k.	W. cz.	% b. n.	% str.	St. zak.	Uwagi
b. t. 0,0001%	6,3	10,3	4,4	44,1	26,0	++-+++	W dośw. 36 i 37 wszy nie zak.
b. t. 0,001%	—	—	0	68,4	31,6	—	Wszy nie zak.
b. t. 0,01%	5,0	10,0	1,2	52,7	35,4	+++	W dośw. 34, 35, 36 i 37 wszy nie zak.
Kontrola	3,6	5,0	17,2	0	10,4	+++	

Doświadczenie 38—39

9. III. 49 — 24. III. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,0001% błękitu toluidyny i 0,0001% błękitu metylenowego.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: typowy. Czas działania — 1 godzina.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P. cz.	L. k.	W. cz.	% b. n.	% str.	St. zak.	Uwagi
b. t.	—	—	0	58,0	42,0	—	Wszy nie zak.
b. m.	7,0	11,0	0,15	59,5	38,5	+++	W dośw. 38 wszy nie zak.
Kontrola	3,5	4,5	19,0	0	11,0	+++	

Doświadczenie 40—42

21. III. 49 — 6. IV. 49 r.

TEMAT: porównanie 0,0001% błękitu toluidyny i 0,0001% błękitu metylenowego w zależności od czasu działania.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 8—11.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P. cz.	L. k.	W. cz.	% b. n.	% str.	St. zak.	Uwagi	
0'	b. t.	3,7	4,7	17,9	0	11,1	+-+++	W dośw. 42 polimorfizm
	b. m.	4,0	6,3	11,7	0	21,0	+++	
30'	b. t.	4,0	5,5	7,5	27,1	15,3	++-+++	W dośw. 40 wszy nie zak. W dośw. 40 polimorfizm
	b. m.	6,3	9,7	4,1	24,5	24,8	+-++	
60'	b. t.	4,0	8,0	5,6	26,0	21,5	+-++	W dośw. 40 wszy nie zak. W dośw. 41 i 42 ob. f. olb. W dośw. 41 wszy nie zak.
	b. m.	7,0	11,5	1,9	53,1	22,1	+-++	
	Kontrola	3,0	4,7	18,0	0	12,8	+++	

Doświadczenie 43—45

1. IV. 49 — 18. IV. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,001% błękitu toluidyny i 0,001% błękitu metylenowego w zależności od czasu działania.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 8—11.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina		P. cz.	L. k.	W. cz.	‰ b. n.	‰ str.	St. zak.	Uwagi
czas	rodzaj							
0'	b. t.	4,3	9,3	5,8	10,5	28,3	+++++	W dośw. 43, 45 ob. f. olb. W dośw. 44 b.l.f. olb.
	b. m.	4,7	10,0	5,3	16,2	32,0	+++++	W dośw. 44, 45 ob. f. olb.
30'	b. t.	8,0	11,0	0,4	71,3	27,1	+++++	W dośw. 45 wszy nie zak. W dośw. 44 1 wesz zak.
	b. m.	7,0	11,0	1,8	42,2	31,2	+++++	W dośw. 45 wszy nie zak.
60'	b. t.	7,0	12,0	0,5	62,7	29,5	+++	W dośw. 43 i 44 wszy nie zak.
	b. m.	8,5	11,0	1,3	47,2	30,7	++++	W dośw. 45 wszy nie zak.
Kontrola		2,7	4,7	17,9	0	8,2	++++	

Doświadczenie 46—57

30. XI. 49 — 120. XII. 49 r.

TEMAT: wpływ błękitu toluidyny w zależności od stężenia i czasu działania.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 15—32.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina		P. cz.	L. k.	W. cz.	‰ b. n.	‰ str.	St. zak.	Uwagi
czas	rodzaj							
0'	$1 \cdot 10^{-2}$	3,7	5,0	16,9	0	8,7	++++	W dośw. 46 ob. f. olb. W wszystkich dośw. ob. f. olb.
	$1 \cdot 10^{-3}$	3,7	5,7	11,5	0	15,8	+++ +++++	
	$1 \cdot 10^{-4}$	3,7	4,7	19,5	0	5,8	+++ +++++	
	$1 \cdot 10^{-5}$	3,3	4,0	23,2	0	9,0	+++ +++++	
30'	$1 \cdot 10^{-2}$	5,0	8,3	7,5	15,3	25,2	++++	W dośw. 46 i 47 ob. f. olb.
	$1 \cdot 10^{-3}$	6,0	8,5	3,8	46,2	20,2	+++ +++++	
	$1 \cdot 30^{-4}$	4,0	4,7	17,4	0	11,3	+++	W dośw. 46 wszy nie zak. W dośw. 45 i 47 ob. l. olb.
	$1 \cdot 10^{-5}$	3,0	4,3	20,3	0	5,3	+++	

Zawiesina		P.cz.	L.k.	W.cz.	‰ b. n.	‰str.	St. zak.	Uwagi
czas	rodzaj							
60'	$1 \cdot 10^{-2}$	7,0	11,0	1,3	59,5	25,8	+++	W dośw. 46 i 48 wszy nie zak. W dośw. 46 i 48 wszy nie zak.
	$1 \cdot 10^{-3}$	8,0	10,0	0,1	74,8	23,3	++	
	$1 \cdot 10^{-4}$	4,0	4,7	18,5	0	3,5	+++	
	$1 \cdot 10^{-5}$	3,7	4,7	20,1	0	7,3	+++	
Kontrola		3,1	4,1	21,2	0	3,8	+++ +++++	

Omówienie wyników:

Błękit toluidyny działa na *R. prowazeki* podobnie do błękitu metylenowego, lecz w słabszym stopniu. Spostrzeżenia te są zgodne z danymi z piśmiennictwa (83). W badaniach porównawczych, w których prowadzono doświadczenia z jedną wspólną zawiesiną wyjściową, okazało się, że roztwór 0,0001% błękitu metylenowego przejawiał swój wpływ wcześniej.

Również i po pół godziny i po 1 godzinie wskaźnik czerwienienia wszy zakażonych zawiesiną z błękitem metylenowym był niższy od wskaźnika u zakażonych zawiesiną z błękitem toluidyny. Tak samo przedstawiała się sprawa ze stopniem zakażenia.

Natomiast roztwór 0,001% błękitu toluidyny był bardziej rickettsjobójczy od 0,001% błękitu metylenowego. W pierwszej fazie coprawda większy odsetek osobników nie zakażonych wystąpił wśród wszy, którym wstrzyknięto zawiesinę z błękitem metylenowym. W późniejszej (pół godziny do 1 godziny) jednak liczba nie zakażonych była wyższa wśród tych, które otrzymały zawiesinę z błękitem toluidyny. Wskaźniki czerwienienia i liczba rickettsji we wszach, które się zakażyły, nie wykazywały istotnych różnic w obu grupach.

Zjawiskiem zasługującym na uwagę było silniejsze działanie rickettsjobójcze 0,001% błękitu toluidyny od 0,01% roztworu tego barwnika. Wskaźnik czerwienienia i liczba wszy zakażonych były większe wśród wszy, które otrzymały zawiesinę z 0,01% błękitu toluidyny niż wśród tych, którym wstrzyknięto zawiesinę 0,001% barwnika. Rozcieńczenie 0,001% okazało się najbardziej czynne w stosunku do *R. prowazeki*. Najniższa dawka toksyczna błękitu

toluidyny dla *R. prowazeki* wynosiła $1 \cdot 10^{-4}$ (błękit metylenowy — $1 \cdot 10^{-5}$).

Fermy patologiczne pojawiały się również pod wpływem błękitu toluidyny. Występowały głównie we wszach słabo zakaźnych (+).

C. Czerwień Kongo.

Doświadczenie 43a—46a

11. IV. 49 — 24. IV. 49 r.

TEMAT: działanie 0,1% czerwieni Kongo w ciągu 1 godziny.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: typowy.

WYNIK: 0,1% czerwień Kongo nie wywarła żadnego wpływu na *R. prowazeki* w ciągu 1 godziny.

Doświadczenie 47a—51a

11. IV. 49 — 30. IV. 49 r.

TEMAT: działanie 0,01% czerwieni Kongo w ciągu 24 godzin.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: zawiesiny kontrolne i z barwnikiem podzielono na dwie części. Jedną wstrzyknięto wszom bezpośrednio po zrobieniu zawiesiny, drugą — po 24-godzinnym trzymaniu w lodówce w $+ 4^{\circ}\text{C}$.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina		P. cz.	L. k	W. cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
czas	rodzaj							
0'	cz. K.	3,2	4,8	16,5	0	11,1	+++	
	kontrola	3,6	4,8	16,3	0	10,1	+++	
24'	cz. K.	5,2	8,0	7,4	0	23,0	+----	polimorfizm
	kontrola	5,4	7,8	6,7	0	27,4	+----	polimorfizm

Omówienie wyników:

Czerwień Kongo nie wywiera działania szkodliwego na *R. prowazeki*. Wynik jest zgodny z danymi z piśmiennictwa (91).

D. Zieleń malachitowa.

Doświadczenie 52a—54a

19. IV. 49 — 21. VI. 49 r.

TEMAT: działanie 0,00001% zieleni malachitowej po 1 godzinie

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: typowy.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina		P. cz.	L. k	W. cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
z. m.	kontrola							
z. m.	4,7	8,0	9,3	13,3	21,3	++		
kontrola	3,7	5,0	17,3	0	8,8	+++		

Doświadczenie 55a—57a

20. VI. 49 — 28. VI. 49 r.

TEMAT: porównanie działania $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$ i $1 \cdot 10^{-6}$ zieleni malachitowej

TEMAT: porównanie działania

i identycznych rozcieńczeń błękitu metylenowego po 1 godz.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: typowy.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P cz.	L. k.	W.cz.	$\frac{0}{b}$ b. n.	$\frac{0}{o}$ str.	St. zak.	Uwagi
z. m. $1 \cdot 10^{-4}$	4,0	8,0	7,6	0	24,0	+ + + + +	polimorfizm
b. m. $1 \cdot 10^{-4}$	8,0	11,0	0,7	63,5	29,0	++	
z. m. $1 \cdot 10^{-5}$	4,0	8,0	9,4	0	18,0	+ - + + +	
b. m. $1 \cdot 10^{-5}$	5,0	8,0	9,4	0	22,0	+ - + + +	
z. m. $1 \cdot 10^{-6}$	4,0	5,0	16,0	0	9,5	+++	
b. m. $1 \cdot 10^{-6}$	4,0	5,0	17,4	0	10,5	+++	
kontrola	4,0	5,0	16,2	0	8,0	+ + + + +	

O m ó w i e n i e w y n i k ó w :

Zieleń malachitowa w stężeniu $1 \cdot 10^{-3}$ okazała się toksyczną dla wszy, w słabym co prawda stopniu, lecz sumowanie się dwóch czynników szkodliwych, barwnika i zarazka, mogłyby zaciemniać obraz doświadczenia, dlatego też używałem rozcieńczeń od $1 \cdot 10^{-4}$ do $1 \cdot 10^{-6}$. Zieleń malachitowa w stężeniu $1 \cdot 10^{-4}$ działała rickettsjobójczo, w słabszym jednak stopniu niż błękit metylenowy w tej samej koncentracji. Roztwór $1 \cdot 10^{-5}$ zieleni malachitowej, również jeszcze czynny w stosunku do rickettsji, działał identycznie z błękitem metylenowym.

E. R i v a n o l.

Doświadczenie 58—60

6. VIII. 49 — 24. VIII. 49 r.

TEMAT: działanie 0,01%, 0,001% i 0,0001% rivanolu na *R. prowazeki*

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 1—5.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	$\frac{0}{b}$ b. n.	$\frac{0}{o}$ str.	St. zak.	Uwagi
riv. $1 \cdot 10^{-2}$	7,0	11,0	0,3	60,0	37,2	+ - + + +	W dośw. 58 i 59 wszy nie zak. W dośw. 59 wszv nie zak.
riv. $1 \cdot 10^{-3}$	6,0	10,0	3,3	42,2	30,2	+ - + + +	
riv. $1 \cdot 10^{-4}$	3,0	7,0	12,3	0	11,2	+ + - + + +	
Kontrola	3,0	5,0	17,7	0	6,0	+++	

Doświadczenie 61—63

19. VIII. 49 — 3. IX. 49 r.

TEMAT: działanie 0,01% rivanolu po 0 minut, 30 min. i 60 min.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 8—11.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
riv. 0'	3,7	5,0	16,8	0	12,7	+++ +++++	ob. poj. f. d.
riv. 30'	5,3	7,3	11,9	0	16,8	+++ +++++	
riv. 60'	5,7	8,3	7,0	12,0	26,8	+ + + +	
Kontrola	3,3	4,7	18,0	0	18,5	+++ +++++	

Omówienie wyników:

Rivanol okazał się czynny w stężeniu 0,01% do 0,0001. Początkowo działanie jego było słabe, dopiero po 60 minutach ginie przeważający odsetek *R. prowazeki*, a nawet zawiesina może się całkowicie wyjałowić. Formy patologiczne pojawiają się bardzo rzadko i to wyłącznie postaci duże do 2 mikr. długości.

F. Błękit Wiktorii.

Doświadczenie 64—66

1. X. 49 — 11. X. 49 r.

TEMAT: działanie $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$ błękitu Wiktorii na *R. prowazeki*.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 1—5.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
b. W. $1 \cdot 10^{-3}$	3,7	5,3	12,9	0	21,5	+++ +++++	Straty powodowane toks. dział. barw.
b. W. $1 \cdot 10^{-4}$	3,7	5,7	14,3	0	12,3	+++ +++++	
b. W. $1 \cdot 10^{-5}$	3,7	5,7	14,8	0	12,8	+++ +++++	
Kontrola	3,7	5,3	16,2	0	13,3	+++ +++++	

Doświadczenie 67—69

13. X. 49 — 24. X. 49 r.

TEMAT: działanie $1 \cdot 10^{-3}$ błękitu Wiktorii w ciągu 8 godzin.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: typowy. Wszy zakaża się zawiesiną kontrolną świeżą, kontrolną 8-godzinną i z błękitem Wiktorii po 8 godz.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	% b. n.	% str.	St. zak.	Uwagi
b. W. 8 godz.	—	—	0	63,8	36,3	—	Wszy nie zak.
Kontrola 0 godz.	3,0	4,5	19,4	0	7,7	+++—++++	
Kontrola 8 godz.	4,0	7,0	10,9	0	12,0	+—++—++++	Zak. bardzo nierów- miernie

Doświadczenie 70—72

20. X. 49 — 31. X. 49 r.

TEMAT: działanie $1 \cdot 10^{-3}$ błękitu Wiktorii w ciągu 2 i 4 g.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: wszy zakaża się zawiesiną kontrolną świeżą, 2 i 4-godzinną oraz zawiesiną z błękitem Wiktorii po 2 i 4 godz.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	% b. n.	% str.	St. zak.	Uwagi
b.W. 2 godz.	5,7	9,7	4,2	35,2	21,5	+—+++	W dośw. 70 ob. f. d.
b.W. 4 godz.	6,0	10,0	0,6	63,0	31,2	+++	W dośw. 70 i 71 wszy nie znk.
kontr. 0 godz.	3,0	4,7	17,4	0	8,7	+++	
kontr. 2 godz.	3,3	5,0	16,1	0	11,0	+++	
kontr. 4 godz.	3,3	7,0	10,4	0	16,5	+—++++	

Omówienie wyników:

Błękit Wiktorii w dawkach tolerowanych nie wywarł działania w stosunku do *R. prowazeki* w ciągu 1 godziny, a w rozcieńczeniu $1 \cdot 10^{-3}$ dało się zauważyć toksyczny wpływ barwnika na wsze. Po dwóch godzinach stwierdzono rickettsjobójcze działanie $1 \cdot 10^{-3}$ roztworu błękitu Wiktorii. Wszy zakażone zawiesiną z barwnikiem po 4 godzinach zakaziły się w niewielkim odsetku, a po 8 godzinach nastąpiło zupełne wyjałowienie. Formy duże występowały bardzo rzadko.

G. Eozyna.

Doświadczenie 73—75

17. X. 49 — 29. X. 49 r.

TEMAT: działanie 0,1%, 0,01% i 0,001% eozyny na *R. prowazeki*.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 1—5.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L.k.	W.cz.	$\frac{\%}{b, n}$	$\frac{\%}{str}$	St. zak.	Uwagi
eo2. $1 \cdot 10^{-1}$	6,0	11,0	0,3	59,7	37,2	+++	
eo2. $1 \cdot 10^{-2}$	7,0	11,0	1,4	14,0	44,3	++-+++	
eo2. $1 \cdot 10^{-3}$	6,0	9,3	4,0	32,0	35,0	++-+++	
kontrola	3,7	4,7	17,5	0	11,5	++-+++	

Doświadczenie 76—78

22. X. 49 — 31. X. 49 r.

TEMAT: działanie $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$ eo2yny na *R. prowazeki* w ciągu 1 g.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 1—5

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L.k.	W.cz.	$\frac{\%}{n. b.}$	$\frac{\%}{str}$	St. zak.	Uwagi
eo2. $1 \cdot 10^{-3}$	4,3	8,7	5,7	0	15,9	+++	
eo2. $1 \cdot 10^{-4}$	4,0	6,7	12,9	0	10,8	+++	
eo2. $1 \cdot 10^{-6}$	4,0	5,3	14,6	0	10,0	+++	
kontrola	3,7	5,3	14,0	0	4,2	+++	

Doświadczenie 79—96

21. XI. 49 — 15. XII. 49 r.

TEMAT: wpływ eo2yny na *R. prowazeki* w zależności od stężenia i czasu działania.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 15—32.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina		P.cz.	L.k.	W.cz.	$\frac{\%}{b, n}$	$\frac{\%}{str}$	St. zak.	Uwagi
czas	stężenie							
0'	$1 \cdot 10^{-2}$	3,3	4,0	20,0	0	4,5	++-+++	poj. f. d.
	$1 \cdot 10^{-3}$	3,7	4,3	17,3	0	3,2	++-+++	poj. f. d.
	$1 \cdot 10^{-4}$	4,3	5,3	16,3	0	7,5	+++	
	$1 \cdot 10^{-5}$	4,3	5,3	13,2	0	6,2	++-+++	
	$1 \cdot 10^{-6}$	3,3	4,7	16,5	0	13,0	+++	
	$1 \cdot 10^{-7}$	2,3	5,0	17,2	0	7,0	++-+++	

Zawiesina		P.cz.	L.k.	W.cz.	‰ b. n.	‰ str.	St. zak.	Uwagi
czas	stężenie							
30'	$1 \cdot 10^{-2}$	4,0	8,7	8,1	0	14,5	++-+++	poj. f. d.
	$1 \cdot 10^{-3}$	3,7	7,0	10,1	21,3	14,2	++-+++	ob. f. d.
	$1 \cdot 10^{-4}$	4,3	7,3	11,0	0	9,0	+++	poj. f. d.
	$1 \cdot 10^{-5}$	4,3	7,7	13,1	0	5,8	+++	ob. f. olb.
	$1 \cdot 10^{-6}$	3,3	5,0	17,8	0	7,5	+++	
	$1 \cdot 10^{-7}$	3,7	5,0	18,2	0	3,3	+++-++++	
	$1 \cdot 10^{-2}$	6,7	9,7	5,0	14,2	16,5	++-+++	
60'	$1 \cdot 10^{-3}$	4,3	7,7	5,3	35,5	26,0	+++++	poj. f. d.
	$1 \cdot 10^{-4}$	4,3	7,7	10,8	0	15,0	+++	poj. f. d.
	$1 \cdot 10^{-5}$	4,7	8,3	10,2	0	9,8	+++	ob. f. d. i olb.
	$1 \cdot 10^{-6}$	3,7	5,0	18,2	0	5,9	+++	
	$1 \cdot 10^{-7}$	4,0	5,0	17,5	0	7,0	+++-++++	
Kontrola		3,4	4,1	19,6	0	5,6	+++-++++	poj. f. d.

Omówienie wyników:

Eozyna okazała się czynną w stosunku do *R. prowazeki* jeszcze w dawce $1 \cdot 10^{-5}$. Najsilniej działały roztwory 0.1%, natomiast 0,01% wywarł słabszy wpływ rickettsjobójczy od 0,001%, czego dowodem był odsetek wszy nie zakażonych.

Działanie eozyny było wolniejsze niż błękitu metylenowego. Występowało ono dopiero po upływie pół godziny lub nawet jednej godziny. Eozyna powodowała również powstawanie postaci olbrzymich.

4. Wpływ światła na działanie barwników na *R. prowazeki*

Już w 1900 r. *Raab* (cyt. wg 96) stwierdził, że barwniki fluoryzujące, eozyna i akrydyna, działają na *parametium* tylko w świetle. Badania (98) prowadzone nad bakteriofagiem gronkowcowym wykazały, że błękit metylenowy unieczynnia go w ciągu 6 do 12 godzin. Podobnie wpływał błękit toluidyny (16). Jeżeli zawiesiny poddano działaniu światła słonecznego, to błękit metylenowy zabijał bakteriofagą już po 5 minutach (17). W atmosferze azotu i w próżni leukobiel błękitu metylenowego była nieczynna. Dodatek 0,01% chlorowodoru cysteiny powodował, że barwnik w świetle nie wywierał wpływu na bakteriofaga (17). Podobne znaczenie posiadały kazeina, rezorcyna i tyrozyna (cyt. wg 17).

Działanie błękitu metylenowego w świetle zostało również wykazane w stosunku do paciorkowca, pneumokoka typu I, przecinkowca cholery, maczugowca błonicy (124), *Trypanosoma brucei* (126), gonokoka (14), wirusów *poliomyelitis* (93), opryszczki, ospy prawdziwej, nosówki psiej i bakteriofagów (cyt. wg 93 i 96). W badaniach stwierdzono, że błękit metylenowy w świetle działa 100 razy silniej niż w ciemni.

Podobne doświadczenia przeprowadzono i z innymi barwnikami (14, 96, 125, 127), które również wywierały silniejsze działanie w świetle. Eozyna w ciemni była 10 000 razy mniej czynną, a merkur — 1 000 razy (125).

Barwniki w świetle wywierały wpływ również i na jady bakteryjne. Toksyna błonicza pod wpływem błękitu metylenowego i światła traciła swą jadowitość, a zachowywała w pełni właściwości antygenowe, nawet w stopniu silniejszym od typowej anatoksyny (61, 62). Wyniki te nie potwierdziły się w stosunku do toksyny tężcowej (63), która po dodaniu błękitu metylenowego i naświetlaniu traciła również własności antygeny.

W badaniach nad działaniem barwników na rickettsje rola światła była na ogół pomijana, jedynie w doświadczeniach nad wpływem błękitu metylenowego i błękitu toluidyny na *R. orientalis in vitro* stwierdzono (29), że siła działania tych barwników nie zależy od obecności światła.

A. Światło pełne.

Doświadczenie 97—102

29. XII. 43 — 6. IV. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,001% błękitu metylenowego w świetle i w ciemni.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: zawieszę z dodatkiem błękitu metylenowego podzielono na dwie części: jedną z nich umieszczono w ciemni, drugą — w świetle dziennym (nie w słońcu) na przeciąg 1 godziny. Poza tym stosowano postępowanie typowe.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L k.	W.cz.	$\frac{0}{0}$ b. d.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
b. m. światło	7,2	11,0	0,37	63,5	32,0	+—+++	
b.m.ciemno	4,3	5,5	14,3	0	11,4	++—+++	
kontrola	3,5	5,0	16,3	0	11,7	++—+++	

Doświadczenie 103—104

5. I. 49 — 25. I. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,001% błękitu metylenowego w świetle elektrycznym i w ciemni.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 97—102 z tą tylko różnicą, że zawieszę naświetlano nie światłem dziennym, lecz żarówką elektryczną o sile 100 świec z odległości 50 cm.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L	W.cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
b. m. światło	9,0	12,0	0,25	77,0	19,5	+	
b.m.ciemno	4,5	5,0	15,5	0	8,5	+++	
kontrola	4,0	5,0	17,1	0	7,2	+++	

Doświadczenie 105—107

9. I. 49 — 28. I. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,01% błękitu metylenowego w świetle dziennym i w ciemni.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 97—102.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
b.m. światło	9,0	13,0	0,1	58,4	40,3	++	W dośw. 105 i 107 wszy nie zak.
b.m.ciemno	5,7	9,0	6,3	0	24,3	++	
Kontrola	4,0	5,0	16,0	0	11,0	+++	

Doświadczenie 108—110

23. V. 49 — 14. VI. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,0001% błękitu metylenowego w świetle dziennym w ciągu jednej godziny i w ciemni w ciągu 24 godzin.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: zawiesinę z dodatkiem błękitu metylenowego podzielono na trzy części: jedną z nich trzymano w świetle dziennym w ciągu jednej godziny, drugą — w ciemni w ciągu jednej godziny, a trzecią w ciemni w ciągu 24 godzin. Zawiesinę kontrolną zakażono wszy po 1 i 24 godzinach.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L.k.	W.cz.	$\frac{0}{0}$ o. b.	$\frac{0}{0}$ str	St. zak.	Uwagi
b. m. św. 1 godz.	8,3	10,7	0,37	70,2	25,8	+—++	
b. m. c. 24 godz.	4,0	5,3	15,4	0	11,5	+++	W dośw. 108 ob. f. olb.
b. m. c. 24 godz.	5,7	9,7	1,4	53,3	23,0	++	W dośw. 108 ob. f. olb.
Kontrola 1 godz.	3,3	4,7	18,3	0	6,8	+++	
Kontrola 24 godz.	5,7	7,7	9,4	26,7	13,3	++	W dośw. 108 polimorfizm

Doświadczenie 111—113

21. III. 49 — 12. IV. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,001% błękitu toluidyny w świetle dziennym i ciemni.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 97—102.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L.k.	W.cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
t. światło	7,0	11,5	0,9	19,0	36,0	+—+++	Polimorfizm
t. ciemno	4,0	5,3	16,0	0	8,9	+++	
ontrola	3,0	4,7	18,5	0	8,3	+++	

Doświadczenie 114—116

16. VIII. 49 — 31. VIII. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,01% rivanolu w świetle dziennym i w ciemni.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 97—102.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	% b. u.	% str.	St. zak.	Uwagi
riv. światło	7,0	9,7	1,8	51,7	50,0	++-+	Ob. f. olb.
riv. ciemno	4,7	7,0	11,1	0	14,0	++-+++	W dośw. 144 ob. f. olb.
Kontrola	3,7	4,7	16,0	0	15,0	+++	W dośw. 115 poli- morfizm

Doświadczenie 117—119

25. VIII. 49 — 4. IX. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,001% rivanolu w świetle dziennym i w ciemni.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 97—102.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	% b. n.	% str.	St. zak.	Uwagi
riv. światło	5,0	7,7	8,8	10,0	19,2	+++++	W dośw. 117 ob. f. d.
riv. ciemno	3,3	4,0	20,8	0	9,3	+++-++++	
Kontrola	3,0	4,0	21,3	0	8,0	+++-++++	

Doświadczenie 120—122

26. X. 49 — 9. XI. 49 r.

TEMAT: porównanie działania 0,1% eozyny w świetle dziennym i w ciemni.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 97—102.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	% b. n.	% str.	St. zak.	Uwagi
eoz. światło	7,0	10,5	0,2	77,7	0,5	+-++++	W dośw. 120 wszy nie zak.
eoz. ciemno	5,0	10,7	2,3	59,0	16,7	+++-++++	
Kontrola	4,0	4,7	18,9	0	5,3	+++ +++++	

Doświadczenie 123—125

31. X. 49 — 9. XI. 49 r.

TEMAT: porównanie działalności 0,001% eozyny w świetle dziennym i w ciemni.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniach 97—102.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	‰ b. n.	‰ str.	St. zak.	Uwagi
eoż. światło	5,7	8,5	8,3	0	18,0	+++----	
eoż. ciemno	3,3	4,3	20,3	0	7,3	+++-----	
Kontrola	3,3	4,0	21,9	0	8,0	+++-----	

O m ó w i e n i e w y n i k ó w :

Światło w silnym stopniu uczyniało barwniki w stosunku do *R. prowazeki*. Tyczy się to zarówno światła dziennego jak i elektrycznego. Roztwór błękitu metylenowego 0,001% i 0,0001% w ciemni działał w bardzo słabym stopniu obniżając nieznacznie wskaźnik czerwienienia. Pojawiały się również formy patologiczne. Roztwór 0,01% tego barwnika wywierał w ciemni bardziej zdecydowany wpływ, jednak i tu działanie w świetle było bez porównania silniejsze.

Podobnie przedstawiała się sprawa z innymi barwnikami: błękitem toluidyny, rivanolem i eożyną. Rivanol 0,001% w ciemni był nieczynny, działając w tym stężeniu jedynie w świetle. Roztwór 0,01% wywarł pewien wpływ rickettsjobójczy, lecz o wiele słabszy niż w świetle. Stosunkowo małą różnicę otrzymano w świetle i w ciemni z 0,1% eożyną, natomiast 0,001% roztwór tego barwnika był czynny jedynie w świetle.

B. Światło jednobarwne.

Tappeiner (cyt. wg 96) stwierdził, że eożyna działała zabójczo na *parametium* przede wszystkim w świetle zielonym, a akrydyna — w fioletowym.

Późniejsze badania *Ch'in* przeprowadzone z gonokokami (14) wykazały, że błękit metylenowy jest bardziej czynny w świetle pomarańczowym, eożyna — zielonym, a merkuchrom — pomarańczowym i żółtym. Z rickettsjami żadnych badań w tym kierunku nie robiono.

Doświadczenie 144—146

10. V. 50 — 22. V. 50 r.

TEMAT: wpływ światła na działanie 0,001% błękitu metylenowego na *R. prowazeki* w zależności od długości fali świetlnej.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: zawiesinę z jelit wszy zakażonych podzielono na 9 części. Do 8 z nich dodano błękitu metylenowego. Dziewiąta służyła jako kontrola. Po dodaniu barwnika zawiesinę poddano działaniu światła w ciągu jednej godziny. Jedną zawiesinę naświetlono pełnym, pozostałe jednobarwnym światłem. Użyto filtrów przepuszczających światło o następujących dłu-

gościach fali: I. filtr = 680 mmikr., II. filtr = od najdłuższej do 556 mmikr., III. filtr = 550 mmikr., IV filtr = 510 mmikr., V filtr = 424,5 mmikr. i VI filtr = 402 mmikr. Wszystkie filtry otrzymałem z Zakładu Fizyki Politechniki Gdańskiej od p. inż. *Bernasika*. Poza tym postępowanie było typowe.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St; zak.	Uwagi
I filtr	5,0	8,0	8,6	0	15,7	++-++++	W dośw. 145 ob. f. d.
II filtr	6,7	11,0	3,5	40,0	21,0	++-++++	W dośw. 144 ob. f. d.
III filtr	6,7	10,7	5,4	17,3	25,0	+ - +++	W dośw. 144 b. l. f. ob.
IV filtr	6,7	11,3	4,5	25,5	23,3	+++	
V filtr	5,7	9,3	6,9	15,3	21,3	+++	W dośw. 144 i 145 ob. f. ob.
VI filtr	5,3	9,3	5,8	30,7	20,0	++-+++	W dośw. 144 ob. f. d.
Św. pełne	8,0	12,0	0,2	69,0	29,0	+	W dośw. 145 i 146 wszy nie zak.
Ciemno	5,3	7,7	9,0	0	25,0	+++	
Kontrola	4,0	5,0	17,2	0	6,7	+++ -++++	

Doświadczenie 147—149

22. V. 50 — 6. VI. 50 r.

TEMAT: wpływ światła na działalność 0,0001% błękitu metylenowego na R. prowazeki w zależności od długości fali świetlnej.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 144—146.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P.cz.	L. k.	W.cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
I filtr.	4,3	7,3	11,0	6,0	13,7	++-++++	W dośw. 149 ob. f. d.
II filtr.	5,5	8,0	5,3	18,7	31,7	++-++++	W dośw. 148 wszy nie zak.
III filtr.	3,7	7,3	8,5	0	20,0	++-++++	
IV filtr.	3,7	5,7	12,9	0	20,0	+++	
V filtr.	4,0	5,5	14,9	0	9,7	++-++++	
VI filtr.	4,0	6,0	12,7	0	7,0	++-++++	W dośw 147 ob. f. d.
Św. pełne	7,0	11,5	2,3	43,7	23,7	+ - +++	W dośw. 148 wszy nie zak.
Ciemno	4,0	6,0	13,3	0	11,7	+++ -++++	
Kontrola	3,5	5,0	15,9	0	10,5	+++ -++++	

Doświadczenie 150—152

15. V. 50 — 27. V. 50 r.

TEMAT: wpływ światła na działanie 0,001% błękitu toluidyny na R. prowazeki w zależności od długości fali świetlnej.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 144—146.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P. cz.	L. k.	W. cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
I filtr.	4,0	6,0	10,2	0	7,0	++-+++	W dośw. 151 ob. f. d.
II filtr.	4,3	8,0	8,2	18,3	13,0	+++	W dośw. 150 ob. f. d.
III filtr.	5,0	7,7	9,6	0	14,3	+++	
IV filtr.	4,3	6,7	11,9	0	14,3	+++	
V filtr.	4,3	7,0	12,6	0	8,3	+++-++++	
VI filtr.	4,7	7,3	10,8	0	15,0	+++-++++	
Św. pełne	8,0	10,0	0,23	78,0	20,0	++	W dośw. 150 wszy nie zak. W dośw. 151 i wesz zak.
Ciemno	4,0	5,0	16,4	0	6,5	+++	
Kontrola	4,0	5,3	15,2	0	9,7	+++	W dośw. 152 ob. f. d.

Doświadczenie 153—155

3. V. 50 — 15. V. 50 r.

TEMAT: wpływ światła na działanie 0,01% eoizyny na R. prowazeki w zależności od długości fali świetlnej.

SPOSÓB PRZEPROWADZENIA: jak w doświadczeniu 144—146.

WYNIK: na podstawie otrzymanych wyników ustalono następujące średnie:

Zawiesina	P. cz.	L. k.	W. cz.	$\frac{0}{0}$ b. n.	$\frac{0}{0}$ str.	St. zak.	Uwagi
I filtr.	4,0	6,0	13,5	0	10,0	+++-++++	
II filtr.	4,0	6,0	13,4	0	8,7	+++-++++	W dośw. 153 i 154 ob. f. d.
III filtr.	5,0	8,3	8,9	8,0	20,3	+++	
IV filtr.	5,0	7,3	10,8	6,7	12,0	++-+++	W dośw. 155 ob. f. d.
V filtr.	4,0	6,3	12,2	0	11,3	+-+++	W dośw. 155 ob. f. d.
VI filtr.	4,0	6,3	11,6	0	14,0	++-+++	
Św. pełne	8,7	9,7	1,3	66,7	15,3	++	
Ciemno	4,0	6,0	13,1	0	6,0	+++-++++	
Kontrola	3,7	5,0	16,6	0	7,7	+++-++++	

Omówienie wyników:

Najsilniejszy wpływ wywierało wszędzie światło pełne. Światło jednobarwne działało na poszczególne barwniki zależnie od długości fali świetlnej. Błękit metylenowy okazał się najbardziej czynny w pomarańczowym, błękit toluidyny — również w pomarańczowym, a eozyna — w żółtym i zielonym. Najslabsze działania otrzymano z błękitem toluidyny i metylenowym w świetle niebieskim, a z eozyną — w czerwonym i pomarańczowym.

5. Działania barwników na *R. prowazeki* w ustroju wszy

Poza badaniami *in vitro* przeprowadzono doświadczenia nad działaniem barwników na *R. prowazeki* w ustroju wszy. Okazało się, że ani błękit metylenowy, ani eozyna wstrzyknięte zarówno przed zakażeniem, jak i po wprowadzeniu zarazka nie wywierają na niego żadnego wpływu.

STRESZCZENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Spśród 7 przebadanych barwników 6: błękit metylenowy, błękit toluidyny, błękit Wiktorii, eozyna, zieleń malachitowa i rivanol wykazały własności rickettsjobójcze. Czerwień Kongo była nieczynna w stosunku do rickettsji. Najsilniejsze działanie wywierał błękit metylenowy. Występowało ono bezpośrednio po dodaniu barwnika do zawiesiny zarazka. Błękit toluidyny, rivanol i eozyna działały wolniej, przeważnie dopiero po upływie 30 do 60 minut. Najslabszym okazał się błękit Wiktorii. Do jednej godziny nie obserwowano się żadnego wpływu tego barwnika na *R. prowazeki* w dawkach tolerowanych przez wszy. Dopiero po upływie 2 godzin stwierdzono nieznaczne działanie.

Działanie błękitu metylenowego według ogólnie panujących poglądów jest związane z jego własnościami utleniającymi. Barwnik ten jest światłoczuły i działa tylko w obecności tlenu. Leukobiel jest zupełnie nieczynna (17). Tego rodzaju ujęcie zagadnienia mechanizmu działania barwników jest nie wystarczające. Tionina, związek bardzo zbliżony chemicznie do błękitu metylenowego i posiadająca taki sam potencjał oksydoredukcyjny nie wywiera żadnego działania rickettsjobójczego (29). Prawdopodobnie chodzi tu również o szczegóły strukturalne.

Zjawiskiem zasługującym na szczególną uwagę było pojawianie się postaci nietypowych, *R. prowazeki* dochodzących do 5 mikr. długości, przy czym kształt ich był zupełnie prawidłowy. Występowanie form olbrzymich *R. prowazeki* dowodzi, że barwniki działają nie tylko rickettsjobójczo, ale również rickettsjostatycznie. Obserwując dokładnie przebieg doświadczeń mogłem stwierdzić, że najpierw mamy do czynienia z uszkodzeniem drobnoustroju, które prowadzi do zahamowania podziałów. Zarazek rośnie osiągając niemal dziesięciokrotnie większe rozmiary od normalnych. W drugim etapie występuje działanie rickettsjobójcze.

Niezmiernie ważną rolę przy działaniu barwników odgrywa światło. W ciemni środki te wywierały słaby wpływ na *R. prowazeki*.

Może mieć to znaczenie przy porównywaniu wyników otrzymanych *in vitro* i *in vivo*.

W ustroju wszy nie zauważono żadnego szkodliwego wpływu barwników na zarazek duru plamistego. Zagadnienie działania tych związków na rickettsje w organizmie zwierzęcym nie zostało zupełnie wyjaśnione. Może być ono związane albo wpływem bezpośrednim albo pośrednim przez wzmożenie procesów przemiany materii komórek gospodarza,* co nie sprzyja rozwojowi *R. prowazeki*.

Druga możliwość wydaje się prawdopodobniejsza, gdyż *R. prowazeki* jako zarazek wewnątrzkomórkowy znajduje się w krwiobiegu w bardzo ograniczonym czasie, a barwnik w ciemni działa słabo i to w stężeniach, które nie mogłyby być tolerowane przez organizm.

Na komórki jelita wszy barwniki widocznie nie wywierają wpływu, prawdopodobnie wskutek szybkiego ich wydalania przez owada.

С. Крыпськи

ИССЛЕДОВАНИЯ НАД ДЕЙСТВИЕМ НЕКОТОРЫХ КРАСИТЕЛЕЙ НА *R. PROWAZEKI*

СОДЕРЖАНИЕ

Из числа 7 красителей, исследованных автором, 6, а именно: метиленовая синька, толуидиновая синька, эозин, риваноля, ма-
лахитовая зелень и синька Виктории проявили противо риккетт-

* Metabolizm komórek gospodarza posiada bardzo duży wpływ na rozwój rickettsji i wirusów. Wzmożenie procesów przemiany materii może hamować lub pobudzać wzrost wewnątrzkomórkowych zarazków. Rickettsje lepiej rozwijają się w środowisku, w którym poziom przemiany materii jest niski (27, 37, 38, 39, 71), natomiast żywy metabolizm jest korzystny dla małych wirusów np. *poliomyelitis* (15, 27, 28).

иозные свойства. Красная Конго не оказывала такого действия на *R. prowazeki*. Наиболее сильное действие оказывала метиленовая синька.

Свет активизировал краски. Метиленовая синька и толuidиновая синька оказывали наиболее сильное противориккетсионное действие в оранжевом свете, а эозин — в зеленом и желтом. Однако наиболее сильное действие оказывал полный свет. В темноте влияние красителей было значительно более слабым и выступало при более высоких концентрациях.

Красители в первом периоде действовали бактериостатически, доказательством чего служило появление гигантских форм длиной до 5 микрон. Их форма была совершенно нормальной, только во втором периоде краситель убивал *R. prowazeki*.

S. Kryński

INVESTIGATIONS ON THE EFFECT OF SOME DYES ON RICKETTSIA PROWAZEKI.

From among 7 dyes which have been examined by me, six: methylene blue, toluidine blue, eosine, rivanol, malachite green and Victoria blue have shown ricketts-killing properties. The Congo red had no harmful effect on *R. prowazeki*. The strongest effect has been that of methylene blue.

Light activated the dyes. Methylene blue and toluidine blue were most strongly ricketts-killing in the orange light, and eosine — in the green and in the yellow lights. The strongest effect however was that of full light. In the darkness the effect of the dye was considerably smaller and appeared rather at strong concentrations of the dye.

The effect of the dyes had been bacteriostatic in the first period, the proof of this being the appearance of enormous forms reaching 5 microns in length. Their shape had been absolutely normal. Only in the II period the dye killed *R. prowazeki*.

P I S M I E N N I C T W O

1. Andrewes C. H., King H., van den Ende M. and Walker J. (1944): Lancet 1 p. 777.
2. Andrewes C. H., King H. and Walker J. (1946): Proc. Roy. Soc. B. An. 1946 a p. 20.
3. Anigstein L. and Bader M. N. (1945): Texas Rep. Med. & Biol. v. 3 p. 253.
4. Anigstein L. and Bader M. N. (1945): Science 101 p. 591.
5. Anigstein L. and Bader M. N. (1946): Texas Rep. Med. & Biol. v. 4 p. 260.
6. Anigstein L. and Whitney D. M. (1946): Texas Rep. Med. & Biol. v. 4 p. 338.
7. Anigstein L., Whitney D. M. and Beninson J. (1948): Annals of the New York Acad. of Sciences v. 51 p. 306.

8. Anigstein L., Whitney D. M. & Beninson J. (1949): Texas Rep. Med. & Biol. v. 7 p. 96.
9. Beninson J. & Anigstein L. (1948): Texas Rep. Med. & Biol. v. 6 p. 486.
10. Blake F. G., Maxcy K. F., Sadusk J. F. jr., Kohls G. M., & Bell E. J. (1945): Americ. Jour. of Hygiene v. 41 p. 243.
11. Bock M. & Kikuth W. (1948): Klin. Woch. v. 26 s. 691 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 46 p. 540).
12. Bovarnick M. R. & Snyder J. C. (1949): Jour. Exper. Med. v. 89 p. 561 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 46 p. 927).
13. Bryer M. S., Schoenbach E. B., Chandler C. A., Bliss E. A. & Long P. H. (1948): Jour. Amer. Med. Assoc. v. 138 p. 117.
14. Ch'in T. L. (1938): Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. v. 39 p. 697.
15. Clark P. F., Waisman H. A., Lichstein H. C & Jones E. S. (1945): Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. v. 58 p. 42
16. Clifton C. E. & Lawler T. G. (1930): Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. v. 27 p. 1041.
17. Clifton C. E. (1931): Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. v. 28 p. 745.
18. Cooke C. (1948): Jour. Amer. Med. Assoc. v. 138 p. 251.
19. Diaz-Rivera R. S., Santos J. J. & Perez-Santiago (1946): Bol. Asoc. Med. de Puerto Rico v. 38 p. 189 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 44 p. 199).
20. Diaz-Rivera R. S., Guzman Acosta C., Collazo P. J. & Pomales Lebron A. (1949): Amer. Jour. Med. Sci. v. 217 p. 13 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 46 p. 452).
21. Van den Ende M., Stuart-Harris C. H., Fulton F. & Niven J. S. F. with Andrewes C. H., Begg A. M., Elford W. J., Gleeson M. H., Hawley W. L., Mills K. C. Hamilton F. & Thomas C. C. (1946): Chemotherapeutic and other studies of typhus. Medical Research Council, Special Report Series No 255 His Majesty's Stationary Office, York House, Kingsway, London.
22. Ferro-Luzzi G. & Ferro-Luzzi S. (1947): Boll. Soc. Ital. di Med. e Igiene Sez. Eritrea v. 7 p. 5 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 45 no. 3).
23. Findlay G. M. (1948): Trop. Dis. Bull. v. 45 p. 559.
24. Fitzpatrick F. K. (1945): Science v. 102 p. 96.
25. Fitzpatrick F. K. (1948): Amer. Jour. Publ. Health and Nation's Health v. 38 p. 676.
26. Flinn L. B., Howard J. W., Todd C. W., & Scott E. C. (1946): Jour. Amer. Med. Assoc. v. 132 p. 911.
27. Foster C., Jones J. H., Henle W. & Dorfman F. (1944): Jour. Exper. Med. v. 79 p. 221.
28. Foster C., Jones J. H., Henle W. & Dorfman F. (1944): Jour. Exper. Med. v. 80 p. 257.
29. Fox J. P. & Peterson O. L. (1948): Jour. of Immunol. v. 58 p. 299.
30. Fraser L. E., Rosenblum H., & Dancinger J. A. (1948): Amer. Jour. Dis. Children v. 75 p. 493 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 46 p. 350).
31. Gear J. & Harington A. L. (1949): South African Med. Jour. v. 23 p. 507 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 46 p. 1925).
32. Giroud P. (1947): Comp. Rend. des Sénces de la Soc. de Biol. v. CXLI p. 1117.

33. Giroud P., Ciaccio G. & Pan H. S. (1949): *Comp. Rend. des Séances de la Soc. de Biol.* v. CXLII p. 1438.
34. Giroud P., Ciaccio C. & Vargues R. (1949): *Comp. Rend. des Séances de la Soc. de Biol.* v. CXLII p. 1439.
35. Giroud P. & Ciaccio G. (1949): *Comp. Rend. des Séances de la Soc. de Biol.* v. CXLIII p. 1471.
36. Greiff D. & Pinkerton H. (1944): *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* v. 55 p. 116.
37. Greiff D. & Pinkerton H. & Moragues V. (1944): *Jour. Exper. Med.* v. 80 p. 561.
38. Greiff D. & Pinkerton H. (1945): *Jour. Exper. Med.* v. 82 p. 193.
39. Greiff D. & Pinkerton H. (1948): *Jour. Exper. Med.* v. 87 p. 175.
40. Greiff D. & Pinkerton H. (1948): *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* v. 68 p. 228.
41. Hamilton H. L. (1945): *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* v. 59 p. 220.
42. Hamilton H. L., Plotz H. & Smadel J. E. (1945): *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* v. 58 p. 255.
43. Hardy S. M. (1948): *Bol. Asoc. Med. de Puerto Rico* v. 40 p. 347 (abstr. *Trop. Dis. Bull.* v. 46).
44. Harrell G. T., Venning W., & Wolff W. A. (1944): *Jour. Amer. Med. Assoc.* v. 126 p. 929.
45. Harrell G. T., Meads M. & Stevens K. (1949): *Southern Med. Jour.* v. 42 p. 4 (abstr. *Trop. Dis. Bull.* v. 46 p. 350).
46. Hildick-Smith G. (1949): *South African Med. Jour.* v. 23 p. 702 (abstr. *Trop. Dis. Bull.* v. 46 p. 1137).
47. Holler G. & Zajitschek R. (1944): *Med. Klin.* v. 40 s. 247
48. Holler G. (1944): *Med. Klin.* v. 40 s. 374.
49. Huebner R. J., Hotte G. A., & Robinson E. B. (1948): *Publ. Health Rep.* v. 63 p. 357.
50. Juszancew J. A. (1946): *Klinicz. Med.* t. 24 s. 68.
51. Kikuth W. & Schilling I. (1944): *Zentralbl. Bakt. Parasit. Abt. I. Orig.* 151 s. 293.
52. Kirby F. G. (1947): *Ann. Western. Med. and Surgery* v. 1 p. 203 (abstr. *Trop. Dis. Bull.* v. 44 p. 1060).
53. Kryński St. (1948): *Przegl. Epid.* t. II, str. 50.
54. Kryński St. (1948): *Now. Lek.* r. 55 str. 267.
55. Kryński St. & Cuczwara St. (1948): *Przegl. Epid.* t. II, str. 86.
56. Kryński St. & Woyciechowska St. (1948): *Przegl. Epid.* t. II, str. 268.
57. Kryński St. & Woyciechowska St. (1949): *Przegl. Epid.* t. III str. 94.
58. Kryński St. (1949): *Przegl. Epid.* t. III, str. 333.
59. Kryński St. & Woyciechowska St. (1949): *Przegl. Epid.* t. III, str. 386.
60. McLimans W. E. & Grant C. W. (1947): *Science* v. 105 p. 181.
61. Lin F. C. (1935): *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* v. 33 p. 337.
62. Lin F. C. (1936): *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* v. 34 p. 656.
63. Lipert K. (1935): *Jour. of Immunol.* v. 28 p. 193.

64. Long P. H. & Olitsky P. K. (1930): Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. v. 27 p. 380.
65. Megerl J. (1941): Klin. Woch. v. 20 s. 711.
66. Majewski M. M. (1947): Żurnał Mikr., Epid. i Immunobiol. t. IV, s. 3.
67. Van Meerendonk P. (1942): Deut. Militärarzt v. 7 s. 283.
68. Van Meerendonk P. (1942): Deut. Militärarzt v. 7 s. 541.
69. Menk W. (1942): Klin. Woch. v. 21 s. 185.
70. Moragues V., & Pinkerton H. (1944): Jour. Exp. Med. v. 79 p. 35.
71. Moragues V. & Pinkerton H. (1944): Jour. Exp. Med. v. 79 p. 41.
72. Moragues V. & Pinkerton H. (1944): Jour. Exp. Med. v. 79 p. 41.
73. Morgan H. R., Stevens D. A. & Snyder J. C. (1947): Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. v. 64 p. 342.
74. Morones S. (1948): Gac. Méd. de México v. 78 p. 73 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 46 p. 130).
75. Mudd S. (1945): Jour. of Bakt. v. 49 p. 527.
76. Murray E. S., Zarafonitis C. J. D. & Snyder J. C. (1945): Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. v. 60 p. 80.
77. Oliphant J. W., Gordon D. A., Meis A. & Parker R. R. (1949): Amer. Jour. Hyg. v. 49 p. 76.
78. Payne E. H., Knaut J. A. & Palacios S. (1948): Jour. Trop. Med. and Hygiene v. 51 p. 68.
79. Payne E. H., Sharp E. A. & Knaut J. A. (1948): Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. v. 42 p. 163 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 46 p. 131).
80. Pechtel C. (1940): Med. Klinik v. 36 s. 1331.
81. Pena Y. (1941): Deut. Med. Wochenschrift v. 67 s. 1267.
82. Peterson O. L. (1944): Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. v. 55 p. 155.
83. Peterson O. L. & Fox J. P. (1947): Jour. Exp. Med. v. 85 p. 543.
84. Philip C. B., Traub R. & Smadel J. E. (1949): Amer. Jour. Hyg. v. 50 p. 63, (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 46 p. 1135).
85. Pincoffs M. C., Guy E. G., Lister L. M., Woodward T. E. & Smadel J. E. (1948): Ann. of Intern. Med. v. 29 p. 656.
86. Przesmycki F., Wojciechowski E. & Mikołajczyk E. (1949): Med. Dośw. i Mikr. r. I. str. 602.
87. Przybylkiewicz Z. & Sikora (1946): Przegl. Lek. r. II s. II. str. 105.
88. Radkowiak J. D. (1949): Przegl. Epid. t. III. str. 343.
89. Ravenel S. F. (1947): Jour. Amer. Med. Assoc. v. 133 p. 989.
90. Ravenel S. F. (1947): abstr. Trop. Dis. Bull. v. 45 No. 2.
91. Robbins M. L., Bourke A. R. & Smith P. K. (1950): Jour. Immunol. v. 64 p. 431.
92. Rose H. M., Duane R. B. & Fischel E. E. (1945): Jour. Amer. Med. Assoc. v. 129 p. 1160.
93. Rosenblum L. A., Hoskwith B. & Kramer S. D. (1937): Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. v. 37 p. 166.
94. Ross S., Schoenbach E. B., Burke F. G., Bryer M. S., Rice E. C. & Washington J. (1948): Jour. Amer. Med. Assoc. v. 138 p. 1213.

95. Ruiz Sanchez F. & Ruiz Sanchez A. (1948): *Medicina (Mexico)* v. 28 p. 524 (abstr. *Trop. Dis. Bull.* v. 46 p. 453).
96. Salle A. J. (1943): „*Fundamental Principles of Bacteriology*”, Mg Graw-Hill Book Co, Inc., New York and London p. 196.
97. Schoenbach E. B. (1949): *Jour. Amer. Med. Assoc.* v. 139 p. 450.
98. Schultz E. W., & Krueger A. P. (1928): *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* v. 26 p. 100.
99. Siegert R. (1948): *Zeitschr. für Hyg. & Infektionskrankheiten* v. 120 s. 551. (abstr. *Excerpt. Med. Sec. IV* vol. II. p. 1008).
100. Siegert R. (1949): *Zentralbl.Bakt. Parasit., & Infect. & Hyg.* v. 154 s. 172 (abstr. *Excerpt. Med. sec. IV.* vol. III. p. 875).
101. Smadel J. E., Snyder J. C., Jackson E. B., Fox J. P. & Hamilton H. L. (1947): *Jour. Immunol.* v. 57 p. 155.
102. Smadel J. E., Jackson E. B. & Gauld R. L. (1947): *Jour. Immunol.* v. 57 p. 273.
103. Smadel J. E., Leon A. P., Ley H. L. jr. & Varela G. (1948): *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* v. 68 p. 12.
104. Smadel J. E., Woodward T. E., Ley H. L. jr., Philip C. B., Traub R., Lewthwaite R. & Savor S. R. (1948): *Science* v. 108 p. 160.
105. Smadel J. E. (1949): *Bol. Oficina Sanitaria Panamericana* v. 26 p. 1 (abstr. *Trop. Dis. Bull.* v. 46 p. 626).
106. Smadel J. E., Jackson E. B., Ley H. L. jr. & Lewthwaite R. (1949): *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* v. 70 p. 191.
107. Smadel J. E., Jackson E. B. & Cruise A. B. (1949): *Jour. Immunol.* v. 62 p. 49.
108. Smadel J. E. (1949): *Bull. U. S. Army Med. Dep.* v. 9 p. 117.
109. Smadel J. E., Traub R., Ley H. L. jr., Philip C. B., Woodward T. E. & Lewthwaite R. (1949): *Amer. Jour. Hyg.* v. 50 p. 75 (abstr. *Trop. Dis. Bull.* v. 46 p. 1136).
110. Smadel J. E., Traub R., Frick L. P., Diercks F. H. & Bailey Ch. A. (1950): *Amer. Jour. Hyg.* v. 51 p. 216 (abstr. *Excerpt. Med. sec. IV.* vol. III p. 980).
111. Smadel J. E., Bailey Ch. A. & Diercks F. H. (1950): *Amer. Jour. Hyg.* v. 51 p. 229 (abstr. *Excerpt. Med. sec. IV.* vol. III. p. 980).
112. Smadel J. E. & Jackson E. B. (1947): *Science* v. 106 p. 418.
113. Smith P. K. (1946): *Jour. Amer. Med. Assoc.* v. 131 p. 1114.
114. Smith R. M., Joslyn D. A., Gruhzić O. M., McLeen I. W. jr., Penner M. A. & Ehrlich J. (1948): *Jour. Bacter.* v. 55 p. 425.
115. Snyder J. C. & Zarafonitis C. J. D. (1945): *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* v. 60 p. 115.
116. Snyder J. C., Yeomans A., Clement D. H., Murray E. S., Zarafonitis C. J. D. & Tierney N. A. (1947): *Ann. Int. Med.* v. 27 p. 1.
117. Starzyk J. & Westrych F. (1947): *Spraw. P. A. U. T.* XLVIII str. 429.
118. Starzyk J. & Westrych F. (1949): *Med. Dośw. i Mikr. r. I.* str. 487.
119. Starzyk J. & Westrych F. (1949): *Med. Dośw. i Mikr. r. I.* str. 490.
120. Starzyk J. (1949): *Przeł. Lek. r. V.* s. II. str. 593.
121. Starzyk J. (1949): *Przeł. Lek. r. V.* s. II. str. 512.
122. Tichenor C. J., Ross S., & McLendon P. A. (1947): *Jour. Pediatr.* v. 31 p. 1.

123. Tierney N. A. (1946): Jour. Amer. Med. Assoc. v. 131 p. 280.
124. Tung T. (1935): Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. v. 33 p. 328.
125. Tunng T. & Zia S. H. (1937): Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. v. 36 p. 326.
126. Tung T. (1938): Proc. Soc. Exp. Biol. v. 38 p. 29.
127. Tung T. (1938): Proc. Soc. Ejp. Biol. and Med. v. 39 p. 415.
128. Weyer F. (1948): Zeitschr. Hyg. & Infectionskr. v. 128 s. 724 (abstr. Excer. Med. seec. IV vol. VII p. 724).
129. Wohlrab R. (1942): Klin. Woch. v. 21 s. 455.
130. Woodward T. E. & Raby W. T. (1948): Southern Med. Jour. v. 41 p. 997 (abstr. Trop. Dis. Bull. v. 46 p. 249).
131. Wright L. T., Sanders M., Logan M. A., Prigot A. & Hill L. M. (1948): Jour. Amer. Med. Assoc. v. 138 p. 408.
132. Yeomans A., Snyder J. C., Murray E., Zarafonetic C. J. D., & Ecke R. S. (1944): Jour. Amer. Med. Assoc. v. 126 p. 349.
133. Zarafonetic C. J. D., Snyder J. C. & Murray E. S. (1946): Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. v. 61 p. 240.
134. Zarchij (1946): Klinicz. Med. t. 24 s. 65.
135. Żupnik D. (1942): Med. Klinnik. v. 38 s. 396.

Stefan Kryński i Eugeniusz Becla

BADANIA NAD DZIAŁANIEM NIEKTÓRYCH BARWNIKÓW NA PAŁECZKĘ ODMIEŃCA OX₁₉

(Z Zakładu Mikrobiologii A.M.G. i Państwowego Instytutu
Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdańsku)

Zagadnienie odmienia OX₁₉ należy do najciekawszych w bakteriologii zarówno ze względu na jego zmienność, jak i na niewyjaśniony dotychczas stosunek do *R. prowazeki*.

W pracy naszej postanowiliśmy zbadać, jak działają na odmienca OX₁₉ barwniki, które w naszych doświadczeniach *R. prowazeki* wykazały w stosunku do niej szczególnie silne działanie bakterio-bójcze i bakteriostatyczne.

I. METODYKA BADAŃ

1. Barwniki i ich przygotowanie.

Barwniki odważano w jałowych naczyniach na wadze analitycznej. Rozpuszczone w jałowym płynie fizjologicznym 0,2% roztwory przechowywano w zakorkowanych i zaparafinowanych erlenmayerkach. Doświadczenia zostały przeprowadzone z 3 barwnikami:

Błękit metylenowy.

Błękit toluidyny.

Eozyna

2. Szczepy.

Badania przeprowadzono z 4 szczepami odmienia OX₁₉ pochodzącymi z następujących laboratoriów: PZH w Warszawie, Stat. Zdr. Ustaw w Pradze, Inst. Listera w Londynie i Inst. Roberta Kocha w Berlinie. Pierwszy z nich traktowano jako standartowy, pozostałe służyły dla celów porównawczych. Szczepy: praski, londyński, i berliński otrzymano ze Stat. Zdr. Ustawu w Pradze za pośrednictwem PZH w Warszawie. W tym miejscu pragniemy podzię-

kować. P. Doc. H. Meislowi i P. dr P. Meislowej za łaskawe użyczenie nam do badań wszystkich wyżej wymienionych hodowli.

3. Przygotowanie zawiesiny.

Hodowlę 18—20 godzinną odmienia OX_{19} splukiwano płynem fizjologicznym i rozcieńczano tak, by stężenie wynosiło ok. 80 000 000 bakterii w 1 ml. Zawiesinę rozlewano do probówek po 5 ml do każdej, po czym do kontroli dodawano 5 ml płynu fizjologicznego, a do pozostałych — tyleż odpowiedniego roztworu barwnika.

4. Sposób przeprowadzania doświadczeń.

Wszystkie doświadczenia rozpoczynano o godz. 7—8 rano. Posiewy zawiesin z barwnikiem wykonywano po upływie: 0, 1, 2, 3, 6, 12, 24, 36 i 48 godzin, kontrolnych — po 0, 12, 24, 36 i 48 godzinach. Badania przeprowadzano zarówno w świetle jak i w ciemni. Źródło światła w czasie trwania każdego doświadczenia ulegało zmianom. Było nim na przemian dzienne rozproszone i elektryczne. W naszych dawniejszych badaniach prowadzonych z *R. prowazeki* nie stwierdziliśmy istotnych różnic między wpływem obu rodzajów światła na działanie barwników. Jednak celem zmniejszenia ewentualnego błędu, jaki mógłby powstać, powtarzaliśmy każdą próbę kilkakrotnie w różnych okresach czasu i często stosowaliśmy doświadczenia porównawcze.

Probówki z zawiesiną przeznaczoną do badań w ciemni umieszczaliśmy w szczelnie zamkniętej puszcze blaszanej. Naturalnie doświadczenia w świetle i w ciemni były prowadzone jednocześnie i w jednakowej ciepłocie otoczenia ($+ 20^{\circ} C$).

Początkowo stosowaliśmy również 2 zawiesiny kontrolne. Po stwierdzeniu, że nie ma żadnych różnic w świetle i w ciemni, pozostawiliśmy tylko pierwszą.

Doświadczenie prowadziliśmy do 48 godzin. Liczbę żywych pałeczek obliczaliśmy za pomocą metody lanych płytek agarowych. Posiewaliśmy 1 ml.

II. DZIAŁANIE BARWNIKA W ZALEŻNOŚCI OD CZASU, STĘŻENIA I OBECNOŚCI ŚWIATŁA

W badaniach naszych braliśmy pod uwagę przede wszystkim 3 czynniki: stężenie barwnika, czas jego działania i wpływ światła.

Wszystkie doświadczenia były tu przeprowadzone ze szczepem warszawskim. Wyniki opracowaliśmy w formie tabelki (1—6). Cyfry tam przedstawione są średnimi otrzymanymi z kilku prób (3—6). Doświadczenia o przebiegach znacznie odbiegających od pozostałych nie były brane pod uwagę przy obliczaniu średnich, gdyż mogły spażyć cały obraz eksperymentu. Zostaną one omówione osobno w następnym rozdziale.

1. Błękit metylenowy.

Tabela 1

Stężenie	0 godz.	1 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
1.10^{-1}	72.10^6	77.10^5	27.10^4	483	0,3	0	0	0
1.10^{-2}	86.10^6	98.10^5	13.10^4	1822	6	0,2	0	0
1.10^{-3}	75.10^6	16.10^6	48.10^4	6430	237	88	10	0
1.10^{-4}	45.10^6	42.10^6	19.10^6	31.10^5	27.10^5	43.10^4	4.10^5	46.10^4
1.10^{-5}	42.10^6	—	—	32.10^6	14.10^6	1.10^7	64.10^5	91.10^5
1.10^{-6}	37.10^6	—	—	34.10^6	27.10^6	19.10^6	13.10^6	17.10^5

A. Światło (tab. 1): Barwnik w stężeniu 1.10^{-1} przejawiał swe bakteriobójcze działanie w stosunku do odmienca OX₁₉ — Warszawa już w ciągu 1 godziny powodując dziesięciokrotny spadek liczby żywych drobnoustrojów. Zupełne wyjałowienie następowało po 6—12 godzinach. Po 24 godz. nigdy już nie stwierdzano obecności żywych pałeczek.

Podobnie, choć chwilami nieco wolniej przebiegał ten proces pod wpływem roztworów 1.10^{-2} , choć i tu zawiesina wyjałowiała się również po 6—12 godzinach, wyjątkowo po 24 godz.

Po zadziałaniu 0,001% błękitu metylenowego obserwowano po upływie 1 godziny 5-krotny spadek liczby żywych pałeczek. Wszystkie bakterie ginęły dopiero po 24—36 godzinach, a czasami nawet po 48 godz.

Roztwór 1.10^{-4} przejawiał działanie dopiero po 3 godzinach. Do 48 godz. nigdy nie wyjałowił zawiesiny.

Stężenie barwnika 1.10^{-5} i 1.10^{-6} wywierały wpływ nieznaczny.

Tabela 2

Stężenie	0 godz.	1 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
1.10^{-1}	72.10 ⁰	99.10 ⁵	16.10 ⁵	3570	0	0	0	0
1.10^{-2}	86.10 ⁰	16.10 ⁰	5.10 ⁰	33.10 ⁵	25.10 ⁵	5.10 ⁴	75.10 ⁰	75.10 ³
1.10^{-3}	75.10 ⁰	37.10 ⁰	18.10 ⁰	6.10 ⁰	11.10 ⁵	8.10 ⁵	58.10 ⁴	58.10 ⁴
1.10^{-4}	45.10 ⁰	—	—	4.10 ⁷	32.10 ⁰	2.10 ⁷	14.10 ⁰	17.10 ⁰
1.10^{-5}	42.10 ⁰	—	—	—	33.10 ⁰	31.10 ⁰	27.10 ⁰	23.10 ⁰
1.10^{-6}	37.10 ⁰	—	—	—	34.10 ⁰	2.10 ⁷	16.10 ⁰	17.10 ⁰

B. Ciemnia (tab. 2): Roztwór 1.10^{-1} w ciemni działał identycznie jak w świetle, natomiast 1.10^{-2} nie zawsze zabijał wszystkie drobnoustroje w ciągu 48 godzin. W 5 kolejnych doświadczeniach zaledwie 2-krotnie wyjąłował zawiesinę. Przeciętny spadek liczby żywych pałeczek był 1000-krotny. Stężenie 1.10^{-2} w ciemni odpowiadało mniej więcej 1.10^{-4} w świetle. Błękit metylenowy 0,001% działał tak samo jak 0,01%. Stężenia niższe wywierały wpływ nieznaczny.

2. Błękit toluidyny.

Tabela 3

Stężenie	0 godz.	1 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
1.10^{-1}	59.10 ⁷	33.10 ⁵	13.10 ⁵	230	0	0	0	0
1.10^{-2}	66.10 ⁰	4.10 ⁷	21.10 ⁰	11.10 ⁵	13.10 ⁴	970	560	446
1.10^{-3}	55.10 ⁰	15.10 ⁰	15.10 ⁰	71.10 ³	36.10 ³	1.10 ³	405	320
1.10^{-4}	48.10 ⁰	42.10 ⁰	17.10 ⁰	27.10 ⁵	36.10 ³	38.10 ³	36.10 ³	17.10 ³
1.10^{-5}	99.10 ⁷	—	—	37.10 ⁰	29.10 ⁰	21.10 ⁰	1.10 ⁷	1.10 ⁷
1.10^{-6}	3.10 ⁷	—	—	32.10 ⁰	26.10 ⁰	27.10 ⁰	21.10 ⁰	2.10 ⁷

A. Światło (tab. 3): Błękit toluidyny 0,1% wyjąłował zawiesinę w ciągu 6—12 godzin. Już po upływie 1 godziny obserwowaliśmy 100-krotny spadek liczby żywych pałeczek (błękit metylenowy — 10-krotny). Za to roztwór 1.10^{-2} wywierał dużo słabszy wpływ niż analogiczne rozcieńczenie błękitu metylenowego. Błękit

toluidyny dawał istotny efekt (10-krotny) dopiero po 6 godzinach i niezawsze doprowadzał do zupełnego wyjałowienia zawiesiny w ciągu 48 godzin. Stężenie 1.10^{-3} działało niemal identycznie, a nawet chwilami silniej niż 1.10^{-2} . Podobne zjawisko obserwowaliśmy z *R. prowazeki*. Roztwór 1.10^{-4} nigdy nie wyjałowiał do 48 godzin. Wpływ jego uwidaczniał się również dopiero po 6 godz. (10-krotny). Wynik w tym wypadku był taki sam, jak z błękitem metylenowym. Roztwór 1.10^{-5} błękitu toluidyny wywierał słabe działanie, 1.10^{-6} — żadnego.

Tabela 4

Stężenie	0 godz.	1 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
1.10^{-1}	59.10^7	26.10^6	17.10^5	728	0	0	0	0
1.10^{-2}	66.10^6	41.10^6	28.10^6	12.10^6	23.10^5	21.10^4	23.10^4	22.10^4
1.10^{-3}	55.10^6	38.10^6	22.10^6	18.10^6	16.10^6	13.10^6	43.10^5	28.10^5
1.10^{-4}	48.10^6	—	—	—	45.10^6	32.10^6	28.10^6	22.10^6
1.10^{-5}	99.10^6	—	—	49.10^6	39.10^6	42.10^6	42.10^6	35.10^6
1.10^{-6}	3.10^7	—	—	34.10^6	29.10^6	33.10^6	28.10^6	26.10^6

B. Ciemnia (tab. 4): Błękit toluidyny 0,1% w ciemni dawał identyczny efekt jak w świetle, natomiast 0,01% wywierał słaby wpływ w tych warunkach (300 razy). Niższe stężenia nie dały dodatnich wyników.

3. Eozyna

Tabela 5

Stężenie	0 godz.	1 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
1.10^{-1}	19.10^7	58.10^6	13.10^5	33.10^4	29.10^3	73	0	0
1.10^{-2}	19.10^7	—	—	87.10^4	22.10^4	6.10^3	250	270
1.10^{-3}	94.10^6	—	—	17.10^6	22.10^5	13.10^5	78.10^4	68.10^4
1.10^{-4}	71.10^6	—	—	27.10^6	32.10^6	29.10^6	24.10^6	82.10^5
1.10^{-5}	24.10^6	—	—	25.10^6	28.10^6	21.10^6	22.10^6	24.10^6

A. Światło (tab. 5): Z 3 badanych barwników eozyna wykazała najslabsze działanie bakteriobójcze w stosunku do OX_{10} .

Warszawa. W 0,1% roztworze pałeczki zaczynały ginąć dopiero po 3 godzinach, a zupełne wyjałowienie następowało po 12—36 godzinach.

Eozyna 0,01% nie zawsze zabijała wszystkie bakterie do 48 godzin (w 2 na 3 doświadczenia). Stężenia 1.10^{-3} i 1.10^{-4} wywierały słabe działanie, a 1.10^{-5} — żadnego.

Tabela 6

Stężenie	0 godz.	1 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
1.10^{-1}	19.10^7	—	35.10^6	17.10^6	49.10^5	34.14^5	27.10^5	31.11^5
1.10^{-2}	19.10^7	—	—	36.10^6	27.10^6	25.10^6	2.10^7	22.10^6
1.10^{-3}	94.10^6	—	—	46.10^6	3.10^7	36.10^6	36.10^6	31.10^6
1.10^{-4}	71.10^6	—	—	42.10^6	39.10^6	36.10^6	34.10^6	34.10^6
1.10^{-5}	24.10^6	—	—	28.10^6	27.10^6	25.10^6	23.10^6	23.10^6

B. Ciemnia (tab. 6): Eozyna w tych warunkach wywierała pewien wpływ jedynie w rozcieńczeniu 1.10^{-1} .

4. Kontrola.

Spadek liczby żywych pałeczek OX₁₉ w zawiesinie kontrolnej w ciągu 48 godzin był nieznaczny. Podajemy średnie ze wszystkich naszych doświadczeń. Po 0 mieliśmy przeciętnie 38.10^6 , po 24 godzinach — 33.10^6 i po 48 godz. — 32.10^6 .

III. WAHANIA WRAŻLIWOŚCI PAŁECZKI ODMIENCA OX₁₉ — WARSZAWA NA DZIAŁANIE BARWNIKÓW

W poprzednim rozdziale wspomnieliśmy, że niektóre doświadczenia nie mogły być brane pod uwagę przy ustalaniu średnich, gdyż przebieg ich zbyt się różnił od pozostałych. Pomijając nawet przypadki skrajnie odbiegające od przeciętnych należy stwierdzić, że wyniki, szczególnie przy użyciu niższych stężeń barwnika, wykazywały znaczne wahania zarówno w szybkości spadku liczby żywych pałeczek jak i efekcie końcowym (po 48 godzinach). Podamy kilka przykładów. Bierzymy tylko doświadczenia w ciemni, by uniknąć zarzutu, że mogła tu odgrywać rolę siła światła. Różnice wrażliwości nie mogły wiązać się ani z wiekiem hodowli, ani z ciepłotą otoczenia, gdyż oba wymienione czynniki w trakcie naszej pracy nie ule-

galy istotnym zmianom. Podobne zjawisko obserwowaliśmy swego czasu w doświadczeniach przeprowadzanych z *R. prowazeki*.

Celem otrzymania istotnego obrazu działania środka bakterio-bójczego musimy eksperyment powtarzać kilkakrotnie i dopiero na tej podstawie ustalać wynik ostateczny.

Tabela 7
Działanie 0,01% błękitu metylenowego w ciemni

0 godz.	1 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
32.10 ⁶	14.10 ⁶	33.10 ⁵	110	0	0	0	0
13.10 ⁷	23.18 ⁶	8.10 ⁴	51.10 ⁴	62.10 ²	—	48.10 ²	—
72.10 ⁶	53.10 ⁶	11.10 ⁶	13.10 ⁶	65.10 ⁴	25.10 ³	53.10 ¹	85.10 ¹
16.10 ⁷	11.10 ⁶	14.10 ⁶	32.10 ⁵	32.10 ⁵	22.10 ⁴	37.10 ⁴	35.10 ⁴
38.10 ⁶	11.10 ⁴	11.10 ³	80	0	0	0	0

Tabela 8
Działanie 0,01% błękitu toluidyny w ciemni

0 godz.	1 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
13.10 ⁷	48.10 ⁶	26.10 ⁶	3.10 ⁶	52.10 ⁴	57.10 ⁴	57.10 ⁴	55.10 ⁴
33.10 ⁶	35.10 ⁶	19.10 ⁶	58.10 ⁵	19.10 ⁵	36.10 ¹	16	0
41.10 ⁶	4.10 ⁷	38.10 ⁶	28.10 ⁶	63.10 ⁵	51.10 ³	51.10 ³	51.10 ³

IV. DZIAŁANIE BARWNIKÓW NA ODMIEŃCA OX₁₉ W ZALEŻNOŚCI OD SZCZEPU

OX₁₉ — Warszawa jest szczepem używanym w Państwowym Zakładzie Higieny do wykonywania odczynu Weil-Felixa. Celem utrzymania formy S pasażuje się go co 3 miesiące przez świnki morskie. Odznacza się on dużą stałością cech biologicznych. Do naszych badań dostaliśmy go raz w kwietniu, drugi raz we wrześniu 1950 roku.

Szczepy: berliński, londyński i praski otrzymaliśmy z muzeum Stat. Zdr. Ustawu w Pradze za pośrednictwem PZH w Warszawie. Kontrola serologiczna i biochemiczna przeprowadzona przez dr Meislową potwierdziła, że są to szczepy odmieńca OX₁₉.

W pracowni rickettsyjowej Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej prowadziliśmy ich hodowlę na 2 rodzajach agarów: 1. przygotowywany na bulionie mięsny i 2. na wyciągu drożdżowym. Po kilku pasażach zwróciliśmy uwagę, że szczepy OX₁₉, praski i londyński, na podłożu z wyciągiem drożdżowym dały wzrost typowy dla form H. Badania mikroskopowe potwierdziły nasze spostrzeżenia. Dalsze obserwacje wykazały, że i na agarze z bulionem mięsny, choć o wiele rzadziej, tworzyły się sporadyczne kolonie form H. W jednym z doświadczeń to samo zjawisko wystąpiło ze szczepem berlińskim. Z dotychczasowych naszych badań wynika, że niezbędnym warunkiem do powstania postaci H jest odpowiednia wilgotność atmosfery, w jakiej znajduje się hodowla. Zagadnienie tworzenia się form H z O jest przedmiotem naszych dalszych badań.

1. Błękit metylenowy.

Doświadczenia nad działaniem błękitu metylenowego na 4 wyżej wymienione szczepy odmieńca przeprowadziliśmy w 2 seriach. W pierwszej badaliśmy kolejno OX₁₉, londyński, berliński i praski w porównaniu z warszawskim. Ten ostatni traktowaliśmy jako standart. W drugiej serii wykonaliśmy 3 doświadczenia ze wszystkimi szczepami jednocześnie. Używaliśmy błękitu metylenowego w 2 rozcieńczeniach: $1 \cdot 10^{-1}$ i $1 \cdot 10^{-2}$. Badania przeprowadziliśmy zarówno w świetle jak i w ciemni. Posiewy zawiesin z barwnikiem robiliśmy po 0, 3, 6, 12, 24, 36 i 48 godzinach, kontrolnych — po 0, 24 i 48 godzinach.

A. Szczep „Lister“ (Londyn). W pierwszej serii błękit metylenowy 0,1% wyjąłowił zawiesinę szczepu londyńskiego

Tabela 9

Działanie błękitu metylenowego na szczepy: „Lister” i „Warszawa” w świetle

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Lister	$1 \cdot 10^{-1}$	44.10 ⁶	71.10 ⁵	5.10 ³	16	0	0	0
	$1 \cdot 10^{-2}$	44.10 ⁶	12.10 ⁶	16.10 ⁵	41.10 ⁴	24.10 ⁴	25.10 ⁴	29.10 ⁴
Warszawa	$1 \cdot 10^{-1}$	38.10 ⁶	45.10 ⁵	84	0	0	0	0
	$1 \cdot 10^{-2}$	38.10 ⁶	11.10 ⁵	0	0	0	0	0

Tabela 10

Działanie błękitu metylenowego na szczep: „Lister” i „Warszawa” w ciemni

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Lister	1.10^{-1}	44.10 ⁶	22.10 ⁶	12.16 ⁴	74.10 ²	170	160	160
	1.10^{-2}	44.10 ⁶	16.10 ⁶	13.10 ⁵	12.10 ⁵	28.10 ⁴	24.10 ⁴	24.10 ⁴
Warszawa	1.10^{-1}	38.10 ⁶	65.10 ³	15	0	0	0	0
	1.10^{-2}	38.10 ⁶	5.10 ²	0	0	0	0	0

w świetle (tabl. 9) po 24 godzinach, warszawskiego — po 12, natomiast w ciemni (tabl. 10) nie dał ze szczepem „Lister” całkowicie dodatniego wyniku do 48 godzin. Roztwór 1.10^{-2} spowodował zarówno w świetle (tabl. 9), jak i w ciemni (tabl. 10) jedynie 100-krotny spadek liczby żywych pałeczek szczepu londyńskiego. Warszawski natomiast pod wpływem 0,01% błękitu metylenowego zginął i w świetle i w ciemni w ciągu 6 godzin.

W drugiej serii wyniki były słabsze: ani razu nie doszło do wyjałowienia zawiesiny OX₁₉ „Lister” w 0,1% błękitie metylenowym. Przeciętny spadek w świetle (tabl. 15) był stokrotny, w ciemni (tabl. 16) — dziesięciokrotny. Identycznie podziałał roztwór 1.10^{-2} . Należy podkreślić, że wyniki ze szczepem warszawskim były również nieco słabsze, gdyż stężenie 1.10^{-2} w ciemni nie doprowadziło do zabicia wszystkich pałeczek.

B. Szczep „Koch” (Berlin). W pierwszej serii doświadczeń (tabl. 11 i 12) błękit metylenowy nie wyjałowił zawiesin szcze-

Tabela 11

Działanie błękitu metylenowego na szczep: „Koch” i „Warszawa” w świetle

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Koch	1.10^{-1}	41.10 ⁶	11.10 ⁵	99.10 ³	8.10 ³	4550	4550	—
	1.10^{-2}	41.10 ⁶	3.10 ⁶	18.10 ⁴	8.10 ⁴	55.10 ³	55.10 ³	—
Warszawa	1.10^{-1}	48.10 ⁶	38.10 ⁴	1,5	0	0	0	—
	1.10^{-2}	48.10 ⁶	6550	55	0	0	0	—

Tabela 12

Działanie błękitu metylenowego na szczepy: „Koch” i „Warszawa” w ciemni

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Koch	1.10^{-1}	41.10 ⁶	55.10 ⁵	74.10 ⁵	55.10 ²	23.10 ²	415	—
	1.10^{-2}	41.10 ⁶	86.10 ⁵	84.10 ⁴	—	—	96.10 ⁴	—
Warszawa	1.10^{-1}	48.10 ⁶	44.10 ⁴	3	0	0	0	—
	1.10^{-2}	48.10 ⁶	2.10 ⁶	26.10 ³	8.10 ²	8.10 ²	8.10 ²	—

pu berlińskiego. W stosunku do warszawskiego barwnik wykazał normalną aktywność, jedynie słabszy wynik otrzymaliśmy z 0,01% roztworem w ciemni. Szczep „Koch” okazał się więc mniej wrażliwy od szczepu „Lister”. Odmienny rezultat mieliśmy w drugiej serii. W jednym z trzech wykonanych przez nas doświadczeń nastąpiło w ciągu 24 godzin wyjałowienie zawiesiny OX₁₉ „Koch” w świetle pod wpływem 0,1% błękitu metylenowego. To samo stężenie w ciemni zabiło również niemal wszystkie pałeczki. Równoległy wynik z OX₁₉ „Lister” był o wiele słabszy. Przeciętne średnie (tabl. 15 i 16) obu szczepów nie wykazują istotnych różnic. Należy poza tym podkreślić, że OX₁₉ „Koch” parokrotnie silniej zareagował na stężenie 1.10^{-2} niż na rozcieńczenie 1.10^{-1} .

C. Szczep „Praga”. Szczep praski we wszystkich naszych doświadczeniach (tabl. 13, 14, 15, 16) wykazał niewielką wrażliwość na działanie błękitu metylenowego.

Tabela 13

Działanie błękitu metylenowego na szczepy: „Praga” i „Warszawa” w świetle

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Praga	1.10^{-1}	38.10 ⁶	23.10 ⁶	12.10 ⁶	16.10 ⁴	72.10 ²	59.10 ²	54.19 ²
	1.10^{-2}	38.10 ⁶	24.10 ⁶	64.10 ⁵	32.10 ⁵	91.10 ⁴	81.10 ⁴	41.10 ⁴
Warszawa	1.10^{-1}	41.10 ⁶	21.10 ⁵	520	0	0	0	6
	1.10^{-2}	41.10 ⁶	31.10 ⁵	16.10 ²	0	0	0	0

Tabela 14

Działanie błękitu metylenowego na szczep: „Praga” i „Warszawa” w ciemni

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Praga	$1 \cdot 10^{-1}$	38,10 ⁶	26,10 ⁶	28,10 ⁶	9,10 ⁴	22,10 ⁴	17,10 ⁴	18,10 ⁴
	$1 \cdot 10^{-2}$	38,10 ⁶	28,10 ⁶	18,10 ⁶	18,10 ⁶	65,10 ⁴	53,10 ⁴	43,10 ⁴
Warszawa	$1 \cdot 10^{-1}$	41,10 ⁶	28,10 ⁵	2,0	0	0	0	0
	$1 \cdot 10^{-2}$	41,10 ⁶	41,10 ⁵	28,10 ⁵	74,10 ⁴	12,10 ²	84	84

Tabela 15

Działanie błękitu metylenowego na szczep OX₁₉ w świetle

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Warszawa	$1 \cdot 10^{-1}$	55,10 ⁶	12,10 ⁵	0	0	0	0	0
	$1 \cdot 10^{-2}$	55,10 ⁶	24,10 ⁵	26	0	0	0	0
Lister	$1 \cdot 10^{-1}$	41,10 ⁶	31,10 ⁶	1,10 ⁷	2,10 ⁶	11,10 ⁵	79,10 ⁴	52,10 ⁴
	$1 \cdot 10^{-2}$	41,10 ⁶	32,10 ⁶	15,10 ⁶	35,10 ⁵	26,10 ⁵	16,10 ⁵	79,10 ⁴
Koch	$1 \cdot 10^{-1}$	29,10 ⁶	11,10 ⁶	33,10 ⁶	22,10 ⁵	13,10 ⁵	19,10 ⁴	11,10 ³
	$1 \cdot 10^{-2}$	29,10 ⁶	17,10 ⁶	11,10 ⁶	18,19 ⁴	14,10 ⁴	15,10 ⁴	14,10 ⁴
Praga	$1 \cdot 10^{-1}$	42,10 ⁶	43,10 ⁶	31,10 ⁶	24,10 ⁵	93,10 ⁴	85,10 ⁴	85,10 ⁴
	$1 \cdot 10^{-2}$	42,10 ⁶	34,10 ⁶	32,10 ⁶	68,10 ⁵	28,10 ⁵	31,10 ⁵	27,10 ⁵

Tabela 16

Działanie błękitu metylenowego na szczep OX₁₉ w ciemni

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Warszawa	$1 \cdot 10^{-1}$	55,10 ⁶	22,10 ⁵	2	0	0	0	0
	$1 \cdot 10^{-2}$	55,10 ⁶	25,10 ⁶	53,10 ⁵	85,10 ⁴	37,10 ³	16,10 ⁴	16,10 ³

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Lister	1.10^{-1}	41.10 ⁶	3.10 ⁷	14.10 ⁶	38.10 ⁵	19.10 ⁵	19.10 ⁵	19.10 ⁵
	1.10^{-2}	41.10 ⁶	3.10 ⁷	19.10 ⁶	68.10 ⁵	46.10 ⁵	38.10 ⁵	34.10 ⁵
Koch	1.10^{-1}	29.10 ⁶	12.10 ⁶	46.10 ⁵	32.10 ⁵	31.10 ⁵	4.70 ⁶	17.10 ⁵
	1.10^{-2}	29.10 ⁶	13.10 ⁶	44.10 ⁵	61.10 ⁴	17.10 ⁴	18.10 ⁴	19.10 ⁴
Praga	1.10^{-1}	42.10 ⁶	33.10 ⁶	16.10 ⁶	39.10 ⁵	3.10 ⁶	31.10 ⁵	29.10 ⁵
	1.10^{-2}	42.10 ⁶	36.10 ⁶	27.10 ⁶	19.10 ⁶	63.10 ⁵	44.10 ⁵	37.10 ⁵

2. Błękit toluidyny.

Z błękitem toluidyny wykonaliśmy 3 doświadczenia (tabl. 17 i 18) ze wszystkimi szczepami jednocześnie w sposób analogiczny jak z błękitem metylenowym.

A. Szczep „Lister“. Błękit toluidyny okazał się w stosunku do szczepu londyńskiego o wiele bardziej aktywny niż błękit metylenowy. Roztwór 0,1% dwukrotnie wyjałowił zawiesinę „Lister“ zarówno w świetle jak i w ciemni w ciągu 24 godzin, a 0,01% — jednokrotnie w 36 godzinach. Błękit toluidyny 0,01% dał bardzo różne wyniki, wykazując raz silne, drugi raz stosunkowo słabe działanie bakteriobójcze w stosunku do szczepu londyńskiego. Należy podkreślić, że rezultaty otrzymane ze szczepem warszawskim były gorsze niż w dawniejszych doświadczeniach.

B. Szczep „Koch“. Szczep berliński dał identyczne wyniki ze szczepem warszawskim, a nawet chwilami okazał się wrażliwszy. Błękit toluidyny, jak z tego wynika, i tu był bardziej czynny od błękitu metylenowego.

C. Szczep „Praga“. Szczep praski dał wyniki dość podobne z londyńskim. Tu również 0,1% roztwór barwnika spowodował dwukrotne wyjałowienie zawiesiny w świetle, a trzykrotne w ciemni. Nieco słabsze rezultaty otrzymaliśmy w stosunku do OX₁₉ — Praga z rozcieńczeniem 1.10^{-2} , gdyż nie doszło tu nigdy do zabicia wszystkich pałeczek w ciągu 48 godzin. Należy podkreślić, że w jednym z doświadczeń wynik w ciemni był pomyślniejszy niż w świetle.

Tabela 17
Działanie błękitu toluidyny na szczepy OX₁₉ w świetle

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Warszawa	1.10 ⁻¹	41.10 ⁶	2.10 ⁶	14.10 ⁵	0	0	0	0
	1.10 ⁻²	41.10 ⁶	32.10 ⁵	14.10 ⁶	38.10 ⁴	13.10 ⁴	24.10 ⁵	32.10 ⁵
Lister	1.10 ⁻¹	42.10 ⁶	2.10 ⁷	54.10 ⁵	21.10 ⁴	11.10 ³	17.10 ³	24.10 ³
	1.10 ⁻²	42.10 ⁶	33.10 ⁶	24.10 ⁶	47.10 ⁵	45.10 ⁵	44.10 ⁵	16.10 ⁵
Koch	1.10 ⁻¹	29.10 ⁶	23.10 ⁵	19.10 ⁴	0	0	0	0
	1.10 ⁻²	29.10 ⁶	13.10 ⁶	32.10 ⁵	21.10 ⁴	31.10 ³	9.10 ³	7.10 ³
Praga	1.10 ⁻¹	41.10 ⁶	11.10 ⁶	38.10 ⁵	17.10 ⁴	9.10 ³	2.10 ³	2.10 ³
	1.10 ⁻²	41.10 ⁶	37.10 ⁶	25.10 ⁶	34.10 ³	29.10 ⁵	1.10 ⁶	9.10 ⁵

Tabela 18
Działanie błękitu toluidyny na szczepy OX₁₉ w ciemni

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Warszawa	1.10 ⁻¹	41.10 ⁶	34.20 ⁵	21.10 ³	0.7	0	0	0
	1.10 ⁻²	41.10 ⁶	32.10 ⁶	18.11 ⁶	47.10 ⁵	17.10 ⁵	17.10 ⁵	16.10 ⁵
Lister	1.10 ⁻¹	42.10 ⁶	27.10 ⁶	36.10 ⁵	18.10 ⁴	11.10 ²	60	37
	1.10 ⁻²	42.10 ⁶	3.10 ⁷	2.10 ⁷	7.10 ⁶	41.10 ⁵	32.10 ⁵	32.10 ⁵
Koch	1.10 ⁻¹	29.10 ⁶	47.10 ⁵	17.10 ⁴	6	0	0	0
	1.10 ⁻²	29.10 ⁶	21.10 ⁶	33.10 ⁵	11.10 ⁵	16.10 ⁵	54.10 ⁴	61.10 ⁴
Praga	1.10 ⁻¹	41.10 ⁶	19.10 ⁶	22.10 ⁵	13.10 ⁴	16.10 ²	160	0
	1.10 ⁻²	41.10 ⁶	35.10 ⁶	27.10 ⁶	49.10 ⁵	32.10 ⁵	16.10 ⁶	16.10 ⁵

3. Eozyna.

Z eozyną wykonano również 3 doświadczenia (tabl. 19 i 20) podobnie jak z poprzednimi barwnikami.

Tabela 19
Działanie eozyny na szczepy OX₁₀ w świetle

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Warszawa	1.10 ⁻¹	34.10 ⁶	16.10 ⁶	94.10 ⁵	2.10 ⁶	18.10 ⁵	17.10 ⁴	21.10 ³
	1.10 ⁻²	34.10 ⁶	1.10 ⁷	5.10 ⁶	5.10 ⁶	37.10 ⁴	59.10 ³	18.10 ³
Lister	1.10 ⁻¹	29.10 ⁶	38.10 ⁴	5.10 ⁴	33.10 ³	21.10 ²	49.10 ²	48.10 ²
	1.10 ⁻²	29.10 ⁶	25.10 ⁵	79.10 ³	94.10 ²	54.10 ²	4.10 ²	220
Koch	1.10 ⁻¹	31.10 ⁶	69.10 ⁴	46.10 ⁴	21.10 ⁴	14.10 ⁴	1.10 ⁵	77.10 ³
	1.10 ⁻²	31.10 ⁶	29.10 ⁵	29.10 ⁴	27.10 ³	4.10 ⁴	38.10 ²	36.10 ²
Praga	1.10 ⁻¹	32.10 ⁶	46.10 ⁴	66.10 ³	29.10 ³	29.10 ³	14.10 ³	14.10 ³
	1.10 ⁻²	32.10 ⁶	22.10 ⁵	15.10 ⁴	88.10 ³	16.10 ³	85.10 ²	580

Tabela 20
Działanie eozyny na szczepy OX₁₀ w ciemni

Czas posiewu		0 godz.	3 godz.	6 godz.	12 godz.	24 godz.	36 godz.	48 godz.
Szczep	Stężenie barwnika							
Warszawa	1.10 ⁻¹	34.10 ⁶	14.10 ⁶	12.10 ⁶	78.10 ⁵	75.10 ⁵	39.10 ⁵	13.10 ⁵
	1.10 ⁻²	34.10 ⁶	32.10 ⁶	26.10 ⁶	19.10 ⁶	12.10 ⁶	11.10 ⁶	11.10 ⁶
Lister	1.10 ⁻¹	29.10 ⁶	24.10 ⁶	71.10 ⁴	71.10 ⁴	82.10 ⁴	74.10 ³	61.10 ⁴
	1.10 ⁻²	29.10 ⁶	19.10 ⁶	17.10 ⁶	83.10 ⁵	83.10 ⁵	48.10 ⁵	47.10 ⁵
Koch	1.10 ⁻¹	31.10 ⁶	98.10 ⁴	51.10 ⁴	45.10 ⁴	45.10 ⁴	45.10 ⁴	45.10 ⁴
	1.10 ⁻²	31.10 ⁶	11.10 ⁶	1.10 ⁷	51.10 ⁵	53.10 ⁵	21.10 ⁵	3.10 ⁴
Praga	1.10 ⁻¹	32.10 ⁶	22.10 ⁵	11.10 ⁵	9.10 ⁶	44.10 ⁴	29.10 ⁴	29.10 ⁴
	1.10 ⁻²	32.10 ⁶	28.10 ⁶	29.10 ⁶	11.10 ⁶	91.10 ⁵	85.10 ⁵	74.10 ⁵

A. Szczep „Lister“. Eozyna w stosunku do szczepu warszawskiego w tej serii doświadczeń okazała się na ogół mało aktywna. Zaledwie raz i to tylko w świetle roztwory 0,1% i 0,01% doprowadziły do wyjałowienia zawiesin. W pozostałych otrzymaliśmy rezultaty raczej słabe. Szczep „Lister“ był bardziej wrażliwy na działanie eozyny niż „Warszawa“. Dowodem na to są wyniki poszczególnych doświadczeń i średnie przytoczone na tablicach 19 i 20. Na uwagę zasługuje działanie 0,01% roztworu, który w świetle okazał się bardziej bakteriobójczy niż 0,1%. OX₁₉ „Lister“ był wrażliwszy na działanie eozyny niż błękitu metylenowego, ale najsilniej nań działał błękit toluidyny.

B. Szczep „Koch“. Szczep berliński wykazał w stosunku do eozyny wrażliwość podobną do warszawskiego, a może nawet nieco większą. Zauważyliśmy, że roztwór 0,01% w świetle działa silniej niż 0,1%. W ciemni stwierdziliśmy sytuację odwrotną.

C. Szczep „Praga“. Szczep praski dał na ogół wyniki zbliżone do londyńskiego, choć chwilami nieco słabsze.

V. OMÓWIENIE WYNIKÓW

W pracy naszej stwierdziliśmy, że OX₁₉ jest podatny na działanie błękitu metylenowego, błękitu toluidyny i eozyny. Niewątpliwie wyniki są bez porównania słabsze niż z *R. prowazeki*.

Ten sam szczep odmieńca OX₁₉ wykazuje bardzo duże wahania wrażliwości na wyżej wymienione barwniki. Również ogromne różnice występują między szczepami pochodzącymi z poszczególnych laboratoriów. Zbadaliśmy 4 szczepy: warszawski, londyński, berliński i praski. W stosunku do błękitu metylenowego podatność ich możnaby ustalić według następującej kolejności: „Warszawa“, „Koch“, „Lister“, „Praga“. Z błękitem toluidyny wynik był podobny, z tym, że „Koch“ dawał chwilami lepszy rezultat niż „Warszawa“.

Zupełnie odmiennie ukształtował się obraz doświadczeń z eozyną. Tu najwrażliwszym okazał się szczep „Lister“, po nim szły „Praga“, „Koch“ i „Warszawa“. Szczep warszawski był najbardziej zbliżony do berlińskiego, a londyński do praskiego.

Zjawiskiem godnym uwagi było pojawienie się postaci H głównie w hodowlach OX₁₉ „Lister“ i OX₁₈ „Praga“, a o wiele rzadziej OX₁₉ „Koch“, a nigdy OX₁₈ „Warszawa“.

Zagadnienie, czy istnieje łączność między wrażliwością poszczególnych szczepów na barwniki i zdolnością wytwarzania form H, wymaga dalszych badań.

С. Крыньски и Е. Бецля

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ КРАСИТЕЛЕЙ НА *B. PROTEUS* OX₁₉

СОДЕРЖАНИЕ

В своей работе авторы исследовали действие метиленовой сини, толуидиновой сини и эозина на штаммы *B. proteus* OX₁₉. Варшавский штамм был принят за стандартный, а штаммы, происходящие из „Stat. Zdrow. Ustaw.“ в Праге, Института Листера в Лондоне и Института Роберта Коха в Берлине служили для целей сравнения.

0,1% и 0,01% растворы метиленовой сини стерилизовали суспензию OX₁₉ — Варшава за 24 часа, а временами даже за 6 часов. Раствор 0,001% действовал медленнее, до 24 — 48 часов; более низкие концентрации не давали полной стерилизации до 48 часов, вызывая однако уменьшение числа живых палочек. 0,1% раствор действовал в темноте также как и на свету, более низкие концентрации обнаруживали в темноте значительно более слабое действие чем на свету. Толуидиновая синь действовала немного слабее чем метиленовая синь, особенно в темноте. Еще более слабое действие оказывал эозин на Варшавский штамм.

Проведя несколько серийных исследований с Варшавскими штаммами, авторы пришли к убеждению, что чувствительность его к красителям подвергается значительным колебаниям. Это особенно сильно заметно при применении низких концентраций красителя.

Обнаруживаются большие различия между отдельными штаммами. Наиболее чувствительным по отношению к метиленовой сини оказался Варшавский штамм, менее чувствительным — Берлинский, затем Лондонский, а Пражский обнаружил незначительную чувствительность к действию этого красителя. Подобные результаты были получены с толуидиновой синью, причем Берлинский штамм временами давал лучшие результаты чем Варшавский. Совершенно обратные результаты были получены при применении эозина. Здесь наиболее восприимчивым оказался Лондонский штамм, затем Пражский, Берлинский и Варшавский.

Очень интересным явлением было появление форм Н главным образом в культурах штаммов OX₁₉ Лондонского и Пражского, в виде исключения Берлинского и ни разу Варшавского. Переход форм О в Н происходил главным образом на агаре, приготовленном на дрожжевых вытяжках и в виде исключения

на мясных вытяжках. Непременным условием являлась большая влажность воздуха, в котором культивировались штаммы.

Проблема существования связи между восприимчивостью отдельных штаммов к исследуемым красителям и способностью образования форм H из форм O является неразрешенной и составит предмет ладнейших исследований авторов.

S. Kryński and E. Becla

RESEARCHES ON THE EFFECT OF CERTAIN DYES ON PROTEUS OX₁₉

We have taken into consideration in our researches the effect of methylene blue, toluidine blue and eosine upon the strains OX₁₉. We have treated the Warsaw strain as a standard one and the strains coming from the Stat. Zdrow-Ustaw in Praha, Lister Institute in London and Robert Koch Institute in Berlin have been used for comparison aims.

The methylene blue 0,1% and 0,01% has sterilized the emulsion OX₁₉ Warsaw in the time up to 24 hours, and sometimes even up to 6 hours. The solution 0,001% had a slower effect, in the time up to 24 — 48 hours; lower concentrations did not sterilize the emulsion completely up to 48 hours, causing the decrease of the number of living bacilli. In the darkness the 0,1% solution had the same influence as in the light; the lower concentrations, however, have shown a considerably weaker effect in the darkness than in the light. The toluidine blue had a somewhat weaker effect than the methylene blue, especially in darkness. A still weaker effect has been that of eosin in relation to the Warsaw strain.

In several suggestive experiments with the Warsaw strain we have found out that its susceptibility to dyes varies considerably. It is to be noted with an especial strength when the lower concentrations of the dye are used.

Considerable differences appear among separate strains. In relation to the methylene blue the most susceptible proved to be the Warsaw strains. less susceptible — the Berlin strain, after it — the London one. The Praha strain has shown an inconsiderable susceptibility to the effect of that dye.

Similar results have been obtained by us with the toluidine blue; besides the Berlin strain has given sometimes better results than the Warsaw one. The situation methylene blue the most susceptible proved to be the Warsaw strain, less susceptible to be the London strain, followed by Praha, Berlin and Warsaw strains.

A very interesting phenomenon has been the appearance of the form H, mostly in the cultures of the strains OX₁₉: London and Praha ones; exceptionally, in the Berlin strain and never in the Warsaw strain. The transformation of the form O into H has taken place mostly upon the agar prepared over the yeast extract; exceptionally — with the meat extract. An indispensable factor was to be found in the great moisture of the atmosphere in which the strains had been cultivated.

A problem whether there is a connection between the susceptibility of separate strains to the dyes investigated by us and the capability to create the form H out of the form O, is an open one and will constitute a subject of our further researches.

Stefan Kryński

WPLYW KARMICIELA NA PRZEBIEG ZAKAŻANIA R. PROWAZEKI WE WSZY

Wśród szeregu zagadnień związanych z produkcją szczepionki Weigla duże znaczenie posiada problem karmicieli wszy zakażonych. Od dawna zwrócono uwagę, że materiał szczepionkowy pochodzący od różnych krwiodawców wykazuje często poważne różnice w stopniu zakażenia. Także i liczba dni upływająca od chwili wstrzyknięcia zawiesiny do czasu całkowitej likwidacji klatki bywa bardzo różna. Naturalnie należy tu wykluczyć szereg momentów dodatkowych, jak zjadliwość szczepu (11), stężenie zarazka w zawieszynie (11), zagadnienia techniczne związane z zakażaniem wszy (15) i ich hodowlą (10).

Prowadząc produkcję szczepionki przeciw durowi plamistemu met. Weigla w Lublinie (1945-46) postanowiłem przeprowadzić masowy eksperyment oparty na całokształcie produkcji Zakładu i opracowany teoretycznie w Instytucie prof. Weigla we Lwowie (1942-44). Dzięki wysiłkowi całego zespołu Zakładu w Lublinie, starannej kontroli i odpowiednio przygotowanym zawieszynom (12) można z dużym prawdopodobieństwem otrzymane wyniki związać z osobą karmiciela wszy zakażonych.

W doświadczeniu wzięto pod uwagę następujące dane: wiek, płeć, odżywienie, grupę krwi, ilość hemoglobiny, liczbę czerwonych ciałek krwi, przebycie duru plamistego, karmienie wszy zakażonych przed okresem doświadczalnym, ogólną liczbę wykarmionych wszy, czasokres karmienia, przeciętną miesięczną. W wynikach uwzględniono przeciętny stopień zakażenia, czas karmienia i „wskaźnik wydajności“. Postaram się pokrótce omówić poszczególne punkty:

1. Wiek. Karmicielami byli na ogół ludzie młodzi. Wiek wahał się w granicach 22—35 lat, jedynie trzy osoby były starsze (38, 39 i 61 lat). Na podstawie otrzymanych wyników nie stwierdziliśmy, by wiek odgrywał rolę w naszym doświadczeniu. Identyczny wskaźnik mieli 17 (24 lata) i 14 (61 lat).

2. Płeć. Mężczyzn było 13, kobiet 8. Tu również nie stwierdziliśmy żadnych istotnych różnic. Wskaźnik dla mężczyzn wynosił przeciętnie 1,33 a dla kobiet — 1,3.

3. Odżywienie. Pod słowem odżywienie rozumiem stosunek wagi do wzrostu. Bardzo dobre oznacza otyłość (waga ponad 90 kg), dobre — prawidłowy stosunek wagi do wzrostu, średnie — waga poniżej normy, słabe — bardzo duża rozbieżność między wzrostem i wagą. W pierwszej grupie było 2 osoby, w drugiej — 12, w trzeciej — 6, w czwartej — 1. Należy tu podkreślić, że sposób odżywiania się i warunki życiowe wszystkich karmicieli nie różniły się w sposób zasadniczy. Przepiętne wskaźniki w poszczególnych grupach były następujące: I — 1,43, II — 1,35, III — 1,24, IV — 1,26.

4. Grupa krwi. Grupę A posiadało 4 karmicieli, B-5, AB-1 i 0-9, u 2 osób są mi nie znane. Wskaźnik dla osobników z grupą A wynosił 1,32, z B — 1,24, z AB — 1,35, i 0 — 1,28.

5. Hemoglobina i czerwone ciała krwi. Wyniki badania krwi, zarówno grup, jak i hemoglobiny i czerwonych ciałek krwi otrzymałem od lekarza Zakładu w Lublinie, dra med. *L. Tomaszewskiego*, który opracowywał zagadnienie wpływu karmienia wszy na ustrój człowieka (16). Badania przeprowadzano raz w miesiącu. Cyfry podane przeze mnie przedstawiają granicę, w jakich wahała się ilość hemoglobiny i liczba czerwonych ciałek krwi. Niestety wyniki są niezupełne, gdyż u 7 krwiodawców brak ścisłych danych. Jest mi tylko wiadomo, że karmiciele 4, 5, 6, 7, 14 i 23 nie wykazywali niedokrwistości. Badania u nich były przeprowadzane nieregularnie, więc nie zostały uwzględnione w pracy *Tomaszewskiego*. Co do 18 brak mi jest jakiegokolwiek danych. Karmicieli wszy zakażonych można podzielić na 3 grupy: I — nie wykazująca żadnych istotnych zmian we krwi, II — z obniżonym poziomem hemoglobiny do 70%, III — u których ilość hemoglobiny opadała poniżej 70%. Biorę tu głównie pod uwagę hemoglobinę, gdyż przy karmieniu wszy występuje niedokrwistość wtórna niedobarwliwa (16). W I grupie znajdowało się 16 osób, w II — 3, a w III — 1.

Możemy stwierdzić istnienie pewnej zależności między stanem krwi a intensywnością rozwoju rickettsji, gdyż spośród 3 osób II grupy tylko 1 (19 karm.) jest wśród krwiodawców dodatnich tj. posiadających wskaźnik powyżej 1,34. Karmicielka 22, która wykazywała szczególną nietolerancję układu krwiotwórczego na karmienie wszy, miała bardzo niski wskaźnik, wynoszący zaledwie 1,09.

6. Przebycie duru plamistego. Spośród 21 osób 13 przebyło objawowy dur plamisty, 6 objawowo nie chorowało, a u

2 brak mi danych. W grupie I wskaźnik wynosił 1,33, a w II — 1,3.

7. Karmienie wszy przed okresem doświadczalnym tj. w Instytucie prof. Weigla i Inst. Behringa we Lwowie w latach 1939-1944. Dawnych karmicieli wszy zakażonych było 12, nowych — 9. Wskaźnik dla grupy I wynosił 1,32, a dla II — również 1,32.

8. Liczba wykarmionych wszy zakażonych. Krwiodawców można podzielić na 3 grupy w zależności od liczby wykarmionych wszy: I — poniżej 100.000, II — od 100.000 do 300.000 i III — powyżej 300.000. W pierwszej było 6 osób, w drugiej — 8, a w trzeciej — 7. Przeciętny wskaźnik dla I grupy wynosił 1,31, dla II — 1,32, a dla III — 1,31.

9. Czasokres karmienia. Tu możemy krwiodawców podzielić na 2 grupy: I — karmiący poniżej 1 roku i II — powyżej 1 roku. W grupie pierwszej było 13 osób i średni wskaźnik wynosił 1,29, w drugiej — 8 przy wskaźniku 1,37.

10. Przeciętna miesięczna. Tu również podzieliłem karmicieli na 2 grupy: I — u której przeciętna miesięczna była poniżej 20.000, i II — powyżej tej liczby. Średni wskaźnik dla pierwszej wynosił 1,34, a dla drugiej — 1,3.

11. Przeciętny czas karmienia 1 klatki został obliczony na podstawie zeszytu karmiciela. Klatkę likwidowano, gdy liczba wszy czerwonych przekraczała 60—70%. Średnia ogólna Zakładu w Lublinie wynosząca 4,5 została otrzymana na podstawie całości kształtu produkcji.

12. Stopień zakażenia określano met. Weigla z materiału szczepionkowego. Wprowadzono skalę 1 do 14 (10). Średnia ogólna Zakładu wynosiła 5,9.

13. Wskaźnik wydajności. Jeśli przejrzymy tablicę, to stwierdzimy, że istnieją bardzo różne wyniki w czasie karmienia i stopniu zakażenia. Najkorzystniejszym karmicielem dla produkcji jest osobnik, u którego wszy zakażają się i szybko i silnie. Oba elementy: czas i końcowa liczba rickettsji razem wzięte stanowią dopiero podstawę do zakwalifikowania krwiodawcy do grupy dodatniej lub ujemnej. Celem uwzględnienia obu czynników wprowadzam wskaźnik wydajności, który otrzymuję dzieląc przeciętny stopień zakażenia przez przeciętną liczbę dni karmienia. Dla całego Zakładu w Lublinie wskaźnik wynosił 1,34. Krwiodawców, którzy wykazali wskaźnik wyższy zaliczam do grupy dodatniej, a którzy niższy — do ujemnej.

Jeśli przeanalizujemy całość, to stwierdzimy, że wiek, płeć, przebyty dur plamisty, liczba wykarmionych wszy, czasokres i przeciętna miesięczna nie mają istotnego znaczenia. Pewne różnice otrzymałem w zależności od grup krwi. Najlepsze wyniki mieli osobnicy z grupą A, najgorsze — z B. Zagadnienie to jednak wymagałoby dalszych badań, gdyż różnice mogą być tylko pozorne, niezależne w rzeczywistości od grup krwi.

Niewątpliwie da się stwierdzić pewną rolę ilości hemoglobiny i liczby czerwonych ciałek krwi. Może to być wpływ bezpośredni lub pośredni przez wesz. Jak wiadomo (9) hemoglobina posiada w życiu wszy duże znaczenie i u ludzi z niedokrwistością odżywianie się owada mogłoby być upośledzone. Jednak biorąc pod uwagę, że jakoś wszy zależy w pierwszym rzędzie od krwiodawcy, który karmił w okresie przed zakażeniem (12—14 dni), a nie od karmiciela zakażonych (4—6 dni) skłaniam się raczej do wpływu bezpośredniego.

Najbardziej istotne różnice wskaźnika otrzymałem w zależności od odżywienia. Jak zaznaczyłem waga naszych krwiodawców pozostawała w związku nie tyle z ich odżywianiem się, gdyż warunki życiowe były niemal identyczne, co z ich ogólną konstytucją.

Wyniki przytoczone w powyższej pracy mogą stanowić pewien przyczynek do zagadnienia powstawania obrazu klinicznego duru plamistego. Rozważając problem choroby zakaźnej bierzemy pod uwagę obok odporności zaatakowanego organizmu i zjadliwości zarazka również oporność (*resistentio*) czyli według innych autorów — odporność naturalną (*immunitas naturalis*). Jest ona związana nie z obecnością przeciwciał czynnie zwalczających drobnoustrój, lecz z brakiem substancji i fermentów koniecznych dla życia bakterii wzgl. wirusa lub z obecnością systemu enzymatycznego antagonistycznego w stosunku do czynnika chorobotwórczego (6). Zdaniem szeregu autorów oporność posiada bardziej zasadnicze znaczenia w powstawaniu i przebiegu choroby zakaźnej niż czynna obrona związana z przeciwciałami. Z zagadnieniem tym łączy się również działanie lecznicze środków chemoterapeutycznych (14).

Hamowanie lub pobudzanie wzrostu rickettsji jest związane z procesami metabolizmu komórki gospodarza. Dobre warunki rozwoju znajduje zarazek duru plamistego tam, gdzie poziom przemiany materii jest niski (3, 6, 7, 8). Nawiasem należy dodać, że z małymi wirusami, np. wirusem ostrego zapalenia rogów przednich sytuacja przedstawia się wręcz odwrotnie (2, 4, 5). Ogromną rolę w zakażeniu rickettsjowym odgrywają witaminy. Pinkerton

Numer karmiciela	Rok urodz.	Płeć	Odczynienie	Grupa krwi	Hemoglobina	Czerwone ciałka krwi	Czy chorował na objawy ourplamisty	Czy karmił dawniej wszy zakazone	Liczba wykarmionych wszy zakaz.	Czasokres karmienia	Przeciętne miesięczna	Przeciętne czas karmienia 1 klanki zakaz.	Przeciętne stopień zakażenia	Wskaźnik
1	1914	m	średnie	B	90 ⁰ / ₀	4.500.000—5.000.000	tak	tak	15.450	3	5.150	5,7	6,0	1,05
3	1919	m	dobre	A	100 ⁰ / ₀	5.000.000	tak	tak	439.400	18	24.411	4,5	5,7	1,27
4	1914	m	średnie	?	?	?	tak	nie	259.260	13	19.943	4,0	6,4	1,6
5	1915	m	średnie	O	?	?	?	tak	96.380	4	24.095	4,7	6,9	1,47
6	1915	m	dobre	A	?	?	tak	tak	115.220	6	19.203	4,5	6,8	1,51
7	1924	m	dobre	O	?	?	?	tak	103.590	6	17.265	4,8	6,0	1,25
8	1911	m	b. dobre	O	90—100 ⁰ / ₀	4 500.000—5.000.000	tak	tak	549.980	19	28.946	4,4	6,7	1,52
9	1922	m	dobre	B	95—100 ⁰ / ₀	4.500.000—5.500.000	nie	tak	163.780	9	18.198	4,9	6,1	1,24
10	1911	m	dobre	O	90—100 ⁰ / ₀	5.000.000	tak	tak	529.220	18	29.401	4,3	5,6	1,3
11	1922	m	średnie	A	90 ⁰ / ₀	4.000.000—4.500.000	tak	tak	492.050	19	25.897	4,3	5,2	1,21
13	1907	k	dobre	A	75—85 ⁰ / ₀	3.500.000—4.000.000	nie	tak	300.710	12	25.059	4,3	5,5	1,28
14	1885	k	b. dobre	O	?	?	tak	nie	43.890	7	6.270	4,5	6,1	1,35
16	1920	m	dobre	O	100 ⁰ / ₀	5.000.000	tak	nie	407.880	17	23.993	4,3	5,2	1,21
17	1921	m	dobre	AB	90 ⁰ / ₀	4.500.000	tak	nie	186.190	8	23.272	4,9	6,6	1,35
18	1923	k	średnie	O	?	?	tak	nie	24.600	5	4.920	5,9	5,9	1,00
19	1908	k	dobre	B	70—90 ⁰ / ₀	4.000.000—5.000.000	nie	nie	420.080	17	24.711	4,5	6,2	1,38
20	1920	k	dobre	B	80—90 ⁰ / ₀	4 0 0.000—5.000.000	nie	tak	158.360	14	11.311	4,7	6,7	1,43
21	1921	m	słabe	O	90—100 ⁰ / ₀	4.500.000—5.500.000	nie	tak	86.520	7	12.360	4,3	5,4	1,26
22	1922	k	średnie	B	50—80 ⁰ / ₀	4.000.000	nie	nie	188.430	9	20.937	4,6	5,5	1,09
23	1921	k	dobre	?	?	?	tak	nie	58.500	4	14.625	4,2	7,4	1,76
24	1922	k	dobre	O	70 ⁰ / ₀	3.500.000—4.000.000	tak	nie	264.730	9	29.414	4,4	4,9	1,11

i Bessey w 1939 r. (cyt. wg 6) stwierdzili, że komórki błony otrzewnowej szczura stają się wrażliwe na zakażenie rickettsjami wówczas, gdy pozbawimy go ryboflawiny. Podanie jej hamuje rozwój zarazka. Nie jest to działanie bezpośrednie, gdyż u myszki z natury wrażliwej na zakażenie rickettsjami ryboflawina zupełnie nie posiada leczniczego wpływu. Również brak witaminy C (cyt. wg 3) powoduje większą wrażliwość świnek morskich na zakażenie durem plamistym. Mechanizm działania PABA opiera się prawdopodobnie w głównej mierze na wzmożeniu procesów oddechowych komórki (6,8). Podobnie działa podwyższenie ciepłoty otoczenia (7,13). Cox (cyt. wg 7) wykazał, że liczba rickettsji w woreczku żółtkowym jest wyższa wówczas, gdy jaja trzyma się w $+35^{\circ}$ C., a nie w $+39^{\circ}$ C. Greiff i Pinkerton (7) w $+40^{\circ}$ C. otrzymali niemal zupełne zahamowanie wzrostu rickettsji.

Odwrotnie czynniki wpływające na obniżenie metabolizmu, jak fluorek sodu (6), cyanek potasu (7), sulfonamidy i niska ciepłota (7,13) sprzyjają rozwojowi zarazka duru plamistego.

Fitzpatrick (3) przeprowadziła badania nad wrażliwością szczurów żywionych deficytowo na zakażenie durem plamistym. Obniżenie oporności wiązało się u nich zarówno z brakiem białka, jak i witamin grupy B, szczególnie kwasu pantotenowego, ryboflawiny i tiaminy.

Zagadnienie oporności w chorobach zakaźnych i przeanalizowanie czynników, które wpływają na jej kształtowanie się, podejście do organizmu gospodarza jako podłoża życiowego dla zarazka, wyjaśnienie roli witamin, hormonów, procesów przemiany materii i ich wpływu na przebieg zakażenia będą mogły nam w przyszłości wiele wyjaśnić w dziedzinie chorób zakaźnych i dać podstawy racjonalnej terapii.

С. К р ы н ь с к и

ВЛИЯНИЕ КОРМИТЕЛЯ НА ТЕЧЕНИЕ ЗАРАЖЕНИЯ *R. PROWAZEKI* У ВШИ

СОДЕРЖАНИЕ

Среди ряда вопросов, связанных с продукцией сыпнотифозной вакцины Weigl'a, большое значение имеет проблема кормителей зараженных вшей. Давно обращено внимание на то, что вакцинный материал, происходящий от различных доноров, часто проявляет заметные различия в тяжести заражения. Также

бывает очень различным и число дней, протекающих от момента введения взвеси до времени полной ликвидации клетки. Здесь конечно следует исключить ряд добавочных моментов, как вирулентность штамма, концентрация возбудителя во взвеси, технические моменты, связанные с заражением вши и их культивированием.

Материал для данной работы происходит из Института Продукции противосыпнотифозной вакцины им. *R. Weigl'a* в Люблине за годы 1945 — 46. Благодаря усилиям всего персонала Института и соответственно приготовленным взвесям полученные результаты можно с большой вероятностью связать с личностью кормителя зараженной вши.

При исследованиях учтены: возраст, пол, питание, группа крови, количество гемоглобина, количество эритроцитов в крови, перенесенный сыпной тиф, кормление зараженных вшей перед опытным периодом (1939 — 44), общее число выкормленных вшей, период кормления и средняя месячная. В результатах учтены средняя степень заражения, время кормления и „коэффициент продуктивности“, который получается делением степени заражения на время кормления.

Обнаружено, что возраст, пол, перенесенный сыпной тиф, кормление [перед исследуемым периодом, число выкормленных вшей, период времени и средняя месячная, не имеют существенного значения. Определенные различия были получены в зависимости от групп крови. Наибольшие результаты дали лица с группой А, худшие — с В. Однако эта проблема требовала бы дальнейших исследований, ибо различия могут быть только кажущимися, в действительности же независимыми от групп крови. Несомненно можно обнаружить определенную роль количества гемоглобина и эритроцитов в крови. Это может быть как непосредственное так и вторичное влияние через вош. Как известно гемоглобин имеет большое значение в жизни вши и у малокровных людей питание насекомого может оказаться недостаточным. Однако, принимая во внимание, что качество вши зависит в первую очередь от донора, который кормил в периоде до заражения (12 — 14 дней), а не от кормителя зараженных вшей (4 — 6 дней), автор склоняется скорее к влиянию непосредственному. Наиболее существенные значения получены в зависимости от питания. Под словом питание автор понимает отношение веса к росту. Вес доноров, бравших участие, связан не столько с жизненными условиями и питанием, ибо замечено тут существенных различий, сколько с их конституцией. Ожившие субъекты имели средний коэффициент = — 143.

субъекты с нормальным отношением веса к росту — 1,35, а худые — 1,24. Это явление вероятно связано с обменом веществ кормителя. В литературе указывается, что риккетсии охотнее размножаются в клетках с пониженным обменом.

Результаты, приведенные в настоящей работе могут пролить свет на вопрос о происхождении клинической картины сыпного тифа.

S. Kryński

THE INFLUENCE OF THE FEEDER ON THE COURSE OF THE INFECTION OF LICE WITH *R. PROWAZEKI*

Summary

Among a number of problems connected with the production of Weigl's vaccine, a great importance is attached to a problem of feeders of infected lice. It is a long time already since the attention has been turned to the fact, that a vaccination material coming from various blood donors show frequently considerable differences in the degree of infection. Also a number of days elapsing from the moment of the injection of the emulsion up to the time of the complete liquidation of the cage varies considerably. Of course, there must be excluded here a number of additional elements such as the virulence of the strain the concentration of the organism in the emulsion, the technical problems connected with the infecting of lice and their culture.

The material for the work comes from the R. Weigl's Institute of Production of the Vaccine against exanthematous typhus in Lublin from the years 1945 — 1946. Thanks to the efforts of the whole staff of the Institute as well as to the properly prepared emulsions, the obtained results may be connected with a great probability with the person of a feeder of infected lice.

In the experiment there have been taken into consideration: age, sex, nutrition, the group of the blood, the amount of hemoglobin, the number of red blood corpuscles, the fact of passing through exanthematous typhus, the feeding of infected lice before the experimental period (1939—1944), the general number of nourished lice, the duration of feeding and the monthly average. In the results there have been taken into account: the average degree of infection, the time of feeding and the „index of efficiency” which I am obtaining by dividing the degree of infection by the time of feeding.

We have ascertained that the age, sex, the passing through exanthematous typhus, feeding before the experimental period, a number of nourished lice, the duration and monthly average have no essential significance. I have obtained certain differences depending on the groups of the blood. The best results have been ascertained in persons with the group A; the worst ones — in persons with the group B. This problem, however, would require further investigations because the differences may be only illusory, independent actually of the groups of blood. Undoubtedly there may be ascertained a certain influence of the amount of hemoglobin and of the number of red blood corpuscles. It may be a direct influ-

ence or an indirect one through the louse. It is known that hemoglobin possesses an importance in the life of a louse, and the feeding of the insect might be insufficient in the persons with anemia. However taking into consideration that the quality of the lice depends in the first place on the blood donor who has fed them in the period before the infecting (12—14 days), and not on the feeder of the infected ones (4—6 days). I am in favour rather of the direct influence.

The most essential differences I have obtained depending on the feeding. By this term I understand the proportion of the weight to the height. The weight of our blood donors remained in connection not so much with the living conditions and with the feeding because there were no essential differences here, but with their constitution. Individuals with obesity had an average index 1,43%; individuals with a normal proportion of weight to height — 1,35%; lean individuals — 1,24%. This phenomenon is being connected probably with the metabolism in the feeder. It is mentioned in the medical literature that rickettsiae are more likely to divide within the cells of a lowered metabolism.

The results mentioned in the above paper may constitute a certain contribution to the problem of the arising of the clinical picture of exanthematous typhus.

PISMIENNICTWO

1. Beninson J. & Anigstein L. (1948): Texas Rep. Med. & Biol. v. 6 p. 486.
2. Clark P. F., Waisman H. A., Lichstein H. C. & Jones E. S. (1945): Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. v. 58 p. 42.
3. Fitzpatrick F. K. (1948): Amer. Jour. Publ. Health & Nation's Health v. 38 p. 676.
5. Foster C., Jones J. H., Henle W. & Dorfman F. (1944): x. Exp. Med. v. 80 p. 221.
p. 257.
6. Greiff D., Pinkerton H. & Moragues V. (1944): J. Exp. Med. v. 80 p. 561.
7. Greiff D. & Pinkerton H. (1945): J. Exp. Med. v. 82 p. 193.
8. Greiff D. & Pinkerton H. (1948): J. Exp. Med. v. 87 p. 175.
9. Kryński St. & Woyciechowska St. (1947): Spraw. PAU t. XLVIII str. 421.
10. Kryński St. (1948): Now. Lekarskie R. 55 str. 267.
11. Kryński St. & Woyciechowska St. (1948): Przegl. Epid. t. II str. 268.
12. Kryński St. (1949): Przegl. Epid. t. III str. 333.
13. Moragues V. & Pinkerton H. (1944): J. Exp. Med. v. 79 p. 41.
14. Mudd Stuart (1945): Jour. Bact. v. 49 p. 527.
15. Radkowiak J. D. (1949): Przegl. Epid. t. III str. 343.
16. Tomaszewski L. (1948): Spr. PAU t. XLIX str. 53.

Aleksandra Pogorzelska

BADANIA NAD WYDAJNOŚCIĄ METOD ODDZIELANIA BAKTERIOFAGA ANTY-VI OD ZAWIESINY BAKTERYJNEJ

(Z Zakładu Mikrobiologii Akademii Medycznej i Państwowego
Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdańsku)

Ważnym zagadnieniem produkcji bakteriofaga jest otrzymanie bezbakteryjnych zawiesin bakteriofagowych o jaknajwyższym mianie.

Liczba cząsteczek bakteriofaga rozmnażanego na hodowli bakteryjnej wzrasta nieraz bardzo znacznie, jednak nie ulega wątpliwości, że podczas oddzielania zawiesiny bakteriofagowej od zawiesiny bakteryjnej duży odsetek cząstek wirusowych ginie. Zadaniem naszej pracy było przekontrolowanie stosowanych metod oddzielania bakteriofaga od zawiesiny bakteryjnej, określenie ich wydajności i przydatności dla celów praktycznych. W tym celu przebadaliśmy w stosunku do swoistego bakteriofaga anty-Vi następujące metody oddzielania go od zawiesiny bakteryjnej:

1. wirowanie na zwykłej wirówce bakteriologicznej 3.500 obr/min;
2. wybiórcze ogrzewanie zawiesiny;
3. filtrowanie przez filtry Seitza;
4. filtrowanie przez filtry Chamberlanda;
5. ultrafiltracje;
6. zabijanie bakterii za pomocą tymolu.

Do doświadczeń używano bakteriofaga swoistego anty-Vi wyhodowanego od ozdowieńca po durze brzuszny, bakteriofaga hodowano na szczepie durowym „*Bathnagar*“. Stosowany w doświadczeniach bakteriofag posiadał cząsteczki o średnicy około 40 milimikronów (określone za pomocą ultrafiltracji przez błony kalibrowane). Miareczkowanie zawiesin bakteriofagowych wykonywano za pomocą metody posiewu zawiesin na podłożu stałym i obliczania lysin w różnych rozcieńczeniach.

Badane zawiesiny bakteriofaga miały pH 7,3.

WYNIKI BADANIA

1. Wymiareczkowaną bezbakterijną zawiesinę bakteriofaga wirowano przez 60 minut na wirówce elektrycznej 3.500 obr/min.,

po czym odwirowany płyn (płyn z nad osadu) powtórnie miareczkowano. Doświadczenie wykonano z dwoma różnymi zawiesinami tego samego bakteriofaga. W wyniku tego doświadczenia stwierdzono, że w wyżej wymienionych warunkach wirowanie nie ma wpływu na stężenie zawiesiny bakteriofagowej (tabela I), której miano pozostaje bez zmian. Jednocześnie odwirowanie zawiesiny bakteryjnej wykazało niejałowość płynu z nad osadu odwirowanego.

Tabela I

Dośw.	Miano bakteriofaga	
	przed wirowaniem	po wirowaniu
1	10.000.000.000	10.000.000.000
2	6.000.000.000	6.000.000.000
3	4.000.000.000	4.000.000.000
4	2.000.000.000	2.000.000.000

2. Poddano 24 godz. hodowlę bulionową pałeczki durowej „Bathnagar“ 60 minutowemu ogrzewaniu w łaźni wodnej w temperaturach: 45° C, 52° C, 56° C i 60° C, po czym badane zawiesiny badano na żywotność. W wyniku stwierdzono, że 60 minutowe ogrzewanie zawiesiny w 52° C zabija wszystkie bakterie zawiesiny danego szczepu (tabela II).

Tabela II

Dośw.	45° C	52° C	56° C	60° C
1	+	—	—	—
2	+	—	—	—
3	+	—	—	—

Zawiesinę bezbakteryjną bakteriofaga o znanej liczbie cząstek w 1 ml. ogrzewano w łaźni wodnej przez 60 minut w temperaturach: 40° C, 45° C, 52° C, 56° C i 60° C, po czym poszczególne próbki ponownie miareczkowano. Doświadczenie powtórzono trzykrotnie z zawiesinami o różnej koncentracji początkowej. W wyniku stwierdzono, że w miarę wzrostu temperatury miano zawiesiny bakteriofagowej obniża się, jednak nawet w 60° C część cząstek bakteriofagowych jeszcze żyje. Godzinne ogrzewanie w 52° C zabójcze dla bakterii durowych pozostawia przy życiu około 40% bakteriofaga (straty wynoszą tutaj około 60%) (tabela III).

Tabela III

Dośw.	Miano bakteriofaga					
	wyjściowego	po 60 min. w 40° C	po 60 min. w 45° C	po 60 min. w 52° C	po 60 min. w 56° C	po 60 min. w 60° C
1	435.000.000	320.0 000.0	180 000.000	150 000 000	40.000 000	2 000 000
Straty	—	26,5 %	58 %	66 ² / ₃	90 ⁰ / ₁₀	9 5 ⁰ / ₁₀
2	2 000 000.000	1 600 000.000	800.000 000	800.000 000	460.000 000	12 000
Straty	—	20 ⁰ / ₁₀	60 ⁰ / ₁₀	60 ⁰ / ₁₀	80 ⁰ / ₁₀	99,9 ⁰ / ₁₀
3	17.000 000.000	13.000 000.000	12.000.00 000	6.000.000 000	6.000 000.000	2 800.0 000
Straty	—	24 ⁰ / ₁₀	30 ⁰ / ₁₀	65 ⁰ / ₁₀	65 ⁰ / ₁₀	84 ⁰ / ₁₀

3. Wymiareczkowaną bezbakteryjną zawiesinę bakteriofaga przesączono przez azbestowy filtr Seitza, po czym filtrat zmiareczkowano. W wyniku stwierdzono, że filtr tego typu pochłania około 95% cząstek bakteriofagowych (tabela IV).

Tabela IV

Miano bakteriologia		Straty
wyjściowego	po sączeniu	
40.000.000.000	2.000.000.000	95 ⁰ / ₁₀

4. Wymiareczkowane zawiesiny bakteriofagów o różnej koncentracji przesączono przez świece Chamberlanda L₅ i L₂, po czym filtry zmiareczkowano. W wyniku stwierdzono, że świece L₅ pochłaniają około 75% bakteriofaga, a świece L₂ około 65% (tabela V i VI).

Tabela V

Dośw.	Miano bakteriofaga		Straty
	przed sączeniem	po sączeniu	
1	17.000.000.000	4.800.000.000	72 ⁰ / ₁₀
		5.000.000.000	71 ⁰ / ₁₀
		4.000.000.000	77 ⁰ / ₁₀
2	12.000.000	3 000.000	75 ⁰ / ₁₀
		2.200.000	82 ⁰ / ₁₀
		4.000.000	67 ⁰ / ₁₀

Tabela VI

Dośw.	Miano bakteriofaga		Straty
	przed sączeniem	po sączeniu	
1	17.000.000.000	7.400.000.000	57 ⁰ / ₁₀
2	— " —	7.000.000.000	60 ⁰ / ₁₀
	1.360.000.000	480.000.000	64 ⁰ / ₁₀

5. Wymiareczkowane bezbakteryjne zawiesiny bakteriofaga przesączono przez błony kalibrowane kolloidowe (gradocolowe) o średnicach porów 50—200 milimikronów. Po przesączeniu zawiesiny bakteriofagowe miareczkowano. W wyniku tego doświadczenia stwierdzono, że przy stosowaniu błon o średnicy porów ponad 100 milimikronów około 20% bakteriofaga ulegało pochłonięciu, podczas gdy przy błonach o mniejszej średnicy porów straty te były znacznie większe, osiągając przy 50 milimikronach średnicy porów 95% (Tabela VII).

Tabela VII

Średnica porów	Miano bakteriofaga		Straty
	przed sączeniem	po sączeniu	
50 m μ	1.600.000.000	80.000.080	95%
80 m μ	2.000.000.000	140.000.000	93%
80 m μ	8.000.000.000	800.000.000	90%
100 m μ	1.600.000.000	1.100.000.000	31%
120 m μ	2.200.000.000	1.800.000.000	19%
200 m μ	2.800.000.000	2.300.000.000	18%

6. Opierając się na pracach autorów francuskich (*R. Wahl, P. Grabar*) wypróbowano wybiórcze działanie tymolu na zawiesiny bakteryjne i bakteriofagowe. Do 24 godzinnej hodowli pałeczki duru brzuszego szczepu „*Bathnagar*“ dodawano kryształek tymolu, po czym w równych odstępach czasu badano zawiesinę bakteryjną na żywotność, przetrzymując ją w lodówce (+6° C). W wyniku stwierdzono, że po 24 godzinach bakterie giną. To samo badanie wykonane z miareczkowaną zawiesiną bakteriofaga nie wykazało zmniejszania się jego miana po tygodniu (tabela VIII, IX).

Tabela VIII

Dółw.	Po 3 godz.	Po 28 godz.	Po 48 godz.
1.	+	—	—
2.	+	—	—
2.	+	—	—

Tabela IX

	Bakteriofag + Tymol	Kontrola
	—	2.000.000.000
Po 24 godzinach	2.000.000.000	2.000.000.000
Po tygodniu	1.600.000.000	1.700.000.000

Tabela X

Wydajność różnych metod oddzielania bakteriofaga od zawiesiny bakteryjnej

	M e t o d a	% strat	wydajność w %
1	Wirowanie i dodatek tymolu	0	100%
2	Ultrafiltracja przez błony kolloidionowe o porach ponad 100 milimikr.	20%	80%
3	Odwirowanie i ogrzanie płynu do 52° C przez 60 min.	60%	40%
4	Filtrowanie przez świece Chamberlanda L ₂	65%	35%
5	Filtrowanie przez świece Chamberlanda L ₅	75%	25%
6	Filtrowanie przez azbestowe filtry Seitza (ameryk. produkcji)	95%	5%

WNIOSKI

Opierając się na powyższych doświadczeniach stwierdzamy, że najwydatniejszą metodą oddzielania bakteriofaga anty-Vi od zawiesiny bakteryjnej jest metoda polegająca na odwirowaniu bakterii i dodaniu do płynu z nad osadu (zawiesiny bakteriofagowej) kryształka tymolu. Po 24 godzinnym pobycie w lodówce zawiesina jest jałowa i miano bakteriofaga nie ulega obniżeniu.

Drugą pod względem wydajności metodą jest ultrafiltracja przez błony kolloidionowe o dużej średnicy porów. (co najmniej 100 milimikronów), straty w tej metodzie wynoszą około 20%.

Metoda polegająca na odwirowaniu bakterii i następowym ogrzewaniu zawiesiny bakteriofagowej przez 60 minut w 52° C daje około 60% strat.

Filtrowanie zawiesiny przez świece Chamberlanda L₂ daje 65% strat.

Filtrowanie przez świece L₅ daje straty około 75%.

Najmniej wydajną metodą z badanych okazało się sączenie przez filtry azbestowe Seitza, gdzie straty zawiesiny bakteriofagowej sięgały 95%.

Otrzymane wartości winny być uważane jako orientacyjne i wahać się one mogą niewątpliwie w zależności od badanego bakteriofaga i szczepu bakteryjnego, jednak ułatwić mogą wybór metody i orientują w wydajności poszczególnych metod.

А. Погужельска

ИССЛЕДОВАНИЕ НАД ЭФЕКТИВНОСТЬЮ МЕТОДОВ ОТДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИОФАГА ANTI — VI ОТ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ВЗВЕСИ

СОДЕРЖАНИЕ

Целью работы было исследование, применяемых методов отделения бактериофага от бактериальной суспензии. Наиболее эффективным оказался метод, заключающийся в центрифугировании бактерий с прибавлением к взвеси бактериофага кристаллика тимола. После 24-часового пребывания в холодильнике взвесь оказывается стерильной и не изменяет своего титра.

При ультрафильтрации через коллодиевые мембраны с большим диаметром пор потери составляют около 20%. Метод, заключающийся в центрифугировании бактерий с последующим нагреванием бактериофаговой взвеси на протяжении 60 минут при 52° С дает около 60% потерь. Фильтрование взвеси через свечи Шамберлана L₂ дает 65% потерь, а через свечи L₅ около 75%.

Наименее эффективным методом оказалось фильтрование через азбестовые фильтры Зейтца, при котором потери бактериофага составляют 95%.

Al. Pogorzelska

INVESTIGATIONS ON THE EFFICIENCY OF METHODS OF SEPARATING BACTERIOPHAGE ANTI-VI FROM THE BACTERIAL EMULSION

Summary

The aim of this work has been to examine the methods in use of separating the bacteriophage from the bacterial emulsion. The most efficient has proved to be the method consisting of the centrifugation of bacteria and of adding the crystal of thymol to the bacteriophage emulsion. After 24 hours' stay in the refrigerator the emulsion is sterile and has not lost its titer.

At the ultrafiltration through collodion membranes with a big diameter of pores, the losses amount to 20%. The method consisting of the centrifugation of bacteria and of the subsequent heating of bacteriophage emulsion at 52° C during 60 minutes gives about 60% of losses.

The filtration of the emulsion through Chamberland's filters L₂ gives 65% of losses; through L₅ candles — about 75% of losses.

The least efficient method has proved to be the percolation through Seitz asbestos filters, where the losses of the bacteriophage amount to 95%.

Jerzy Georgiades

BADANIA NAD WPŁYWEM BIOLOGICZNEGO OCZYSZCZANIA
ŚCIEKÓW NA ZAWARTY W NICH SWOISTY BAKTERIOFAG
ANTY-VI

(Z Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej
w Gdańsku).

Stwierdzenie istnienia wirusów chorobotwórczych szerzących się drogą przewodu pokarmowego (*Poliomyelitis*), jak również stwierdzenie roli epidemiologicznej ścieków w tych chorobach, w zupełnie nowym świetle stawia sprawę oczyszczania ścieków. Stosowane obecnie oczyszczalnie ścieków budowane są pod kątem oczyszczania ich z bakterii pochodzących z przewodu pokarmowego człowieka i pod tym względem stosowane obecnie oczyszczalnie na ogół rolę swoją spełniają. Nie jest natomiast wyjaśnionym, czy stosowane obecnie metody oczyszczania ścieków niszczą zawarte w nich wirusy, istnieją nawet pewne dane, które zdają się wskazywać na to, że wirusy przechodzą przez oczyszczalnie ścieków, które nie stanowią dla nich bariery.

Bezpośrednie badanie wirusów ludzkich i zwierzęcych ewentualnie zawartych w ściekach, nastręcza bardzo duże trudności ze względu na trudną technikę ich wykrycia, toteż dla zorientowania się w losach wirusa zawartego w ścieku ulegającym biologicznemu oczyszczeniu postanowiliśmy posłużyć się w tym celu prześledzeniem losów wirusa bakteryjnego — bakteriofaga tyfusowego anty-Vi, rozmnażającego się jedynie na zawierających antygen Vi pałeczkach duru brzuszego.

Istnieją wprawdzie między bakteriofagami a wirusami chorobotwórczymi zwierząt i ludzi liczne różnice, jednak odporność bakteriofagów na czynniki szkodliwe jest zbliżona do oporności na nie wirusów chorobotwórczych, a i wielkość cząsteczek bakteriofagowych nie odbiega zbyt od wielkości tych wirusów.

Celem naszej pracy było prześledzenie zawartości swoistego bakteriofaga anty-Vi w miejskim ścieku kanalizacyjnym dopływającym do biologicznej oczyszczalni ścieków w Gdańsku (na Zas-

pach) oraz w ścieku oczyszczonym opuszczającym tę oczyszczalnię. Badanie to miało być dokonane w różnych okresach działalności oczyszczalni.

Badania na oczyszczalni ścieków rozpoczęto w zimie 1949 r., w okresie gdy oczyszczalnia biologiczna jeszcze nie działała w całej pełni, a oczyszczanie ograniczało się do mechanicznego zatrzymywania części grubszych ścieku. Dalsze badania były przeprowadzone w okresie uruchomienia właściwego oczyszczania biologicznego.

TECHNIKA BADANIA

Próbki ścieku badano każdorazowo na miano coli, na miano bakteriofaga anty-Vi oraz określano w nich liczbę bakterii mezofilnych.

Miano coli określano posiewając rozcieńczenia badanego ścieku na pożywkę z laktozą i rurką fermentacyjną, sprawdzając wyrośnię drobnoustroje na pożywce Endo.

Celem określenia ilości bakterii mezofilnych posiewano 0,05 ml rozcieńczeń badanych ścieków na płytki z agarem, po czym po 24 godzinach pobytu w 37° C obliczano ilość kolonii.

Dla określenia miana bakteriofaga badane próbki ścieków wiorowano przez 30 min. przy szybkości 3000 obr/min. Następnie płyn sączono przez filtry Chamberlanda L2. Przesącz rozcieńczano bulionem do 1:10 milionów po czym do poszczególnych rozcieńczeń dodawano równą ilość zawiesiny 24 godzinnej hodowli szczepu Vi (*Bathnagar*) na agarze, spłukanej 2 ml bulionu. Posiewy stawiano na 24 godz. w 25° C i po odwirowaniu bakterii, płyn mieszano z zawiesiną bakteryjną Vi i wysiewano na płytki agarowe, na których po 24 godzinach pobytu w cieplarni stwierdzano liżę (lysiny) bakteriofagową. Za miano przyjmowano najwyższe rozcieńczenie, w którym powyższą metodą dawało się stwierdzić liżę bakteriofagową.

Ogółem wykonano 9 serii badań okresowych. Ponadto, celem stwierdzenia ewentualnych krótkookresowych wahań bakteriofaga w ścieku miejskim, przeprowadzono serię badań próbek ścieku pobranych w odstępach ½ godzinnych w okresie 12 godzin.

WYNIKI BADANIA

1. Badania przeprowadzone w okresie gdy właściwe oczyszczanie biologiczne ścieków nie było jeszcze czynne wykazały, że tak miano coli jak miano bakteriofaga nie ulegały w trakcie procesu

Tabela 1

Nr badania		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Data badania		8. I.	16. IV.	16. VI.	24. VI.	7. VII.	6. IX.	28. IX.	9. X.	18. X.
Miano coli	wejściowy	0,00002	0,00002	0,00002	0,0002	0,000002	0,000002	0,000002	0,000002	0,000002
	wyjściowy	0,00002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	poniżej 0,002	0,002	0,002	0,002
Miano bakteriof.	wejściowy	0,0000001	0,01	0,001	0,0001	0,0001	0,0001	0,00001	0,001	0,0000001
	wyjściowy	0,0000001	0,0001	0,000001	0,000001	0,0001	0,001	0,01	0,001	0,0000001
Liczba bakterii mezofilnych	wejściowy	nie	8.000.000	2.000.000	6.000.000	5.200.000	6.700.000	6.000.000	2.500.000	2.200.000
	wyjściowy	badano	1.150.000	120.000	3.600.000	2.750.000	20.000	40.000	16.000	32.000

oczyszczania zmniejszeniu również ilość bakterii mezofilnych ulegała nieznacznie tylko zmniejszeniu (Tabl. I. bad. I-V).

2. Badania przeprowadzone po uruchomieniu właściwego biologicznego oczyszczania ścieków wykazały znaczny wzrost miana coli, bardzo znaczne zmniejszenie się po oczyszczeniu liczby bakterii mezofilnych natomiast miano bakteriofaga nie wykazało zmniejszenia się jego liczby po oczyszczeniu (Tabl. I. bad. VI—IX).

3. Badanie próbek ścieku pobranych w odstępach $\frac{1}{2}$ godziny w czasie 12 godzin nie wykazały wyraźnych wahań w tym okresie miana coli i miana bakteriofagowego. Liczba bakterii mezofilnych wykazała duże wahania.

WNIOSKI

Na podstawie wyników badań można wyciągnąć następujące wnioski:

1. W ścieku z miasta stwierdza się w ciągu roku duże sezonowe wahania zawartości w nim bakteriofaga anty-Vi.

2. Nie stwierdza się większych wahań w zawartości bakteriofaga w ścieku w krótkich 12 godzinnych okresach.

3. Ilość bakteriofaga anty Vi w ścieku nie ulega zmniejszeniu po przejściu przez oczyszczalnię biologiczną.

4. Biologiczne oczyszczanie ścieków nie niszczy zawartego w nich bakteriofaga anty-Vi, a więc zapewne nie zniszczone zostają i wirusy chorobotwórcze.

STRESZCZENIE

Celem niniejszej pracy było stwierdzenie losów swoistego bakteriofaga anty-Vi w oczyszczalni biologicznej ścieków. Badania przeprowadzone były w przeciągu roku. Oznaczano miano coli, ilość bakterii mezofilnych i miano bakteriofaga. Stwierdzono, że w ścieku z miasta w ciągu roku są duże wahania sezonowe w zawartości bakteriofaga. Nie obserwuje się większych wahań w zawartości bakteriofaga w ścieku w okresie 12 godzinnym. Miano bakteriofaga anty-Vi w ścieku nie ulega zmniejszeniu po przejściu przez oczyszczalnię biologiczną, wobec czego można sądzić, iż oczyszczanie biologiczne zapewne nie niszczy znajdujących się w ścieku wirusów chorobotwórczych.

Е. Георгиадес

ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД НА СОДЕРЖАЩИЙСЯ В НИХ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ БАКТЕРИОФАГ АНТИ — VI

СОДЕРЖАНИЕ

Целью данной работы было выяснение судьбы специфического бактериофага анти — Vi на биологической очистной станции для сточных вод. Исследования проводились в течение года. Определялся титр *coli*, количество мезофильных бактерий и титр бактериофага. Обнаружено что в городских сточных водах в течение года наблюдаются большие сезонные колебания бактериофага. Не замечены большие колебания содержания бактериофага в сточных водах в 12-часовом периоде. Титр бактериофага анти — Vi в сточных водах не уменьшается после биологической очистки этих вод и поэтому можно считать, что биологическая очистка вероятно не уничтожает вирусов, находящихся в сточной воде.

G. Georgiades

INVESTIGATION ON THE EFFECT OF THE BACTERIOLOGICAL PURIFICATION OF SEWERS ON THE SPECIFIC BACTERIOPHAGE ANTI-VI EXISTING THEREIN.

Summary

The aim of this work has been to ascertain the fate of the specific bacteriophage anti-Vi in the biological purifier of sewers. The investigations have been carried out during one year. There has been fixed the titer of coli, the number of mesophilic bacteria and the titer of the bacteriophage. It has been ascertained that in the sewer from the town there are considerable seasonal fluctuations during a period of one year in the contents of the bacteriophage.

No big fluctuations are to be observed in the contents of the bacteriophage in the sewer during the 12 hours' period. The titer of the bacteriophage anti-Vi in the sewer does not decrease after having passed through bacteriological purifier; therefore it may be presumed that biological purification probably does not destroy morbigenous viruses existing in the sewer.

Maria Morzycka

BADANIA NAD SEZONOWYMI WAHANIAMI ZANIECZYSZCZENIA WODY MORSKIEJ ZATOKI GDAŃSKIEJ

(Z Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej
w Gdańsku i Zakładu Mikrobiologii Akademii Medycznej
w Gdańsku)

Przeprowadziwszy w lecie roku 1948 orientacyjne badanie zanieczyszczenia bakteriologicznego wody morskiej Zatoki Gdańskiej, przystąpiliśmy w roku 1949 do przeprowadzenia badań mających na celu stwierdzenie sezonowych wahań bakteriologicznego zanieczyszczenia wody morskiej, jak również stopnia jej zasolenia. Badania te, tak jak i poprzednie były przeprowadzone na obszarze Zatoki Gdańskiej, przy czym jako punkty obraliśmy:

- a) Silnie zanieczyszczony basen portowy w Nowym Porcie w Gdańsku w pobliżu ujścia do niego ścieku z oczyszczalni ścieków.
- b) Koniec mola spacerowego w Sopocie.
- c) Plażę przy Łazienkach Północnych w Sopocie.

W tych 3 punktach pobierano co miesiąc w ciągu całego roku 1949 próbki wody morskiej, które poddano badaniu na miano *coli*, na liczbę bakterii mezofilnych oraz na stopień zasolenia.

WYNIKI BADANIA

Woda z basenu portowego w Nowym Porcie

Jak wynika z tab. I. woda morska pobrana w tym punkcie nie wykazuje silniejszych wahań sezonowych, utrzymując się przez cały okres badawczy na poziomie około 0,00001. Również liczba bakterii mezofilnych, choć wykazująca znaczne różnice w poszczególnych badaniach, nie wykazuje jednak wyraźniejszych wahań sezonowych. Zasolenie wody tego basenu w ciągu okresu badawczego wahało się nieznacznie w granicach 0,45—0,60%.



Tabela I (basen portowy)

Miesiąc	Miano coli	Liczba żywych bakterii mezofilnych/ml.	ρ_0 Nace
I	0,00001	80.000	0,50
II	0,00001	118.000	0,50
III	0,00001	340.000	0,51
IV	0,00001	200.000	0,50
V	0,00001	200.000	0,45
VI	0,00001	180.000	0,50
VII	0,00001	80.000	0,47
VIII	0,0001	100.000	0,46
IX	0,0001	35.000	0,49
X	0,000001	600.000	0,56
XI	0,0001	700.000	0,60
XII	0,00001	640.000	0,54

Tabela II (Molo Sopot)

Miesiąc	Miano coli	Liczba żywych bakterii mezofilnych/ml.	ρ_0 Nace
I	1	200	0,66
II	1	500	0,67
III	0,01	44.000	0,65
IV	0,1	2.000	0,62
V	0,1	4.000	0,60
VI	0,01	2.400	0,60
VII	0,01	6.000	0,63
VIII	0,01	14.000	0,60
IX	1	140	0,63
X	10	40	0,65
XI	1	600	0,67
XII	1	100	0,69

Tabela III (Plaża Sopot)

Miesiąc	Miano coli	Liczba żywych bakterii mezofilnych/ml	ρ_0 Nace
I	10	800	0,67
II	1	500	0,68
III	1	13.000	0,61
IV	1	4.000	0,67
V	0,1	6.000	0,61
VI	0,01	4.000	0,61
VII	0,01	4.000	0,61
VIII	0,1	500	0,60
IX	1	194	0,60
X	1	40	0,65
XI	1	1.000	0,68
XII	1	1.100	0,64

Molo w Sopocie

Jak wynika z tab. II, zanieczyszczenie wody pobieranej z mola w Sopocie wykazuje wyraźne wahania sezonowe. W okresie od kwietnia do sierpnia woda wykazuje zwiększone zanieczyszczenie bakteriologiczne przejawiające się tak obniżeniem miana *coli*, jak i zwiększeniem się ilości bakterii mezofilnych w wodzie. Zasolenie wody wykazuje w ciągu okresu badawczego nieznaczne jedynie wahania w granicach 0,60—0,69%, bez wyraźnej regularności.

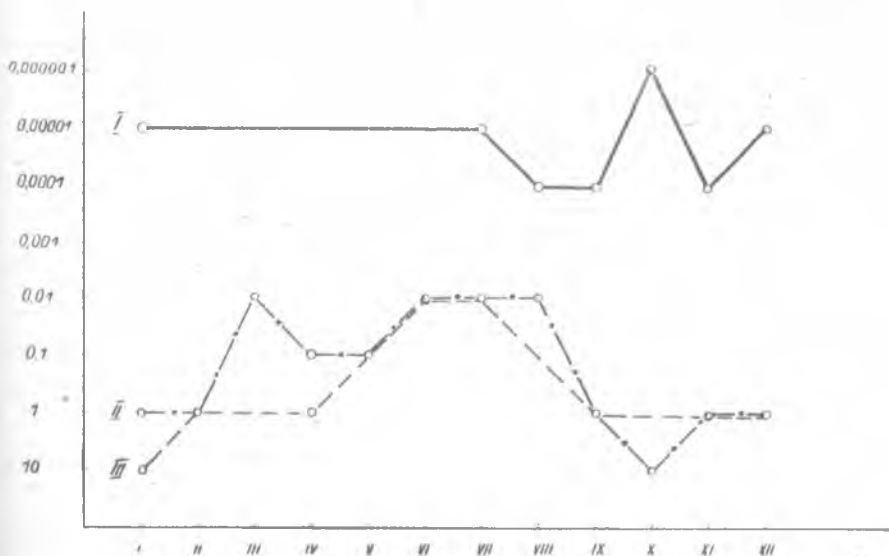
Plaża przy Łazienkach Północnych w Sopocie

Jak wynika z tab. III, woda morska pobrana w tym punkcie wykazuje równie wyraźnie jak i poprzednia wahania sezonowe. W okresie od maja do sierpnia następuje wyraźny wzrost zanieczyszczenia bakteriologicznego wody, przejawiający się zarówno w zmniejszeniu się miana *coli*, jak i zwiększeniu się liczby bakterii mezofilnych. Wahania w zasoleniu były tu również nieznaczne w granicach 0,60 — 0,68% bez jakiegokolwiek regularności.

WNIOSKI

1. Woda basenu portowego nie wykazuje jakichkolwiek sezonowych wahań bakteriologicznego zanieczyszczenia bakteriami mezofilnymi.

-Tabl IV



2. Woda morska pochodząca z plaży i mola w Sopocie wykazuje wyraźne sezonowe wahania stopnia bakteriologicznego zanieczyszczenia, przy czym okresem zwiększonego zanieczyszczenia wody jest okres czerwiec—sierpień, a więc w sezonie kąpielowym.

3. Zarówno w basenie portowym, jak na molo i na plaży w Sopocie wahania roczne stopnia zasolenia wody są znieznaczne i nie wykazują związku z sezonem.

М. Можика

ИССЛЕДОВАНИЯ НАД СЕЗОННЫМИ КОЛЕБАНИЯМИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МОРСКОЙ ВОДЫ ГДАНЬСКОГО ЗАЛИВА

СОДЕРЖАНИЕ

Исследованы сезонные загрязнения морской воды мезофильными бактериями и колебания солености воды.

Исследования производились в трех местах: в портовом бассейне Нового Порта, в котором сезонные колебания не обнаружены, на пляже и на молу в Сопоте, где обнаружены заметные сезонные колебания степени бактериологического загрязнения, достигающего максимума в июне — августе.

М. Морзюска

RESEARCHES ON THE SEASONAL FLUCTUATIONS OF THE DIRTYINGS OF SEA WATER IN THE GULF OF GDANSK

Summary

There have been examined the dirtyings of sea water by mesophilic bacteria and the fluctuations of the salting of this water.

The examination have been carried in three places: in the port basin of the New Port where no seasonal fluctuations have been ascertained as well as on the beach and on the pier in Sopot, where water shows distinct seasonal fluctuations of the degree of bacteriologic dirtying, reaching the maximum point in the months June-August.

Annual fluctuations of the degree of salting are inconsiderable in all those places and do not show any connection with the season.

Albin Niewiarowski

BADANIA NAD WYSTĘPOWANIEM I POCHODZENIEM
WŁOSKOWCÓW RÓŻYCY U RYB MORSKICH I PRACOWNIKÓW
PRZEMYSŁU RYBNEGO

(Z Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej
w Gdańsku.

Dyrektor: prof. dr Jerzy Morzycki

Z Zakładu Epizoocjologii — Wydziału Weterynaryjnego
Uniwersytetu Warszawskiego

Kierownik: prof. dr A. Stryszak.)

Pałeczka różycy świni — *erysipelothrix rhusiopathiae suis* jest drobnoustrojem ubikwitalnym. Spotyka się ją nie tylko w organizmach chorych świń, ale także u drobiu, koni, bydła, ludzi i ryb. Krukowski (1937) z własnej praktyki podaje przypadek zakażenia różycą człowieka po ugryzieniu go w nogę przez psa oraz inny po skaleczeniu ręki przez wronę. Steben i Gerland stwierdzili różycę u ludzi wskutek zetknięcia się z warzywami.

Jarosch wyosobnił włoskowca różycy z padłych indyków. Van Es-Me Grath (1947) i Grey (1947) opisali przypadki wyosobnienia włoskowca różycy z organizmu owiec, bydła, koni i psów. Hay (1948) wyosobnił włoskowca różycy z cielęcia i krowy. De Mendonca Machado A. wyhodował włoskowca różycy z gołębia, pochodzącego z gołębnika, w którym wybuchła choroba o charakterze epizootycznym. Grouge (1936) doniósł o epizoocji różycy wśród szczurów. Drake i Holl (1947) przypuszczają, że szczury częściej niż się sądzi są zakażone różycą.

RÓŻYCA U LUDZI — Erisipeloid

Na różycę najczęściej chorują ludzie, którzy stykają się z chorym zwierzęciem lub z jego zwłokami, a więc lekarze weterynaryjni, kalecząc się igłą przy szczepieniach lub podczas sekcji, rzeźnicy oraz gospodynie domowe. Mierzecki opisuje przypadki różycy u ludzi, którzy w ogóle nie stykali się z mięsem zwierząt ciepłokrwistych.

stych i ryb. *Malcolm Woodbine* (1950) odróżnia 4 postacie kliniczne różycy u ludzi:

1. *Erysipeloid Rosenbachi* — jest to łagodna postać skórna, występująca na rękach ludzi.

Występuje od maja do września, a więc w ciepłych porach roku. Stwierdzenie tego schorzenia na drodze bakteriologicznej jest dość trudne z uwagi na to, że drobnoustrój usadawia się w głębokiej warstwie rogowej skóry.

2. Forma posocznicowa występuje bardzo rzadko u ludzi. *Russel i Lamb* opisali przypadek wyosobnienia włoskowca różycy z krwi człowieka zmarłego, u którego drobnoustrój ten spowodował zapalenie wsierdza. Wg *Krukowskiego* postać posocznicowa daje wysoką gorączkę i wysypkę podobną do płonicy, z obrzękami stawów i zapaleniem wsierdza, trwającym szereg miesięcy.

3. Infekcja pokarmowa występuje również bardzo rzadko i została ona stwierdzona po zjedzeniu solonego mięsa wieprzowego. *Preisz* (1929) wyosobnił z kału chłopca chorego na żółtaczkę duże ilości włoskowca różycy.

4. Formą skórna uogólniona powstaje przez bezpośredni kontakt z chorą świnią. Zmiany chorobowe zjawiają się tu nie tylko na rękach, ale i na ramieniu, karku i powiekach.

Jeżeli chodzi o okres wylegania różycy u człowieka, to zdaniem większości autorów trwa on od 1 do 2 dni (*Gottron, Bierbaum*) albo 3—10 dni (*Bencze*). Spostrzeżenia *Trawińskiego* i *Mierzeckiego* potwierdzają możliwość występowania 24-godzinnego okresu inkubacyjnego, jednak wspomniani autorzy stwierdzili także i okres 14-dniowy.

Zdaniem większości badaczy różycy u człowieka występuje najczęściej jako zakażenie przyranne. Mianowicie w miejscu uszkodzenia skóry, głównie na grzbiecie jednego palca, wyjątkowo dwóch palców albo obu rąk występuje wyniosła, sinawoczerwona plama, wyraźnie odgraniczona od otoczenia, która rozpościera się na grzbiecie ręki i tylko wyjątkowo przechodzi na dłoń. Chory odczuwa swędzenie, pieczenie i nieznaczny ból. Węzły i naczynia chłonne są nie zmienione, ciepłota ciała podwyższona, a okolica stawów palcowych jest niekiedy bolesna. Badania *Mierzeckiego* i *Trawińskiego* wykazują, że różycy występuje najczęściej u kobiet, nadto atakuje dzieci i młodzież oraz starców. Autorzy ci są zdania, że schorzenie to jest zespołem objawowym, wywołanym przez rozmaite zarazki, a nie tylko przez włoskowca różycy.

Obserwacja i badania wykazały jednak, że nie tylko zetknięcie się z mięsem wieprzowym może wywołać różycę u ludzi, ale że człowiek również może ulec zakażeniu przez zetknięcie się z rybą

(*Baker*). I tak np. *Klauder* (1926) donosi o występowaniu różycy u ludzi pracujących w przetwórstwie rybnym. *Stefański* i *Gruenfeld* (1930) opisują epidemiczne zjawienie się różycy w Odessie u ludzi, którzy stykali się z rybami, dostarczonymi z Dniepru i Bugu. Różycę u ludzi wywołaną przez styczeńność w rybamí stwierdzili również *Bierbaum* i *Tottron* (1929), *Verga* (1933), *Trawiński* (1940), *Mierzecki* (1948). W 1949 r. *Skinner J. R.* i *Mallof C. C.* opisali różycę u robotników zatrudnionych w przemyśle rybnym. *Einarsson* stwierdzał często różycę wśród pracowników przemysłu rybnego w Islandii. *Kinsley* (1928) opisuje zakażenie ludzi włoskowcem różycy, które nazywa „salt wator erysipelas“. *Gilchrist* stwierdził 323 przypadki różycy u rybaków na skutek ukąszenia przez kraby. Jak wynika z publikacji pochodzących z krajów, w których silnie rozwinięte jest rybołówstwo i przemysł rybny, jak ZSRR, Anglia, Islandia, Niemcy, Ameryka, Japonia, różyca rąk u ludzi zatrudnionych w tym przemyśle jest bardzo częstym zjawiskiem i istnieje tam opinia, że należałoby ją zaliczać do schorzeń zawodowych. Niemiecki badacz *Schoop* (1936) znajdował stosunkowo często włoskowca różycy w służbie skórny i na kołcach płetw u następujących ryb morskich: kurków szarych, śledzi, łupaczy, karmazyków, łososi morskich, lamn, skarłacie i dorszy. Ryby te pochodziły z Morza Północnego. Drobnoustrój znajdowano tylko w miesiącach letnich, od maja do października, w zimie natomiast nie udało się go nigdy wyhodować. Okazał się on identyczny z zarazkiem różycy trzody chlewnej. *Schoop* interesował się również sprawą pochodzenia włoskowca na rybach morskich. Posiewał wyhodowane szczepy na pożywkach zawierających 2,7% soli, tj. tyle, ile zawiera woda Morza Północnego, skąd pochodziły badane ryby. Szczepy posiane na takich pożywkach nie rozmnażały się. Z doświadczenia tego *Schoop* wyciągnął wniosek, że włoskowiec w Morzu Północnym nie żyje i że osiedla się na rybach dopiero po ich złowieniu, mianowicie na statkach lub też po wylądunku.

Brunner (1938) i *Hetteche* (1937) uważają, że włoskowce różycy dostają się ściekami kanalizacyjnymi do rzek i tam zakażają ryby. Po sztucznym zakażeniu można było znaleźć włoskowca różycy w narządach ryb słodkowodnych jeszcze po 5 tygodniach, u ryb morskich w ciągu 3 tygodni.

BADANIA WŁASNE

Pracując od 1948 roku w porcie gdyńskim w charakterze portowego lekarza weterynaryjnego zauważyłem, że różyca występuje dość często u personelu zatrudnionego w zakładach rybnych Cen-

trali Rybnej i to w większości przypadków u ludzi zajętych przy patroszeniu ryb słodkowodnych, rzadziej zaś morskich.

Prawie w 90% zapadają na tę chorobę kobiety, które zajęte są przy patroszeniu i filetowaniu ryb. Mężczyźni, nie mający bezpośrednio do czynienia z rybami, zapadają rzadziej. Objawy kliniczne, które stwierdziłem u tych ludzi, były następujące: w miejscu domniemanego zadrażnienia się, tworzy się sinawoczerwona plama, ostro odgraniczona od otoczenia wałowatym brzegiem. Plama ta występuje na jednym palcu lub dwóch. Miejsce zapalne jest bolesne i często swędzące. Zmiany często rozpościerają się po grzbiecie ręki i przechodzą na dłoń w okolicy poduszek palcowych. Choroba trwa około 3 tygodni i nie pozostawia po sobie odporności, często bowiem ludzie zakażają się powtórnie i przechodzą chorobę wśród tych samych objawów klinicznych. Okresu wylegania różycy w następstwie skaleczenia się rybą dokładnie ustalić nie mogłem, gdyż chorzy, wskutek zupełnie niewidocznego zadrażnienia się, z reguły nie mogli podać dnia, w którym to nastąpiło.

Z przeprowadzonych własnych obserwacji wynika, że przypadki różycy zasadniczo zdarzają się w ciągu całego roku, jednak największe nasilenie tego schorzenia obserwuje się w ciepłych porach roku, tj. począwszy od miesiąca marca do września.

Przytoczone poniżej tabele ilustrują liczbę przypadków różycy, stwierdzonych w poszczególnych miesiącach roku 1949 i 1950 u pracowników Zakładów Rybnych Nr 1 i Nr 3 w Gdyni oraz w Centrali Rybnej w Darłowie.

Tabela Nr 1

Wykaz pracowników chorych na różycę w Zakładach Rybnych Nr 1 i Nr 3 w Gdyni

M i e s i ą c		Kobiety	Mężczyźni	Razem
Lipiec	1949	3	—	3
Sierpień	1949	2	3	5
Wrzesień	1949	18	6	24
Październik	1949	5	—	5
Listopad	1949	5	3	8
Grudzień	1949	5	—	5
Styczeń	1950	2	3	5
Luty	1950	4	1	5
Marzec	1950	13	—	13
Kwiecień	1950	8	—	8
Maj	1950	17	2	19
Czerwiec	1950	11	2	13
Lipiec	1950	10	1	11
R a z e m		103	21	124

Tabela Nr 2

Wykaz schorzeń na różyce u pracowników Centrali Rybnej w Darłowie w ciągu 1949 r.

Ilość pracowników zatrudnionych	Zachorowało		U w a g i
	Kobiet	Mężczyzn	
ca 300	58	18	z 58 kobiet – 9 kobiet chorowało w ciągu roku dwa razy

Należy jednak podkreślić, że prócz różycy u ludzi zatrudnionych w przemyśle rybnym, występuje też schorzenie zwane „red feed”, wywołane przez skorupiaki, którymi odżywia się makrela. Pracownicy zajęci przy patroszeniu makreli zapadają często na schorzenie rąk, objawiające się opuchnięciem, zaczerwienieniem skóry wraz z drobnymi wrzodami na dłoni i między palcami. W odróżnieniu od różycy schorzenie to trwa krótko i szybko się goi. Schorzenie to, o dość dużym nasileniu, występuje u nas w sezonie makrelowym od października do grudnia, chociaż notowane są wypadki występowania w miesiącach wiosennych (marzec, kwiecień) kiedy makrele importujemy z Danii.

Schoop (1936) przypuszczał, że włoskowiec różycy, znajdujący się na rybach morskich, jest lądopochodny. Autor ten nie miał jednak możliwości zbadania ryb natychmiast po złowieniu i przypuszczenia swoje oparł na badaniach pośrednich. Badania Schoopa dotyczyły ryb pochodzących z Morza Północnego, została więc otwarta kwestia pochodzenia włoskowców na rybach Morza Bałtyckiego, którego zasolenie wynosi zaledwie od 1 — 0,3%.

Brak w pracy Schoopa ostatecznego wyjaśnienia źródła pochodzenia włoskowca różycy u ryb morskich oraz stosunkowo duże nasilenie różycy wśród personelu zatrudnionego w naszym przemyśle rybnym, skłoniło mnie do podjęcia badań celem ścisłego ustalenia źródła pochodzenia tego zarazka na naszych rybach morskich. Wykrycie tego źródła dałoby bowiem możliwość wszczęcia odpowiedniej akcji, która zapobiegłaby masowemu zakażeniu się ludzi i związanym z tym stratom roboczogodzin w okresie wykonywania przez nas 6-letniego planu gospodarczego.

Badania swoje przeprowadziłem w czasie od miesiąca lipca 1949 r. do końca miesiąca października 1950 r.

W pierwszej części badań chodziło o ustalenie częstości występowania włoskowca różycy u poszczególnych gatunków ryb, w różnych porach roku.

Do doświadczeń użyłem zasadniczo ryb morskich, żyjących w Bałtyku. Pobierałem je systematycznie co miesiąc bezpośrednio ze statków, z zakładów rybnych, z patroszalni i z samochodów, dostarczających ryby morskie do Gdyni z portu rybackiego Władysława. Ponadto do badań użyłem szeregu ryb słodkowodnych dostarczonych samochodami z Zalewu Wiślanego, oraz 30 sztuk dorosły pobranych jałowo z morza w odległości 20 mil od brzegu.

Badania przeprowadziłem na następujących gatunkach ryb morskich:

1) Dorsz (wątlusz lub pomuchla) — *Gadus morrhua* — poławiany przez cały rok w największych ilościach w wodach głębi Gdańskiej, jak również na głębi Bornholmskiej i Gotlandzkiej, oraz na północ od Helu i Ustki. Ryba drapieżna odżywiająca się rybami i drobną fauną denną.

2) Śledź — *Clupea harengus* — poławiany na wschód od Gdańska, w rejonach przybrzeżnych na północ od Koszalina, na północny zachód od Kołobrzegu, oraz na północ i południe od Rugii. Ryba w zasadzie planktonożerna, ale w wieku dojrzałym nie gardzi także rybkami, zwłaszcza młodymi dobijakami. Poławiany w miesiącu maju, czerwcu, lipcu, wrześniu i październiku.

3) Gładzica — *Pleuronectes platessa* — poławiana w rejonach zachodnich Bałtyku, w okolicach Ławicy Odrzańskiej oraz w zachodnich rejonach basenu bornholmskiego. Przywiązana jest ona do przestrzeni o dnie mulistym. Poławiana w miesiącach od maja do końca października.

4) Sprot — *Clupea sprathus* — chętnie przebywa w wodach cieplejszych Bałtyku, łowiony w rejonie Zatoki Gdańskiej i Bałtyku środkowego.

Z Ryb słodkowodnych użyłem do badań:

1) Płoc białą — *Leuciscus rutilus* L. — występująca w Zalewie Wiślanym, w Zatoce Puckiej i w innych wodach zalewowych i przyujściowych.

2) Certę — *Abramis vimba* — żyjąca w wodach zarówno słodkich, jak i morskich. Najczęściej przebywa w okolicach o dnie mulistym.

3) Okonia — *Perca fluviatilis* L. — ryba słodkowodna, występuje również w okolicach słonawych, w zatokach, zalewach i na terenach przyujściowych.

Zasadnicze badania oparłem jednak na materiale pobranym z dorszy, licząc się z tym, że ryba ta jest poławiana bez przerwy przez cały rok kalendarzowy oraz, że zajmuje ona ilościowo pierwsze miejsce wśród, poławianych przez naszych rybaków, ryb Bałtyku. Okoliczność ta dała mi możliwość korzystania z tej ryby, jako materiału doświadczalnego, we wszystkich porach roku i miesiącach.

Badany materiał liczbowo przedstawia się następująco:

Ryby morskie:

Dorsze: 275 sztuk, w tym 30 sztuk pobranych wprost z morza, 195 sztuk pobranych bezpośrednio ze statków rybackich, 38 sztuk pobranych ze skrzyń w patroszalniach, 12 sztuk pobranych z samochodów przybyłych z portu Władysławowo.

Sledzie: 14 sztuk pobranych bezpośrednio ze statków rybackich.

Gładzice: 5 sztuk pobranych bezpośrednio ze statków rybackich. 12 sztuk pobranych ze skrzyń w patroszalni.

Ryby słodkowodne:

Ryby te były złowione na Zalewie Wiślanym w dniu 19. 7. 49 i dostarczone samochodem do Zakładów Rybnych Nr 1 w Gdyni w skrzyniach starych, silnie zanieczyszczonych i zalodowane lodem naturalnym. Temperatura powietrza wynosiła 22° C, ryby — + 12° C.

Jako materiał do badań ściślejszych zostały użyte osobno:

- a) łuski i płetwy grzbietowe, piersiowe, ogonowe;
- b) łuski, płetwy i skrzela;
- c) skrzela.

8 sztuk: 3 płocie, 3 okonie, 2 certy.

Poszczególne materiały w nieznacznej ilości pobierałem do wysterylizowanych moździerzy, dodałem 20 ml roztworu fizjologicznego NaCl i rozcierałem. Używaną w ten sposób zawiesiną materiału w płynie fizjologicznym szczepiłem podskórnice białe myszki wagi około 15 g w dawce po 0,5 ml lub gołębie domięśniowo w dawce po 1 ml. Myszki padały na 4, rzadko na 5 dzień po szczepieniu, gołębie zaś na 3 dzień. Objawy chorobowe u myszek zjawiały się na trzeci dzień i wyrażały się zanikiem apetytu, posmutnieniem, apatią, światłowstrętem i ropnym zapaleniem spojówek, połączonym ze zlepianiem się powiek. Na 4 lub 5 dzień myszki padały. Na sekcji stwierdziłem: obrzęk i przekrwienie wątroby, powiększenie śledziony i obrzęk nerek

Wyniki tych badań, z uwzględnieniem wszystkich badanych gatunków ryb, są zestawione na tabeli Nr 3.

Tabela Nr 3

Gatunek ryby	Łuski, pletwy grzbietowe, piersiowe i ogonowe			Łuski, 1 letwy i skrzela			Skrzela		
	Ilość ryb	+ Ró-życy	- Brak róży-cy	Ilość ryb	+ Ró-życy	- Brak róży-cy	Ilość ryb	+ Ró-życy	- Brak róży-cy
Dorsz	86	8	78	108	42	66	32	2	20
Śledź *)	7	—	7	—	—	—	7	—	7
Gładzica **)	16	10	6	—	—	—	2	—	2
Płóć	—	—	—	3	3	—	—	—	—
Okoń	—	—	—	3	3	—	—	—	—
Certa	—	—	—	2	2	—	—	—	—

Tabela Nr 4

Wyniki badań, otrzymanych przy użyciu materiału, pobranego wyłącznie z dorszy, w poszczególnych miesiącach okresu badawczego.

M i e s i a c	Pobrano do badania sztuk	W tym							
		z morza		ze statków ryb.		z patro-szalni		z samo-chodów	
		o t r z y m a n o w y n i k i							
		+	-	+	-	+	-	+	-
L i j e c 1949	6	—	—	0	2	1	1	2	0
Sierpień	6	—	—	2	0	4	0	—	—
Wrzesień	15	0	6	4	1	4	0	—	—
Październik	14	—	—	2	12	—	—	—	—
Listopad	10	—	—	0	10	—	—	—	—
Grudzień	10	—	—	0	10	—	—	—	—
Styczeń 1950	16	—	—	0	16	—	—	—	—
Luty	6	—	—	0	6	—	—	—	—
Marzec	6	—	—	0	6	—	—	—	—
Kwiecień	4	—	—	0	4	—	—	—	—
Maj	12	—	—	0	12	—	—	—	—
Czerwiec	36	—	—	0	36	—	—	—	—
Lipiec	26	—	—	2	20	4	0	—	—
Sierpień	30	0	20	2	20	5	3	—	—
Wrzesień	68	0	4	0	22	10	6	10	0
Październik	10	0	30	0	6	—	—	—	—
R a z e m	275	0	30	12	183	28	10	12	0

*) Śledź użyty do doświadczeń pobrany był bezpośrednio ze statków rybackich w miesiącu październiku 1949 r.

***) Gładzice pobrane w miesiącu sierpniu, wrześniu i październiku 1949 r. w ilości: 5 sztuk bezpośrednio ze statków rybackich a 13 sztuk ze skrzyń w patro-szalni. U ryb, pobranych ze statków rybackich otrzymałem wynik ujemny, natomiast u sztuk wziętych ze skrzyń, w 10 przypadkach wynik był dodatni, a w trzech ujemny. Ryby pobrane jałowo z morza dały wynik za każdym razem ujemny.

IDENTYFIKACJA WYOSOBNIONYCH SZCZEPÓW

W celu zidentyfikowania wyosobnionych szczepów włoskowca różycy stosowałem następujące metody:

- 1) Badanie bakterioskopowe.
- 2) Badanie bakteriologiczne.
- 3) Próba patogenności.
- 4) Określenie własności biochemicznych.
- 5) Próba działania odpornościowego surowicy przeciwróżycowej na wyosobnione szczepy.
- 6) Próba wiązania (neutralizacji) włoskowców z wyhodowanych szczepów przez surowicę przeciwróżycową.
- 7) Odczyn zlepnny.
- 8) Szczepienie gołębi.

1) Badanie bakterioskopowe — polegało na dokonaniu preparatów mazanych z wycinków wątroby, serca, śledziony i nerek padłych myszek — barwionych metodą Grama. W preparatach stwierdziłem nieliczne cienkie pałeczki gramdodatnie, układające się pojedynczo, lub po dwie, czasem pod kątem lub łańcuszkowato, morfologicznie identyczne z włoskowcem różycy.

2) Badanie bakteriologiczne. W tym celu pobrałem materiał z wycinków wątroby, serca, śledziony, nerek i wysiewałem go na agar płytkowy, który przetrzymywałem w termostacie w temperaturze + 37° C od 16 do 24 godzin. Na pożywkach wyrastały drobne, przejrzyste kolonie w kształcie kropelek rosy. Kolonie te przesiewałem następnie na bulion oraz agar skośny. Na pożywce bulionowej nastąpiło słabe zmętnienie; po wstrząśnięciu próbówki powstawały w płynie słabe obłoczki, które szybko znikaly.

3) Próba patogenności. W celu sprawdzenia patogenności wyhodowanego szczepu zakażalem powtórnie myszki 0,1 ml świeżej hodowli bulionowej podskórnie. Myszki w ten sposób zakażone padały na 4 i 5 dzień wśród objawów chorobowych, charakterystycznych dla różycy. Zmiany anatomopatologiczne stwierdzone na sekcji były również typowe dla tego schorzenia. Rozpoznanie zostało potwierdzone badaniem mikroskopowym i bakteriologicznym. Otrzymywane hodowle włoskowca różycy pasażowałem niejednokrotnie przez kilka rzędów myszek, otrzymując zawsze wyniki dodatnie.

4) Właściwości biochemiczne. Do wykonywania prób biochemicznych posługiwałem się 24-godzinną hodowlą bulionową włoskowca różycy Nr 40, Nr 104, Nr 107.

Nr 40 był oznaczony szczep, uzyskany przez zaszczepienie myszki materiałem z dorsza (łuski, płetwy),

Nr 104 — szczep uzyskany przez zaszczepienie myszki materiałem z dorsza (skrzela, płetwy, łuski),

Nr 107 — szczep uzyskany przez zaszczepienie gołębia materiałem z dorsza (skrzela, płetwy, łuski).

Wynik przedstawia tabela Nr 5.

Tabela Nr 5

	Wytwarzanie kwasu					Wytwarzanie indolu	Reakcja R. M.	Redukcja azotynów	Reakcja na siarczki
	Laktoza	Głukoza	Sacharoza	Mannitol	Maltoza				
Hodowla włosk. różycy Nr 40	+	+	-	-	-	-	-	-	+
Hodowla włosk. różycy Nr 104	+	+	-	-	-	-	-	-	+
Hodowla włosk. różycy Nr 107	+	+	-	-	-	-	-	-	+

Jak wynika z powyższego zestawienia, zbadane szczepy wykazały wszelkie cechy włoskowca różycy.

5) Próba działania odpornościowego surowicy przeciwróżycowej na wyosobnione szczepy. Do wykonania tego doświadczenia użyłem 24-godzinnej hodowli bulionowej włoskowca różycy Nr 104 i Nr 107. Hodowle te rozcieńczyłem płynem fizjologicznym w stosunku 1 : 9. Rozcieńczoną hodowlą zaszczepiłem 8 myszek:

4 myszki otrzymały dootrzewnowo po 0,1 ml. rozc. hod. Nr 104,

4 myszki otrzymały dootrzewnowo po 0,1 ml. rozc. hod. Nr 107.

Jednocześnie te same myszki otrzymały podskórnie surowicę przeciwróżycową, rozcieńczoną w płynie fizjologicznym NaCl w stosunku 0,8 ml surowicy na 7,2 ml NaCl. Z mieszaniny tej myszki dostawały po 1 ml. Myszki były obserwowane przez 10 dni. W tym czasie żadna z w ten sposób traktowanych myszek, nie padła.

Równoległe dla kontroli zaszczepiłem dootrzewnowo po 2 myszki rozcieńczoną hodowlą bulionową włoskowca różycy Nr 104 i Nr 107 w dawce po 0,1 ml. Wszystkie 4 myszki kontrolne, na trzeci dzień po zakażeniu straciły apetyt, posmutniały i wykazały światłowstręt z ropnym zapaleniem spojówek. Na 4 dzień padły 3 mysz-

ki, z tego 2 zaszczipione rozc. hod. bul. Nr 104 i jedna rozc. hod. bul. Nr 107. Czwarta myszka padła na 5 dzień. Dokonana sekcja oraz badanie bakteriologiczne potwierdziły rozpoznanie — różyca.

6) **Próba neutralizacji.** Do próby tej użyłem również szczepów Nr 104 i Nr 107. 0,15 ml hodowli bulionowej włoskowca różycy Nr 104 rozcieńczyłem 1,2 ml roztw. fizj. NaCl, po czym dodałem do tego 4 ml surowicy przeciwróżykowej rozcieńczonej w stos. 1 : 9 (0,4 ml surowicy przeciwróżykowej zmieszanej z 3,6 cm roztw. fizj. NaCl). Mieszaninę hodowli zarazka i surowicy, po dokładnym zmieszaniu wstawiłem na przeciąg jednej godziny do cieplarki posiadającej temperaturę + 37° C. W analogiczny sposób postąpiłem ze szczepem Nr 107. Wymienionymi mieszaninami, bezpośrednio po wyjęciu ich z cieplarki, zaszczipiłem 8 myszek dootrzewnowc, a mianowicie: 4 myszki otrzymały po 1,3 ml mieszaniny Nr 1 (szczep 104) a 4 dalsze myszki po 1,3 ml mieszaniny Nr 2 (szczep 107). Na drugi dzień po szczepieniu padła 1 myszka zaszczipiona mieszaniną Nr 1. Na sekcji stwierdziłem wylew krwawy od jamy brzusznej. Badania mikroskopowe i bakteriologiczne dały wynik ujemny. Za przyczynę padnięcia tej myszki uważam silny uraz mechaniczny powstały podczas zabiegu (myszka silnie szarpała się). Reszta myszek w ilości 7 sztuk w ciągu 10-dniowej obserwacji nie zdradzała widocznych zmian chorobowych. Dla kontroli zakaziłem jednocześnie 4 myszki dootrzewnowo analogicznie rozcieńczoną hodowlą bulionową włoskowca różycy Nr 104 i Nr 107. Myszki te padły na 4 dzień na różyce.

7) **Odczyn z lepny.** Do wykonania odczynu lepny użyłem dwóch, 24-godz. hodowli włoskowca różycy Nr 104 i Nr 107 na agarze skośnym, zmytych 5 ml roztworu fizjologicznego NaCl. Jako surowicę użyłem przeciwróżykową surowicę odpornościową produkcji Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach. Antygen stanowiła zawiesina danej hodowli agarowej włoskowca różycy w płynie fizjologicznym. Samą próbę wykonałem w zwykły sposób: mianowicie do pierwszej próbówki wprowadziłem 0,93 ml antygeny Nr 104 oraz 0,05 ml surowicy przeciwróżykowej, do następnych zaś wprowadziłem po 0,5 ml antygeny Nr 104. Po dokładnym wymieszaniu zawartości pierwszej próbówki przeniosłem z niej 0,5 ml zawiesiny do drugiej próbówki, i tak dalej, otrzymując w ten sposób następujące rozcieńczenia surowicy:

1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280.

Ósma próbówka służyła jako kontrola samego antygeny. W ten sam sposób postąpiłem z hodowlą włoskowca różycy Nr 107. Tak przygotowane próbówki wstawiłem do cieplarki o temp. + 37° C

na 2 godziny, po czym do następnego dnia przechowywałem w temperaturze pokojowej. Odczytanie wyników nastąpiło po 24 godzinach: szczep Nr 104 aglutynował wyraźnie do miana 1 : 1280, a szczep Nr 107 do miana 1 : 640.

8) Szczepienie gołębi miało na celu zapobiegnięcie zarzutowi, że otrzymane szczepy są pochodzenia mysiego (*b. murisepticus*). W tym celu szczepiłem 3 gołębie zawiesiną z łusek i płetw ryb w roztworze fizjol. NaCl (przyrządzoną w ten sam sposób jak do szczepień myszek i przechowaną w chłodni w temperaturze + 4° C), — dawką 1 ml. Zawiesiną tą szczepiłem gołębie wtedy, gdy szczepione nią przedtem myszki padły z objawami różycy.

Wszystkie gołębie szczepione padały już na trzeci dzień po szczepieniu. Zmiany anatomo-patologiczne przy sekcji jak i dokonane badania bakterioskopowe i bakteriologiczne potwierdzały doświadczenia dokonane na myszkach.

Druga część badań miała na celu ustalenie źródła pochodzenia włoskowców różycy, stwierdzonych na rybach morskich. W tym celu wykonałem następujące badania:

- 1) Badanie treści przewodu pokarmowego.
- 2) Badanie nerek.
- 3) Badanie mułu dennego.
- 4) Badanie ryb pobranych jałowo wprost z sieci przed zetknięciem się ich ze statkiem.

1) Badanie treści przewodu pokarmowego:

Do badań użyłem ogółem:

35 dorszy, 7 śledzi i 5 gładzic.

Materiałem składającym się z żołądków i jelit wraz z treścią pokarmową, roztartych w wysterylizowanym mózdzierzu z dodatkiem roztworu fizjologicznego NaCl, zaszczyłem ogółem 16 myszek dawką po 0,5 ml podskórnie. Zawiesinę z poszczególnych gatunków ryb przygotowałem osobno w kilkunastu partiach.

2) Badanie nerek:

Do badań tych użyłem 14 sztuk dorszy.

Materiał służący do szczepienia zwierząt składał się z nerek roztartych w wysterylizowanym mózdzierzu z dodatkiem 50 ml roztworu fizjologicznego NaCl. Otrzymaną w ten sposób zawiesiną zaszczyłem 3 myszki dawką po 0,5 ml podskórnie. W obu badaniach z ryb, użytych do wyżej opisanych doświadczeń pobrałem dla

kontroli również materiał ze skrzelii, łusek i płetw, który roztarłem w mózdzierzu wysterylizowanym z dodatkiem 30 ml roztworu fizjologicznego NaCl i otrzymaną zawiesiną zaszczerpiłem 8 myszek dawką po 0,5 ml podskórnie.

3) Badanie mułu dennego:

Dorsze są rybami dennymi, żerującymi głównie na dnie i polawiane tzw. włokami dennymi. Ryby te po wydobyciu na powierzchnię są zawsze nieco zanieczyszczone mulem dennym. Wobec stwierdzenia włoskowca różycy jedynie na zewnętrznych powłokach ryb, zachodziła potrzeba wyjaśnienia ewentualnej obecności włoskowca w mule.

Odpowiednie doświadczenia wykonałem dwukrotnie we wrześniu 1949 r. i w tym samym miesiącu 1950 r. Muł do doświadczeń został pobrany z dna Bałtyku na głębokości ok. 60 m. Technika pobrania była następująca: we włoku w którym wyciągnięto dorsze, znajdowała się pewna ilość mułu, który za pomocą wysterylizowanej łyżeczki pobrałem do dwóch jałowych kolb. W trzy godziny po pobraniu mułu nastąpił powrót do portu.

Po powrocie z morza przystąpiłem natychmiast do wykonania badań. Jedną kolbę z mulem wstawiłem do lodówki o temperaturze $+ 5^{\circ} \text{C}$, a więc równej temperaturze wody morskiej na głębokości 60 m. Z drugiej kolby pobrałem 5 g mułu i roztarłem go w wysterylizowanym mózdzierzu z 20 ml roztworu fizjologicznego NaCl. Zawiesiną tą w ilości po 1 ml zaszczerpiłem 2 myszki podskórnie oraz 2 ml domięśniowo 1 gołębia. Tak myszki jak i gołąb w ciągu 10-dniowej obserwacji nie wykazały objawów chorobowych. Jednocześnie pipetą miarową pobrałem 0,05 ml tej samej zawiesiny i posiałem na 2 agary płytkowe. Jedną płytkę wstawiłem na 24 godziny do ciepłarki w temperaturze $+ 37^{\circ} \text{C}$. Celem uzyskania jaknajlepszego wzrostu włoskowca różycy, drugą płytkę pozostawiłem w temperaturze pokojowej $+ 19^{\circ} \text{C}$, celem uzyskania wzrostu bakterii psychrofilnych. Na płytkach wyrosły liczne kolonie białe i żółte różnej wielkości. Kolonii charakterystycznych dla włoskowca różycy nie zauważyłem. W preparatach mikroskopowych barwionych metodą Grama, stwierdziłem oprócz ziarenkowców, przeważającą liczbę gramoujemnych pałeczek różnej wielkości, a nawet drobnoustroje zarodnikujące, charakterystyczne dla głębszych warstw mułu dennego morza. Pałeczek włoskowca różycy nie zauważyłem. Po pięciu dniach od chwili pobrania mułu, zaszczerpiłem powtórnie dwie myszki zawiesiną mułu przechowywanego w chłodni. W ciągu 10-dniowej

obserwacji myszki nie zdradziły żadnych objawów chorobowych. Takie same doświadczenia przeprowadziłem ponownie we wrześniu 1950 r. również w wyniku ujemnym.

4) Badanie ryb pobranych jałowo wprost z sieci przed zetknięciem się ich ze statkami:

Do badań użyłem 30 sztuk dorszy.

Dorsze pobrałem na morzu w odległości 20 mil od brzegu, jałowo wprost z sieci, — w miesiącu sierpniu i wrześniu 1949 r. i 1950 r. Miejsce połowu wynosiło 60 m głębokości.

Materiał służący do szczepienia zwierząt składał się każdorazowo z:

- 1) łusek, płetw i skrzelii,
- 2) przewodu pokarmowego (żołądek, jelita wraz z treścią pokarmową),
- 3) nerek,

roztartych w trzech wysterylizowanych moździerzach z dodatkiem 50 ml roztworu fizjologicznego NaCl. Otrzymanymi zawiesinami zaszczyłem ogółem 20 myszek.

Wyniki wszystkich tych badań są uwidocznione na tabeli Nr 6.

Tabela Nr 6

	Ilość ryb	Ilość myszek zaszczypanych zawiesiną materiału								Gołębie zaszczypane mulem	
		z przewodu pokarmow.		z nerek		ze skrzelii łusek i płetw		z mułu dna morsk.			
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	=
Dorsze	49	0	12	0	3	4	0	—	—	—	—
Śledzie	7	0	2	—	—	0	2	—	—	—	—
Gładzice	5	0	2	—	—	0	2	—	—	—	—
Muł z dna morskigo	—	—	—	—	—	—	—	0	8	0	2
Dorsze pobrane jałowo na morzu z sieci	30	0	5	0	5	0	10	—	—	—	—

+ = myszki padły 4 dnia.
 — = myszki nie padły.

DYSKUSJA

Z przeprowadzonych przeze mnie badań przy użyciu ryb morskich, pobranych zarówno ze statków rybackich, jak i wprost z morza wynika, że włoskowce różycy stwierdzone na rybach morskich są pochodzenia lądowego i że ryby te zakażają się tymi drobnoustrojami po złowieniu — na statkach lub w portach. Przemawiają za tym następujące fakty: włoskowce różycy zostały stwierdzone jedynie na powłokach zewnętrznych ryb, nie wykryto ich natomiast w przewodzie pokarmowym i nerkach ryb, w mule dennym oraz na rybach pobranych jałowo wprost z morza.

Włoskowiec różycy nie może utrzymywać się w wodzie morskiej, gdyż, jak wynika z badań *Stryszaka* (1949) nad zachowaniem się drobnoustrojów grupy *Salmonella* w wodzie Zatoki Gdańskiej, drobnoustroje mezofilne nie mogą rozmnażać się w wodzie morskiej z powodu działania licznych bakteriowrogich czynników (pierwotniaki, dyspersja, światło, bakteriofagi itp.) i szybko ulegają w niej zniszczeniu.

Rozmnażanie się włoskowca różycy w morzu uniemożliwiają też zbyt niskie temperatury wody morskiej. Wahania temperatury Bałtyku na głębokościach, w których żyje dorsz wynoszą: od 2,0° C do 7,2° C. Pomiary te dokonane zostały na obszarze Głębi Gdańskiej (miejsce połowu dorsza) od lipca 1949 r. do maja 1950 r. przez Wydział Hydrograficzny Morskiego Instytutu Rybackiego w Gdyni.

Poniższe tabele ilustrują stan temperatury na obszarze Głębi Gdańskiej oraz przeciętną temperaturę morza przy Helu w latach 1926 — 1935.

Tabela Nr 7
Stan temperatury na obszarze Głębi Gdańskiej

Data	Głębokość punktu	Głębokość pobrania próby m	Temperatura °C
27. 7. 1949	98,4 m	60	4.15
		70	3.85
		75	4.05
		80	5.05
		87	5.70
		97	6.25
14. 8. 1949	101,5 m	60	4.85
		75	4.15
		100	5.85

Data	Głębokość punktu	Głębokość pobrania próby m	Temperatura °C
9. 2. 1950	97 m	60	5.40
		70	6.00
		80	6.60
		90	6.30
		95	6.20
1. 3. 1950	95 m	60	2.60
		70	3.45
		80	7.10
		88	7.15
		93	7.20
21. 4. 1950	95 m	60	2.50
		70	4.35
		80	6.10
		95	6.35

Tabela Nr 8

Przeciętna temperatura morza przy Helu w latach 1926—1935

Miesiąc	Głębokość morza				
	0 m	10 m	20 m	30 m	40 m
Styczeń	1,8	2,1	2,4	2,7	3,3
Luty	1,2	1,3	1,5	1,9	2,2
Marzec	1,6	1,5	1,5	1,6	1,7
Kwiecień	4,6	3,7	3,2	2,9	2,4
Maj	8,7	6,5	5,3	4,6	4,2
Czerwiec	12,9	10,8	9,1	7,6	7,1
Lipiec	17,2	15,6	13,7	12,1	10,3
Sierpień	17,8	17,2	15,5	13,4	11,4
Wrzesień	15,5	15,1	13,5	12,1	10,5
Październik	11,7	11,7	11,3	10,9	10,3
Listopad	8,2	8,1	8,1	7,8	7,4
Grudzień	4,6	4,8	5,0	5,1	5,1

Biorąc pod uwagę, że włoskowiec różycy rozmnaża się dopiero w temperaturach powyżej $+ 14^{\circ} \text{C}$, — w głębokościach, w których przebywają dorsze, nie znajduje on warunków do życia. Ale również bardziej powierzchniowe warstwy wody wykazują tylko w lipcu, sierpniu i wrześniu temperatury, które odpowiadają wymaganiom cieplnym włoskowca. Tymczasem drobnoustrój bywa znalezione

ny na rybach już w maju (temp. wody 8,7°), a również jeszcze w październiku (temp. wody 11,7°).

Włoskowiec zostaje stwierdzony na rybach morskich jedynie w ciepłych porach roku, a więc równoległe z nasileniem różycy u trzody chlewnej. Wskazuje to na wzmożone rozmnażanie się włoskowca różycy w zewnętrznym środowisku lądowym pod wpływem wyższych temperatur letnich.

Różycy występuje tylko wśród ludzi zatrudnionych bezpośrednio przy obróbce ryb w zakładach rybnych, natomiast brak tego schorzenia u rybaków kutrowych i dalekomorskich. Rybacy kutrowi, wyjeżdżając na połów jednodniowy, względnie dwudniowy wprawdzie ryb złowionych nie patroszą, lecz przewożą je w stanie niepatroszonym do portu. Wskutek tego są oni w mniejszym stopniu narażeni na skaleczenie się lub zadrażnienie się łuską i kością rybą, a tym samym na zakażenie się różycą. Natomiast rybacy dalekomorscy, pracujący na trawlerach przebywają na rejsie połowowym dorsza od 8 do 20 dni. Dorsze złowione zostają na statku przez nich patroszone. Warunki patroszenia ryb na statkach są gorsze niż na lądzie, gdyż ryby patroszone są bezpośrednio na pokładzie i brak bieżącej wody do częstego opłukiwania ryby. Sprzyja to niewątpliwie zakażeniu się różycą. Biorąc jednak stały udział w odprawach sanitarnych statków rybackich od lipca 1949 r. do sierpnia 1950 r. (w którym to czasie weszło do portu rybackiego w Gdyni 238 statków rybackich) nie stwierdziłem u żadnego rybaka patroszącego dorsza schorzenia różycowego.

Włoskowce różycy nie zostały znalezione na rybach, pobranych z kutrów w miesiącu maju i czerwcu 1950 r., w których to miesiącach była przeprowadzana przez organa Portowego Urzędu Zdrowia stała kontrola sanitarna kutrów wychodzących w morze, a która zmusiła rybaków do dokładnego mycia kutrów i załadowanych skrzyń przed wyruszeniem na połów, jak również do utrzymania swoich statków w czystości. W miesiącach lipcu i sierpniu 1950 r., w których kontrola sanitarna statków została zawieszona, włoskowce pojawiły się ponownie na rybach kutrowych. Niewątpliwie ryby ulegały zakażeniu przez brudne skrzynie lub też w źle wyczyszczonych komorach ładunkowych statków.

WNIOSKI

- 1) Włoskowiec różycy (*erysipelothrix rhusiopathiae*) jest częstą przyczyną zakażenia ludzi zatrudnionych w morskim przemyśle rybnym.

- 2) Włoskowiec różycy występuje na rybach morskich tylko w ciepłych porach roku od maja do września.
- 3) Włoskowiec różycy znaleziony u ryb morskich jest pochodzenia lądowego, gdyż występuje jedynie na powłokach zewnętrznych ryb morskich pobranych ze statków lub z zakładów rybnych, nie występuje natomiast w przewodzie pokarmowym i nerkach ryb oraz w mule dennym i na rybach pobranych jałowo wprost z morza.
- 4) Wszystkie wyosobnione szczepy włoskowców różycy okazały się identyczne z zarazkiem różycy trzody chlewnej.
- 5) Przypadki zachorowań na różycę dotyczyły przede wszystkim ludzi zatrudnionych na ładzie przy patroszeniu ryb, przy czym najczęstszą przyczyną zachorowań na różycę były ryby słodkowodne, a w szczególności ryby jeziorowe i stawowe.
- 6) Nie zanotowano ani jednego przypadku różycy u załogi kutrów i statków dalekomorskich (trawlerów).
- 7) Źródłem zakażenia ryb włoskowcem różycy mogą być źle czyszczone skrzynie, komory ładunkowe, lód i sprzęt służący do obróbki ryb.
- 8) Woda morska i basenowa nie jest źródłem zakażenia ryb, gdyż mycie kutrów wodą morską wzgl. basenową nie powoduje nasilonego zakażenia ryb. Poza tym włoskowce nie znajdują w wodzie morskiej odpowiednich warunków rozwojowych.
- 9) Zapobieganie zakażeniu ryb, a w następstwie i ludzi włoskowcem różycy polega na skrupulatnym przestrzeganiu czystości na statkach rybackich i w zakładach przetwórczych, w magazynach i na czystym utrzymaniu środków przewozowych.

А. Невяровски

ИССЛЕДОВАНИЯ

НАД ПОЯВЛЕНИЕМ И ИСТОЧНИКОМ ВОЗБУДИТЕЛЯ РОЖИ СВИНЕЙ (*ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*) У МОРСКИХ РЫБ И РАБОТНИКОВ РЫБНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

СОДЕРЖАНИЕ

1) Возбудитель рожи свиней — *erysipelothrix rhusiopathiae* является частой причиной инфекции у людей, работающих в морской рыбной промышленности.

2) Возбудитель рожи свиней появляется на морских рыбах только в теплое время года от мая до сентября.

3) Возбудитель рожи свиней, найденный у морских рыб является берегового происхождения, так как обнаруживается только на наружных покровах морских рыб на судах или на рыбных предприятиях. Возбудитель не обнаруживается в кишечном тракте и почках рыб, а также в донном иле и на рыбах, выловленных стерильно непосредственно из моря.

4) Все выделенные штаммы данного возбудителя оказались идентичными с возбудителями рожи домашних свиней — *erysipelothrix rhusiopathiae*.

5) Случаи заболеваний рожей свиней касались прежде всего людей, работающих на берегу при потрошении рыб, при чем наиболее частой причиной заболеваний рожей свиней были пресноводные рыбы в особенности рыбы озерные и прудовые.

6) Не зарегистрирован ни один случай рожи свиней среди экипажа рыбацких катеров и судов дальнего плавания (траулеров).

7) Источником заражения рыб возбудителем рожи свиней могут быть плохо очищены ящики, склады, лед и инструментарий, служащий для обработки рыб.

8) Морская и бассейновая вода не является источником заражения рыб, так как мытье катеров морской или бассейновой водой не вызывает увеличения степени заражения рыб. Кроме того возбудитель не находит в морской воде соответствующих условий для развития.

9) Профилактика заражения рыб, а в дальнейшем и людей рожей свиней состоит в тщательном поддержании правил чистоты на рыбацких судах, на предприятиях, перерабатывающих рыбу, складах и транспортных средствах.

A. Niewiarowski

INVESTIGATIONS ON THE APPEARANCE AND ORIGIN OF ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE IN SEA FISH AND IN THE WORKERS OF FISH INDUSTRY.

Summary

1. *Erysipelothrix rhusiopathiae* is a frequent cause of infection in persons employed in sea fish industry.

2. *Erysipelothrix rhusiopathiae* appears on sea fish only in hot seasons, from

3. *Erysipelothrix rhusiopathiae* found in sea fish is of continental origin, because it appears only on the external part of sea fish which have been taken from the boats or from fish undertakings, while it does not appear in the digestive

tract nor in the kidneys of the fish; neither it appears in the mud at the bottom of the sea or in the fish taken directly from the sea.

4. All isolated species of *erysipelothrix rhusiopathiae* proved to be identical with the virus of the erysipeloid in cattle.

5. The cases of the occurrence of erysipeloid have taken place particularly in persons employed on land at the disembowelling of fish; moreover the most frequent cause of the occurrence of erysipeloid has been found in sweet water fish, especially in lake and pond fish.

6. Not a single case of erysipeloid has been observed in the crew of the cutters and oversea boats (trawlers).

7. A source of the infection of fish by *erysipelothrix rhusiopathiae* may be found in badly cleaned boxes, loading chambers, ice and equipment serving for the preparation of fish.

8. Sea water and basin water cannot constitute a source of the infection of fish, because the washing of cutters with sea water or with basin water does not cause an increased infection. Besides the *erysipelothrix rhusiopathiae* do not find development conditions in the sea water.

9. To prevent the infection of fish, and consequently of people by *erysipelothrix rhusiopathiae*, it is necessary to observe scrupulous cleanliness in the fishing boats, in the manufacturing undertaking, in magazines and in the transportation means.

PISMIENICTWO

1) *Brunner*: Experimentelle Untersuchungen über Schweinerotlaufbakterien bei Fischen. — Zbl. Bakt. II. 1938.

2) *Burgisser H.*: Contribution à l'étude de rouget de porc chez les volailles — ref. *Medycyna Wet.* 1949. Nr 4.

3) *Crouge*: Etude d'une petite epizootic due a un bacille du groupe du rouge du porc observee chez les rats. — *Bull. Acad. Vet. France* 9, 438—443. 1936.

4) *Demel K.*: Z pomiarów techn. Bałtyku cz. VI. *Arch. Hydr. i Ryb.* XI. Suwałki 1938.

5) *Demel K.*: *Morze Północne.* Gdynia 1949.

6) *Demel K.*: *Biologia ryb Bałtyku.* Gdynia 1947.

7) *Drake C. H. i Hull* 1947: The common rat as source of Erysip. *Rhus.* *Am. J. Pub. Health* 37, 846—848.

8) *Hirschfeld L.*: *Immunologia ogólna.* 1949.

9) *Hay J.*: Przypadek różycy świń u bydła. *Medycyna Wet.* 1949 Nr 5 str. 350

10) *Jastrzębski T.*: Szczepionka przeciw różycy świń wg Muromcewa. *Medycyna Wet.* 1950 Nr 5 str. 114.

11) *Kosmaczewski J.*: *Rybolówstwo morskie w wodach północnej Europy.* Gdynia 1947.

12) *Knorchan*: *Berliner Tierärztliche Wochenschrift* 1925.

13) *Meisner*: *Ichtiologia stosowana.* Gdynia 1948.

14) *Mierzecki H.*: Problem różycy w świetle spostrzeżeń klinicznych i badań bakteriologicznych. *Medycyna Pracy* 1948 (1).

- 15) *Przesmycki F.*: Zakres bakteriologii praktycznej. Warszawa 1947.
- 16) *Siedlecki M.*: Ryby morskie częścię poalwiane na Bałtyku i Północnym Atlantyku. Gdynia 1947.
- 17) *Szymanowski Z. i A. Ber.*: Zarys Mikrobiologii Szczegółowej. Tom I i II 1947.
- 18) *Schoop Gerhard*: Rotlaufbakterien auf Seefischen. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 1936.
- 19) *Stryszak A.*: Behaviour of Microorganismus of the Salmonella Group in the Seawater of the Gulf of Gdańsk. Biuletyn Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej Akademii Lekarskiej w Gdańsku. 1949. Tom II Nr 1 — 2 str. 35, Nr 3 — 4, str. 213.
- 20) *Stiles G. W.*: Swine erysipelas organisms recovered from a brown rat (*Rattus norvegicus*). 1944. Am. J. Vet. Research 5, 243 — 245.
- 21) *Staśkiewicz G.*: Różycza — Przegląd nowych badań i poglądów — Mę-May to September.
- 22) *Staśkiewicz G.*: Posocznica różycowa świń z objawami pokrzywki. Medycyna Wet. 1947 Nr 8, str. 529.
- 23) *Skinner J. B. i Maloof C. C.*: Medical Hazards Associated with the Fish Industry in Massachusetts — „The New England” Journal of Medicine, Boston 1949, 240/7 (256 — 257). Ref. EJercepta Medica, Section IV, Medical Microbiology and Hygiene — August 1949 Vol. II Nr 8 str. 871.
- 24) *Trawiński A.*: Podskórne uodparnianie koni zawiesiną aglutynatu włoskowców różycy — Medycyna Wet. 1947 Nr 4 str. 238.
- 25) *Trawiński A.*: Mięso i produkty mięsne — Warszawa 1938.
- 26) *Wollmann G.*: Die Übertragung des Schweinerotlaufs durch den Saugakt (*Stomaxys calcitrans*) und ihre epidemiologische Bedeutung. — Ref. Medycyna Wet. 1950 Nr 2.
- 27) *Woodbine Malcolm*: Erysipelothrix rhusiopathiae bacteriology and chemotherapy — Bacteriological Reviews. June 1950 vol. 14 Nr 2 str. 101.
- 28) *Wyszyllosskij N.*: Czastnaja epizootologia — Moskwa 1948.
- 29) *Zakrzewski A.*: Różycza i pomór świń — Lublin 1947.
- 30) *Zo Bell i Upham*: Marine Bacteriology. 1948.

Tadeusz Przyborowski

WPLYW WARUNKÓW METEOROLOGICZNYCH NA
PRZESUNIĘCIA W CZASIE OKRESÓW NAJWIĘKSZEJ
PLENNOŚCI DZIKICH SZCZURÓW W PORTACH
GDYNI I GDAŃSKA. LATA 1946/49

Celem tej pracy była chęć stwierdzenia, czy w ciągu roku występują wahania w plenności dzikich szczurów i czy związane to jest w jakimkolwiek stopniu z występującymi w tym czasie zmianami klimatycznymi, jak również, czy zmienne dane meteorologiczne, występujące w analogicznych porach roku, mogą mieć wpływ na przebieg krzywych plenności.

Zagadnienia te miały cele praktyczne, chodziło o wytypowanie najlepszych okresów dla przeprowadzenia masowego tępienia szczurów.

MATERIAŁ

Materiał służący za podstawę niniejszej pracy pochodzi z pracowni badania szczurów PZH. Filia Morska w Gdyni, — są to szczury z terenów portowych Gdyni, częściowo Gdańska, w niewielkiej liczbie ze Świnoujścia i Szczecina.

Badania zostały przeprowadzone w okresie od 20.X. 1946 do 31.XII. 1949 r. Złapane w tym okresie szczury należały do dwóch gatunków i jednej jego odmiany.

- | | | |
|--------------------------|--------------------------------|-------|
| 1. Szczur rudy | — <i>Epimys Norvegicus</i> | 86,6% |
| 2. Szczur śniady | — <i>Epimys Rattus</i> | 6,8% |
| 3. Szczur aleksandryjski | — <i>Epimys Rattus Alexan.</i> | 6,6% |

Na terenie portów jak dotąd występuje wyraźna przewaga szczura rudego, z każdym rokiem ulega ona zmniejszeniu, mając tendencję do osiągnięcia stanu z roku 1938.

Rok 1938	<i>Ep. Norvegicus</i>	50,6%
	<i>Ep. Rattus</i>	49,4%
1946	<i>Ep. Norvegicus</i>	94,8%
	<i>Ep. Rattus</i>	5,2%

1947	<i>Ep. Norvegicus</i>	89,5%
	<i>Ep. Rattus</i>	10,5%
1948	<i>Ep. Norvegicus</i>	87,4%
	<i>Ep. Rattus</i>	12,6%
1949	<i>Ep. Norvegicus</i>	79,6%
	<i>Ep. Rattus</i>	20,4%

Na statkach fumigowanych w naszych portach występowały te same gatunki szczura, lecz w zupełnie innym stosunku.

	<i>Ep. Rattus Alexandrinus</i>	— 32,4%
Statki	<i>Ep. Norvegicus</i>	— 6,6%
	<i>Ep. Rattus</i>	— 61,0%

Wobec dotychczasowej utrzymującej się na terenach portowych wybitnej przewagi szczura rudego, badania przeprowadzone zostały tylko nad tym jednym gatunkiem. Liczba osobników innych gatunków stosunkowo była tak mała, że nie nadawała się do wyciągnięcia jakichkolwiek wniosków czy czynienia porównań. Szczury pochodzące ze statków zostały wyłączone z naszych obliczeń, ponieważ przebywają one w ciągle zmiennych warunkach klimatycznych, poza tym pogłowie szczura na statkach ulega o wiele częstszym zmianom niż to jest możliwe na lądzie.

Wpływ na całość materiału, możliwego przenikania szczura rudego ze statków na ląd, wobec małego ich tam procentu, jest bez większego znaczenia.

Ogółem zostało zbadanych 4 811 szczurów rudych.

METODA I TECHNIKA BADANIA

Badania przeprowadzono w trzech zasadniczych kierunkach.

- A. Określano na podstawie znalezionych embrionów, odsetek samic ciężarnych w poszczególnych miesiącach.
- B. Odsetek samic w okresie laktacji.
- C. Odsetek osobników młodych w stosunku do ogólnej ilości złowionych szczurów.

Grupy A nie rozbijano na różne okresy zaawansowania ciąży. Do grupy B zaliczono samice o wyraźnie powiększonych sutkach z wyraźną wydzieliną. Do grupy C zaliczono osobniki o długości tułowia poniżej 15 cm i wadze mniejszej niż 100 — 120 g. Ten podział przyjęto na podstawie dotychczasowego materiału, w którym u szczura rudego nie spotkałiśmy dotąd samicy w ciąży lub okresie laktacji o tułowiu krótszym niż 15 cm. Przeciętna długość tułowia u osobników dorosłych na naszym terenie wynosi:

<i>Ep. Norvegicus</i>	— 22,2 cm
<i>Ep. Rattus</i>	— 18,0 cm
<i>Ep. Rattus Alexandrinus</i>	— 18,5 cm

Z danych klimatycznych wzięto pod uwagę, średnią ciepłotę miesiąca i średnią ilość opadów w milimetrach. Procent wilgotności z powodu bardzo małych w ciągu roku wahań średnich miesięcznych, nie został uwzględniony.

W ciągu całego okresu badań, szczury łapane były w tych samych powtarzających się okresowo miejscach, tą samą metodą, przeważnie przy pomocy łapek, w bardzo małym procencie przy pomocy trucizn.

Fala deratyzacji trutkowej przechodziła przez port przeciętnie czterokrotnie rocznie, łapki wystawiane były stale w różnych częściach portu, jednorazowo od 50—70 sztuk.

Szczury łapane w inny sposób, jak zalewanie wodą, wybijanie ręczne lub chwytanie psami, zostały z tego materiału wyłączone. Bo- wiem tych sposobów używano przeważnie do likwidowania gniazd w okresie najintensywniejszego mnożenia się szczurów, toteż procent osobników młodych był zawsze bardzo wysoki — lecz charakteryzował tylko poszczególne punkty w wybranym czasie a nie całość portu w ciągu całego roku.

Poza tym metod tych ze względów terenowych nie da się stosować wszędzie, w porównaniu do innych są to metody doszczętne, toteż nie można było zestawiać wyników osiągniętych metodami o tak różnej skuteczności.

Z trzech sposobów badania naszego materiału, najmniejszy błąd w technice badania można było popełnić określając samice ciężarne. Ciężar stwierdzono na podstawie znalezionych embrionów widzianych gołym okiem, przeoczenie było nieprawdopodobne z tym, że został pominięty cały materiał tyczący bardzo wczesnych okresów ciąży.

Podział na osobniki młode i stare oparty był na obserwacji przeszło 5 000 szczurów, ewentualny błąd w założeniu może mieć istotne znaczenie, zwłaszcza, że obserwacyjny materiał jest liczbowo niewielki, dalsze obserwacje przekonają nas, czy założenia nasze były słuszne.

Najmniej dokładne są określenia samic w okresie laktacji, stwierdzenie faktycznego stanu rzeczy nie zawsze jest rzeczą łatwą, toteż błędy wynikłe z techniki określania mogą być duże.

Słabą stroną tego w ten sposób posegregowanego materiału jest krótkość szeregu liczb, przeciętnie mniejsza niż 200 obserwacji w miesiącu.

W poszczególnych miesiącach odsetek samic ciężarnych do ogółu złapanych samic jest następujący:

Tabela I

	1947	1948	1949
I.	10,1%	5,1%	8,0%
II.	22,7%	8,3%	8,6%
III.	9,3%	11,4%	11,5%
IV.	31,2%	17,3%	6,4%
V.	30,6%	13,3%	4,8%
VI.	12,9%	9,5%	4,6%
VII.	5,9%	5,3%	16,0%
VIII.	10,6%	20,6%	11,7%
IX.	10,4%	19,2%	11,1%
X.	13,7%	10,6%	17,5%
XI.	4,6%	6,9%	17,9%
XII.	5,5%	—	4,6%

Poszczególne liczby różnią się między sobą wyraźnie. Należało rozstrzygnąć, czy ten fakt jest spowodowany przypadkowością zebranego materiału, czy też jest odbiciem faktycznego stanu w terenie.

Przeanalizowaliśmy więc cały materiał stosując wzór na błąd średni

$$\Sigma = \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}}$$

n — liczba obserwacji jednego szeregu
q — liczba obserwacji drugiego szeregu
p — n—q

przyjmując, że wnioski wyciągane z zestawień dwóch szeregów obserwacji są wtedy istotne, jeżeli liczby szukane są większe od trzykrotnego błędu średniego.

Obliczenia przeprowadzono dla każdego miesiąca.

W tych miesiącach, gdzie liczby bezwzględne samic ciężarnych były większe lub prawie równe trzykrotnemu błędowi średniemu, przyjęliśmy, że odsetek samic ciężarnych jest charakterystyczny dla stosunków terenowych, panujących w danym czasie. Po skorygowaniu w ten sposób Tabeli I pozostały miesiące:

Tabela II

	1947	1948	1949
I.	10,1%	—	—
II.	22,7%	—	—
III.	—	—	—
IV.	31,2%	17,3%	—
V.	30,6%	13,3%	—
VI.	—	9,5%	—
VII.	—	—	—
VIII.	10,6%	20,6%	—
IX.	10,4%	19,2%	—
X.	13,7%	10,6%	17,5%
XI.	—	—	17,9%
XII.	—	—	—

Analogicznie postąpiliśmy z liczbami obrazującymi stosunek szczurów młodych do ogółu złapanych.

Tabela III

	1947	1948	1949
I.	0,9%	17,5%	16,9%
II.	2,5%	16,3%	1,0%
III.	9,1%	18,3%	38,3%
IV.	4,2%	37,9%	11,6%
V.	13,5%	42,8%	13,0%
VI.	43,6%	41,3%	37,3%
VII.	39,4%	18,0%	22,4%
VIII.	16,4%	21,3%	13,7%
IX.	13,5%	28,2%	7,8%
X.	20,2%	43,7%	11,1%
XI.	17,1%	35,0%	19,5%
XII.	4,1%	28,5%	18,0%

Po skorygowaniu pozostały miesiące:

Tabela IV

	1947	1948	1949
I.	—	17,5%	16,9%
II.	—	16,3%	—
III.	9,1%	18,3%	38,3%
IV.	—	37,9%	—
V.	13,5%	42,8%	—
VI.	43,6%	41,3%	37,3%
VII.	39,4%	18,0%	22,4%
VIII.	16,4%	21,3%	13,7%
IX.	13,5%	28,2%	—
X.	20,2%	43,7%	—
XI.	17,1%	35,0%	19,5%
XII.	—	28,5%	18,0%

Odsetek samic w okresie laktacji:

Tabela V

	1947	1948	1949
I.	1,4%	2,5%	16,0%
II.	—	—	24,1%
III.	—	—	15,3%
IV.	2,0%	5,7%	29,0%
V.	2,5%	23,3%	14,6%
VI.	3,2%	18,0%	30,2%
VII.	5,9%	17,8%	8,0%
VIII.	—	12,7%	28,7%
IX.	—	16,6%	24,0%
X.	—	12,0%	35,0%
XI.	—	18,8%	15,1%
XII.	—	13,0%	9,3%

Po skorygowaniu pozostały miesiące:

Tabela VI

	1947	1948	1949
I.	—	—	—
II.	—	—	24,1%
III.	—	—	—
IV.	—	—	29,0%
V.	—	23,0%	—
VI.	—	18,0%	30,2%
VII.	—	17,8%	—
VIII.	—	—	28,7%
IX.	—	16,6%	24,4%
X.	—	—	35,0%
XI.	—	18,8%	—
XII.	—	—	—

TABELA VII.

Dane meteorologiczne z Państw. Instyt. Meteorolog. Gdynia.

M i e s i a c	1947			1948			1949		
	Temp.	W łg.	Opady	Temp.	W łg.	Opady	Temp.	W łg.	Opady
Styczeń	-5,0	80%	23,8	0,9	85%	47,6	1,6	78%	24,9
Luty	-8,8	82%	24,8	1,0	85%	42,0	3,0	77%	34,0
Marzec	0,8	84%	40,9	3,3	77%	26,2	1,4	73%	19,3
Kwiecień	7,2	69%	47,6	8,8	73%	9,6	8,3	72%	30,9
Maj	12,0	68%	11,7	12,0	77%	68,9	12,8	73%	36,0
Czerwiec	11,4	71%	31,1	15,4	74%	45,4	14,0	77%	82,5
Lipiec	18,7	75%	71,6	17,9	74%	25,0	17,6	79%	173,5
Sierpień	17,9	78%	123,1	17,9	74%	112,8	16,6	79%	51,5

M i e s i ą c	1947			1948			1949		
	Temp.	Wilg.	Opady	Temp.	Wilg.	Opady	Temp.	Wilg.	Opady
Wrzesień	16,1	76 ⁰ / ₀	29,7	15,1	77 ⁰ / ₀	60,4	16,3	82 ⁰ / ₀	28,0
Październik	8,4	78 ⁰ / ₀	34,6	9,2	76 ⁰ / ₀	53,4	10,9	70 ⁰ / ₀	3,8
Listopad	4,8	85 ⁰ / ₀	75,6	4,9	82 ⁰ / ₀	40,9	2,9	89 ⁰ / ₀	66,9
Grudzień	1,9	88 ⁰ / ₀	102,3	2,3	84 ⁰ / ₀	2,7	4,0	—	46,0

Wobec istnienia w poszczególnych miesiącach wahań odsetków w tych trzech obserwowanych grupach powstało pytanie, czy prawdopodobne jest istnienie pewnej współzależności między zmieniającymi się w ciągu roku warunkami klimatycznymi a okresami zmiennej plenności szczurów.

Stożenie tej ewentualnej współzależności został obliczony rachunkiem. Brane były pod uwagę: odsetek samic ciężarnych, średnia temperatura w miesiącu, odsetek osobników młodych i ilość opadów.

Zastosowano w tym celu wzór:

$$r = \frac{\Sigma x y}{\sqrt{\Sigma x^2 \cdot \Sigma y^2}}$$

przy czym X i Y oznaczają odchylenia od średnich arytmetycznych. Dla roku 1947 w pierwszym wypadku ten współczynnik wynosił 0,54.

Standardowy błąd obliczony według wzoru:

$$\Sigma = \frac{1 - r^2}{\sqrt{n}}$$

wynosił dla tych samych danych 0,2. Uważa się, że jeżeli współczynnik r jest większy od dwukrotnego swego błędu, to szansa, że istotnie między porównywanymi obserwacjami zachodzi współzależność, jest duża. W naszym przypadku $0,54 > 0,4$.

Podobnie został obliczony współczynnik współzależności — ilość opadów i procent osobników młodych.

I w tym wypadku ten współczynnik r był większy od dwukrotnego swego błędu $0,64 > 0,4$.

Nie przesądając tymi obliczeniami istnienia w omawianych zjawiskach wzajemnych wpływów na siebie, stwierdziliśmy istnienie pewnej zbieżności — zresztą niewysokiego stopnia, co pozwala nam przeprowadzić dyskusję nad krzywymi charakteryzującymi omawiane dane.

DYSKUSJA

Krzywa temperatury wykazuje początkowo, rok 1947, średnie miesięczne sięgające w styczniu i lutym poniżej zera — zima 1946/47 — przy dalszym w ciągu następnych lat, mniej więcej równomiernym przebiegu krzywej dającej obniżenia zimowe wahające się koło zera z największymi wzniesieniami przypadającymi na lipiec i sierpień. Zima 1946/47 była śnieżna i mroźna, zjawisko dość rzadkie w naszym nadmorskim klimacie, następne miały raczej przebieg łagodny z temperaturą wahającą się koło zera.

W ciągu lata i jesieni nie zachodziły w obserwowanym okresie większe wahania temperatury, krzywe mają równomierny przebieg. Bardziej zmienny ma krzywa opadów, wykazując śnieżną zimą 1946/47 i mokrą wiosnę tegoż roku, z charakterystycznymi dla wszystkich tych lat dużymi wzniesieniami w lecie.

Jesień roku 1947 była dżdżysta, wysoki poziom opadów, przy suchej i pogodnej roku 1948. W roku 1949 przy bardzo suchym wrześniu i październiku nastąpił nagły wzrost opadów w listopadzie i grudniu.

Rok	Wiosna	Lato	Jesień	Zima
1947	mokra	mokre	mokra	mokra
1948	sucha	mokre	sucha	śred. mokra
1949	śred. mokra	mokre	sucha	śred. mokra

Wiosna i jesień roku 1947 była zupełnym przeciwieństwem roku 1948. W kwietniu i grudniu roku 1947 wypadają maxima opadów, gdy w 1948 w tych samych miesiącach minima. Po ostrej zimie 1946/47 wiosna była chłodna i wyjątkowo późna.

ODSETEK MŁODYCH

Krzywa liczby młodych w roku 1947, przy wiosnie późnej, zimnej i mokrej (średnia temp. marca poniżej zera) wykazuje wzrost rozpoczynający się dopiero w maju, osiągający maximum w czerwcu i lipcu.

W analogicznym okresie roku 1948 przy małych i średnich opadach wcześniejszym i równomiernym wzroście temperatur, (średnia marca powyżej zera) wzrost krzywej ilości młodych rozpoczyna się już w marcu, osiągając maximum w kwietniu, maju i czerwcu. W roku 1949, w którym notowaliśmy łagodną i suchą zimą, wysoki poziom krzywej występuje już w marcu.

W miesiącach letnich w ciągu tych trzech lat, występuje dość wyraźny spadek krzywych nie osiągając jednak nigdy zerowego poziomu.

Ten spadek jest późniejszy w lecie 1947 (lipiec), podobny w dwóch następnych latach, w których przebiegi krzywych letnich opadów i temperatur również są podobne.

Jesień roku 1947 była dżdżysta i zimna, krzywa odsetku młodych osiąga swe maximum w październiku przy niewysokim ogólnie przebiegu.

Jesień roku 1948 była krańcowo odmienna jeśli chodzi o ilość opadów, średnie miesięczne temperatur niewiele się różnią. Krzywa opadów, przy gwałtownym spadku osiąga minimum w grudniu na rzadko spotykanym poziomie 2,7 mm.

Tej jesieni, krzywa odsetku młodych osiąga również swe maximum, w październiku ma jednak wyższy przebieg, przy dowolnym spadku utrzymując wysoki poziom przez listopad i grudzień.

Jesień roku 1949 była ciepła, mając w grudniu najwyższą obserwowaną przez nas temperaturę średnią, przy suchym wrześniu i październiku, średnio mokrym listopadzie i grudniu. Krzywa młodych utrzymuje wysoki poziom przez listopad i grudzień.

Dane zimowe są niekompletne, ogólnie biorąc mają one wyraźne tendencje zniżkowe (styczeń, luty).

Krzywa liczby samic ciężarnych została uwzględniona tylko fragmentarycznie (krótkie szeregi liczbowe). Te częściowe odcinki mają na ogół równoległy przebieg do krzywych ilości młodych, są one cofnięte w czasie przeciętnie o miesiąc, co odpowiada mniej więcej okresowi ciąży.

Wykazują również zwyżki wiosenne i jesienne, przy spadkach letnich i zimowych.

Wydaje się, że wzrost tych krzywych rozpoczyna się przeciętnie w lutym, potem sierpniu i wrześniu.

Krzywą odsetków samic będących w okresie laktacji uwzględniono również tylko częściowo, przebiega ona na ogół równoległe do krzywej samic w okresie ciąży, jest trochę przesunięta w czasie wykazuje te same wahania.

Przytoczone dane zdają się wyraźnie wskazywać na istnienie, na naszych miejskich terenach, dwóch wyraźnych okresów intensywniejszego mnożenia się szczurów rudych, wiosenny i jesienny. Krzywe wiosenne osiągają wyższe poziomy. Obserwacje te, oparte

są na materiale szczura rudego, bytującego na terenach portowych w warunkach miejskich, na ogół w pomieszczeniach zamkniętych.

Jest możliwe, że w polu wpływy warunków klimatycznych będą bardziej wyraźne, zwłaszcza na krzywą odsetka liczby młodych. Wydaje się, że na podstawie tego materiału, mimo szczupłych jego rozmiarów, z dużym prawdopodobieństwem można przewidzieć — opierając się głównie na przebiegach temperatury w mniejszym o wiele stopniu na ilości opadów, czy okresy najintensywniejszego mnożenia się szczurów rozpoczną się wcześniej niż później — czy będą długie czy krótkie.

To całe zagadnienie ma dla terenowych akcji deratyzacyjnych ważne praktyczne znaczenie.

Jak wykazują nasze doświadczenia, niszczenie szczurów oparte na truciach czy zakładaniu łapek, jest o wiele skuteczniejsze wśród osobników młodych.

Łapane czy zatrute szczury są to przeważnie osobniki wagi od 100 — 250 g i biorąc nawet pod uwagę fakt, że w każdej populacji jest najwięcej osobników w wieku średnim, poza tym że są one w tym wieku najbardziej ruchliwe, stąd większa szansa trafienia do łapki czy na truciznę — nie można pomijać wpływu wieku a co za tym idzie braku doświadczenia, mniejszej roztropności na te obserwowane zjawiska.

Szczury stare są zawsze o wiele trudniejszym przeciwnikiem. Również wybijanie jak największej liczby samic ciężarnych daje w ogólnym efekcie najskuteczniejsze wyniki.

Uwzględnianie więc, przy planowaniu akcji deratyzacyjnych aktualnych danych meteorologicznych, wydaje się, może mieć wpływ na końcowe efekty.

STRESZCZENIE

Obserwacje danych temperatury i ilości opadów w ciągu trzech lat, wykazują duże różnice ilościowe i jakościowe w tych samych porach roku.

Krzywe — obrazujące: odsetek samic w okresie ciąży, w okresie laktacji i liczby młodych wykazują wyraźne wzniesienia przypadające mniej więcej na wiosnę i jesień, lecz których *minima* i *maxima* przypadają nie w jednakowym czasie.

Przeanalizowanie krzywych pozwala z dużym prawdopodobieństwem przypuszczać, że warunki klimatyczne a przede wszystkim wahania temperatury, mogą mieć wpływ na przesunięcia w czasie, okresów największej plenności szczurów.

Т. Шиборовски

ВЛИЯНИЕ МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ
НА СДВИГ ПЕРИОДОВ НАИБОЛЬШЕЙ ПЛОДОВИТОСТИ
ДИКИХ КРЫС В ПОРТАХ ГДЫНИ И ГДАНЬСКА
ЗА ГОДЫ 1946 — 49

СОДЕРЖАНИЕ

Наблюдения над температурой и количеством осадков на протяжении трех лет обнаруживают значительные количественные и качественные колебания в одних и тех же временах года.

Кривые представляющие: процент самок в периоде лактации и количества молодых животных обнаруживают ясно выраженное повышение приходящиеся на весну и осень, однако их *minima* и *maxima* не совпадают.

Анализ кривых климатологических данных и кривых плодовитости крыс позволяют предполагать с большой вероятностью, что климатические факторы и прежде всего колебания температуры могут оказывать влияние на сдвиги во время периодов наибольшей плодовитости крыс.

T. Przyborowski

EFFECT OF METEOROLOGICAL CONDITIONS ON THE SHIFTING OF
THE PERIODS OF THE GREATEST FERTILITY OF WILD RATS IN THE
PORTS OF GDYNIA AND GDAŃSK. YEARS 1946—1949.

Summary

The observations of the data of temperature and of the quantity of atmospheric falls in the course of three years show big quantitative and qualitative differences in the same seasons.

The curves illustrating: the percentage of females in the period of pregnancy, in the period of lactation as well as the number of the young ones show distinctly the upward elevations taking place approximately in Spring and in Autumn but their minima and maxima do not appear at the same time.

The analysis of the curves of the climatic data as well as of the curves showing the fertility of rats enables to presume with a great probability that climatic conditions, and in the first place the fluctuations of temperature may have the influence on the shifting of the periods of the greatest fertility of rats.

Zbigniew Kawecki

BADANIA NAD ISTOTĄ WYSTĘPUJĄCEGO W POLSCE
EPIZOOTYCZNEGO ZAPALENIA MÓZGU I RDZENIA
LISÓW SREBRZYSTYCH *

*Z Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej
W Gdańsku*

(Dyrektor prof. dr Jerzy Morzycki)

i z Zakładu Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego

Uniwersytetu Warszawskiego w Warszawie

(Kierownik prof. dr Abdon Stryszak)

Choroby zakaźne ludzi i zwierząt, spowodowane przez wirusy, które atakują ośrodkowy układ nerwowy dzieli *Saxer* na dwie grupy.

Do pierwszej grupy autor ten zalicza schorzenia wywołane przez wirusy o wybitnie neurotropowych właściwościach, np. chorobę bornaską koni i owiec, enzootyczne zapalenie mózgu u bydła, wściekliznę, chorobę cieszyńską świń, nagminne zapalenie mózgu u ludzi.

Do drugiej grupy klasyfikuje choroby, wywołane przez wirusy o właściwościach wiscerotropowych i neurotropowych np. enzootyczne zapalenie mózgu i rdzenia koni, chorobę Marecka drobiu, zapalenie mózgu przy pomorze świń, zapalenie mózgu przy pomorze kur, nosówkę oraz epizootyczne zapalenie mózgu i rdzenia lisów.

Zarazki pierwszej grupy charakteryzują się wybitnym powinowactwem do tkanki nerwowej. Siedliskiem zarazków jest szara substancja mózgowa, w której powstają nacieki okołonaczyniowe; nie są one natury ropnej, a składają się z limfocytów, komórek

* O d R e d a k c j i : Praca niniejsza jest pierwszym etapem badań nad zapaleniami mózgu wirusowymi zwierząt i ludzi występującymi na Wybrzeżu. Badania zapoczątkowane nad tym zagadnieniem przez Państwowy Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdańsku są długofalową pracą całego zespołu pracowników Działów Epidemiologii i Bakteriologii oraz Parazytologii i Entomologii Instytutu. Wyniki tych prac będą ogłaszane w kolejności stopniowego ich wykonywania.

plazmatycznych i dużych jednojądrzastych elementów. Przy wściekliźnie występują ponadto w naciekach wielojądrzaste leukocyty. Neurogleja jest w stanie rozplemu i tworzy rozlane ogniska. W komórkach zwojowych znajdują się ciała wtrętowe. W tkankach i narządach brak jest wybroczyn. Wirus rozprzestrzenia się wzdłuż nerwów.

Zarazki drugiej grupy posiadają powinowactwo do narządów wewnętrznych i do układu nerwowego. Przede wszystkim są atakowane narządy wewnętrzne i tu uwidaczniają się zmiany anatomiczno-patologiczne, a dopiero potem jest atakowany ośrodkowy układ nerwowy. Choroby te charakteryzują się typową wirusemją — obecnością wirusa we krwi. W ośrodkowym układzie nerwowym zmiany dotyczą zarówno białej, jak i szarej substancji mózgowej. Nacieki około małych i średnich naczyń krwionośnych składają się z limfocytów, komórek plazmatycznych i dużych jednojądrzastych elementów. Stwierdza się również ogniska naciekowe różnej wielkości w tkance mózgowej. Zwykle dołącza się uszkodzenie różnego stopnia komórek zwojowych.

Epizootyczne zapalenie mózgu lisów stało się zagadnieniem z chwilą powstania ferm zwierząt futerkowych i zgromadzenia na jednym miejscu dużej ilości zwierząt. U zwierząt trzymanyh w niewoli i nieodpowiednio żywionych zostaje obniżona oporność naturalna, w wyniku czego łatwo dochodzi do wybuchu epizocji (*Saxer*).

Chaddock określa epizootyczne zapalenie mózgu lisów jako chorobę zwierząt trzymanyh w niewoli.

Przez długi okres czasu epizootyczne zapalenie mózgu lisów było identyfikowane z nosówką. Po wojnie światowej stwierdzono ogromne nasilenie nosówki wśród psów, powodującej olbrzymie straty wśród tych zwierząt. Ogromny procent przypadków stanowiły schorzenia przebiegające z objawami nerwowymi. W tym czasie została opisana jakby nowa forma nosówki różniąca się klinicznie od dotychczas spotykanej. Charakteryzowała się ona brakiem podwyższenia temperatury, brakiem apetytu, biegunkami przeważnie krwawymi i olbrzymim procentem śmiertelności po krótkich napadach nerwowych. Ta nowa forma była notowana u zwierząt starych i młodych, sztucznie uodparnianych i u tych, które przechowały kiedyś nosówkę. Dopiero w roku 1929 etiologia tych przypadków wyjaśniła się na podstawie badań przeprowadzonych przez *Greena* w Ameryce. Została po raz pierwszy wyosobniona i opisana choroba, która nosi nazwę epizootycznego zapalenia mózgu i rdzenia lisów i psów. Choroba ta atakuje przeważnie zwierzęta

młode, częściej samce niż samice, charakteryzuje się kurczami toniczno-klonicznymi, porażeniami, czasem przebiegająca bezobjawowo. Choroba ta do dziś jest jedną z najgroźniejszych infekcji w fermach lisów srebrzystych w USA. Straty w zagrodach, w których zwierzęta się koncentruje przed ubojem na futra, dochodzą do 80%. W fermach hodowlanych straty przeciętne wynoszą około 25%.

W Europie pierwsze przypadki epizootycznego zapalenia mózgu lisów zostały opisane w roku 1930 we Francji (*Levaditi*), w Rosji choroba pojawiła się w 1933 r. (*Kiur - Muratow*) i porobiła tam olbrzymie straty. Dziś schorzenie to w ZSRR zostało opanowane (*Wyszelesski*).

W Niemczech pierwsze duże epizootcje były notowane przez *Schopa* w r. 1936.

W Polsce do drugiej wojny światowej choroba ta nie była znana. Pierwsze epizootcje, które miały miejsce w 1947 roku i następujących latach zostały opisane przez *Stryszaka*. Według *Stryszaka* epizootyczne zapalenie mózgu u lisów przedostało się do nas z Niemiec. Pierwsze przypadki zachorowań miały miejsce u lisów ulokowanych w domkach, w których uprzednio mieszcili się lisy ponieemieckie. Obecnie zaryzykować można twierdzenie, że prawie wszystkie fermy na terenie kraju są dotknięte tą chorobą. Trudno ustalić przyczyny tak szybkiego rozprzestrzenienia się zarazy.

Epizootyczne zapalenie mózgu lisów wywołane jest przez zarazek przesykalny. Zarazek ten przechodzi przez filtry bakteriologiczne. W 40% glicerynie w temp. 2° C do 7° C zachowuje on zjadliwość przez długi okres czasu (*Wyszelesski* 152 dni; *Beller* i *Bieling* — parę lat). Wirus przechowywany w 40% glicerynie w temp. 20° C do 25° C traci zjadliwość już po 2 dniach (*Wyszelesski*). 0,4% formol zabija wirus w 5% zawiesinie tkanek w temp. cieplarki w ciągu czterech dni. Bardzo szybko niszczy wirus wapno chlorowane i zasady. Wirus najlepiej przechowuje się w stanie wysuszo-nym (*Wyszelesski*).

Istnieją dwa rodzaje wirusa: 1) amerykański, 2) wyosobniony w ZSRR. Wirusiem pierwszym daje się zakazić lisy i psy; wirusem drugim — lisy i tchórze domięśniowo, a świnki morskie i młode psy (szczenięta) — domózgowo.

Według *Bellera* i *Bielinga* wirus zapalenia mózgu lisów stwierdzić można we wszystkich tkankach. Posiada on właściwości pantropowe. *Wyszelesski* podaje, że wirus można stwierdzić w mózgu, we krwi i w śledzionie padłych lub chorych zwierząt.

Choroba ta u lisów przejawia się brakiem apetytu, biegunkami przeważnie krwawymi i różnorodnymi zaburzeniami nerwowymi

mi. Czasem występują drgawki nóg i szczęk, jednocześnie toczy się obficie pienista ślina. W innych przypadkach stwierdza się wzmożoną pobudliwość nerwową. Zjawienie się człowieka powoduje napady kurczów epileptoidalnych. Zwierzę traci przytomność i pada w konwulsjach. Czasem zdarza się silny świąd skóry oraz przypadki zapalenia rogówki znikające czasami w ciągu jednego dnia. Chód jest chwiejny, zwierzę zatacza się. Występują periodyczne kurcze toniczno-kloniczne. Wreszcie dochodzi do porażenia kończyn. Brak jest podwyższenia temperatury.

Przy formie nadostrej zwierzę dostaje nagle drgawek i szybko ginie.

Przy formie skrytej można zauważyć jedynie brak apetytu i biegunkę.

Wrotami zakażenia według *Bellara* i *Bielinga* jest przewód pokarmowy i górne drogi oddechowe. *Stryszak* jednak opisuje fakt, że lisy po zjedzeniu zwłok swego towarzysza padłego na epizootyczne zapalenie mózgu nie zachorowały. Autor ten przypuszcza, że zaburzenia żołądkowo-jelitowe powstałe na skutek skarmiania niezbyt świeżej karmy mogą zaostrzyć przebieg epizoocji. Zwraca on też uwagę na owady jako ewentualnych przenosicieli choroby.

Lisy, które przechorowały mają być w olbrzymim procencie nosicielami zarazka, przy czym zarazek utrzymuje się przez dłuższy czas w górnych drogach oddechowych.

Okres inkubacji może trwać od 2—5 dni, a nawet czasem do miesiąca (*Wyszelesski*). Choroba trwa 2—15 dni: forma nadostra — kilka godzin. Wirus może powodować poronienie, obumieranie płodów oraz okresy bezpłciowe występujące częściej u samic niż u samców. Liczba przypadków poronień w fermach dotkniętych tą chorobą w porównaniu z fermami wolnymi od zarazka znacznie wzrasta (*Wyszelesski*).

Na sekcji padłych lisów stwierdza się przekrwienie opon mózgowych. Substancja mózgowa jest obrzękła. Pod oponą twardą znajduje się żółty wysięk; widoczne są punkcikowate wylewy krwawe w mózgu, pod oponami mózgowymi, pod wsierdziem i nasierdziem, czasem w błonie śluzowej pęcherza, w skórze i w tkance podskórnej i w mięszu płuc (*Stryszak*).

Śluzówka żołądka i jelit cienkich bywa obrzękła, pokryta wybroczynami i wylewami krwawymi. Często oprócz wybroczyn spotyka się nadżerki, które prowadzą czasami do perforacji ściany jelita. W żołądku i jelitach zbiera się krew tworząc „masy smołowe”. Wątroba jest koloru gliniastego.

Na oponach mózgu i rdzenia stwierdza się wylewy krwawe i nacieczenia zapalne w postaci nagromadzenia komórek dookoła naczyń białej i szarej substancji mózgu.

Beller i *Bieling* podają, że po przechorowaniu epizootycznego zapalenia mózgu lisy nabywają trwałej odporności i że można ją wywołać sztucznie przez domięśniowe wprowadzenie żywego wirusa, jednak dużo lepsze wyniki daje oddzielanie zwierząt zdrowych od chorych i nosicieli oraz częsta i gruntowna dezynfekcja pomieszczeń.

Wyszelesski twierdzi, że przebycie choroby nie zawsze pozostawia odporność. U części lisów choroba przebiega skrycie i te stają się nosicielami wirusa. Surowica rekonwalescentów ma własności lecznicze. Główny nacisk kładzie wspomniany autor na sanitarne środki zapobiegawcze. *Kiur-Muratow* próbował stosować szczepionkę tormalową. Rezultat szczepień nie jest jednak podany.

Na naszym terenie *Stryszak* stosował szczepionkę sporządzoną z rozartych mózgow padłych lisów inaktywowaną formolem. W jednych przypadkach osiągnął on wyniki dobre, w innych zmienne. Prawdopodobnie wchodziła tu w grę różna koncentracja wirusa w tkance mózgowej.

BADANIA WŁASNE

Celem mojej pracy było ustalenie czynnika etiologicznego choroby lisów srebrzystych opisanej przez *Stryzaka*, a przebiegającej z objawami podobnymi do tych jakie zostały opisane przez *Greena*, *Wyszelesskiego* i innych przy epizootycznym zapaleniu mózgu u lisów.

Badania bakteriologiczne większości padłych lisów były przeprowadzane przez Wojewódzkie Zakłady Higieny Weterynaryjnej. Nie stwierdzono jednak podczas tych badań bakterii, które mogłyby być uważane za sprawców epizooecji. Badania swe oparłem na zbieraniu danych epizooecjologicznych, klinicznych i sekcyjnych, na swoich własnych obserwacjach, szczepieniu materiałem pobranym z padłych lisów zarodków kurzych i zwierząt doświadczalnych oraz na wykonaniu odczynów serologicznych.

Badania rozpocząłem pod koniec grudnia 1949 r. na materiale (mózgu) z padłego lisa, pochodzącego z fermi Y Województwa Poznańskiego.

Epizoocja wśród lisów srebrzystych w tej hodowli rozpoczęła się 22. XI. 1949 r. a zakończyła się 12. I. 1950 r. Hodowla w chwili wybuchu epizoocji liczyła 352 sztuki lisów srebrzystych. Zachorowało 46 lisów, a z tego padło 42. Podczas trwania epizoocji na fermie padł jeden pies i jeden kot. W okolicy fermy były notowane liczne przypadki zachorowań i padnięć wśród psów i kotów. Według otrzymanych informacji zwierzęta te chorowały wśród identycznych objawów jak lisy srebrzyste. U chorych lisów srebrzystych stwierdzono następujące objawy: Początkowo bardzo silne podniecenie, kurcze tonicznie-kloniczne i obfity ślinotok. Po kilku minutach kurcze ustępowały, a zwierzęta leżały bez ruchu. Pod koniec choroby, która trwała w przypadkach kończących się śmiercią zaledwie kilkanaście godzin, lisy traciły zupełnie przytomność. Z reguły nie występowało podniesienie ciepłoty ciała. W nielicznych przypadkach choroba zaczynała się nie tak gwałtownymi objawami. Notowano wówczas posmutnienie, brak apetytu i senność. Wreszcie zwierzęta przestawały reagować na bodźce zewnętrzne i chodziły jak obłąkane.

Poniższa tabela Nr I ilustruje dane liczbowe chorych i padłych lisów z uwzględnieniem wieku i płci.

Tabela I

		Samce	Samice	Młode	Stare
Stan hodowli przed wybuchem epizoocji	352	149	203	215	137
Liczba przypadków zachorowań	46	24	22	24	22
Liczba przypadków padnięć	42	23	19	22	20

Największa liczba przypadków śmiertelnych przypadała na pierwszy tydzień epizoocji. W tym czasie każdego dnia notowano po kilka przypadków zachorowań i padnięć. W ciągu następnych dwóch tygodni ilość przypadków zachorowań i padnięć zmniejszyła się znacznie, aby w następnym okresie mającym około trzech tygodni ustać zupełnie. Pod sam koniec epizoocji w okresie mniej więcej dwutygodniowym notujemy znów kilka przypadków padnięć. Szczegółowe dane dotyczące liczby przypadków śmiertelnych w każdym dniu epizoocji podaje tabela Nr II.

Tabela II

Data	22/11	23/11	24/12	25/11	26/11	27/11	29/11	30/11	2/12	5/12	6/12	7/12	9/12	28/12	29/12	31/12	12/1
Dzień epizooeci	1.	2.	3.	4.	5.	6.	8.	9.	11.	14.	15.	16.	18.	37.	38.	40.	52.
Ilość przypadków patn'ęcia	3.	6.	4.	3.	5.	2.	3.	3.	1.	2.	2.	1.	1.	3.	2.	1.	1.

W dniu 1. XII. 1949 r. została przeprowadzona w Zakładach Anatomii Patologicznej Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu Warszawskiego sekcja 4 padłych lisów pochodzących z fermy Y. Wyciąg z protokołu sekcyjnego przedstawia się następująco:

Mózg: opony mózgowie przekrwione, naczynia krwionośne nastrzykane.

Otrzewna: otrzewna ścienna i otrzewna trzewna oraz krezka przekrwione, sino czerwone.

Krtąń i tchawica: błona śluzowa krtani oraz początkowego odcinka tchawicy przekrwiona biernie.

Płuca: u trzech sztuk nieżytowe zapalenie płuc. Nieliczne ogniska od ziarna pszenicy do ziarna fasoli, u jednego w płacie grzbietowym prawym, u dwóch w częściach brzusznych płatów górnych. U dwóch ogniska rozedmy zastępczej. U jednego w płatach lewym i prawym niewielkie wylewy krwawe.

Serce: u dwóch sztuk rozszerzenie serca, u dwóch pod nasierdziem komory lewej smugowate krwiste podbiegnięcie. U jednego 4 punkcikowate wybroczyny pod nasierdziem w okolicy aorty.

Śledziona: u dwóch sztuk przekrwiona biernie.

Wątroba: u wszystkich przekrwienie zastoinowe.

Nerki: u trzech sztuk przekrwienie bierne nerek; u jednej pod torebką nerki punkcikowate krwawe wybroczyny.

Pęcherz moczowy: u jednej sztuki ostry nieżyt pęcherza moczowego, u dwóch w błonie śluzowej nieliczne punkcikowate wybroczyny.

Zołądek: u trzech sztuk przewlekły i zaostzony nieżyt błony śluzowej i jelita. U jednej sztuki przewlekły nieżyt, u pozostałych przewlekły, miejscami zaostzony.

Badanie histologiczne wycinków mózgu i rdzenia

I lis:

Mózg: wylewy krwawe w mięszu mózgu. Naczynia włosowate wyraźnie rozszerzone i krwią wypełnione. Miejscami w naczyniach krwionośnych średniej wielkości widoczne zakrzepy. Ependyma silnie obrzękła, jej naczynia krwionośne rozszerzone i krwią wypełnione. Przydanka średnich naczyń wykazuje umiarkowany rozplem, miejscami stwierdza się również gromadzenie się histiocytołów w warstwie środkowej naczyń. Rozplem komórek gleju mniej więcej równomierny w całym preparacie. Nie stwierdza się większych ich skupień lecz tylko rozlane zagęszczenie. W nielicznych miejscach stwierdzono większe podługowate nacieki histiocytarne wokół neuronów i cechy tak zw. neuronofagii. Komórki zwojowe w preparatach barwionych fioletem krezyłowym wykazują miejscami zmiany nekrobiotyczne w obrębie zarodzi (niedobarwliwość, przebarwienie, wodniczki). Obraz mikroskopowy wskazuje na ostre zapalenie mózgu rozlane, nieropne.

II lis:

Mózg: Wylewy krwawe w mięszu mózgu niezbyt liczne lecz dość rozległe. Naczynia krwionośne endymy rozszerzone i krwią wypełnione. Obrzęk endymy, słabo zaznaczona filtracja komórkowa tej ostatniej. Wokół naczyń krwionośnych niezbyt silnie zaznaczone nacieki. Poza tym występują wysepki skupień w komórkach limfoidalnych w preparacie widoczne w ilości kilka do kilkunastu sztuk. Liczba małych komórek glejowych ogólnie wzmożona. W większych naczyniach krwionośnych spostrzega się bujanie komórek śródbłonka i zluszczenie się ich do światła.

Rdzeń: nacieki okołonaczyniowe zarysowane wyraźnie. Ilość małych komórek glejowych wydatnie wzmożona, nie tworzą one jednak skupień, lecz układają się w sposób rozlany. Podobnie jak u lisa pierwszego występują niezbyt silnie zaznaczone zmiany nekrobiotyczne w komórkach zwojowych. Rozpoznanie jak wyżej. Należy podkreślić bardziej zaznaczone w tym wypadku zaatakowanie śródbłonka naczyniowego.

III lis:

Mózg: Wylewy krwawe w mięszu mózgu niezbyt liczne lecz stosunkowo rozległe. Niewielkie ogniska rozmięszynowe, wokół których brak wyraźniej zaznaczonych cech odczynu tkankowego. Naczynia endymy silnie krwią wypełnione. Śródbłonek większych naczyń wykazuje bujanie. Miejscami wokół naczyń krwionośnych lub w pewnym oddaleniu od nich widoczne gromadzenie się komórek limfoidalnych tzw. neuronofagii w stadium początkowym.

Rdzeń: Wokół mniejszych naczyń dość wyraźnie zarysowane nacieki, złożone z komórek limfoidalnych. W komórkach zwojowych wyraźna niedobarwliwość. Rozpoznanie jak wyżej.

IV lis:

Mózg: Rozplem komórek mikrogleju miejscami silnie zaznaczony. Neurofagia wyraźna, w skupieniach wokół neuronów biorą udział liczne komórki. Słabiej zaznaczone nacieki okołonaczyniowe. Rozpoznanie jak wyżej.

Zmiany stwierdzone w skrawkach sporządzonych z wycinków mózgu pobranych z części podstawowej okolicy śródmózdzia wykazują podobny charakter u wszystkich lisów określone jako *encephalitis limphocytaria non purulenta*. Zmiany stwierdzone w naczyniach przemawiają za tym, że czynnik chorobotwórczy posiada powinowactwo do śródbłonka naczyniowego, który uszkadza, czego dowodem są stwierdzone wylewy krwawe. Nacieki okołonaczyniowe nie występują w sposób wybitnie zaznaczony, lecz może to wskazywać na szybkość toczącej się sprawy. Zmiany w komórkach zwojowych mogą być przypisane zarówno pierwotnemu działaniu czynnika chorobotwórczego, jak też mogły powstać na tle zaburzeń w odżywianiu w związku z uszkodzeniem naczyń krwionośnych.

Biorąc pod uwagę przebieg epizoocji wśród lisów srebrzystych oraz fakt, że jednocześnie stwierdzono liczne przypadki zachorowań i padnięć wśród kotów i psów w sąsiedztwie fermy, należy

raczej wykluczyć przypuszczenie, że zmiany w komórkach zwojowych mogą być wywołane zaburzeniami w odżywianiu, a należy je przypisać działaniu czynnika zakaźnego.

PRÓBY HODOWLI WIRUSA NA ZARODKACH KURZYCH

Do szczepień użyto początkowo zarodków kurzych 7—8 dniowych. Materiałem badanym był mózg jednego z padłych lisów, przechowywany przez 4 tygodnie w 50% glicerynie. Posiewy z mózgu na pożywkach bakteriologicznych wypadły ujemnie. Do zakażenia zarodków użyto kilka skrawków mózgu rozartych w soli fizjologicznej. Otrzymaną rozcierkę odwirowano i zakażono nią zarodki do płynu omoczniewego i na błonę kosmówkowo-omoczniewą.

Szczepienie do płynu omoczniewego wykonano w ten sposób, że po odrysowaniu komory powietrznej i po oznaczeniu na skorupce zarodka miejsca, przez które nie przebiegają duże naczynia krwionośne, przepiłowano w skorupce dwa otwory: jeden na środku komory powietrznej, drugi w miejscu uprzednio oznaczonym na skorupce zarodka, uważając przy tym, aby nie uszkodzić pod spodem leżącej membrany. Membranę nad komorą powietrzną przekłuło jałową igłą, a membranę nad siatką naczyń, czyli miejsce szczepienia wydezynfekowano alkoholem 70% i wprowadzono 0,2 ml badanej zawiesiny do płynu omoczniewego. Oba otwory zaklejono parafiną z dodatkiem wazeliny.

Przystępując do szczepień na błonę kosmówkowo-omoczniewą odrysowano komorę powietrzną, następnie wybrano na skorupce zarodka miejsce szczepienia, pod którym znajduje się gęsta siatka drobnych naczyń krwionośnych i oznaczono je. Następnie przepiłowano skorupkę zarodka na środku komory powietrznej i przekłuło jałową igłą membranę. Drugie cięcie skorupki nad siatką drobnych naczyń krwionośnych dokonano bardzo ostrożnie, uważając aby nie uszkodzić membrany. Miejsce szczepienia i najbliższą okolicę dokładnie wydezynfekowano alkoholem, a następnie na membranie położono dużą kroplę jałowej soli fizjologicznej. Delikatnie igłą przetarto membranę, uważając aby nie uszkodzić leżącej pod nią błony kosmówkowo-omoczniewej. Po przetarciu membrany kropla soli została wessana i odkleiła membranę od błony kosmówkowo-omoczniewej. Przy pomocy balonika gumowego wyciągnięto powietrze z komory powietrznej. O ile zabieg został prawidłowo wykonany, to w miejscu przetarcia membrany utworzyła się komora zastępcza, zamknięta od góry przez membranę i skorupkę zarod-

ka, od dołu przez błonę kosmówkowo-omoczniovą. Do zastępczej komory powietrznej wprowadzono 0,2 ml badanej zawiesiny. Następnie oba otwory zaklejono i zakażone zarodki wstawiono do cieplarki, nastawionej na temp. 35° C. Zarodki do chwili zakażenia były hodowane w inkubatorze w temperaturze 38,5° C.

W pierwszym pasażu zakażono 8 zarodków, połowę do płynu omoczniewego, a połowę na błonę kosmówkowo-omoczniovą. Jednocześnie płyny, którymi szczepione były zarodki zostały sprawdzone na jałowość bakteriologiczną. Badanie dało wynik ujemny. W ciągu 24 godzin od chwili szczepienia padł jeden zarodek szczepiony na błonę kosmówkowo-omoczniovą, w ciągu 4 dni padły wszystkie zarodki szczepione zawiesiną mózgu. Zarodki szczepione na błonę kosmówkowo-omoczniovą padły wszystkie przed upływem 48 godzin od chwili zakażenia. W wysiewach z 7 padłych zarodków bakterii nie stwierdzono. Jeden zarodek szczepiony do płynu omoczniewego okazał się zakażony bakteriami, u dwóch padłych zarodków szczepionych do płynu omoczniewego i dwóch szczepionych na błonę kosmówkowo omoczniovą stwierdzono wybroczyny na całym ciele zarodka, szczególnie skoncentrowane na głowie, szyi i przedpiersiu. Padłe zarodki wypreparowano przechowując mózgi oraz płyny omoczniewe i owodniowe. Płyny i mózgi padłych zarodków roz tarto w mózdzierzuku, zawiesinę odwirowano, wykluczono obecność bakterii i otrzymaną zawiesinę zaszczerpiono 4 zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniovą. Po 3 dniach padły 3 spośród 4 szczepionych zarodków. Padłe zarodki okazały się wolne od bakterii. Czwarty zarodek padł po 6 dniach. Z płynów tego zarodka wyhodowano bakterie. Materiałem zebrany z 3 jałowych zarodków zakażono 3 dalsze na błonę kosmówkowo-omoczniovą. Po 2 dniach padł jeden zarodek, a po 3 dniach drugi. Po wysianiu na pożywki bakteriologiczne i stwierdzeniu, że padłe zarodki nie są zakażone bakteriami, mózgi i płyny padłych zarodków zebrano i rozcierką odwirowaną zakażono następne 3 zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniovą. Zarodki hodowano w przeciągu tygodnia, a ponieważ żaden z zarodków w tym czasie nie padł, więc pasaż ten powtórzono szczepiąc dalsze 2 zarodki. Płyn, którym szczepiono zarodki okazał się niejaloowy bakteriologicznie. Oba zarodki padły przed upływem 48 godzin. Płyny padłych zarodków były mętne i cuchnące. W wysiewach na pożywki bakteryjne stwierdzono różnorodną florę bakterii. Z powodu minimalnej ilości zawiesiny pozostałej z pasażu trzeciego nie zdołano zawiesiny przefiltrować i powtórzyć po raz trzeci pasażu czwartego.

Przystąpiono więc do ponownego pasażowania wirusa przez zarodki kurze. Tym razem do badań użyto zarodków 12—13 dniowych. Przygotowano materiał z mózgu lisa tak jak za pierwszym razem i zakażono nim 4 zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniową. W ciągu jednej doby padły 3 zarodki. W wysiewach padłych zarodków bakterii nie stwierdzono. Z padłych zarodków zebrano oddzielnie mózgi, oddzielnie błony kosmówkowo-omoczniove i oddzielnie płyny. Roztarto w móździerzyku oddzielnie mózgi i oddzielnie błony kosmówkowo-omoczniove i po odwirowaniu zakażono zawiesiną po 3 zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniową. W ten sam sposób zakażono 3 zarodki płynami pochodzącymi z zarodków padłych w poprzednim pasażu, oraz 3 następne zarodki płynami w rozcieńczeniu 1:1000. Następnego dnia padł jeden zarodek szczepiony zawiesiną mózgu, a po dwóch dniach od chwili zakażenia 2 zarodki szczepione płynami i 1 zarodek szczepiony płynami w rozcieńczeniu 1:1000. Padłe zarodki wypreparowano, sprawdzono na jałowość bakteriologiczną, zebrano oddzielnie płyny i oddzielnie mózgi i tym materiałem zaszczepiono w pasażu trzecim również 12 zarodków: 3 zarodki zakażono odwirowaną rozcierką mózgu na błonę kosmówkowo-omoczniową; 3 zarodki zakażono płynami na błonę kosmówkowo-omoczniową; 3 zarodki zakażono odwirowaną rozcierką mózgu do płynu omoczniowego i 3 zarodki zakażono płynami do płynu omoczniowego.

Z tego pasażu padło 7 zarodków, które po dalszym badaniu okazały się niezakażone bakteriami. Padły 3 zarodki szczepione mózgiem, 3 płynami na błonę kosmówkowo-omoczniową i 1 szczepiony mózgiem do płynu omoczniowego. Pozostałe zarodki nie padły lub padły, ale były zakażone bakteriami.

W pasażu czwartym zaszczepiono na błonę kosmówkowo-omoczniową 8 zarodków; 4 rozcierką mózgu i 4 płynami. Padły 3 zarodki szczepione płynami i 2 zarodki szczepione rozcierką mózgu. Wysiewy z zarodków na pożywki bakteriologiczne wypadły ujemnie.

W piątym pasażu zaszczepiono na błonę kosmówkowo-omoczniową 5 zarodków rozcierką mózgu i 5 zarodków płynami. Padły tylko 2 zarodki szczepione rozcierką mózgu.

W pasażu szóstym szczepiono na błonę kosmówkowo-omoczniową 4 zarodki rozcierką mózgu i 4 zarodki płynami. Padły tylko 3 zarodki szczepione rozcierką mózgu. Zarodki padłe w piątym i szóstym pasażu nie były zainfekowane bakteriami.

Wykonano jeszcze pasaż siódmy, ósmy, dziewiąty, dziesiąty, jedenasty i dwunasty. W pasażu siódmym padła połowa zarodków

szczepionych. Wszystkie padłe zarodki nie zawierały bakterii. W pasażu ósmym zaszczepiono 10 zarodków. Z 6 padłych zarodków tylko 1 nie był zakażony bakteriami. Płyny i mózgi padłych zarodków zebrano razem, przefiltrowano przez świecę L₂ i przepasażowano po raz dziewiąty. Tym razem na 5 zarodków szczepionych padł tylko jeden. W pasażu dziesiątym i jedenastym padł również tylko jeden zarodek, a w pasażu dwunastym na 6 zarodków szczepionych nie padł ani jeden. Padłe zarodki w pasażach dziewiątym, dziesiątym i jedenastym nie zawierały bakterii.

W czasie pasażowania wirusa na zarodkach kurzych wykonano trzykrotnie odczyn hemaglutynacji. Po raz pierwszy z roztartą i odwirowaną zawiesiną mózgu lisa. Użyto do hemaglutynacji krwinek kury, świnki morskiej i człowieka grupy O i B. Po raz drugi hemaglutynację wykonano z płynami drugiego pasażu. Użyto tym razem krwinek kury, świnki morskiej i człowieka grupy O. Po raz trzeci odczyn ten wykonano z płynami trzeciego pasażu. Użyto do hemaglutynacji krwinek kury. Odczyn hemaglutynacyjny we wszystkich trzech przypadkach ze wszystkimi rodzajami krwinek wypadł ujemnie. Dla kontroli próby nastawiono za każdym razem hemaglutynację z wirusem grypowym.

Pod koniec maja czyli w pół roku od chwili padnięcia lisa rozpoczęto trzecią serię pasażu. Mózg przechowywany w 50% glicerynie w dalszym ciągu pozostał bakteriologicznie jałowy. Odwirowaną rozcierką mózgu zakażono cztery zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniową. W ciągu dwóch dni padły dwa zarodki. Pozostałe dwa zarodki nie padły. Jeden z padłych zarodków był zakażony bakteriami. Płynem i mózgiem zarodka bakteriologicznie jałowego po uprzednim roztarciu i odwirowaniu zakażono na błonę kosmówkowo-omoczniową dalsze trzy zarodki. Żaden z zarodków tej partii nie padł.

Jednocześnie z pasażowaniem wirusa na zarodkach kurzych przeprowadzono szczepienie zwierząt doświadczalnych, szczepienie zarodków kurzych szczepami pasażowanymi przez zwierzęta, szczepienie zwierząt szczepami pasażowanymi przez zarodki i uodparnianie zwierząt doświadczalnych w celu otrzymania surowicy odpornościowej.

SZCZEPIENIE ZWIERZĄT DOŚWIADCZALNYCH

Skrawki mózgu lisa roztarto w mózdzierzuku z dodatkiem soli fizjologicznej, otrzymaną zawiesinę odwirowano i po wykluczeniu obecności bakterii zaszczepiono tą zawiesiną domózgowo pięć dzie-

sięciogramowych białych myszek. Szczepienia myszek dokonano w narkozie eterowej. Materiał badany wprowadzono w ilości 0.02 ml. w przedni płat mózgowy, nieco bocznie od linii pośrodkowej. Po dwóch dniach padła jedna ze szczepionych myszek, po pięciu dniach padła druga, a po dziesięciu — trzecia myszka. Żadna z padłych myszek nie wykazywała przed padnięciem objawów chorobowych. Z narządów wewnętrznych i mózgu padłych myszek nie wyhodowano bakterii, które mogłyby być przyczyną ich padnięcia.

Po osiemnastu dniach padła czwarta myszka. Na dwa dni przed padnięciem zauważono u niej posmutnienie, niechęć do jedzenia i nastroszenie włosów. Z narządów padłej myszki wyhodowano szczep *B. pseudotuberculosis rodentium*. Myszka piąta obserwowana w przeciągu czterech tygodni nie wykazywała objawów chorobowych.

Mózgiem myszki padłej po dziewięciu dniach zakażono dalszych pięć myszek domózgowo. Po czterech dniach od chwili zakażenia padła jedna myszka. W wysiewach z narządów padłej myszki wyhodowano szczep *b. Pseudotuberculosis rodentium*. Pozostałe myszki obserwowane w przeciągu miesiąca nie wykazywały żadnych objawów chorobowych.

Mózg myszki padłej po osiemnastu dniach roz tarto, odwirowano, przefiltrowano przez świecę L_2 i rozcierką zaszczerpiono cztery myszki domózgowo. Dwie myszki zaszczerpione padły przed upływem czterdziestu ośmiu godzin. Trzecia i czwarta myszka padły po pięciu dniach. W wysiewach z myszki trzeciej wyosobniono szczep *B. pseudotuberculosis rodentium*. Na podstawie wysiewów z myszki czwartej oraz na podstawie przeprowadzonej sekcji przyczyny jej padnięcia nie zdołano ustalić. Żadna z myszek nie wykazywała przed padnięciem jakichkolwiek objawów chorobowych.

Poza szczepieniem myszek białych przeprowadzono szczepienia pięciu młodych świnek morskich, trzech młodych królików i czterech białych szczurów. Świnki i króliki, jak również szczury były szczepione w narkozie eterowej. Szczepienia dokonano w przedni płat mózgowy. Zwierzęta te zakażono rozcierką mózgu lisa odwirowaną i sprawdzoną na jałowość bakteriologiczną. U świnek morskich pokrywę czaszki przebito grubą igłą i wprowadzono podopcnowo po 0,1 ml badanego płynu. U szczurów i królików szczepienie wykonano w ten sposób, że po przecięciu i rozchyleniu skóry zrobiono otwór trepanem i wprowadzono szczurom po 0,1 ml, a królikom po 0,2 ml badanego płynu. Płaty skóry zostały następnie spięte klamkami Michela.

Z pięciu szczepionych świnek morskich i czterech szczurów w ciągu 6 tygodniowej obserwacji żadne zwierzę nie padło, ani nie wykazywało objawów chorobowych. Po tygodniu od chwili szczepienia zachorował jeden królik z objawami duszności i braku apetytu. Trzeciego dnia choroby królik padł. Z płuc padłego królika wyosobniono Pasteurellę. Pozostałe dwa króliki nie padły, ani podczas 6 tygodniowego okresu obserwacji nie wykazywały objawów chorobowych.

SZCZEPIENIE MYSZEK SZCZEPAMI PASAŻOWANYMI NA ZARODKACH

Płynem omoczniovym pochodzącym z czwartego pasażu wirusa na zarodkach zakażono domózgowo cztery 10 gramowe myszki. W przeciągu miesiąca żadna z myszek nie padła, ani nie wykazywała objawów chorobowych.

SZCZEPIENIE ZARODKÓW SZCZEPAMI PASAŻOWANYMI NA ZWIERZĘTACH

Do szczepień użyto zarodków 12—13 dniowych. Rozcierkę mózgu myszki padłej na piąty dzień od chwili zakażenia odwirowano i sprawdzono jałowość bakteriologiczną. Rozcierką tą zaszczepiono cztery zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniovą. Po 2 dniach padł jeden zarodek, a po 4 dniach drugi. Zarodek pierwszy okazał się bakteriologicznie jałowy. Z drugiego zarodka wyrosły liczne bakterie. Roztartym mózgiem i płynami pierwszego zarodka zakażono trzy dalsze zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniovą. Z tej partii zarodków padł tylko jeden, w wysiewach z którego stwierdzono bakterie.

Z kolei przystąpiono do pasażowania na zarodkach mózgu myszki padłej po 18 dniach od chwili zakażenia. Ponieważ rozcierka mózgu była niejaloowa odwirowano ją i przefiltrowano przez świecę L_2 . Przefiltrowanym materiałem zakażono cztery zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniovą. Z tej partii padły trzy zarodki w ciągu 48 godzin. W wysiewach z padłych zarodków stwierdzono florę bakteryjną. Z padłych zarodków zebrano oddzielnie błony kosmówkowo-omoczniove, oddzielnie płyny omoczniove i owodniowe i oddzielnie mózgi. Błony kosmówkowo omoczniove roztarto w soli fizjologicznej i po odwirowaniu w ciągu jednej godziny przy 4 500 obrotach na minutę otrzymanym płynem zaszczepiono cztery zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniovą. Mózgi i płyny utarto razem i po przefiltrowaniu przez świecę L_2 zaszczepiono filtratem cztery

zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniovą. Na drugi dzień padły wszystkie zarodki szczepione materiałem nie filtrowanym i jeden filtrowanym. Makroskopowo stwierdzono silne przerośnięcie płynów bakteriami u zarodków szczepionych rozartymi błonami. W wysiewach z zarodka szczepionego materiałem filtrowanym drobno-ustrojów nie stwierdzono. Materiałem pochodzącym z zarodka jałowego bakteriologicznie zakażono następną partię czterech zarodków na błonę kosmówkowo-omoczniovą. W ciągu 48 godzin padły dwa zarodki. Jeden był zakażony bakteriami, a drugi wolny od bakterii.

UODPORNIE NIE ŚWINEK MORSKICH WIRUSEM

Równolegle z zakażeniem zwierząt laboratoryjnych i zarodków kurzych przystąpiono do uodpornienia dwóch świnek morskich badanym wirusem. Wirus świnkom morskim wprowadzono co 5 dni dootrzewnowo. Każda ze świnek otrzymała po 8 iniekcji wirusa. Przygotowując materiał do szczepień za każdym razem sporządzono bardzo gęstą rozcierkę mózgu lisa w soli fizjologicznej i po odwirowaniu jej sprawdzono na jałowość przez wysianie na pożywki bakteriologiczne. Bardziej celowe byłoby wprowadzenie świnkom wirusa namnożonego na zarodkach kurzych, ponieważ jednak surowicę świnek uodpornianych zamierzano użyć do próby wiązania dopełniacza, a jako antygen do tej próby miał być wzięty wirus hodowany właśnie na zarodkach, więc bojąc się nieswoistości reakcji uodporniano świnki wirusem zawartym w mózgu.

Za pierwszym razem wprowadzono świnkom po 0,5 ml zawiesiny wirusa z dodatkiem 0,3% formolu, za drugim razem podano świnkom po 1 ml wirusa również formelizowanego. Za trzecim i czwartym razem świnki otrzymały po 1 ml wirusa żywego. Za piątym, szóstym, siódmym i ósmym razem po 1,5 ml wirusa żywego. W tydzień po ostatniej iniekcji pobrano od świnek krew i odciążnięto surowicę.

WYKONANIE PRÓBY WIĄZANIA DOPEŁNIACZA SUROWICĄ ŚWINEK MORSKICH UODPORNIONYCH WIRUSEM

Jako antygen do próby użyto wirusa namnożonego na zarodkach kurzych. Z padłych zarodków kurzych w ciągu 48 godzin od chwili zakażenia na błonę kosmówkowo-omoczniovą zebrano płyny omoczniove i owodniowe i po zbadaniu ich na bakteriologiczną jałowość użyto jako antygeny. Antygeny nie miareczkowano z powodu braku surowicy wzorcowej.

Miareczkowanie amboceptora wykonano według tabeli Nr III.

Tabela III

Probówka Nr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Na Cl 0,85‰	0,85	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	—
Amboceptor 1 : 1000	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Komplement 50‰	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Krwinki 3‰	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Łażnia wodna przy temp. 37° C przez 30 minut.										

Jako jednostkę amboceptora uważano największe rozcieńczenie dające kompletną hemolizę. Do uczulenia krwinek baranich użyto pięciokrotną dawkę hemolityczną.

Komplement miareczkowano następnego dnia po pobraniu według tabeli Nr IV i Nr V.

Tabela IV

Probówka Nr	1	2	3	4	5	6	7
Na Cl 0,85‰	0,9	0,85	0,8	0,75	0,7	0,65	0,6
Komplement 1 : 20	0,1	0,15	0,5	0,25	0,3	0,32	0,4
Krwinki uczulone 3‰	0,2	0,5	0,5	0,2	0,5	0,5	0,5
Łażnia wodna przy temp. 37° C przez 15 minut.							

Tabela V

Probówka Nr	1	2	3	4	5	6	7
Na Cl 0,85‰	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1
Komplement 1 : 10, 1 : 20, 1 : 30	0,1	0,12	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4
Antygen	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Łażnia wodna przy temp. 37° C przez 30 minut.							
Krwinki uczulone 3‰	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2	0,2
Łażnia wodna przy temp. 37° C przez 15 minut.							

Z Tabeli Nr IV orientowano się o mocy posiadanego komplementu. Tabela Nr V jest właściwym miareczkowaniem komplementu. Według tej tabeli zostały nastawione trzy rzędy probówek po 7 sztuk w każdym rzędzie. Komplement był rozcieńczony w każdym rzędzie w innym stosunku (1:10, 1:20, 1:30). Najwyższe rozcieńczenie komplementu dające kompletną hemolizę uważano jako jedną jednostkę. Do odczynu wiązania dopełniacza były użyte dwie jednostki.

Surowicę królików zinktywowano w temperaturze 56° C w ciągu pół godziny. Odczyn wiązania dopełniacza wykonano według tabeli Nr VI.

Wiązanie dopełniacza dało wynik ujemny z obydwooma surowicami. Próbę powtórzono po raz drugi również z wynikiem ujemnym. Za pierwszym i drugim razem zahamowanie hemolizy wystąpiło tylko w probówce 10.

Tabela VI

Probówka Nr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Rozcieńczenia surowicy	1;2	1;4	1;8	1;16	1;32	1;64	1;128	1;2	—	—	—
Dawka surowicy	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—	—	—
Antygen	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—	0,25	0,25	—
Komplement 2 jednostki	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—	0,5
Na Cl 0,85%	—	—	—	—	—	—	—	0,25	0,25	0,75	0,5
Chłodnia przez 20 godzin i łąźnia wodna przy temp. 37° C przez 15 minut.											
Krwinki uczulone 3%	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Łąźnia wodna przy temp. 37° C przez 15 minut.											

Na tym zakończono pierwszą serię badań. W rezultacie otrzymano 7 pasaży wirusa na zarodkach kurzych. Nie udało się natomiast zakazić wirusem bezpośrednio z materiału zakaźnego myszek, szczurów białych, świnek morskich i królików oraz wywołać powstania przeciwciał u świnek morskich uodpornianych badanym wirusem.

Korzystając z wiosennej pory roku i z dużej ilości zachorowań i padnięć lisów na fermach z podejrzeniem epizootycznego zapa-

lenia mózgu przystąpiono do masowych badań padłych lisów. Przebadano w tym czasie ogółem 22 mózgi padłych lisów pochodzących z 6 ferm. Fermy X_1 i X_2 znajdują się na terenie województwa Warszawskiego. Fermy Z_1 , Z_2 i Z_3 znajdują się na terenie województwa Gdańskiego. Ferma Y znajduje się na terenie województwa Poznańskiego.

Niestety o większości padłych lisów nie otrzymano ani dokładnych danych klinicznych, ani sekcyjnych. Mózgi padłych lisów były przechowywane w 50% glicerynie. Większość mózgów nie była wolna od bakterii. Rozcierki mózgów tych lisów, które były zainfekowane bakteriami, po odwirowaniu filtrowano przez świecę L_2 . W celu stwierdzenia ewentualnej obecności wirusa w mózgzach padłych lisów zakażono rozcierką mózgów szereg 12—13 dniowych zarodków kurzych. Materiał badany szczepiono na błonę kosmówkowo-omoczniową po uprzednim sprawdzeniu go na ewentualną obecność bakterii.

Z rozcierki każdego mózgu za wyjątkiem mózgów Nr 10, 12, 15, które od razu dały wynik ujemny, zrobiono po dwa pasaże na zarodkach kurzych. Z ilości padłych, a bakteriologicznie jałowych zarodków wyciągnięto wnioski o obecności wirusa. Na tabeli Nr VII są zestawione wyniki przeprowadzonych badań. Litera F obok liczby porządkowej lisa oznacza, że rozcierka mózgu lisa przed zakażeniem nią zarodków była filtrowana przez świecę L_2 .

Porównanie otrzymanych wyników z posiadanymi danymi klinicznymi i protokołami sekcyjnymi przedstawia się następująco: Pierwsze trzy mózgi pochodzące z fermy Y należy uważać za dodatnie. Niestety żadnych danych tym razem z tej fermy nie otrzymano.

Śród mózgów (Nr 4 i Nr 5), pochodzących z fermy X_1 , jeden okazał się dodatni, a drugi zdecydowanie ujemny. Z załączonego pisma przewodniego do mózgu lisa Nr 4 wynika, że mórę pochodził od lisa padłego z objawami epizootycznego zapalenia mózgu. Śmierć nastąpiła w ciągu 2 godzin od chwili wystąpienia pierwszych objawów chorobowych. Objawami tymi były ataki epileptoidalne oraz pienienie się.

Wynik badania mózgu lisa Nr 6, pochodzącego z fermy X_2 , uważać należy za wątpliwy. W piśmie przewodnim podano, że lis wykazywał porażenie kończyn tylnych i że został uśpiony.

Z tej samej fermy otrzymano jeszcze cztery mózgi lisie. Dwa pierwsze (Nr 7 i 8) uważać należy za dodatnie, dwa następne (Nr 9 i 10) dały wynik ujemny. Bliższych danych o tych lisach nie otrzymano.

Spośród sześciu mózgow lisich otrzymanych z fermy Z₁ pierwszy należy uważać za dodatni. Trzy następne (Nr Nr 12, 13 i 14) otrzymano z protokołem sekcyjnym Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku (Nr 2156 do 2158). W protokóle podają, że stwierdzono ostry niezbyt żołądka, a miejscami krwotoczne zapalenie. Krwotoczne zapalenie dwunastnicy zmniejszające się w dalszych odcinkach jelit. Jednocześnie zaznaczono, że lisy padły bez żadnych objawów chorobowych. Wychowały potomstwo liczące od 4 do 7 tygodni. Potomstwo na razie zdrowe. Padło w ciągu 8 dni siedem samic karmiących. Z tych trzech mózgow Nr 12 dał wynik ujemny, a Nr 13 i 14 dodatni.

Tabela VII

L. p.	Lis pochodzący z fermy	Liczba zarodków użytych do 1 pasażu	Liczba zarodków padłych		Liczba zarodków użytych do 2 pasażu	Liczba zarodków padłych	
			jałow.	niejałow.		jałow.	niejałow.
1	Y	3	3	—	3	2	—
2	Y	3	3	—	3	3	—
3	Y	3	3	—	3	1	—
4F	X ₁	3	3	—	3	2	1
5	X ₁	5	1	—	3	—	1
6F	X ₂	3	2	—	3	—	3
7F	X ₂	3	2	—	3	1	—
8F	X ₂	3	2	—	3	5	—
9	X ₂	3	2	—	3	—	—
10	X ₂	3	—	1	—	—	—
11F	Z ₁	3	1	—	3	2	—
12F	Z ₁	3	—	—	—	—	—
13	Z ₁	3	3	—	3	1	2
14F	Z ₁	3	2	—	3	2	—
15	Z ₁	3	—	—	—	—	—
16	Z ₁	3	2	1	3	2	—
17F	Z ₃	3	3	—	6	3	3
18F	Z ₃	3	2	—	3	2	1
19F	Z ₃	3	2	—	3	2	1
20F	Z ₃	3	2	—	3	2	1
21E	Z ₃	3	2	—	3	2	1
22F	Z ₃	3	2	—	3	2	1

O lisach Nr Nr 15 i 16 nie otrzymano żadnych danych. Jednego uznano jako ujemnego (Nr 15), drugiego jako dodatniego (Nr 16).

tkniętej tą chorobą. Największa ilość przypadków zachorowań i padnięć przypada na okres wiosenny i letni. Chorują przeważnie zwierzęta młode, pochodzące z dużych miotów. Bardzo często po odłączeniu od matek. Częściej samce niż samice. Po kilkudniowym okresie dużych opadów zwykle jest większe nasilenie choroby. Duża ilość przypadków zachorowań miała miejsce na wybiegach, przylegających do skupienia dużych drzew dziko rosnących. Wybiegi te były stale zacienione. Ostatnio zrezygnowano z wypuszczenia lisów na te wybiegi. Najmniej przypadków zachorowań miało miejsce na wybiegach zacisznych i dobrze nasłonecznionych.

Choroba u lisów na tej fermie przebiegała przeważnie nadostro. Od chwili wystąpienia pierwszych objawów chorobowych do chwili śmierci zwierzęcia upływało zwykle kilka do kilkunastu godzin. U lisów które chorowały stwierdzano drgawki, napady kurczów tonicznie-klonicznych, biegunki krwawe, wzmożoną pobudliwość nerwową bądź to ospałość i kompletną obojętność.

Z tej fermy otrzymano w okresie jesiennym dwa padłe liśy (Nr 25 i 26)*. Na sekcji u tych lisów stwierdzono silne przekrwienie opon mózgowych, w komorach mózgu dużą ilość płynu bursztynowego koloru. Żołądek i jelita cienkie próżne, wypełnione tylko nieznaczną ilością śluzowo krwistej zestalonej masy. Błona śluzowa żołądka i dwunastnicy pokryta wybroczynami i wylewami krwawymi. Zaznaczone jest to na zdjęciu Nr 1.



Ryc. 1

* W mięszu płuc stwierdzono liczne wylewy krwawe wielkości od ziarna pszenicy do jednogroszówki. Powyższe zmiany są uwidocznione na zdjęciu Nr 2.

* Lisy począwszy od Nr 25 do 40 nie zostały zamieszczone na tabeli Nr VII, ponieważ badania nad nimi stanowią oddzielną część pracy.



Ryc. 2

Z padłych lisów zrobiono wysiewy na zarodki kurze. Tym razem do szczepienia zarodków użyto odwirowanej i przefiltrowanej przez świecę L_2 rozcieki narządów wewnętrznych oraz krwi lisów. Zarodki 12 — 13 dniowe były szczepione na błonę kosmówkowo-omocznio-wą.

Szczepienia zarodków materiałem pochodzącym z narządów wewnętrznych lisa pierwszego dokonano w następujący sposób:

3 zarodki zainfekowano materiałem pochodzącym z krwi i rozcierki płuc,

3 zarodki materiałem pochodzącym z rozcierki nerki,

3 zarodki materiałem pochodzącym z rozcierki śledziony i

3 zarodki materiałem pochodzącym z rozcierki wątroby.

Po dwóch dniach padły trzy zarodki szczepione krwią i rozcierką płuc, 2 zarodki szczepione rozcierką nerki i jeden zarodek szczepiony rozcierką śledziony.

W drugim pasażu zakażono trzy zarodki materiałem z krwi i płuc oraz trzy zarodki materiałem z nerki. Padły dwa zarodki szczepione materiałem z krwi i płuc oraz jeden szczepiony materiałem z nerki. W wysiewach ze wszystkich padłych zarodków w pierwszym i drugim pasażu bakterii nie stwierdzono.

Z lisa drugiego do szczepienia zarodków użyto przefiltrowanej rozcierki płuc i krwi. W pierwszym i drugim pasażu użyto do szczepienia po 3 zarodki. Zarówno w pierwszym, jak i drugim pasażu wszystkie zarodki padły. W wysiewach zarodków nie stwierdzono bakterii.

Podczas pobytu na fermie zauważono lisa (Nr 27), który wykazywał skrzywienie szyi. Z informacji zebranych od personelu wynika, że zauważono ten objaw u lisa przed miesiącem. Przed wystąpieniem skrzywienia szyi żadnych objawów chorobowych u lisa nie stwierdzono. Ponieważ był to okres uboju lisów na skóry, lis ten został poddany ubojowi. Poza nieznacznym nieżytem błony śluzowej przewodu pokarmowego żadnych innych zmian na sekcji tego lisa nie stwierdzono. Pobrano od lisa mózg i rozcierką zaszcze-

piono w pierwszym pasażu siedem zarodków na błonę kosmówkowomoczną. W przeciągu 48 godz. padły 4 zarodki. W drugim pasażu na 6 szczepionych zarodków padło 5. Wszystkie padle były bakteriologicznie jałowe. Przed ubojem pobrano od lisa krew z serca celem wykonania próby wiązania dopełniacza.

Korzystając z okresu uboju lisów na skóry przystąpiono do zakażenia lisów srebrzystych. Zakażono cztery lisy, pochodzące z fermy Z₃. Zakażono 3 lisy wirusem pochodzącym z lisa Nr 18 po trzykrotnym przepasażowaniu go przez zarodki kurze, a jednego lisa wirusem wyosobnionym z lisa Nr 27. Wirus ten nie był pasażowany przez zarodki. Wszystkie lisy były szczepione do kanału kręgowego w okolicy pierwszych kręgów szyi.

Pierwszy i drugi lis (Nr Nr 28 i 29) otrzymały po 1 ml zawiesiny wirusa w płynach zarodkowych.

Lis trzeci (Nr 30) otrzymał 1 ml zawiesiny wirusa oraz 0,5 ml czynnika dyfuzyjnego w roztworze soli kuchennej. Czynniki dyfuzyjne były przygotowane z jąder buhaja. Działanie czynnika dyfuzyjnego było uprzednio sprawdzone przy pomocy próby biologicznej na króliku.

Lis czwarty (Nr 31) otrzymał 1 ml odwirowanej rozcierki mózgu lisa Nr 27.

Lis Nr 28 był obserwowany w przeciągu 8 dni i w przeciągu tego czasu nie zauważono u lisa żadnych objawów chorobowych. Po zabiciu na sekcji zmian anatomo-patologicznych u lisa nie stwierdzono.

Lis Nr 29 był obserwowany w przeciągu 10 dni. Objawów chorobowych w okresie obserwacji nie wykazywał. Na sekcji po zabiciu lisa zmian anatomo-patologicznych nie stwierdzono.

Lis Nr 31 był poddany obserwacji w przeciągu 8 dni. W czasie obserwacji nie stwierdzono żadnych odchyłeń od normy w zachowaniu lisa. Po uboju stwierdzono na sekcji wybroczyny oraz nadżerki na błonie śluzowej części odźwiernikowej żołądka i początkowego odcinka dwunastnicy. Przewód pokarmowy był próżny. Przed ubojem pobrano od lisa krew z serca.

Lis Nr 30 po 8 dniach od chwili szczepienia wykazał podniecenie i wzmożoną pobudliwość nerwową. Objawy te utrzymywały się w przeciągu tygodnia mając tendencję do zanikania. Po 2 tygodniach od chwili szczepienia lisa poddano ubojowi. Na sekcji u lisa stwierdzono wybroczyny i nadżerki na błonie śluzowej żołądka. Przed ubojem pobrano od lisa krew z serca.

Mózgi lisów Nr Nr 30 i 31 przebadano, szczepiąc ich rozcierką odwirowaną i przefiltrowaną przez świecę L_2 zarodki kurze na błonę kosmówkowo-omoczniową. Szczepienie rozcierką mózgu lisa Nr 30 dało wynik następujący: w pierwszym pasażu na 3 zarodki szczepione padły dwa, a w drugim pasażu na 20 zarodków szczepionych padło 13. Padłe zarodki w obu pasażach były jałowe bakteriologicznie.

Szczepienie rozcierką mózgu lisa Nr 31 dało wynik ujemny. Na trzy szczepione zarodki ani jeden nie padł.

Wirusem pochodzącym z lisa Nr 18 po trzykrotnym przepasowaniu go na zarodkach kurzych zaszczipiono dwa lisy srebrzyste i jednego rudego podobonowo i jednego lisa rudego domózgowo. Jeden lis srebrzysty otrzymał po 2 tygodniach od chwili szczepienia czynnik dyfuzyjny. Szczepienie wszystkich czterech lisów dało wynik ujemny.

WYKONANIE ODCZYNU WIĄZANIA DOPEŁNIACZA Z SUROWICAMI LISIMI

W celu sprawdzenia, że wirus epizootycznego zapalenia mózgu lisów rozmnaża się na zarodkach kurzych wykonano dwukrotnie odczyn wiązania dopełniacza. Jako antygenu użyto wirusa wysobnionego z lisa Nr 18 i pasażowanego na zarodkach kurzych. Do pierwszej próby wiązania dopełniacza użyto wirus pochodzący z drugiego pasażu, do drugiej próby wirus z trzeciego i czwartego pasażu. Miareczkowania amboceptora i komplementu dokonano według tabel Nr Nr III, IV i V.

Pierwsze wiązanie dopełniacza wykonano z siedmioma surowicami. Cztery surowice pochodziły od lisów z fermy Z₃, a trzy surowice pochodziły od ludzi.

Surowica Nr 32 pochodziła od lisa, który chorował przed miesiącem.

Surowica Nr 33 pochodziła od lisa, który chorował przed trzema laty.

Surowica Nr 34 pochodziła od lisa, który nie chorował. Chorowali rodzice tego lisa przed trzema laty (matka Nr 33 ojciec Nr 35).

Surowica Nr 35 pochodziła od lisa, który chorował przed trzema laty i u którego stwierdzono skręt szyi i ogona.

Surowica Nr 36 pochodziła od kierowniczkowej fermi.

Surowica Nr 37 i 38 pochodziły od pracowników pracowni wirusologicznej Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej.

Krwia lisów Nr Nr 32, 33, 34 i 35 zostały zakażone po trzy zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniową. W pierwszym i drugim pasażu padły tylko zarodki szczepione krwią lisa Nr 32 (w pierwszym pasażu jeden zarodek, w drugim dwa zarodki).

Odczyn wiązania dopełniacza został wykonany wg tabeli Nr VI z tą poprawką, że w próbówce pierwszej surowica była w rozcieńczeniu 1:8, a w próbówce siódmej 1:512. W próbówce ósmej (kontrolnej) surowica również była w rozcieńczeniu 1:8. Wynik próby jest uwidoczniiony na tabeli Nr VIII.

Tabela VIII

Probówka Nr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Surowica Nr 32	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
Surowica Nr 33	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
Surowica Nr 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
Surowica Nr 35	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	+++	-
Surowica Nr 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
Surowica Nr 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
Surowica Nr 38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-

Objaśnienia : +++ zahamowanie zupełne
 ++ zahamowanie niezupełne
 + hemoliza niezupełna
 - hemoliza zupełna

U lisa, który chorował przed miesiącem stwierdzono wirus we krwi i zahamowanie tylko przy rozcieńczeniu surowicy 1:8. U lisów, które chorowały przed trzema laty zahamowanie wystąpiło w jednym przypadku przy rozcieńczeniu surowicy 1:16, w drugim przy rozcieńczeniu surowicy 1:32. W surowicy lisa, który nie chorował i we wszystkich trzech surowicach ludzkich przeciwciał nie stwierdzono.

Podczas pasażowania wirusa epizootycznego zapalenia mózgu lisów na zarodkach kurzych stwierdzono, że po pewnej ilości pasaży ilość padłych zarodków zmniejsza się, aż wreszcie zarodki zupełnie przestają padać. Nasuwa to pytanie, czy wirus przestaje rozmnażać się na zarodkach, czy też rozmnaża się dalej tracąc jedynie zjadliwość. Aby na to pytanie dać odpowiedź, do odczynu wiązania dopełniacza użyto tym razem trzech antygenów.

Antygen I stanowiły płyny owodniowe i omoczniove padłych zarodków po szczepieniu wirusem wyosobnionym z lisa Nr 18 (trzeci i czwarty pasaż).

Antygen II stanowiły płyny owodniowe i omoczniove zarodków nie padłych po szczepieniu wirusem, wyhodowanym z lisa Nr 18 (trzeci i czwarty pasaż).

Antygen III stanowiły płyny owodniowe i omoczniove zarodków 12 i 13 dniowych nie szczepionych. Komplement miareczkowano z każdym antygenem oddzielnie. Stwierdzono, że właściwości antykomplementarne wszystkich trzech antygenów są identyczne. Próbę wiązania dopełniacza wykonano wg tabeli Nr IX.

Tabela IX

Probówka Nr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Rozcieńczenie surowicy	1:8	1:16	1:32	1:64	1:8	—	—	—	1:8	—	1:8	—
Dawka surowicy	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—	—	—	0,25	—	0,25	—
Antygen	0,25	0,25	0,25	0,25	—	0,25	0,25	—	0,25	0,25	0,25	0,25
Komplement 2 jednostki	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—	0,2	0,5	0,5	0,5	0,5
Na Cl 0,85	—	—	—	—	0,25	0,25	0,75	0,5	0,5	0,25	—	0,25
Chłodnia przez 20 godz. i łaźnia wodna w temp. 37° C przez 15 minut.												
Krwinki uczulone 3%	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Łaźnia wodna przy temp. 37° C przez 15 minut.												

W probówkach Nr Nr 1, 2, 3, 4, 6 i 7 użyto antygen Nr II.

W probówkach Nr Nr 9 i 10 użyto antygen Nr I.

W probówkach Nr Nr 11 i 12 użyto antygen Nr III.

Do próby użyto surowic siedmiu lisów: surowica Nr-30 pochodziła od lisa zakażonego wirusem pasażowym na zarodkach kurzych z dodatkiem czynnika dyfuzyjnego.

Surowica Nr 31 pochodziła od lisa, który był zakażony wirusem wyosobnionym od lisa Nr 27. Lis Nr 27 przechorował poronnie epizootyczne zapalenie mózgu.

Surowica Nr 35 pochodziła od lisa, który chorował przed trzema laty (badana po raz drugi).

Surowica Nr 27 pochodziła od lisa, który chorował bezobjawowo. Stwierdzono jedynie u niego skręt szyi.

Surowica Nr 34 pochodziła od lisa, który nie chorował (badana po raz drugi).

Surowica Nr 39 pochodziła od lisa, który nie chorował. Lis ten pochodził z tego samego miotu, co lis Nr 34.

Surowica Nr 40 pochodziła od lisa, którego rodzeństwo padło na epizootyczne zapalenie mózgu.

Wynik próby wiązania dopełniacza podany jest na tabeli Nr X.

Tabela X

Probówka Nr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Surowica Nr 30	+++	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-	+++	-
Surowica Nr 31	+	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-	-	-
Surowica Nr 35	+++	+	-	-	-	-	+++	-	+++	-	-	-
Surowica Nr 27	-	-	-	-	-	-	+++	-	++	-	-	-
Surowica Nr 34	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-
Surowica Nr 39	-	-	-	-	+++	-	+++	-	-	-	+	-
Surowica Nr 40	-	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-	-	-

Surowica Nr 30 dała wynik dodatni ze wszystkimi trzema antygenami. Należy jednak pamiętać o tym, że lis od którego pobrano tę surowicę był szczepiony wirusem, zawieszonym w białku kurzym. Pojawienie się więc przeciwciał przeciw białku kurczemu jest bardzo możliwe. Wiązanie dopełniacza z tą samą surowicą powtórzono po raz drugi i otrzymano identyczny wynik.

Surowica Nr 31 dała wynik dodatni i z antygenami I i II, z pierwszym jednak w dużo silniejszym stopniu.

Surowica Nr 35 dała wynik dodatni z antygenami I i II.

Surowica Nr 34 dała wynik ujemny ze wszystkimi trzema antygenami.

Surowica Nr 39 nie może być brana pod uwagę, bo kontrole wypadły źle (probówka Nr 5).

Surowice Nr 27 i 40 dały wynik dodatni z antygenem I.

Z przeprowadzonych badań wynika, że epizootyczne zapalenie mózgu lisów srebrzystych, opisano po raz pierwszy w Polsce po drugiej wojnie światowej przez *Stryzaka*, jest wywołane przez zarazek przesączalny o właściwościach pantropowych. Zarazek ten daje się hodować na zarodkach kurzych. W pierwszych pasażach z materiału zakaźnego charakteryzuje się zjadliwością dla zarodków kurzych, w dalszych hoduje się na zarodkach nie zabijając ich. Wirus przechowywany w 50% glicerynie w temp. $+ 4^{\circ}$ C. do $+6^{\circ}$ C. zachowuje zjadliwość dla zarodków kurzych około pół roku.

Wirusem pochodzącym z materiału zakaźnego nie udało się zakazić myszek, świnek morskich, białych szczurów i królików. Nie powiodło się też zakażenie kotów wirusem pasażowym na zarodkach. Na podstawie przeprowadzonych badań należy przypuszczać, że rozporządzano wirusem zbliżonym do wirusa amerykańskiego.

Wirusem trzykrotnie przepasażowanym przez zarodki nie udało się zakazić lisów srebrzystych. Jedynie w jednym przypadku udało się wywołać u lisa lekką formę choroby, stosując jednocześnie z wirusem czynnik dyfuzyjny. Z mózgu tego lisa po jego zabiciu wyhodowano wirus. Szczepienia lisów wirusem o pełnej zjadliwości nie zdołano przeprowadzić, gdyż zezwolenie na szczepienie lisów otrzymano od hodowców tylko na okres uboju lisów na skóry tj. od 15. XI. do 31. XII. W tym jednak okresie nie dysponowano świeżym, o pełnej zjadliwości wirusem.

W celu wykazania, że wirus, który się hoduje na zarodkach kurzych, jest właśnie sprawcą epizootycznego zapalenia mózgu lisów, obrano drogę pośrednią. Przystąpiono do wykonania próby wiązania dopełniacza. Jako antygeny użyto wirusa namnożonego na zarodkach kurzych. Stwierdzono, że odczyn wiązania dopełniacza z surowicami lisów, które przechorowały epizootyczne zapalenie mózgu, wypada dodatnio i że jest to próba swoista. Stwierdzono, że przeciwciała u ozdowieńców utrzymują się przez długi czas. U pewnego procentu lisów, które nie chorowały stwierdzono przeciwciała.

Wirus epizootycznego zapalenia mózgu lisów utrzymuje się latami na fermach dotkniętych tą chorobą. Może on przetrwać u nosicieli przez długi okres czasu. Za tym przemawia fakt, że udało się stwierdzić we krwi lisa wirus zjadliwy dla zarodka kurzego po paru miesiącach od chwili ustąpienia objawów chorobowych.

Okazje do zetknięcia się z zarazkiem zwierzęta mają prawdopodobnie niejednokrotnie, a jednak do wybuchu epizootycji dochodzi

stosunkowo rzadko. Prawdopodobnie więc jest tu jeszcze potrzebny jakiś czynnik dodatkowy, powodujący zachwianie równowagi między zarazkami, a ustrojem.

Stryszak zwraca uwagę na zaburzenia żołądkowo-jelitowe spowodowane skarmianiem nieświeżej paszy. Jest to prawdopodobnie jeden z czynników, który prowadzi do zachwiania równowagi. Czynników takich jest na pewno dużo. Między innymi można do nich zaliczyć niedożywienie młodych zwierząt, które pochodzą z dużych miotów, moment odłączenia od matki, wyczerpanie samic spowodowane karmieniem zbyt liczного potomstwa, przeziębienie oraz nieodpowiednie warunki klimatyczne.

Dlatego też w zwalczaniu choroby obok ewentualnego stosowania szczepionek trzeba zwrócić uwagę na zapewnienie zwierzętom odpowiednich warunków higienicznych i odpowiedniego wyżywienia.

WNIOSKI

- 1) Choroba wywołana jest przez zarazek przesykalny, który daje się hodować na zarodkach kurzych.
- 2) Wirusem nie udało się zakazić domózgowo myszek, białych szczurów, królików i świnek morskich.
- 3) Wirus ma właściwości pantropowe.
- 4) Surowica ozdrowieńców zawiera przeciwciała i daje wiązanie dopełniacza z antygenem pochodzącym z hodowli wirusa na zarodkach.
- 5) Pewien procent lisów choruje bezobjawowo, co daje się wykazać wynikiem dodatnim próby wiązania dopełniacza.
- 6) Nosicielstwo po przechorowaniu może utrzymywać się przez dłuższy okres czasu. Wirus o pełnej zjadliwości dla zarodka kurzego wyosobniono z krwi lisa w miesiąc po ustąpieniu objawów chorobowych.

Э. К а в е ц к и

ИССЛЕДОВАНИЯ НАД СУЩНОСТЬЮ ВСТРЕЧАЮЩЕГОСЯ В ПОЛЬШЕ ЭПИЗОТИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ГОЛОВНОГО И СПИННОГО МОЗГА У СЕРЕБРИСТЫХ ЛИСИЦ

СОДЕРЖАНИЕ

Из произведенных исследований следует, что эпизоотическое воспаление мозга у серебристых лисиц, описанное впервые Стришаком в Польше после второй войны, вызывается фильтрующимся вирусом с пантотропными осо-

бенностями. Этот возбудитель поддается культивированию на куриных зародышах. При первых пассажах из заразного материала вирус характеризуется вирулентностью для куриных зародышей, но в дальнейшем культивируется на зародышах не убивая их. Вирус, сохраняющийся в 50% глицерине при температуре + 4 С до + 6° С сохраняет вирулентность для куриных зародышей на протяжении около 6 месяцев.

Не увенчались успехом попытки заразить мышей, морских свинок, белых крыс и кроликов вирусом, происходящим из заразного материала. Не удалось также заражение кошек вирусом пассированным на зародышах.

На основании проведенных исследований следует считать что в наших руках был вирус близкий к американскому вирусу.

Троекратно пассированным через зародышей вирусом не удалось заразить серебристых лисиц. Только в одном случае удалось вызвать у лисицы легкую форму болезни, применяя одновременно с вирусом диффузионный фактор. Из мозга этой лисицы по смерти выделен вирус. Не удалось произвести прививки лисиц вирусом, обладающим полной вирулентностью, так как от животноводов получено позволение только в периоде убоя лисиц на пкурки то есть от 15.11. до 31.12. В это время не было в нашем распоряжении свежего вируса с полной вирулентностью.

С целью доказательства того, что вирус, культивируемый на куриных зародышах есть действительно возбудителем эпизоотического воспаления мозга лисиц избран не прямой путь. Произведены реакции связывания комплимента. В качестве антигена применен вирус обогащенный на куриных зародышах. Установлено что реакция связывания комплимента с сыворотками лисиц, которые перенесли эпизоотическое воспаление мозга, дает положительный результат и есть специфична. Установлено что антитела у реконвалесцентов сохраняются длительное время. В некотором проценте случаев у неболевших лисиц также обнаружены антитела.

Вирус эпизоотического воспаления мозга лисиц удерживается до гами на зараженных фермах. Подтверждением этого служил факт обнаружения в крови лисиц вируса вирулентного для куриного зародыша через два месяца от момента исчезновения болезненных симптомов. Животные неоднократно сталкиваются с возбудителем, однако эпизоотия вспыхивает относительно редко. Можно предполагать что необходим еще какой то дополнительный фактор, нарушающий равновесие между возбудителем и организмом животного.

Стрипак обращает внимание на желудочно-кишечные расстройства, вызываемые несвежим кормом. Возможно что это является одним из факторов нарушения равновесия. Таких факторов наверно есть много.

Между прочим можно к ним зачислить недостаточное питание молодых животных, происходящих из больших выводков, момент отлучения от матерей, истощение самок, вызванное кормлением многочисленного потомства, переохлаждение, а также несоответствующие климатические условия.

Поэтому при борьбе с заболеванием кроме эвентуально применяемых прививок нужно обратить внимание на обеспечение животных соответствующими гигиеническими условиями и соответствующим питанием.

Z. Kawecki

INVESTIGATIONS ON THE NATURE OF THE EPIZOOTIC MENINGO-ENCEPHALITIS IN THE SILVER FOXES, OCCURRING IN POLAND.

Summary

It follows from the conducted investigations that epizootic encephalitis of the silver foxes, described for the first time in Poland after the II world war by Stryszak, is being caused by a virus of pantotropic properties. This virus may be cultivated on chickens' embryos. In the first passages from the infectious material it is characterized by its virulence for the chickens' embryos, while in its further passages it is being cultivated on the embryos without killing them.

A virus kept in 50% glycerin at the temperature + 4° C up to + 6° C maintains its virulence for chickens' embryos during about half a year.

The attempts to infect mice, guinea-pigs, white rats and rabbits by a virus coming from the infected material has failed. With no bigger success has met the attempt to infect cats by a virus cultivated on the embryos. On the basis of the conducted investigations it must be presumed that a virus approaching American virus has been used.

A virus whose passage through the embryos had been treefold, did not succeed to infect silver foxes. Only in one case a light form of disease was caused in a silver fox, when a diffusing factor had been applied simultaneously with the virus. A virus was cultivated from the brain of this fox after its being killed. It wasn't possible to vaccinate the foxes by a virus of full virulence because the permission to vaccinate them had been obtained from the cultivators only for the period of the killing of foxes for hide, i. e. from 15/XI to 31/XII. In that period, however, no fresh virus of full virulence could have been obtained. An indirect way has been chosen to prove that a virus cultivated upon chickens' embryos is really the one causing epizootic encephalitis in foxes.

Reaction of fixation of the complement has been made. As an antigen there has been used a virus multiplied on chickens' embryos. It has been ascertained that the reaction of fixation of complement with the serums of the foxes after their being ill with epizootic encephalitis is a positive one, and that it is a specific reaction. It has been ascertained that in the foxes having recovered, the antibodies remain for a long time. Antibodies have been found in a certain percentage of foxes which did not pass through the disease.

A virus of encephalitis in foxes remains for years on the farms which are affected by this disease. A fact speaking in favour of this is that a virus virulent for the chicken's embryos has been found in the blood of the fox few months after the disappearance of the symptoms of the disease.

The animals have probably very frequently an opportunity to get in touch with the virus, but epizootion occurs comparatively seldom. Thus it is probable that some additional factor creating the disturbance of the equilibrium between the virus and the body is necessary for the occurrence of the disease.

Stryszak turns the attention to the gastro-intestinal disturbances caused by the consumption of not fresh fodder. This is probably one of the factors leading to the disturbance of the equilibrium. Undoubtedly there are many such factors. There may be added to them, among others, under-nourishment of young animals

coming from big broods; the moment of the separation from the mother, the exhaustion of the females caused by the feeding of a too numerous brood, catching cold and unsuitable climatic conditions.

Consequently in overfighting the disease it is necessary, beside the possible application of vaccinations, to take care to assure to the animals proper hygienic conditions as well as proper food.

PISMIENICTWO

- 1) *Beller K. u. Bieling R.*: Viruskrankheiten der Haus und Laboratoriumstiere (1942).
- 2) *Chwojnowski A.*: Medycyna Weterynaryjna 1947 Nr 9.
- 3) *Hagan*: Infectious Diseases 1948.
- 4) *Heidegger*: Peltztierkrankheiten und ihre Bekämpfung 1938.
- 5) *Lepine P.*: Verge. Les ultraviruses des maladies animales 1948.
- 6) *Przesmycki F. i Horowicz W.*: Polski Tygodnik Lekarski 1949 Nr 3.
- 7) *Saxer E.*: Schweizer Archiv f. Tierheilkunde 1948 zeszyt 10.
- 8) *Schoop G.*: Deutsche tierärztliche Wochenschrift 1936.
- 9) *Stryszak A.*: Medycyna Weterynaryjna 1950 Nr 3.
- 10) *Szymanowski Z. i Ber A.*: Zarys mikrobiologii szczególowej chorób człowieka i u zwierząt. Tom II. Zarazki przesykalne 1949.
- 11) *Wyszeleski C. H.*: Czastnaja Epizootologia 1948.
- 12) *Zablocki B.*: Czynniki dyfuzyjny i jego zastosowanie w medycynie 1948.

Tadeusz Zachorowski

OBSERWACJE NAD PRZEBIEGIEM GRUŹLICY RZEKOMEJ GRYZONI LABORATORYJNYCH

(Z Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej
w Gdańsku)

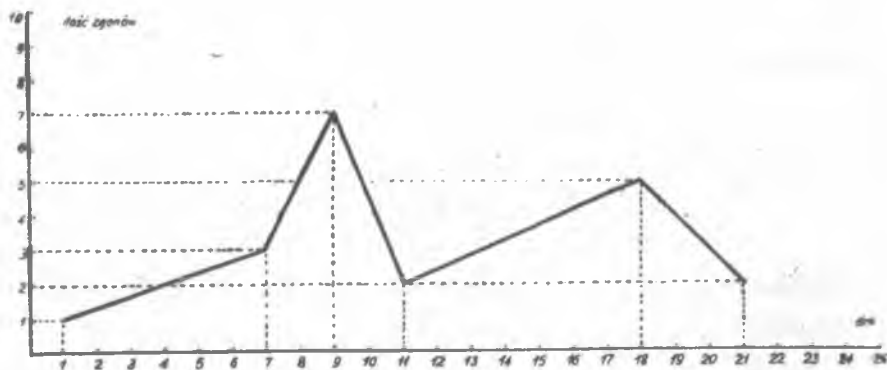
Epizootcje wywołane zarazkiem gruźlicy rzekomej — *Pasteurella pseudotuberculosis* często dziesiątkują hodowle zwierząt doświadczalnych. Zarazek i choroba przez niego wywołana były przedmiotem licznych badań i opisów w literaturze światowej. Infekcji zarazkiem gruźlicy rzekomej mogą podlegać gryzonie w ciągu całego roku. Brak światła i zimno uważa się za czynniki sprzyjające zakażeniu.

Ze zwierząt laboratoryjnych najbardziej wrażliwa na zakażenie samorzutne jest świnka morska. A. Urbain i J. Nouvel (1947) podają przypadek epizootycznego przebiegu gruźlicy rzekomej u małp *Erythrocebus patas*. W literaturze notują sporadyczne przypadki u zwierząt i ptaków domowych. W Polsce po raz pierwszy opisała gruźlicę rzekomą indyków i gołębi *Terpiłowska-Rutkowska* (1937). Przypuszcza ona, że to schorzenie częściej występuje u ptaków domowych niż się ogólnie sądzi.

W 1949 r. mieliśmy możliwość obserwować enzootcję wywołaną zarazkiem gruźlicy rzekomej w hodowli świnek morskich Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej. Hodowla składała się z około 200 zwierząt.

Po kilku odosobnionych wypadkach śmiertelnych, których żadne objawy prodromalne nie zapowiadały, infekcja przybrała na nasileniu. Zwracało uwagę, że zakażenie opanowało wszystkie klatki, ale padały tylko pojedyncze sztuki. Inne wykazywały dobry stan zdrowia mimo ścisłego kontaktu z chorymi. Dziesiątego dnia po wybuchu enzootcji, zaczęto dawać świnkom obfite ilości soczystej zielonej trawy, jako dodatku do zwykłej paszy, złożonej z dowolnej ilości owsa, buraków ćwikłowych i średniej jakości siana. W wy-

niku takiej diety doszło do stopniowego wygasania enzoocji, która pochłonęła 23 świnki w ciągu 21 dni. Przebieg enzoocji ilustruje ryc. 1.



Ryc. 1

Na poziomej wykazano kolejne dni: pierwszy, siódmy, dziewiąty, jedenasty, osiemnasty i dwudziesty pierwszy

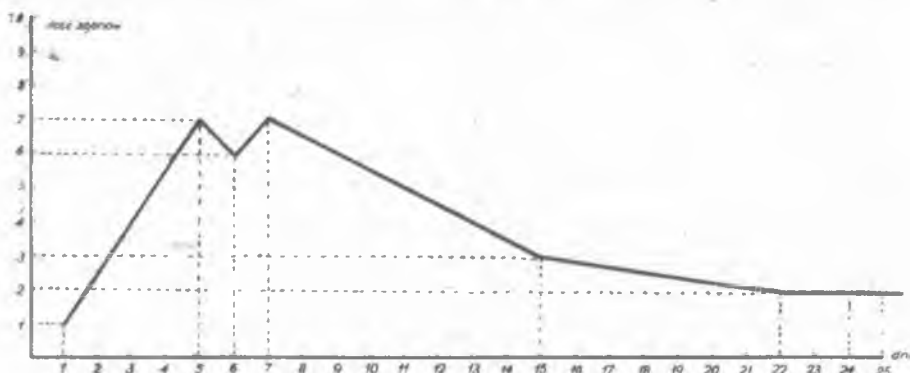
Na pionowej wykazano ilość świnek morskich padłych w powyżej wymie-
nionych dniach: pierwszy dzień — jedna świnka; siódmy — trzy świnki; dziewiąty —
siedem świnek; jedenasty — dwie świnki; osiemnasty dzień — pięć świnek i dwu-
dziesty pierwszy — dwie świnki

Sekcja uśpionych, zdrowych świnek i posiewy dokonane po dwu, czterech tygodniach i trzech miesiącach od momentu wygaśnięcia enzoocji, nie wykazały u badanych zwierząt ani obecności *Pasteurella pseudotuberculosis*, ani zmian chorobowych.

Dwa miesiące później enzoocja wybuchła w hodowli myszek białych, znajdujących się w tym samym budynku i obsługiwanych przez tę samą osobę. Bliższe badania anatomopatologiczne i bakteriologiczne wykazały zakażenie wywołane przez *Pasteurella pseudotuberculosis*.

Po kilku odosobionych przypadkach śmiertelnych nastąpiło nagle, kilka dni trwające, nasilenie zarazy, a po nim stopniowy spadek.

I tutaj podobnie jak w przebiegu enzoocji u świnek morskich, tylko część mieszkańców poszczególnych klatek ulegała chorobie i ginęła, reszta towarzyszek, mimo ścisłego kontaktu z chorymi, pozostała zupełnie zdrowa, aż do momentu całkowitego wygaśnięcia enzoocji. Z chwilą pojawienia się choroby zaczęto podawać myszkom obfite ilości marchwi i sałaty jako dodatek do karmy podstawowej, złożonej z dowolnej ilości owsa i zbyt małej ilości marchwi. Wynikiem tej diety było również wygaśnięcie enzoocji, która zabrała spośród myszek 24 ofiary w ciągu 25 dni. Przebieg enzoocji gruźlicy rzekomej białych myszek przedstawia ryc. 2.



Ryc. 2

Na poziomej kolejne dni: pierwszy, piąty, szósty, siódmy, jedenasty, piętnasty, dwudziesty drugi, dwudziesty czwarty i dwudziesty piąty.

Na pionowej ilość padłych myszek w powyżej wymienione dni: pierwszy dzień — jedna myszka; piąty dzień — siedem myszek; szósty dzień — sześć myszek; siódmym dniu — siedem myszek; jedenasty dzień — pięć myszek, piętnasty dzień — trzy myszki; dwudziesty drugi, czwarty i piąty dzień — po dwie myszki.

Sekcje i posiewy narządów zdrowych myszek dokonywane po miesiącu, dwu, trzech i trzech i pół od momentu wybuchu zarazy wskazały w kilku przypadkach na dalsze trwanie infekcji w stanie utajonym. Zwierzęta, mimo oznak dobrego stanu zdrowia, wykazywały na sekcji zmiany anatomopatologiczne w śledzionie, wątrobie i jelitach, a czasem i na nerkach, wprawdzie słabiej zaznaczone niż u sztuk padłych w czasie trwania enzoocji, ale typowe dla gruźlicy rzekomej. Posiewy były dodatnie.

Mieliśmy okazję obserwować 2 przypadki ostrego przebiegu gruźlicy rzekomej u chomików syryjskich, które chorowały 12 godzin. Króliki zakażone doświadczalnie ginęły po zastrzyku dożylnym omawianego zarazka w ciągu 2 dni.

Szczepy wyosobnione przez nas z padłych świnek morskich i wprowadzone myszkom podskórnice w dawce 0,2 ccm 24 godz. hodowli bulionowej zabijały je w ciągu 4 dni. W taki sam sposób zakażone świnki morskie padały po upływie ośmiu do piętnastu dni po zakażeniu. Świnki karmione chlebem nasiąkniętym hodowlą bulionową zarazka ginęły po upływie jednego do trzech tygodni. Węzły chłonne krezkowe u świnek zakażonych *per os* były powiększone do rozmiarów zbliżonych wielkością do węzłów chłonnych świnek padłych na skutek zakażenia samorzutnego. Samce po zakażeniu dootrzewnowym dawały regularnie objaw Straussa.

Wydzielone przez nas szczepy posiadają klasyczne cechy *Pasteurella pseudotuberculosis*. Dokonywaliśmy studia porównawcze ze szczepami *Pasteurella aviseptica* i *muriseptica*. Wyosobnione przez

nas zarazek gruźlicy rzekomej był ruchliwy w temp. 18° do 22° C., rozkładał glukozę, mannitol, maltozę i glicerol bez tworzenia gazu. Indolu nie tworzył. Zakwaszał 0,5% wodę peptonową z dodatkiem 0,5% glukozy do pH 5,5, a potem ją alkalizował w ciągu 3 dni do pH 8, co go różnicuje od zarazka dżumy. Reakcja z czerwienią metylową (M. R.) wypadła dodatnio. Po kilku codziennych przeszczepieniach w bulionie z ekstraktu drożdżowego w temp. od 27 do 37° C., nasze szczepy dysocjowały na 2 rodzaje kolonii różniących się od kolonii wyjściowych. Pierwszy typ to kolonie regularne, bombiaste o konturze okrągłym, przezroczyste, ciemne, błyszczące, suche i gładkie o powierzchni subtelnie rzeźbionej. Pod naciskiem eży łatwo odpryskiwały od podłoża. Minimalnie emulgowały w płynie. W bulionie w temp. od 27 do 37° C. tworzyły skąpy, ziarnisty męt z osadem na dnie próbówki.

Drugi typ — to kolonie nieregularne, płaskie o powierzchni szorstkiej, wilgotne, matowe, mające centrum ciemne, na kształt jądra, otoczone kołnierzem szarej substancji o koronkowym utkaniu, która zlewa się w koloniach starszych z taką substancją sąsiednich kolonii. Te kolonie łatwo emulgowały w płynie. Tworzyły jednolity, obfity męt, bez strącania się tworzenia osadu. Drobnoustroje z kolonii obu typów okazały się nieruchome. Przesiane i umieszczone na 48 godz. w temperaturze pokojowej, stawały się ruchome, wytwarzały kolonie okrągłe wilgotne i błyszczące, w bulionie zaś dawały jednolitą gęstą zawiesinę bez osadu. *P. Boquet* (1937) uzyskał podobne typy. Za *Topley'm* i *Wilsonem* proponuje oznaczać te typy kolonii: aglutnacyjny czyli ziarnisty (granulacyjny) i homogenny (jednolity) w zależności od ich zawieszalności w płynie fizj., lub bulionie, oznaczanie bowiem kolonii mianem: gładki, szorstki, może być przyczyną nieporozumień.

LECZENIE GRUŹLICY RZEKOMEJ GRYZONI

A. Urbain i *J. Nouvel* usiłowali bezskutecznie leczyć mały py sulfonamidami. *G. Girard* notuje dobre wyniki po zastosowaniu bakteriofaga specyficznego. *Terpiłowska-Rutkowska* próbowała uzyskać efekt leczniczy stosowaniem surowicy końskiej. Nasze próby leczenia dwóch chomików streptomycyną dały wynik negatywny. W wyniku naszych obserwacji nad enzoocjami gruźlicy rzekomej wśród świnek morskich i białych myszek doszliśmy do wniosku, że niewłaściwa dieta była czynnikiem sprzyjającym rozszerzaniu infekcji. Należało zatem potwierdzić doświadczalnie nasze spostrzeżenia, że odpowiednia dieta, jaką okazała się zieleń, może mieć wpływ na oporność gryzoni hodowlanych, wobec zakażenia zaraz-

kiem *Pasteurella pseudotuberculosis*, tym bardziej że zastosowane szczepionki nie dały wyniku. W tym celu wykonaliśmy szereg doświadczeń. Doświadczenie pierwsze miało na celu wykazanie, jak się zachowują chore na gruźlicę rzekomą świnki z chwilą, kiedy środkiem leczniczym będzie tylko dieta, złożona z dużej ilości soczystej słodkiej zieleni ogrodowej, prócz normalnej ilości owsa, ćwikły i siana. Odnośne doświadczenia wykonano na 11 świnkach, w tym 3 świnki użyto jako kontrolne. Wszystkie zwierzęta zakaziliśmy jednocześnie dawką po 0,2 ccm zjadliwej 24 godzinnej hodowli bulionowej, podskórnie. Sześć dni po zakażeniu wszystkie świnki przedstawiały stan znacznego wychudzenia. Kręgosłup był typowo wystający, węzły chłonne pachwinowe obrzmiałe. Wtedy zaczęto dawać wszystkim świnkom, prócz kontrolnych, dowolną ilość zielonej paszy. Wszystkie zwierzęta za wyjątkiem 1 sztuki, która padła z oznakami gruźlicy rzekomej, zaczęły szybko nabierać tuszy i w ciągu 10 dni wyzdrowiały. Trzy świnki kontrolne padły w ciągu dziesięciu dni z objawami gruźlicy rzekomej. Dla kontroli w 10 dni po zniknięciu objawów klinicznych uspiono 2 świnki spośród wyleczonych i zrobiono sekcję. Świnki nie wykazały żadnych zmian anatomopatologicznych, wskazujących na gruźlicę rzekomą. Również posiewy pozostały negatywne.

PRÓBY WZMOŻENIA OPORNOŚCI

Dla potwierdzenia korzystnego wpływu zielonej paszy na przebieg obu wyżej opisanych enzoocji gruźlicy rzekomej wykonaliśmy w pierwszych dniach maja następujące doświadczenie, do którego użyto 2 grup świnek morskich.

I grupa — złożona z 18 zwierząt — otrzymywała rację podstawową, składającą się z dowolnej ilości owsa, siana, brukwi i 10 mg wit. C *per os* na świnkę. Wit. C dodano dla zorientowania się, czy ma ona jakiś wpływ na stopień oporności świnki w przebiegu schorzenia gruźlicy rzekomej.

II grupa — składająca się z 18 świnek — otrzymywała dodatek zielonej paszy ogrodowej do racji podstawowej bez witaminy C.

III grupa — złożona z 10 sztuk — służyła za kontrolę i otrzymywała tylko rację podstawową karmy.

Po miesiącu takiego karmienia każdą grupę zakażono podskórnie za pomocą 0,2 ccm zjadliwej, 24-godzinnej hodowli bulionowej zarazka. 3 z padłych świnek nie miały żadnych zmian anatomopatologicznych. Posiewy jednakże wykazały obecność zarazka. Ocalały 2 świnki, u których po uspieniu nie stwierdzono zmian chorobowych. Również posiewy były negatywne. W grupie drugiej oca-

łało 12 świnek. Sekcje i posiewy wykonane w miesiąc po zakaże-
niu nie wykazały ani zmian chorobowych, ani obecności zarazka
w badanych narządach. 6 świnek tej grupy padło w ciągu 3 tygod-
ni z objawami gruźlicy rzekomej. Świnki kontrolne w liczbie dzie-
sięciu padły wszystkie do 2 tygodni z objawami typowymi dla tego
schorzenia. *Onegow A.* i *Supron L.* (1936) stwierdzili obniżenie
odporności na zakażenie *Pasteurellami* u świnek morskich i króli-
ków, wykazujących awitaminozę A, B i C.

H. A. Schneider i *L. Webster* (1945) udowodnili wpływ róż-
nych karm na stopień oporności myszek szwajcarskich, względem
Salmonella ent. Gärtneri. Wg tych autorów najbardziej korzystnie
wpływa na oporność myszek na to zakażenie pełna pszenica. Po-
karm syntetyczny z pełnym składem znanych witamin ma mniej-
sze znaczenie niż karmienie pełną pszenicą. Owies wg *Schneidera*
i *Webstera* nie wpływa w najmniejszej mierze na stopień oporności
na zakażenie. Ze względu na to, że w ciągu późnej jesieni, przez
okres zimy i wczesnej wiosny ziarno stanowi podstawę pożywienia
gryzoni doświadczalnych i że owies stanowi składnik paszy zasad-
niczy, bo najbardziej dostępny i tani, postanowiliśmy skontrolować
wpływ owsa na zakażenie świnek morskich zarazką gruźlicy rze-
komej. Dla porównania badano również wpływ pszenicy. W tym
celu wykonaliśmy następujące doświadczenia, do którego użyliśmy
również 2 grupy świnek morskich.

I grupa — kontrolna, złożona z 13 sztuk, otrzymywała owies,
buraki ćwikłowe i siano w dowolnej ilości, jako odpowiednik paszy
zimowej,

II grupa — złożona z 15 świnek otrzymywała pełną pszenicę,
buraki ćwikłowe i siano.

Powyższą dietę zastosowaliśmy od 12. IX. do 18. X. 50.

18. X. zakaziliśmy wszystkie zwierzęta 0,5 ml zjadliwą 24-go-
dzinną hodowlą bulionową zarazką, zabijającego świnki w ciągu
8 do 10 dni. Waga świnek obu grup w momencie zakażenia wahała
się w granicach od 600 do 650 gr.

Poniższa tabela ilustruje zachowanie się obu grup wobec zaka-
żenia *Pasteurella pseudotuberculosis*.

Nr grupy	Ilość świnek	Rodzaj diety	Czas stosowania diety	Data zakaż.	Ilość za-chorow.	Ilość świnek padłych w poszczeg. dn.							Razem padło	Pozostało przy życiu i wyzdrow.
						25.X.	26.X.	27.X.	28.X.	30.X.	2.XI.	18.XI.		
I	13	owies	12.IX-18.X	18.X	13				4	6	1	1	12	1
II	15	pszenica	12.IX-18.X	18.X	15	2	1	1	2	1	1	1	9	6

Świnki karmione owsem zaczęły szybko tracić na wadze po zakażeniu. Znaczne wychudzenie zwierząt tej grupy obserwowaliśmy pod koniec pierwszego tygodnia. W grupie tej na 13 zakażonych świnek padło 10 dokładnie w ciągu dziesiątej i jedenastej doby, licząc od dnia zakażenia. Przeciętny spadek wagi zwierząt tej grupy wynosił 75 gr na sztukę.

Zwierzęta karmione pszenicą wykazywały stosunkowo mniejszy spadek wagi, który wynosił około 20—30 gr. Pojedyncze sztuki zaczęły padać już siódmego dnia po zakażeniu. Do miesiąca padło razem 9 sztuk, na ogólną ilość 15 zakażonych, z objawami gruźlicy rzekomej. Do 20. XI. wyżyło 6 sztuk wykazujących jednak słabo wyrażone objawy kliniczne gruźlicy rzekomej. U zwierząt tych obserwowaliśmy stopniowy zanik obrzmienia węzłów chłonnych pachwinowych i stopniowe gojenie się wrzodu powstałego w miejscu zastrzyku, zakończone do 23. XI. całkowitym zabliznowacaniem.

Jak wykazały nasze badania, stosowanie szczepionek nie ma większego znaczenia przy zwalczaniu gruźlicy rzekomej gryzoni laboratoryjnych.

Do uodpornienia użyliśmy 27 myszek i 8 kontrolnych. Myszki wykazały przemijającą odporność, wyrażającą się okresem przeżycia od 22 do 27 dni; 2 z myszek ocalały. Myszki kontrolne padły wszystkie do 6 dni. Świnki morskie uodpornione taką samą szczepionką w liczbie 16 i 10 kontrolnych przeżywały do 20 dni, przy tym samym okresie przeżycia świnek kontrolnych.

O m ó w i e n i e. W ciągu trwania enzoocji gruźlicy rzekomej w hodowli świnek morskich i białych myszek Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej, stwierdziliśmy błędy karmienia tych zwierząt w sensie niedoboru pokarmowego. Podawany pokarm był jakościowo niepełny i jednostronny, co doprowadziło do obniżenia odporności na zakażenie zarazkiem gruźlicy rzekomej nawet u białych myszek, odznaczających się na ogół naturalną odpornością na tę chorobę. Okazało się, że dodatek paszy zielonej do karmy podstawowej wywierał korzystny wpływ na przebieg choroby i to zarówno w sensie profilaktycznym jak i terapeutycznym. Potwierdzają to nasze obserwacje, prowadzone w ciągu 1 i pół roku, a mianowicie:

1. Po wprowadzeniu stałej diety z zieloną paszą nie powtórzyły się więcej enzoocje gruźlicy rzekomej wśród naszych gryzoni laboratoryjnych, mimo zachowania tych samych warunków hodowania, a z wyjątkiem tylko zmiany diety. Zanotowaliśmy 1 sporadyczny przypadek gruźlicy rzekomej na wiosnę 1950 r., który nie pociągnął za sobą dalszych skutków.

2. Przeprowadzono kilka doświadczeń dla wykazania wpływu paszy. W doświadczeniu pierwszym na 18 świnek karmionych profilaktycznie paszą zieloną, 12 zwalczyło sztuczne zakażenie i uniknęło zachorowania. Nie dochodziliśmy bliżej przyczyn negatywnego wyniku ze stosowaniem witaminy C. Badania nasze wykazały, że owies nie ma zasadniczego wpływu na stopień oporności tych zwierząt względem zarazka gruźlicy rzekomej, natomiast pszenica wywiera wpływ korzystny na zwiększenie oporności wobec niego. Przejawia się to mniejszym ubytkiem na wadze i łagodniejszym przebiegiem schorzenia. Niewątpliwie gra tu jednak pewną rolę również oporność osobnicza. Na 15 świnek karmionych pszenicą wszystkie zachorowały, 9 z nich zginęło do miesiąca, a 6 świnek zwalczyło chorobę i zakażenie w ciągu 5 do 6 tygodni.

3. Leczenie za pomocą tylko paszy zielonej przeprowadziliśmy na 8 chorych na gruźlicę rzekomą świnkach, z których 7 zostało wyleczonych zupełnie. Kontrolne zwierzęta padły wszystkie wśród typowych objawów gruźlicy rzekomej.

WNIOSKI

1. Czynnikiem sprzyjającym wybuchowi enzoocji gruźlicy rzekomej świnek morskich jest przede wszystkim niedobór pokarmowy.

2. Zakażenie naturalne zarazkiem gruźlicy rzekomej odbywa się drogą pokarmową; nie stwierdziliśmy zakażenia drogą kontaktu.

3. Białe myszki mogą być nosicielami tego zarazka przy zachowaniu dobrego stanu zdrowia. Z tego powodu należy separować hodowle świnek morskich od hodowli białych myszek.

4. Dla uniknięcia niebezpieczeństwa gruźlicy rzekomej wśród gryzoni laboratoryjnych w okresie późnej wiosny, lata i wczesnej jesieni, należy je karmić odpowiednią ilością paszy zielonej.

W okresie zimy należy wykluczyć owies, zastępując go bardziej pełnowartościowym ziarnem np. pszenicą.

5. Szczepionki inaktywowane nie mają istotnego znaczenia w zwalczaniu gruźlicy rzekomej.

PISMIENNICTWO

1. *Blanch G.*: Contribution a l'etude des microbes qui determinent la pstbc. experimentale chez les animaux de laboratoire ainsi que chez certain rougers et insectivores sauvages. Arch. Inst. Pasteur Maroc. t. 3 1947 p. 517.

2. *Boquet Paul*: Recherches experimentales sur la pseudo-tuberculose des rongeurs. Ann. Inst. Pasteur. 1947, t. 59, p. 341.

3. *Byloff Karl*: Zbl. für Bakt. „Über eine pestähnliche Erkrankung der Meer-schweinchen.

4. *Diena Giuseppe*: Zbl. für Bakt. I Ref. 43, 1909, p. 531, Di una varieta de *Bacillus pseudotuberculosis*.

5. *Vincenzi Livio*: Orig. Zbl. für Bakt. I. Abt. 1907, str. 391, Die Pseudo-tuberkulose bei Fröschen.

6. *Vourloud*: Orig. I Abt. str. 97, 1908, Action de quelques bacteries sur les hydrates de carbon et le lait tournesole.

7. *Galli-Valerio Bruno*: Zbl. f. Bakt. I orig. 33, str. 321, Contribution a l'etude des caracteres morphologiques et des cultures de *Bacterium pestis* et des rappgrts de ce bacille avec *Bacterium pseudotuberculosis rodentium*

8. *Kolle W., Krause R., Uhlenhut P.*: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Dritte Auflage — Gustav Fischer, enaJ — und Urban und Schwarzenberg, Berlin und Wien, 1928, Bund IV, str. 413.

9. *Lazarus A. S. and Gunnison J. B.*, Journal of Bacteriology 53, 1947, str. 705, The action of *pasteurella pestis* bacteriophage on strains of *pasteurella*, *salmonella* and *shigella*.

10. *Onegow A. i Supron L.*: Znaczenie witaminy przy zakażeniu zwierząt niektórymi bakteriami z grupy *Salmonella* i *Pasteurella*. Przegląd Weterynaryjny — Rok XLIX, 1936, str. 193.

11. *Urbain A. et Nouvel J.*: Epidemie de pseudotuberculose constatee sur des Singes patas *Erythrocebus patas*.

12. *Schneider H. A. & Webster I. T.*: The Journal of Experimental Medicine. vol. 81, No. 4, April 1, 1945, str. 359.

13. *Seifried Oskar*: Die Krankheiten des Kaninchens. Berlin — Verlag von Julius Springer, 1937, str. 254.

14. *Stepp W., Kühnau J., Schroeder H.*: Witaminy i ich zastosowanie. t. 5, Szwarcman, Wyd. Nauk. „Wiedza” Warszawa, 1938.

15. *Terpilowska-Rutkowska*: Tuberculosis indyków i gołębi. Weterynaria Współczesna, 1938, Nr 1, str. 30.

16. The ufaw handbook on the care and management of laboratory animals. 1949. London, Bailliere, Findall and Cox, wyd. przez Alaister N. Worden.

17. *Zlatogoroff S. G.*: Orig. Zbl. für Bakt. 37, str. 345 „Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberkulosebacillus der Nagetiere”.

Stanisław J. Grabiec i Ernest A. Sym

MIKROKULTURY PRĄTKA GRUŻLICZEGO OTRZYMANE NA POŻYWKĘ SYNTETYCZNEJ DGK

(Z Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej
w Gdańsku i Polskiego Instytutu Przeciwgruźliczego)

Masowe hodowle prątka gruźliczego otrzymane na bibule sączkowej względnie na celofanie leżącym na podłożu składającym się z waty zwykłej lub szklanej albo z azbestu włóknistego, przesianym pożywką DGK (*T. Głębiński* 1950 r. i *E. A. Sym*) było punktem wyjścia do wykonywania prób w celu otrzymania mikrokultur na powierzchni pożywki syntetycznej.

Obserwacje nasze oraz innych autorów wskazują, że na powierzchni pożywek znajdują się najlepsze warunki dla rozwoju prątków. Daje się to tłumaczyć tym, że powierzchnia jest miejscem najlepiej zaopatrzonym w tlen, a prątki jako doskonałe utleniacze najlepiej rozwijają się przy dużych stężeniach tlenu. Wychodząc z tego założenia doszliśmy do wniosku, że tworzenie się mikrokultur na powierzchni będzie o wiele szybsze, aniżeli w głębi pożywki.

Mikrokultury prątka gruźliczego zapoczątkowane przez *D. M. Pryce'a* (1941) i następnie wielokrotnie modyfikowane przez szereg innych autorów (*H. Müller* 1944, *Youmans* i *Karlson* 1947, *Youmans* i *Willston* 1948 i inni) mają dziś wielkie znaczenie w pracach badawczych, jak również i znaczenie kliniczne. Pozwalają one w stosunkowo krótkim czasie zorientować się o warunkach dla rozwoju tego drobnoustroju.

Nasze mikrokultury otrzymaliśmy z zawiesin prątków sporządzonych przez rozcieranie kultur wyhodowanych na pożywkach syntetycznych.

METODYKA POSTĘPOWANIA

1) Pożywka:

Do próbek długości 10 cm i szerokości 3 cm wkłada się watę • wadze około 0,5 g. Watę układa się skośnie do osi próbki uci-

skając ją lekko w tym położeniu. Na watę wkłada się bibułę sączkową. Bibuła ma kształt i wielkość powierzchni ukośnie ułożonej waty. Do probówek wpuszcza się po ścianie pożywkę DGK za pomocą pipety w ilości około 10 ml. Probówki zatyka się korkami z waty owiniętej gazą i umieszcza na statywie skonstruowanym w ten sposób, aby probówki mogły zachować ukośną pozycję:

Skład pożywki DGK (E. A. Sym 1949 r.) jest następujący:

Głukoza	40,0 gr
Kwas glutaminowy	11,0 gr
Kwas cytrynowy	2,0 gr
KH_2PO_4	0,5 gr
$\text{MgSO}_4 : 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 gr
Cytrynian żelazowo-amonowy	0,05 gr
$\text{ZnSO}_4 : 7\text{H}_2\text{O}$	0,02 gr

dodać 1 n KOH aż do pH 7,2. Uzupełnić wodą do 1 litra. Probówki z zawartością poddaje się trzykrotnej sterylizacji w aparacie Kocha. (Fot. probówki).

2) Wysiewanie prątków:

Kulturę prątków pobraną z powierzchni pożywki (Petragnaniego, Loewensteina lub DGK) umieszcza się w moździerzyku szklanym skonstruowanym przez Weigla do produkcji jego szczepionki przeciwdrurowej i dodawszy nieco pożywki rozciera się. Otrzymaną w ten sposób zawiesinę wiruje się przez kilka minut. W płynie nad osadem pozostają tylko pojedyncze prątki. Do płynu tego dodaje się surowicę w stosunku 1 : 1 i sporządza rozmaz na błonie celofanowej, poprzednio autoklawowanej pod ciśnieniem 1,5 atmosfery przez 30 min. (zamiast surowicy można dodawać wody z żelatyną). Wyćinki błony celofanowej mają kształt i wielkość połowy normalnego szkiełka podstawowego, tj. 2,5 cm \times 4 cm. Pory błony celofanowej są wielkości od 50 do 20 milimikronów.

Po wyschnięciu błony celofanowej, umieszcza się ją w probówce na bibule stroną rozmazu do góry. Probówkę wstawiamy do termostatu w pozycji ukośnej.

3) Sporządzanie preparatów mikroskopowych:

Celofan po wyjęciu z probówki umieszcza się stroną rozmazu na szkiełku podstawowym i po dokładnym przyłgnięciu należy lekko podgrzewać nad palnikiem. Po pewnym czasie błona celofanowa zacznie się kurczyć, a następnie całkiem się odklei, na szkiełku zaś pozostanie utrwalony preparat odciskowy.

Preparat barwi się auraminą i ogląda pod mikroskopem fluorescencyjnym, lub Ziehl-Neelsenem i ogląda pod imersją. Prątki

w preparacie są układane gałązkowato, patrząc pod mniejszym powiększeniem tworzą spirale. W preparatach przygotowanych w ten sposób wzrost prętków daje się zauważyć niekiedy już po 24 godz.

OMÓWIENIE I WNIOSKI

Metoda mikrokultur powierzchniowych na pożywce syntetycznej jest bardzo prosta, dzięki czemu nadaje się do masowych doświadczeń nad bakteriostatycznością.

Z punktu widzenia diagnostyki metoda ta posiada tę wyższość nad zwykle stosowanym wysiewem na pożywkę Petrangnaniego, Loewensteinga lub Hoon, że pozwala na znacznie szybsze stwierdzenie obecności prętków w materiale badanym. Szczególną jednak wartość tej metody widzimy w zastosowaniu jej do klinicznych oznaczeń streptomycynooporności prętków otrzymanych bezpośrednio z materiału chorobowego.

Przy tego rodzaju badaniach należy wysuszony rozmaz umieścić w 10% kwasie siarkowym na 3 — 5 minut, a następnie przemyć w naczyniach z wodą destylowaną (jałową).

Mikrokultury prętka gruźliczego udowadniają, że mniemanie jakoby dla zainicjowania hodowli na pożywkach syntetycznych potrzebny jest wysiew prętków w większych ilościach, jest błędne, ponieważ w tym wypadku mamy często do czynienia z rozwojem kultury z jednej komórki. Niemniej jednak wielkość inoculum odgrywa dużą rolę, szczególnie w badaniach nad bakteriostatycznością.

Zbigniew Kozar

EPIDEMIOLOGICZNE ZAGADNIENIA TOKSOPLAZMOZY

(Z Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej
w Gdańsku)

Ogół lekarzy niezależnie od specjalizacji powinien już dziś zostać poinformowany o zagadnieniu toksoplazmozy. Ominięcie tej choroby w polskich podręcznikach naukowych jak również bardzo nieliczne, bo tylko trzy wzmianki o niej w piśmiennictwie powojennym, są przyczyną, że dla bardzo wielu sama nazwa choroby jest niezrozumiała i nie niemówiąca. Równocześnie w innych krajach europejskich i pozaeuropejskich rośnie coraz bardziej zainteresowanie toksoplazmozą. W pismach lekarskich różnych specjalności pojawiają się coraz częściej prace naukowe, opisy przypadków klinicznych i referaty dotyczące tego zagadnienia. Choroba ta staje się do pewnego stopnia „modną“, w każdym razie aktualną na całym świecie, pozwalając na wyjaśnienie tak częstych jeszcze nierozpoznanych właściwie przypadków klinicznych. Tajemniczość choroby, czyli niewyjaśnienie wielu zagadnień są przyczyną dużego stosunkowo zainteresowania wśród badaczy naukowych. W polskim piśmiennictwie lekarskim pojawiły się po wojnie trzy wzmianki o toksoplazmozie. Referat ogólny prof. S. Z. Lewine (U.S.A.) ogłoszony został w „Przeglądzie Lekarskim“ (1948). Wkrótce pojawiły się opisy dwóch klinicznych przypadków toksoplazmozy u dzieci z Warszawy I. Kanabusowej i z Łodzi M. Wilk-Wilczyńskiej („Polski Tygodnik lekarski“, 1948). Od tego czasu nie mamy dalszej wzmianki na ten temat, co świadczy pozornie o nieaktualności tego zagadnienia w Polsce. Jesteśmy jednak przekonani, że tak nie jest. Toksoplazmoza w Polsce występuje, tylko nie zwracamy na nią uwagi lub też nie byliśmy jeszcze przygotowani do właściwego jej rozpoznawania. Państwowy Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdańsku przystąpił od kilku miesięcy do rozpracowania niektórych zagadnień toksoplazmozy. W celu nawiązania bliższego kontaktu z klinicami i lekarzami terenowymi, prócz szeregu referatów wygłaszanych

na posiedzeniach naukowych, rozpoczynamy akcję propagującą to zagadnienie w prasie lekarskiej.

Zagadnienie toksoplazmozy było aktualne już przed wielu laty. Od dawna zwrócili na nią uwagę zoolodzy, później lekarze weterynaryjni a ostatnio zainteresowali się nią energicznie lekarze. Przed 50 jeszcze laty *Laveran* (1900) zauważył u ptaków na Jawie dziwne nieopisane dotąd pasożyty wewnątrzkomórkowe. Nieco później te same pierwotniaki spotkano przypadkowo w Instytucie Pasteura w Tunisie u gryzoni północnoafrykańskich *Ctenodactylus gondii* (Nicolle i Manceaux, 1908). Tym razem nadano im już nazwę *Toxoplasma gondii* mówiącą o półksiężycowatym kształcie form zewnątrzkomórkowych oraz nazwie żywiciela. Niemal równocześnie znajduje się toksoplazmę u dzikich królików w innej części świata, bo w Brazylii (*Splendore*, 1908). Odtąd pojawiają się już w wielu krajach opisy toksoplazmozy u zwierząt różnych gatunków należących do ssaków, ptaków i innych kręgowców, zarówno zwierząt laboratoryjnych, domowych i dzikich. Zmiany patologiczne i objawy kliniczne zakażonych naturalnie zwierząt wykazują duże różnice zależne nie tylko od gatunku żywiciela, ale i jego cech osobniczych. Z czasem i w lekarskim piśmiennictwie pojawiać się zaczęły domysły i przypuszczenia, że znalezione sekcyjnie u pacjentów twory są podobne mikroskopowo do toksoplazmy (*Castellani* na Ceylonie, 1914; *Fedorowith* nad Morzem Czarnym, 1916; *Chalmers* i *Komar* w Sudanie, 1920). Pierwszy jednak opis niewątpliwie stwierdzonego przypadku toksoplazmy u człowieka zawdzięczamy okuliście czeskiemu w Pradze *Janku* (1923). Praca ta ogłoszona w języku czeskim poszła jednak na wiele lat w zapomnienie. Dopiero w roku 1939 badacze amerykańscy wyizolowali z mózgu dziecka pierwszy szczep toksoplazmy. Praca ich, jak również nieco wcześniejsza doświadczalna *Sabin'a* i *Ołitzky'ego* (1937) są punktem zwrotnym zainteresowania toksoplazmozą.

Pasożyty niewątpliwie pierwotniaki, ale o niesprecyzowanej jeszcze bliżej pozycji w systematyce zoologicznej znamy w dwu postaciach: zewnątrzkomórkowej i wewnątrzkomórkowej. Niewiele wiemy o ich biologii. Obserwuje się rozmnażanie przez podział podłużny oraz ich powinowactwo do niemal wszystkich komórek parenchymatycznych, szczególnie do komórek układu śródłonkowsiateczkowego. Z reguły nie obserwuje się pasożytów w czerwonych ciałkach krwi. Szczepy utrzymują się dobrze na wszystkich zwierzętach laboratoryjnych pasażowane wszystkimi znanymi drogami oraz na zarodkach jaja kurzego. Jako pasożyty przede wszystkim wew-

nątrzkomórkowe nie dają się toksoplazmy jak dotąd hodować na sztucznych podłożach.

Toksoplazmoza człowieka znalazła już bardzo wielu badaczy, którzy stosunkowo dość dokładnie rozpracowali jej stronę kliniczną, anatomię patologiczną, a nawet odczynny immunobiologiczny. Obserwuje się jednak brak, jak dotąd, zainteresowania ze strony epidemiologów. Nie możemy dziś jeszcze nawet mówić o epidemiologii toksoplazmozy, bo za mało o niej wiemy. Nie ma dotąd ani jednej pracy, czy to doświadczałnej czy też teoretycznej, gdzie byłoby poruszone całe zagadnienie. Omawiano wprawdzie niekiedy ubocznie różne problemy epidemiologiczne, pozostając przeważnie w sferze przypuszczeń i domysłów. Dopiero w ostatnich dwu latach pojawiać się zaczęły prace starające się rozwikłać niektóre zagadnienia wchodzące w zakres epidemiologii. A przecież temat ten jest niemniej ważny od innych. Postaram się więc wyciągnąć możliwie wszystkie szczegóły epidemiologiczne z piśmiennictwa, uszeregować je i może nawet podać pewne wnioski. Dane te przydadzą się zapewne wszystkim, których już interesuje toksoplazmoza, a być może zwrócą uwagę innych i zachęcą do rozpracowania naprawdę ciekawych i ważnych problemów. Omawiać będę często występowania toksoplazmozy u ludzi, jej rozmieszczenie geograficzne i inne związane z tym zagadnienia. Dalej trochę miejsca poświęcę drogom zakażenia się, zwłaszcza możliwości przenoszenia zarazków przez stawonogi ssące krew oraz omówię dotychczasowe dane co do zwierzęcych rezerwuarów zarazka w naturze.

CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA TOKSOPLAZMY U CZŁOWIEKA I JEJ ROZMIESZCZENIE GEOGRAFICZNE

Od z górą dziesięciu lat w piśmiennictwie lekarskim całego świata spotykamy coraz liczniejsze opisy przypadków zakażeń człowieka toksoplazmą. Wcześniejsze bowiem prace, oprócz czeskiej (*Janku*, 1923) uważamy albo za mniej pewne, albo nawet mało wiarygodne. Zakażenia opisywano u ludzi w różnym wieku zarówno niemowląt, dzieci, dorosłych jak i starców. Stwierdzono dalej, że toksoplazmoza występuje dość często u płodów przybierając niekiedy postać bardzo ostrą, śmiertelną, innym znów razem łagodniejszą, objawiającą się dopiero w pierwszych dniach lub tygodniach po urodzeniu.

Ze względu na wiarygodność rozpoznania choroby podzielić sobie możemy następująco opisane przypadki: 1) Przypadki, w których oprócz różnych dowodów na obecność zakażenia udało się wyizolo-

wać szczep zarazka, przenieść go na wrażliwe zwierzęta doświadczalne i dalej, dłużej lub krócej, utrzymać badając przy tym jego morfologię i własności biologiczne. 2) Druga grupa przypadków obejmuje opisy, w których rozpoznanie postawiono na podstawie mikroskopowego stwierdzenia pasożytów w tkankach lub płynach przy równoczesnych charakterystycznych zmianach anatomopatologicznych. 3) Grupa trzecia obejmuje przypadki podejrzane klinicznie lub nie, ale potwierdzone dodatnim wynikiem prób serologicznych. 4) Wreszcie w czwartej grupie kierowano się tylko charakterystycznymi objawami klinicznymi, przy sprzyjających faktach z anamnezy.

Niewątpliwie dwie pierwsze grupy są najbardziej wiarygodne i nie mogą już budzić wątpliwości co do trafnej diagnozy. Grupa trzecia może obejmować pewien odsetek pomyłek, spowodowanych nieswoistymi odczynami lub wadliwą jeszcze techniką ich wykonania. W większości jednak możemy na niej polegać. Ma ona dla nas szczególne znaczenie, gdyż obejmuje większą ilość badanych osób, pozwalając już na wyciągnięcie wniosków epidemiologicznych. Grupy czwartej, najmniej pewnej, nie będziemy na razie brali pod uwagę.

Niestety w grupie pierwszej niewiele mamy przypadków do zanotowania. Pierwszymi, którym udało się wyizolować żywe zarazki z człowieka, są *Wolf, Coven i Paige* (1939). Chory ich, chłopiec, zmarł w szpitalu w 31 dni po urodzeniu wśród objawów ogólnego zapalenia mózgu i opon cechującego się zlokalizowanymi ogniskami zapalnymi, martwicą z tendencją do zwapnień. Obraz oftalmologiczny dawał typowe zapalenie naczyń i siatkówki. Przy sekcji w mózgu, rdzeniu i w oczach dały się stwierdzić mikroskopowo liczne pasożyty. Zawiesinę z mózgu wstrzyknięto zwierzętom, które chorowały wśród charakterystycznych zmian toksoplazmowych. Szczep ten w dalszym ciągu utrzymywany na zwierzętach okazał się zupełnie podobny do już poprzednio (1935) wyizolowanego szczepu z świńek morskich. Po 40 prawie latach badań nad toksoplazmozą dopiero teraz potwierdzono niezbicie, że ten sam pierwotniak jest przyczyną zakażeń człowieka. Autorzy po raz pierwszy zaczęli mówić o toksoplazmowym *encephalomyelitis*. Nicco później (1942) ci sami autorzy opisali nowy przypadek *encephalomyelitis* u wcześniaka, u którego powiększało się stopniowo wodogłowie, a szóstego dnia rentgenem stwierdzono już zwapnienia mózgowo. Od początku prawie widoczne było obustronne *chorioretinitis*. Płyn mózgowo-rdzeniowy odznaczał się ksantochromią i był bogaty w białka. Dziecko zmarło po dziesięciu tygodniach. Oprócz mikroskopowego stwierdzenia zarazków udało się je przenieść na myszki i w ten sposób jeszcze potwierdzić

rozpoznanie. W innej pracy ci sami autorzy podają przypadek dziecka, które udało się zachować przy życiu. Objawy były następujące: powiększona śledziona i wątroba, wodogłowie, zwapniałe ogniska w mózgu, obustronne *chorioretinitis*, w niedużym stopniu lewe małocze, ksantochromia i zwiększenie białek oraz komórek w płynie. Po siedmiu tygodniach objawy częściowo ustępowały, wodogłowie jednak pozostało, a dziecko było zahamowane w rozwoju psychicznym. W surowicy stwierdzono przeciwciała neutralizacyjne, a jedna z trzech myszek zaszczipionych płynem mózgowym okazała się zakażona toksoplazmą, co potwierdzono dalszymi pasażami.

Równocześnie (1941) *Sabin* opisuje dwa dalsze przypadki tym razem toksoplazmozy nabytej u dzieci starszych. Chłopiec sześciolatek przyszedł do szpitala skarżąc się na ból głowy, wymioty, osłabienie rąk i nogi oraz ogólne drgawki. Po 30 dniach zmarł wśród narastających objawów zapalenia mózgu, senności, mięśniowych skurczy całego ciała, nieregularnego oddychania i tętna oraz wysokiej gorączki. Pośmiertnie stwierdzono nieduże mikroskopowe rozsiane zmiany w mózgu z nekrozą i naciekiem komórkowym wokół naczyń krwionośnych. Obraz makroskopowy i mikroskopowy mózgu różnił się jednak dość znacznie od wybitnych zmian stwierdzonych przez poprzednich autorów przy wrodzonym toksoplazmowym zapaleniu mózgu. Duży odsetek myszy zaszczipionych domógowo i dootrzewnowo zawieszoną mózgu wykazał typową doświadczalną toksoplazmozę. Szczep ten znany pod nazwą RH utrzymywany jest do dziś dnia jako standardowy dość zjadliwy szczep ludzkiej toksoplazmozy. Między innymi i my w naszej pracowni posługujemy się nim. Drugi opisywany równocześnie przypadek u chłopca 8 letniego przy dosyć podobnych objawach zakończył się szczęśliwie wyzdrowieniem. Płyn mózgowo-rdzeniowy wstrzyknięty świnkom wywołał ich śmierć po 6 tygodniach, przy czym stwierdzono zarazki w narządach. Szczep ten początkowo niezjadliwy dla myszy przy dalszych pasażach okazał właściwości podobne do poprzednio omówionego szczepu RH.

W tym samym roku i w tym samym numerze pisma pojawiła się praca *Pinkertona* i *Hendersona* donosząca o dwóch przypadkach śmiertelnego zakażenia dorosłych osób w St. Louis (U.S.A.). Mężczyzna 50 letni zgłosił się do szpitala z gorączką, biegunką i kaszlem. Na całym ciele za wyjątkiem dłoni, stóp i twarzy pojawiła się plamista grudkowa wysypka. Po dziesięciu dniach chory zmarł. Stwierdzono śródmiąższowe zapalenie płuc, nacieki komórkowe w sercu, ogniska nekrotyczne w śledzionie i wątrobie oraz nacieki wokół naczyń w skórze. Drugim pacjentem była 42 letnia kobieta z po-

Lis Nr 17 pochodził z fermy Z₂. Mózg lisa otrzymano wraz z protokołem sekcijnym Nr 842 za pośrednictwem W. Z. H. W. w Gdańsku. Z protokołu tego wynika, że u lisa stwierdzono ropne zapalenie spojówek, krwotoczne zapalenie błony śluzowej żołądka, dwunastnicy, pęcherza moczowego oraz sporadyczne drobne wybroczyny wielkości główki szpilki w wątrobie i nerce. Badanie bakteriologiczne padłego lisa dało wynik ujemny. Trzy tygodnie przed padnięciem lis oślepl. Badanie na obecność wirusów w mózgu lisa dało wynik dodatni.

Wszystkie mózgi lisów pochodzących z fermy Z₃ otrzymano za pośrednictwem W. Z. H. W. w Gdańsku. W protokole Nr 887, dołączonym do lisa Nr 18 zaznaczono, że samica padła podczas porodu. W macicy stwierdzono pięć płodów, z tego trzy rozwinięte, a dwa obumarłe. Błona śluzowa żołądka przekrwiona, nastrzykana i pokryta pojedynczymi wybroczynami. Błona śluzowa jelit przekrwiona i pokryta pojedynczymi wybroczynami.

W protokole sekcijnym lisów Nr 19, 20, 21 i 22 (W. Z. H. W. Nr 1928 do 1931) wymieniono niezyt błony śluzowej żołądka i jelit oraz pojedyncze wybroczyny.

Badanie mózgow wszystkich lisów pochodzących z fermy Z₃ dało wynik pozytywny.

Dużo pewniejsze wyniki otrzymanoby zakażając w każdym pasażu nie trzy lub pięć zarodków, lecz np. dziesięć. Jednak przeprowadzenie badania masowego na tak dużej ilości zarodków było ze względów technicznych niemożliwe. Jedynie w dwóch przypadkach zakażono większą ilość zarodków. W pierwszym przypadku rozcierką mózgu lisa Nr 4 zakażono 43 zarodki, z czego padło 35.

W drugim przypadku mózgiem lisa Nr 18 zakażono 178 zarodków, z których padło 105.

Procentowo wyniki te pokrywają się z wynikami jakie otrzymano na niewielkiej liczbie zarodków. Szczepienie to wykonano celem — otrzymania antygeny do próby wiązania dopełniacza, która to próba była wykonana dwukrotnie w ostatnim etapie pracy. Zarodki te nie były zakażane równocześnie, lecz służyły do przeprowadzenia czterech pasażów.

Dla porównania zakażono jednocześnie siedem zarodków na błonę kosmówkowo-omoczniową jałową solą fizjologiczną. Z partii tej w ciągu 48 godzin nie padł ani jeden zarodek.

SZCZEPIENIE KURCZĄT I KOTÓW WIRUSEM PASAŻOWYM PRZEZ ZARODKI

Wirusem pochodzącym z drugiego pasażu z lisów Nr 7, 8, 14 zaszczepiono w narkozie eterowej po dwa siedmiodniowe kurczęta domózgowo. Wszystkie kurczęta zabieg wytrzymały doskonale. Ósmego dnia od daty szczepienia padło jedno kurczę szczepione mózgiem lisa Nr 8, 12 dnia drugie, a 15 dnia jedno szczepione mózgiem lisa Nr 7. Razem padły trzy kurczęta. Badanie bakteriologiczne padłych kurcząt dało wynik ujemny. Przed padnięciem kurczęta poza brakiem apetytu żadnych innych objawów chorobowych nie wykazywały. Z mózgow padłych kurcząt sporządzono rozcierkę, przefiltrowano ją przez świecę L_2 i otrzymanym filtrem zakażono zarodki na błonę kosmówkowo-omoczniową. Obydwa mózgi kurcząt szczepionych wirusem pochodzącym z lisa Nr 8 potraktowano jako jedno badanie. Obydwoma filtratami w pierwszym pasażu zakażono po trzy zarodki. Z filtratu otrzymanego z kurcząt zakażonych mózgiem lisa Nr 8 padł w pierwszym pasażu jeden zarodek, a z filtratu Nr 7 dwa zarodki. W drugim pasażu zarodki szczepione obydwoima filtratami pozostały wszystkie przy życiu. Wirusem wyosobnionym z mózgu lisa Nr 18 po przepasażowaniu go przez zarodki kurze zaszczepiono trzy dwumiesięczne kocięta.

Kocię pierwsze otrzymało w narkozie z wodnika chloralu podanego *per. rectum* 0,2 ml zawiesiny wirusa podoponowo. U kota tego dokonana była trepanacja czaszki. Kot padł nie odzyskawszy przytomności po dwóch dniach.

Kotu drugiemu wkroplono 0,5 ml zawiesiny wirusa do nozdrzy. Zawiesinę podano kotu w stanie oszołomienia, spowodowanego wodnikiem chloralu.

Kot trzeci otrzymał 1 ml zawiesiny wirusa dootrzewnowo. Kot drugi i trzeci nie padł i nie wykazywał objawów chorobowych.

Dalsze badania nad epizootycznym zapaleniem mózgu lisów skoncentrowano na jednej tylko fermie. Wybrano do badań fermę Z_3 ze względu na łatwy dostęp do materiału. Ferma ta położona jest w miejscu suchym oddalonym od linii kolejowej i traktów. Zajmuje dużą przestrzeń. Lisie domki porozmieszczane są między rzadko posadzonymi niskopiennymi drzewami owocowymi. Jednym bokiem ferma dotyka do skupienia drzew dziko rosnących. W rozmowie z personelem fermy dowiedziano się, że lisy na fermie chorują na epizootyczne zapalenie mózgu i rdzenia od dwóch lat tj. od chwili sprowadzenia zwierząt hodowlanych, zresztą nie wykazujących żadnych objawów chorobowych, z fermy jak się potem okazało do-

dobnymi objawami i równocześnie niedużymi zmianami w mózgu i oponach. Obrazy te przypominały raczej gorączkę Gór Skalistych lub dur endemiczny. U obu znaleziono w tkankach śródkomórkowe toksoplazmy. U obu występowały zmiany zapalne śledziony, serca i płuc, w drugim przypadku ponadto też i w mózgu. W płucach komórki otaczające pęcherzyki jak również makrofagi leżące wolno w pęcherzykach i oskrzelikach wypełnione były pasożytami. Od obydwu pacjentów udało się wyizolować szczepy toksoplazm wstrzykując duże ilości krwi z cytrynianem (bo aż po 5 ml) świnkom do otrzewnowo. Fakt ten zasługuje na specjalne podkreślenie, bo jak dotąd najczęściej materiałem wyjściowym dla pasaży jest osad płynu mózgowo-rdzeniowego, albowiem we krwi prawie z reguły nie znajduje się pasożytów.

Idąc dalej w porządku mniej więcej chronologicznym wymienić muszę przypadek opisany w Brazylii przez *Guimaraes* (1943) dotyczący dziecka 14 miesięcznego z wrodzoną toksoplazmozą. Szczep wyizolowano z płynu mózgowo-rdzeniowego na świnki i myszki.

Na terenie Europy pierwszy niezbyt udany pasaż szczepu toksoplazmowego mamy do zanotowania w Holandii (*Binkhorst*, 1945). Sześcioletnie dziecko cierpiało na chroniczne zapalenie mózgu oraz zapalenie naczyń i siatkówki z wszystkimi innymi cechami nabytej toksoplazmozy. U jednej świnki z kilku zaszczipionych płynem mózgowo-rdzeniowym obserwowano nieliczne zarazki, które dało się nawet przepasażować jeszcze na drugą świnkę, ale później szczep zaginął. Nieco później, bo w roku 1948 również autorzy holenderscy *Davel, Elst, Winsser, van Thiel* i *Verlinde* z lepszym szczęściem wyizolowali szczep europejski znany dziś jako Bk. Chorym był chłopiec normalnie urodzony, u którego dopiero po 4 tygodniach wystąpiły gorączka i drgawki. Wymiary głowy poczęły się szybko powiększać. Występowały kurcze mięśniowe, nienormalne odruchy i opistotonus. Stwierdzono rozszerzenia prawej komory, ksantochromię płynu, znaczne zwiększenie białek, w różnym stopniu pleocytozę, dodatnią próbę tryptofanową. W rozmazach z płynu mózgowo-rdzeniowego widziano mikroskopowo liczne pasożyty. Dziecko zmarło w wieku 13 tygodni. Pośmiertnie stwierdzono prócz zmian mózgowych nacieki komórkowe z pasożytami w *subcutis*, *diaphragma* i *musculus psoas*.

W tym samym roku (1948) *Kean* i *Grocott* podają, że jeszcze w 31 godzin po śmierci udało im się żywy szczep toksoplazmowy z mózgu zmarłego pacjenta przepasażować na świnki. Przypadek ich dowodzi, że toksoplazmoza jest schorzeniem różnych narządów ze szczególnym powinowactwem do tkanek nerwowych. Co ciekawsze

stwierdzono pasożyty również w nerwach obwodowych (*n. trigeminus*, *n. femoralis*) poza tym w nerkach, w pęcherzu, języku, mięśniach prażkowanych no i naturalnie w oku oraz ośrodkowym układzie nerwowym. Opis dotyczy tylko badań pośmiertnych, gdyż dziecko zmarło już w 10 godzin po urodzeniu.

Wspomnieć jeszcze warto o przypadku opisanym przez *Syverton* i *Slavin* (1946). 65 letni mężczyzna zachorował z gorączką, biegunką, nudnościami, skurczami w brzuchu i bólami w prawym łokciu. Jak twierdził podobną chorobę przechodził przed 24 laty, co wtedy rozpoznano jako gorączkę durową. Ponieważ tym razem stwierdzano przez dłuższy czas silną eozynofilię (26—45%) podejrzenie padło na włóśnicę. Wykonano więc biopsję z *musc. gastrocnemius* i ku zdziwieniu wśród starych ognisk zapalnych odkryto pierwotniaki przypominające toksoplazmę. Liczne, bo przeprowadzone aż na 102 zwierzętach pasażę tkanki mięśniowej pozwoliły jedynie w 3 wypadkach stwierdzić toksoplazmę u świnek. Szczepu tego nie udało się zachować, był bowiem mało zjadliwy dla zwierząt laboratoryjnych. Autorzy przypuszczają, że przyczyna choroby była inna, a przypadkowo tylko stwierdzili obecność toksoplazm u chronicznego nosiciela. Chory po 7 tygodniach powrócił do zdrowia.

Ostatnio (1950) *Walenz* i *Westphal* donoszą również o wyizolowaniu pierwszego w swym kraju szczepu toksoplazmowego.

Zdaje mi się, że to są ważniejsze z opisanych dotychczas udanych prób pasażowania toksoplazm z ludzi na zwierzęta. Może zbyt wiele czasu poświęciłem omawianiu tych spraw, chciałem jednak przy okazji zapoznać czytelników z różnymi typowymi objawami i cechami charakterystycznymi toksoplazmozy. Pierwsza grupa rozpoznanych przypadków w naszym ujęciu, jak widzimy, nie jest zbyt liczna.

Nad drugą grupą przypadków nie będziemy się dłużej zastanawiać choćby dlatego, że jest ona znacznie liczniejsza. Obejmuje ona już dziś kilkadziesiąt różnorodnych opisów łącznie z pierwszym historycznym przypadkiem opisanym w Czechach przez *Janku* (1923). Tu należy również odtworzony przez *Frenkel'a* i *Naffziger'a* (1950) przypadek toksoplazmozy wrodzonej śmiertelnej w 5 dni po urodzeniu jeszcze z roku 1923. Na podstawie zakonserwowanego materiału sekcyjnego dopiero po 25 latach udało się autorom postawić właściwe rozpoznanie. Co ciekawsze, badani ostatnio serologicznie obydwójce rodzice wykazali jeszcze dodatni odczyn próbą śródskórną i neutralizacyjną.

Nas ze względów epidemiologicznych bardziej zainteresuje trzecia grupa przypadków obejmująca większą ilość badanych osób.

Niektóre ciekawsze prace postaram się streścić. Ponieważ prawie z reguły próby serologiczne potwierdzają postawione innym, bardziej przekonywującym sposobem rozpoznanie, można przyjąć je za dość wiarygodne. Wspomniane już przypadki *Sabina*, *Wolfa*, *Coven* i *Paige*, jak również wiele innych wykazały dodatnie odczyny przy próbie neutralizacyjnej. Inni autorzy opisujący większą ilość badanych dzielą ich sobie przeważnie na grupę osób podejrzanych o toksoplazmozę i nie podejrzanych. Są to więc osoby z charakterystycznymi zmianami nerwowymi i ocznymi lub matki dzieci z wrodzoną toksoplazmozą, a dla porównania przypadkowi pacjenci szpitali i klinik lub zupełnie zdrowe normalne osoby.

Pierwszy *Sabin* (1942) wykonał tego rodzaju większe badanie epidemiologiczne posługując się próbą neutralizacyjną. Obejmuje ono 151 osób mniej lub więcej podejrzanych o zakażenie. Wynik dodatni otrzymał on u 59 osób, co stanowi dość duży odsetek. Były to przeważnie dzieci ze zmianami w układzie nerwowym oraz bardzo często ich matki, co wskazywałoby na wrodzony charakter inwazji. Ale nawet wykluczając te osoby podejrzane i ich najbliższe otoczenie autor przypuszcza, że około 10% zdrowej normalnej ludności posiada przeciwciała toksoplazmowe neutralizacyjne.

Toksoplazmoza może mieć do pewnego stopnia charakter choroby rodzinnej, jak zresztą niektóre z chorób zakaźnych. *Crothers* (1945) przebadał pięć rodzin, gdzie zarówno objawy kliniczne jak i dodatnie odczyny serologiczne wskazują wyraźnie na rodzinny charakter zakażenia. Świadczy to o tym, że do zakażenia się toksoplazmą potrzebny jest bliższy i trwalszy kontakt jaki dają warunki życia rodzinnego.

Większą grupę osób (211) bada *Heidelman* (1945) również przy pomocy próby neutralizacyjnej. Przy wyborze pacjentów kieruje się tylko zmianami ocznymi, gdzie również uwzględnia rodziców, a dla porównania bierze grupę osób zdrowych. Na 27 pacjentów z przypuszczalnie wrodzonym *chorioretinitis* przeciwciała stwierdza u 17; na 7 matek u 6. a spośród dwu ojców u jednego. W drugiej grupie ujął 97 przypadków z nabytym *uveitis* (wiek 20—57 lat) i tym razem u 12 osób stwierdził przeciwciała. Na 58 normalnych kontrolnych badań reagowało dodatnio próbą neutralizacyjną 6 osób.

Nieco słabsze wyniki otrzymał *Callahan* (1945). Spośród 100 osób niepodejrzewanych o toksoplazmozę zarówno kobiet jak i mężczyzn w wieku 18—28 lat dodatnio reagowały jedynie dwie młode kobiety, co stanowi 2%.

Johnson (1946) przebadał surowice 32 pacjentów z *choroiditis* oraz członków ich rodzin. Próby u 20 pacjentów wypadły dodatnio

jak również wśród rodzin często znajdował przeciwciała; w jednej dziewięcioosobowej rodzinie aż u siedmiu jej członków.

Kabler i Cooney (1947) w ciągu trzech lat zbadali 932 surowie od 761 pacjentów w stanie Minnesota. Były to osoby częściowo podejrzane o toksoplazmozę z powodu wodogłowia, zwapnień mózgowych, zapaleń mózgu, opóźnionego rozwoju umysłowego, drgawek, *chorioretinitis* itp. jak również rodzice dzieci, u których stwierdzono już przeciwciała. Wyniki wskazują na duże rozpowszechnienie toksoplazmozy. W roku 1944 dodatnich prób było 42,3%, w r. 1945 — 19,8%, w r. 1946 — 18,4%. Najwyższy odsetek dotyczył chorych z *chorioretinitis*.

Od czasu wprowadzenia próby śródskórnej przez *Frenkela* łatwiejszej w wykonaniu otworzyły się większe możliwości badania tych zagadnień. Reakcja ta według zapewnień autora jest zupełnie specyficzna. W r. 1949 stwierdza on przeciwciała aż u 10% zdrowych młodych osób. U osób starszych leczonych na schorzenia sercowe i nowotworowe odsetek ten wzrasta do 28%. Natomiast wśród 28 osób podejrzanych o toksoplazmozę z powodu *chorioretinitis* aż u 20 czyli u 71% występuje uczulenie na toksoplazminę. W drugiej grupie na 40 młodych osób z *uveitis* wrażliwych jest 13 (czyli 33%).

Podobne wyniki otrzymują autorzy włoscy tą samą próbą. *Tolentino i Razzi* (1950) przebadali 467 osób w wieku 0—40 lat. Ogólny odsetek dodatnich prób wynosi 16,7. Ciekawa tu jest obserwacja zgodna zresztą z pracą *Frenkla*, że częstość występowania przeciwciał wzrasta z wiekiem badanych osób. Wykazali oni to na krzywej osiągającej swój najwyższy punkt (38,6%) dla najstarszych badanych osób tj. w 40 roku życia.

Z czasem reakcje immunobiologiczne przy toksoplazmozie wzbogacają się o jeszcze jedną próbę reakcję barwną *Sabin-Feldmanna* (1948). Zdobywa ona sobie coraz to większe uznanie. Ciekawe będą prace porównujące wyniki uzyskane przy pomocy różnych odczynów. Przytoczę jedną taką pracę wykonaną przez *Adams, Kabler, Cooney i Adams* (1949). Stosowali oni zarówno próbę barwną jak neutralizacyjną, śródskórną i wiązanie dopełniacza. Najwięcej dodatnich wyników uzyskali przy pomocy pierwszego odczynu. Na 148 chorych z wrodzonymi zmianami mózgowymi i 40 osób normalnych dla kontroli — dodatnio reagowało na toksoplazmozę 10—11%.

Sądzę, że kilka podanych wyżej liczb pozwala nam już na wyrobienie sobie sądu o częstości występowania toksoplazmozy. Uzyskane wyniki są różne od 2—40 i więcej procent. Zależą one natu-

ralnie od wielu czynników jak przypadkowy dobór badanych osób, kraju oraz okolicy, stosowanych odczynów, techniki ich wykonania itd.

Większość powyższych prac przeprowadzona została w Ameryce. Na terenie europejskim niewiele mamy na tym odcinku do zanotowania. Naturalnie najbardziej zainteresowałyby czytelników stosunki panujące u nas, o których może się za kilka miesięcy dowiedzieć. Ale już do pewnego stopnia możemy przez analogię wyrobić sobie o nich sąd na podstawie badań przeprowadzonych w sąsiednim kraju o podobnym klimacie i warunkach. Mam tu na myśli prace wykonane w Hamburgu w ostatnim roku przez *Westphala* i innych. Autor ten po gruntownym zanalizowaniu próby barwnej doszedł do wniosku, że jest ona zupełnie wiarygodna. Przy jej pomocy przebadał 400 osób, które podzielił na 3 grupy. Pierwsza grupa obejmowała 50 osób zupełnie zdrowych, 100 rodzących w klinice matek również zdrowych oraz 103 przypadkowych różnych pacjentów klinik i szpitali. Odsetek dodatnich wyników, a więc przypuszczalnie i zakażeń toksoplazmozą wynosił 2%. Druga grupa obejmowała 134 osoby już z pewnymi zmianami rzucającymi podejrzenie o toksoplazmozę. Zgodnie z przewidywaniem odsetek dodatnich wyników był tu większy, bo 18,6% pewnych dodatnich i 6% słabo dodatnich. Grupa trzecia jest nieliczna, ale bardzo znamienita. Zalicza się do niej 13 martwo urodzonych płodów w 5 — 9 miesiącu ciąży. I tu okazało się, że reakcja dodatnio wypadła u 10 płodów. Liczba ta odpowiada prawie 75% i rzuca bardzo poważne podejrzenie na toksoplazmozę jako na jedną z częstych przyczyn powikłań porodowych. Nad tym faktem warto się zastanowić, choć nie obejmuje on dużej ilości przypadków. Autor dochodzi do wniosku, że w Hamburgu i jego okolicy indeks zakażenia toksoplazmą wynosi u ogółu ludności 2%. Tak się dziwnie składa, że według statystyk rocznych w tym mieście również około 2% wszystkich notowanych porodów kończy się przedwczesną śmiercią płodów. Jeżeli spostrzeżenia te znajdą potwierdzenie, łatwo będzie obliczyć jak olbrzymie straty i ile śmiertelnych wypadków jest spowodowanych toksoplazmozą na terenie całego kraju.

Reasumując całość możemy stwierdzić, że toksoplazmoza nie jest rzadką chorobą człowieka, jak dotychczas przypuszczaliśmy. Znaczna większość zakażeń przebiega w postaci utajonej, bezobjawowej, nieco rzadziej przebieg choroby jest zupełnie nietypowy, nierozpoznany, już zupełnie małą ilość przypadków rozpoznajemy klinicznie, a tylko wyjątkowe znajdują potwierdzenie w diagnostyce mikroskopowej lub pasażach zarazka na zwierzęta laboratoryjne. Być może, że z punktu widzenia klinicznego toksoplazmoza nie

przedstawia tak poważnej pozycji jak wiele innych chorób zakaźnych, ale z punktu widzenia epidemiologicznego toksoplazmoza jest groźną chorobą, bo nawet wszystkie utajone przypadki mogą się uaktywnić, zwłaszcza u rodzących kobiet, dając smutne i tragiczne w swoich skutkach następstwa.

Według dotychczasowych danych toksoplazmoza częściej występuje u kobiet niż u mężczyzn. Prawdopodobnie z wiekiem ilość zakażeń wzrasta, zwiększają się bowiem szanse nabycia zarazki tym czy innym sposobem. Klinicznie jednak toksoplazmoza najgroźniejsza jest w najmłodszym wieku dając poważne powikłania szczególnie ośrodkowego układu nerwowego.

Toksoplazmoza jest prawdopodobnie chorobą występującą kosmopolitycznie. Najwięcej stwierdzonych przypadków mamy w Stanach Zjednoczonych A. P. 1 to głównie w ich wschodniej połowie. Jest to naturalnie wynikiem naukowego rozpracowania toksoplazmozy głównie w tym kraju i zwrócenia na nią uwagi ogółu lekarzy. Mamy poza tym doniesienia z Ameryki Środkowej i Południowej (Panama, Lima, Rio de Janeiro). Coraz liczniejsze wypadki opisuje się w krajach europejskich (Holandia, Anglia, Francja, Szwajcaria, Włochy, Niemcy, Szwecja, Norwegia, Polska, Czechosłowacja i Rosja). W ostatnim roku znajdujemy dalsze wzmianki z Australii i Filipin. Jeżeli dotąd brak jeszcze w jakiejś części świata lub kraju przypadków rozpoznanej toksoplazmozy człowieka, to wytłumaczyć to możemy nieostrożnością lekarzy na to zagadnienie i trudnościami wykonania prób rozpoznawczych. Zarazki znajdowane u zwierząt w Afryce, Azji i Australii pozwalają nam tak sądzić.

DROGI ZAKAŻANIA SIĘ TOKSOPLAZMOZĄ

Niestety dotychczas wiemy bardzo niewiele o sposobach zakażenia się człowieka toksoplazmozą. Najwięcej może danych nagromadziło się odnośnie zakażenia się płodów w łonie matki. Na podstawie licznych obserwacji wydaje się dziś już prawie pewne, że zarazki przechodzą z matki jakimś sposobem poprzez łożysko na płód. W olbrzymiej większości wrodzonych przypadków toksoplazmozy płodów i niemowląt stwierdza się w surowicy matki specyficzne przeciwciała dowodzące zakażenia utajonego, bezobjawowego. Zwrócili na to uwagę jeszcze *Wolf, Coven* i *Paige* (1939) w swoim opisie przypadku, niestety źle zakonserwowane łożysko nie nadawało się już do badań. Ponieważ u płodów badanych autorzy ci obserwowali w pęcherzykach płucnych liczne toksoplazmy, przypuszczają, że zakażenie nastąpiło wraz z płynem omoczniovym poprzez drogi odde-

chowe. Nie wiemy jeszcze czy zarazki mogą przechodzić poprzez nieuszkodzone błony płodowe, czy też tylko przez szczeliny i pęknięcia. Bierze się również pod uwagę możliwość zakażenia się płodów od zewnątrz przez pochwę. Zmiany toksoplazmowe w pochwie stwierdzono już u zwierząt, u człowieka natomiast opisywano zmiany w jądrach i jajnikach. Możliwe jest też zakażenie płodu dopiero przy porodzie w momencie przejścia przez drogi rodne. Na dowód szybkich zakażeń płodów przez organizm matki przytoczę przykład podany przez *Walenz i Westphala* (1950). Psa zakażono pośkórnio toksoplazmozą. W 8 dni potem urodziło się 5 szczeniaków i wszystkie były już zakażone. Być może w czasie ciąży wzmożona produkcja niektórych hormonów uaktywnia zarazki, które szczególnie dążą do rozwijającego się młodego organizmu. Prawdopodobnie najbardziej odpowiednim momentem zakażenia się płodów jest okres, w którym zostaje zakończona organogeneza, a rozpoczyna się normalny wzrost zarodka, co przypada na koniec pierwszego lub początek drugiego trymestru ciąży.

O innych drogach zakażenia się wiemy jeszcze mniej. Przeprowadzone próby na zwierzętach wykazują, że do pewnego stopnia możliwe jest zakażenie się drogą doustną. Jeszcze *Sabinowi i Olitzkyemu* (1937) udało się tym sposobem zakażać zwierzęta. Inni w późniejszym okresie zaprzeczają temu (*Adams i współpracownicy*, 1949) ale ostatnie wyniki amerykańskie wydają się wskazywać, że droga *per os* jest możliwa choć często zawodzi (*Jacobs, Wake i Jones*, 1950). Na 84 myszy, skarmionych narządami, w których były pasożyty, jedynie 11 zakaziło się toksoplazmozą przy czym okres rozwoju choroby był dłuższy dowodząc, że tylko nieliczne toksoplazmy przeszły przez barierę żołądkowo-jelitową. Z zakażeniem doustnym łączy się kwestia wychodzenia pasożytów z kałem. U niektórych zwierząt jak np. psów i kotów toksoplazmoza często przebiega w postaci jelitowej z owrzodzeniami. Mamy tu do zanotowania dwie wzmianki. Poszukiwania *Sabina i Olitzkyego* toksoplazmy w kale dały wynik ujemny. Nieco później innym autorom udało się raz znaleźć w wydalinach psa pasożyty (*Olafson i Monlux*, 1942). Pewne znaczenie dla epidemiologii może mieć stwierdzenie żywych i zjadliwych pasożytów w moczu zakażonych zwierząt (*Adams i współpracownicy*, 1949). Innym razem wykazano wydzielanie się toksoplazmy z mlekiem chorych samic, przy czym zakażenie tą drogą było łagodniejsze (*Eichenvald*, 1948). Wprawdzie na ogół twierdzi się, że zarazki są bardzo wrażliwe na czynniki środowiska zewnętrznego; już *Pinkerton i Henderson* (1941) przypuszczają możliwość zakażeń kropelkowych jako jednego ze sposobów szerzenia się

inwazji. Zakażenie zwierząt laboratoryjnych drogą donosową znajduje potwierdzenie i w innych pracach.

Na podstawie tych nielicznych spostrzeżeń trudno sobie wyrobić już jakiś sąd o sposobach zakażenia się człowieka w naturalnych warunkach. Nie ulega najmniejszej wątpliwości, że inwazje człowieka możliwe są nie tylko w życiu płodowym, ale również i potem w dzieciństwie czy wieku dojrzałym.

ROLA STAWONOGÓW W PRZENOSZENIU TOKSOPLAZMOZY

Przez analogię z innymi chorobami wywołanymi przez pierwotniaki jak haemosporidia, haemogregariny i trypanosomy już od początku badań toksoplazmozy podejrzewano o przenoszenie jej przez stawonogi ssące krew. Cykl rozwojowy toksoplazm jest nieznany, nie stwierdzono dotąd z całą pewnością ich rozwoju płciowego czyli schizogonii. Przypuszczano więc, że podobnie jak przy zimnicy, ma on miejsce w organizmie przenosieli stawonogów, które tym samym są właściwie głównymi żywicielami pasożytów. *Chatton* i *Blanc* w r. 1917 usiłowali zaliczyć toksoplazmę do gromady *Sporozoa* a i dalej widzieli jej pewne podobieństwo do pasożytów rzędu *Coccidiida*. Dalsi badacze nie przyznawali jednak słuszności temu pogładowi uważając obserwowaną przez powyższych schizogonię typu *Coccidia* za pomyłkę i nadal doszukiwano się jej raczej w ciele stawonogów. Jak dotąd nie uzyskano na tym polu żadnych wyników.

Sposób przenoszenia się zarazków z jednego zwierzęcia na drugie był stale tajemnicą. Jeszcze w Instytucie Pasteura w Tunisie, gdzie właśnie wyizolowano po raz pierwszy z gryzoni *Ctenodactylus gondii* szczep *Toxoplasma gondii* (*Nicolle* i *Manceaux*, 1908) poczyniono pewne obserwacje w tym kierunku. Okazało się, że nowe dostarczone z terenu gryzonie zakażały się, a przynajmniej okazywały objawy chorobowe po co najmniej 17 dniach pobytu w instytucie. Poszukiwanie zarazków w terenie, a więc u świeżo złowionych 400 gryzoni, nie dały rezultatu. Widocznie zarazki tkwiły w samym instytucie i jakąś nieznaną drogą przechodziły na zwierzęta zdrowe, świeżo złowione. Przypuszczenia te utwierdził jeszcze fakt znalezienia zarazków u 2 psów przebywających na terenie instytutu. Na jednym z nich znaleziono kleszcze *Rhipicephalus sanguineus* i te właśnie stawonogi zaczęto wpieryw podejrzewać o przenoszenie toksoplazm.

W niektórych pracach klinicznych podających opisy przypadków ludzkich zwraca się również uwagę na stawonogi jako przypuszczalne źródło zakażenia. *Pinkerton* i *Henderson* (1941) opisują 2 przypadki toksoplazmy u dorosłych. W obu w wywiadzie stwierdzono,

że na kilka dni przed zachorowaniem osoby te miały bliski kontakt z kleszczami, przez usuwanie ich u psów lub wręcz znalezienie na swoim własnym ciele. Fakty te jak i pora roku zachorowań (późne miesiące letnie) skłaniają autorów do przypuszczeń, że właśnie kleszcze odegrały tu decydującą rolę. *Bamatter* (1946) w opisie wrodzonej toksoplazmozy u noworodka zwraca uwagę na fakt, że u matki w ostatnich tygodniach ciąży znajdowano liczne pchły, z którego to powodu miała nawet egzemę na nodze.

Dzisiaj mamy do zanotowania już kilka prac doświadczalnych starających się rozwikłać to zagadnienie. *Blanc, Brunneau i Chabaud* (1950) badają możliwość przeniesienia toksoplazmozy za pośrednictwem pcheł (*Xenopsylla cheopis*), muchy kłujki (*Stomoxys calcitrans*) i kleszczy (*Aedes aegypti*, *Rhipicephalus sanguineus*). Technika ich doświadczeń polegała na wpuszczaniu stawonogów na silnie zakażone gryzonie dla nassania krwi. Po różnych okresach czasu zbierano stawonogi i albo dawano je na inne zdrowe zwierzęta, albo z rozartych wskrzykiwano zawiesinę wrażliwym gryzoniom. Okazało się, że wszystkie badane stawonogi zakażają się do pewnego stopnia na gryzoniach pijąc ich krew, ale zarazki utrzymują się w ich ciele tylko przez kilka godzin. Już po 24 godzinach i dłuższych okresach wstrzykiwanie zawiesiny ze stawonogów nie wywoływało zakażenia gryzoni. W żadnym wypadku nie powiodło się przeniesienie inwazji za pośrednictwem żywych stawonogów czyli drogą poprzez kłująco ssące narządy głębowe. W przypadku kleszcza *Rhipicephalus sanguineus* zarówno larwy jak i nimfy zakażały się na gryzoniach, ale również już po kilku dniach nie udało się stwierdzić pasożytów w ich ciele, jak też w następnych postaciach rozwojowych. *Van Thiel* (1949) dokładniejszym badaniom poddaje muchy (*Calliphora erythrocephala*). Skarmia je na mózgu myszy silnie zakażonej toksoplazmą. Jeszcze po 2 godzinach zakażane muchy zwracały zjadliwie zarazki, a zawartość jelit 12 much w 4 dni od skarmienia zakażyła 1 z 3 myszy. Zawiesiny zrobione z całych much lub tylko z ich przewodów pokarmowych brane 5—12 dnia po skarmieniu nie wywoływały już zakażeń u myszy. Żadnej myszy nie udało się również zakażyć przez skarmienie 300 muchami, w których znajdowały się zarazki, albo pokarmem zabrudzonym wymiocinami tych much. Zarazki widocznie były już za słabe, aby drogą *per os* wywołać inwazję. Droga ta jak już wiemy i jak stwierdza autor często zawodzi, bo nawet skarmianie 21 myszy silnie zakażonym mózgiem wywołało toksoplazmozę jedynie u 5 zwierząt. O nieudanych próbach przeniesienia toksoplazmozy za pośrednictwem kleszczy *Ornithodoros moubata* wspomina również *Havlik* (1950) na V Zjeździe Mikrobi-

logów Czeskich. Niemiecki autor *Piekarski* (1949) skarmia pchły i pluskwy krwią myszy silnie zakażonych, po czym je rozciera i wstrzykuje nowym zwierzętom. Ponieważ próby te powiodły się, autor dochodzi do wniosku, że skoro u ssaków możliwa jest inwazja *per os*, to nawet zjadanie zakażonych krew ssących stawonogów może być do pewnego stopnia źródłem szerzenia się toksoplazmozy w naturze.

Problem stawonogów badany jest nadal. Na Zjeździe Parazytologów amerykańskich w grudniu 1950 r. *Jacobs, Wake* i *Jones* referowali tymczasowe wyniki poszukiwania przenosicieli toksoplazmozy wśród stawonogów. Biorą oni do badań następujące stawonogi: *Cimex lectularius*, *Xenopsylla cheopis*, *Ctenocephalides canis*, *Liponyssus bacoti*, *Psoroptes equi v. cuniculi*, *Culex quinquefasciatus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma americanum*, *Triatoma phyllosoma*, *T. rubrofasciata*, *Rhodnius prolixus*, *Dermacentor andersoni*, *D. variabilis* i *Pediculus humanus*. Nie udało się dotychczas przenieść zakażenia przez ugryzienie tych stawonogów. Natomiast u 5 ostatnio wymienionych stwierdzono zarazki w ich ciele dłużej jak przez 24 godz., a u wszy ludzkiej nawet przez tydzień.

Jak widzimy, niewiele jest prac na ten temat i to datujących się dopiero z ostatniego okresu z r. 1949 i 1950. Ogólnie obserwuje się jak gdyby zniechęcające do dalszych poszukiwań wyniki. Pamiętać jednak musimy, że nie wyczerpano tu jeszcze wszystkich możliwości i nie można przesądzać faktu. Małe nawet przeoczenie, nieodpowiednia technika doświadczeń lub za krótki okres obserwacji i wiele, wiele innych czynników mogło być przyczyną dotychczasowych niepowodzeń. Brak zarazków w mikroskopowym badaniu zwierząt doświadczalnych, jak już wiemy z naszych nawet prób, wcale nie przesądza braku inwazji. Bardzo często stwierdzamy ją dopiero w następnych pasażach, co zdaje się niektórzy autorzy wyżej wspomniani pominęli. Postaramy się przeprowadzić rozważania teoretyczne na ten temat.

Wyjść musimy z założenia, że toksoplazmoza jest albo wyłącznie przekazywana przez stawonogi, gdzie odbywać się mogą hipotetyczne rozwoje płciowe pasożytów, albo przenoszenie przez stawonogi jest tylko jednym ze sposobów szerzenia się choroby przy równocześnie istniejących innych drogach zakażenia. To ostatnie wydaje się bardziej słuszne. Przenoszone wyłącznie przez stawonogi są zarazki występujące w krwi żywicieli i nie wydalane z ustroju innymi drogami. Skoro toksoplazmoza występuje u różnych gatunków zwierząt, to jej przenosiciele muszą się odznaczać albo dużą niespe-

cyficznością w wyborze żywiciela, albo też musi ich być więcej niż tylko jeden gatunek. Inaczej mówiąc toksoplazmy nie mają jakiegś wybiórczej skłonności do takiego czy innego gatunku przenosiela jak np. zarodźce zimnicy, albo jeżeli mają, to przenosiela ten odznacza się możliwością pobierania pokarmu na różnych zwierzętach. Skoro zarazki toksoplazmozy występują niemal na całym świecie, bo zarówno w Afryce, jak i w krajach o klimacie umiarkowanym, a nawet dość chłodnym jak np. Szwecji i Norwegii, przypuszczalnie jej przenosiela odznaczać się powinni również dość daleko posuniętym kosmopolityzmem.

Zagadnienie przenoszenia toksoplazmy przez stawonogi wydaje mi się bardzo ciekawe i godne rozpracowania. Nie mamy dotychczas prac, w których poddanoby gruntownej analizie histo-patologicznej zachowanie się pasożytów w organizmie stawonoga. Co dzieje się z nimi gdy dostaną się do jelita wraz z pobraną krwią, czy atakują komórki ścian jelitowych, czy nawet sięgają dalej do jamy ciała i innych narządów, a poza tym rzecz najważniejsza, o której mówi się teoretycznie od tak dawna, czy wyglądają one tak samo jak w ciele ssaków ciepłokrwistych i wreszcie, czy mnożą się drogą płciową.

Zastosować tu się musi inne, bardziej dokładne metody wprowadzania zarazków do ciała stawonogów (np. wstrzykiwanie doodbytnicze met. Weigla). Wtedy dopiero będzie możliwe ściśle określenie czasu zakażenia i dawki wprowadzonej. A nawet jeżeli okaże się, że stawonogi w naturze odgrywają bardzo małą lub żadną rolę jako przenosiela, badania wyżej wspomniane mogą mieć duże znaczenie teoretyczne, mogą przyczynić się do rozwikłania cyklu rozwojowego toksoplazm.

ZWIERZĘTA JAKO REZERWUAR ZARAZKÓW W NATURZE

Już sam fakt, że toksoplazmy człowieka, zwierząt ssących i ptaków są prawdopodobnie jednym i tym samym gatunkiem, w każdym razie z łatwością dającym się przenieść z jednego żywiciela na innego np. z człowieka na małpy, gryzonie, ptaki itp., mówi nam o roli jaką odgrywają naturalnie zakażone zwierzęta w epidemiologii toksoplazmozy człowieka. Jak już wiemy toksoplazmy spotyka się od wielu lat wśród różnych gatunków zwierzęcych należących do kręgowców. Świadczą o tym doniesienia ze wszystkich części świata, wcześniejsze jeszcze niż stwierdzane przypadki u ludzi. Toksoplazmę znajdowało się nie tylko u zwierząt domowych jak psów, kotów, owiec, ale często wśród dziko żyjących królików, zajęcy, świnek morskich, szczurów, myszy itp.

Ostatnio ukazała się praca o 3 śmiertelnych przypadkach toksoplazmozy u wiewiórek w ogrodzie zoologicznym w Antwerpii (*Rodhain* 1950). Opisywano toksoplazmozę u wielu gatunków dziko żyjących ptaków, jak również u drobiu, kanarków i gołębi domowych, a nawet u kręgowców niższych jak jaszczurki i inne. Doniesienia te mówią nam o sporadycznych faktach znajdowania toksoplazmozy na podstawie czego nie możemy sobie jeszcze wyrobić sądu jak dalece rozpowszechnione są te pasożyty wśród zwierząt w naturze. Na tym odcinku mamy do zanotowania epidemiologiczną pracę szwedzką, gdzie wśród 840 badanych zajęcy toksoplazmę stwierdzono u 37. *Christiansen* (1948) w Danii badając w ciągu 12 lat 2 411 zajęcy stwierdza zmiany dowodzące zakażenia toksoplazmą u 211 co stanowi 8,75%. Schorzenie to obserwowano szczególnie w zimnej porze roku od stycznia do marca. Najwyższy odsetek (28,8%) zakażonych zajęcy stwierdzono na wyspie Bornholm. Wskazywałoby to na dość duże rozpowszechnienie toksoplazmozy.

Największą uwagę zwraca się jednak na zwierzęta stojące w bezpośrednim kontakcie z człowiekiem, a więc zwierzęta domowe głównie psy i koty. Mamy kilkanaście opisów przypadków zakażenia psów przeważnie śmiertelnych pochodzących ze Stanów Zjednoczonych Ameryki Północnej, Brazylii, Francji, Niemiec, Włoch, Iranu, Szwajcarii, Kanału Panamskiego i Australii. Zwraca uwagę bardzo różnorodny obraz choroby tych zwierząt. *Fankhauser* (1950) podkreśla, że wśród schorzeń nerwowych u psów często rozpoznawanych jako nosówka jest wiele toksoplazmozy. A dalej okazuje się, że zwierzęta domowe jak np. psy nie tylko chorują wśród jakichś objawów klinicznych, lecz również często o ile nie częściej występuje u nich forma zakażeń bezobjawowych. Dowiedli to już doświadczalnie *Sabin* i *Warren*, wstrzykując doskórnie psu szczep silnie zjadliwy dla zwierząt laboratoryjnych, w następstwie czego rozwinęło się zakażenie o bardzo łagodnym przebiegu, ale przy obecności pasożytów w krwi. *Sabin* w innej pracy podaje, że u młodego psa znajdował toksoplazmy w moczu. Łagodny przebieg zakażenia lub postać utajoną można na szczęście wykryć dzięki obecności przeciwciał w krwi np. przy pomocy próby barwnej. Podaje to *Westphal* i *Finke* (1950). Wywołali oni u psa utajone zakażenie zjadliwym szczepem (Bk) przy czym pierwotnie ujemna próba barwna wykazała stopniowy wzrost przeciwciał z mianem 1 : 50 do 1 : 400. Sądzę, że najbliższe miesiące przyniosą nam dalsze rozpracowanie zagadnienia bardzo istotnego i ważnego.

Również i klinicyści od dawna podkreślają możliwość zakażenia się swoich pacjentów toksoplazmą od zwierząt domowych i dzi-

kich. Ojciec bliźniaków z wrodzoną toksoplazmozą opisaną przez Heath i Zuelzer (1944) był czyścicielem miejskim. W pracy swej często stykał się z padłymi szczurami jak również łowił żywe.

Sabin (1941) opisując śmiertelne toksoplazmowe (szczep RH) zapalenie mózgu u 6-letniego chłopca zwraca uwagę, że w okresie tym w domu chorował młody kot wśród jakichś objawów drgawkowych. Niestety kota tego wyrzucono z domu i nie był dostępny do badań.

Ale nawet i w polskim piśmiennictwie Kanabusowa (1949) zwraca uwagę na fakt, że matka chorego dziecka w czasie ciąży przebywała w okolicy Tarnowa, gdzie wtedy panowała jakaś niezbadana bliżej epizootcja wśród kotów, które nawet ginęły przy objawach drgawkowych.

Problem psów jako czynnika epidemiologicznego w toksoplazmozie człowieka został nieco dokładniej poruszony przez Westphala i Finke (1950). Przytaczają oni szereg przykładów, gdzie bardzo wiele przemawia, że pies jest źródłem zakażenia badanych przez nich pacjentów.

Pewien hodowca miał psa chorego na toksoplazmozę, przez którego został pogryziony i zachorował na leptospirozę. Przy badaniu krwi pacjenta stwierdzono również próbą barwną Sabin-Feldman specyficzne przeciwciała toksoplazmowe z mianem 1 : 400. Ponieważ w ciągu tygodnia tj. od chwili pogryzienia nie mogło wystąpić aż tak wysokie miano przeciwciał toksoplazmowych, przypuszcza się nieco dawniejszy moment zakażenia.

Kobieta 25-letnia rodzi na klinice martwe dziecko z wodogłowiem. W surowicy matki występują przeciwciała toksoplazmowe z mianem 1 : 100. Pacjentka podaje w wywiadzie, że posiada psa, który już od dłuższego czasu choruje przy objawach skórnych, ocznych, sercowych i mięśniowych. W surowicy psa stwierdza się też przeciwciała z mianem 1 : 50. Również i mąż chorej pacjentki reaguje dodatnio z mianem 1 : 50.

Inna kobieta 28 letnia rodzi dziecko z wodogłowiem. W osadzie płynu mózgowego dziecka stwierdza się mikroskopowo toksoplazmy, które udało się również przepasażować na zwierzęta laboratoryjne. Próby barwne dodatnie: u dziecka z mianem 1 : 50, u matki 1 : 100. Z wywiadu dowiadujemy się, że gdy matka była w 5 miesiącu ciąży, w ich mieszkaniu zachorował pies, który jednak po 2 tygodniach wyzdrowiał. Następnego miesiąca w tym samym domu zachorowały dwa dalsze psy, jak przypuszczano na zapalenie płuc lub opłucnej. Jeden z nich wyzdrowiał po 10 dniach, drugi zginął w 5 tygodni póź-

niej. Niestety odmówiono dostarczenia surowic tych psów do zbadania.

Dalszy przypadek mniej może pewny, ale jednak charakterystyczny. Jak podaje pewna kobieta przed jakimś czasem urodziła dziecko z wodogłowie, które zmarło po miesiącu. W czasie jej ciąży również chorował w domu pies. Matka ostatnio reaguje dodatnio z próbą barwną z mianem 1 : 100.

Kilka powyższych przykładów dowodzi z mniejszym lub większym prawdopodobieństwem, że istniał związek między chorobą psów, a zakażeniem toksoplazmą matek w czasie ciąży. U matek choroba przebiegała bezobjawowo, dając jednak ostre zakażenie płodów. Jak wiemy zakażenia osób dorosłych bywają przeważnie niezauważone, ale znamy przecież opisy przypadków z dość ciężkim przebiegiem, nawet śmiertelnym. I tym razem przypuszczalnym źródłem zarazków może być pies lub inne zwierzę.

Kobieta 37-letnia zachorowała wśród objawów drgawkowych. Swoiste przeciwciała w jej surowicy z mianem 1 : 200 wskazują na toksoplazmozę. W wywiadzie podaje, że przed 6 miesiącami chorował ciężko jej pies, prawdopodobnie na nosówkę.

W innej rodzinie również przed pół rokiem chorował przez 14 dni pies wśród objawów nosówki, w postaci nerwowej z atakami epileptycznymi. Wprawdzie od dawna rzekomo wyzdrowiał, wciąż jednak wykazuje pewne dolegliwości jelitowe. Serologiczne badanie całej rodziny łącznie z trojgiem dzieci wypadło dodatnio z mianem 1 : 25 do 1 : 100. Okazuje się, że wszyscy zakażeni są toksoplazmozą bezobjawowo. Pies również reaguje dodatnio z mianem 1 : 100.

Widzimy więc wyraźnie, że zakażenia toksoplazmą u ludzi mają przeważnie swój początek u zwierząt domowych lub dzikich. Toksoplazmozę zaliczyć więc możemy do tzw. chorób odzwierzęcych czyli zoonoz, podobnie jak wściekliznę, brucelozę itp. Musimy większą, niż dotychczas, zwrócić uwagę na chore zwierzęta domowe. Konieczna jest tu ścisła współpraca z lekarzami weterynarii, którzy stawiając wczesne właściwe rozpoznanie mogą zapobiec nieszczęśliwym następstwom u ludzi. Ponieważ, jak się wydaje, toksoplazmoza jest dość częstym schorzeniem, prawdopodobnie częściej występującym jak inne choroby odzwierzęce w naszym kraju, musi znaleźć należne miejsce w pracach i zainteresowaniach. Na szczęście u zwierząt domowych również występują przeciwciała, które dają się wykryć znanymi nam odczynami serologicznymi. Musimy zdwoić energię, aby możliwie szeroko przeprowadzić badania takie u zwierząt i tą drogą wyeliminować lub poddać obserwacji osobniki zaka-

żone. Wydaje mi się, że to będzie jednym z główniejszych zaleceń profilaktycznych.

Jak wykazałem, epidemiologia toksoplazmozy jest jeszcze bardzo słabo rozpracowana, jest więc możliwe, że kryje w sobie inne jakieś tajemnice. Prawie nic dotychczas nie wiemy czy toksoplazmoza występuje u zwierząt, których mięso lub inne produkty spożywamy i czy ta droga między zwierzęciem, a człowiekiem nie znajduje niekiedy zastosowania w naturze. Wiemy już, że w mleku myszy zakażonych znajdują się zjadliwe zarazki, nie mamy natomiast żadnej jeszcze wzmianki o zakażeniu krów toksoplazmozą. Domyśłów podobnych snuć możnaby jeszcze wiele. Dziś natomiast jedno możemy stwierdzić: problem toksoplazmozy dojrzał już do tego, by rozpocząć intensywne nad nim badania. Zaniebane dotychczas zagadnienia epidemiologiczne muszą jak najprędzej znaleźć się w opracowaniu.

STRESZCZENIE

Problem toksoplazmozy według wszelkich danych jest również aktualny na terenie Polski, wobec czego powinien być znany szerokim rzeszom lekarzy. Jak wykazuje przegląd piśmiennictwa zbyt mało wiemy jeszcze o epidemiologii toksoplazmozy. Zagadnienie to niezmiernie ważne dla zrozumienia całokształtu choroby oraz opracowania metod zwalczania i zapobiegania znajduje zainteresowanie badaczy dopiero w ostatnich dwu latach. Coraz liczniejsze opisy rozpoznanych przypadków toksoplazmozy człowieka uszeregowaliśmy w cztery grupy wg stopnia prawdopodobieństwa właściwego rozpoznania. Grupę pierwszą najbardziej pewną, ale najmniej liczną, bo opartą na wyizolowaniu żywego szczepu toksoplazm z ustroju ludzkiego i pasażowaniu go na zwierzętach poddaliśmy nieco dokładniejszej analizie w celu zapoznania czytelników z najbardziej charakterystycznymi objawami klinicznymi. Wyróżnia się tu przypadki toksoplazmozy wrodzonej, nabytej w wieku dziecięcym oraz u osób dorosłych. Druga grupa obejmuje przypadki potwierdzone mikroskopowym stwierdzeniem zarazków w różnych narządach, przeważnie jednak w badaniach pośmiertnych. Obie pierwsze grupy nie budzą już żadnych prawie wątpliwości co do trafnego rozpoznania choroby. Grupa trzecia mniej może pewna, bo oparta na dodatnich odczynach immunobiologicznych jest szczególnie cenna dla rozważań epidemiologicznych, gdyż obejmuje badania przeprowadzone na większej ilości osób. Z przytoczonych prac wynika, że toksoplazmoza jest scho-

rzeniem bardzo rozpowszechnionym. Do badań brane były osoby albo podejrzane o zakażenie na podstawie różnych syndromów klinicznych albo zupełnie nie podejrzane, zdrowe, lub chore z wiadomej przyczyny. Odsetki wyników dodatnich wahają się w granicach 2—40%. Jest to dowodem, że stosunkowo mała ilość zakażeń przebiega wśród jakichś typowych objawów klinicznych, z których tylko wyjątkowe zostają rozpoznane mikroskopowo, lub izolowaniem szczepu, a więc mogą być zaliczone do pierwszej lub drugiej grupy. Olbrzymia większość zakażeń zwłaszcza u osób dorosłych przebiega nietypowo lub w ogóle bezobjawowo, stanowiąc jednak z punktu widzenia epidemiologicznego poważne zagadnienie zwłaszcza u kobiet wydających potomstwo, kiedy to schorzenie uaktywnia się, dając często tragiczne następstwa u płodów. Zwraca się szczególną uwagę na ostatnie badania autorów niemieckich, którzy w Hamburgu wśród 13 przedwcześnie martwo urodzonych płodów u 10 stwierdzają toksoplazmozę jako czynnik etiologiczny. Rzuca to poważne światło na zagadnienie poronień i komplikacji porodowych, jak również tak ważnych z punktu widzenia socjalnego wad wrodzonych. Grupy czwartej przypadków z rozpoznaniem opartym jedynie na podstawie objawów klinicznych nie brano pod uwagę.

Toksoplazmoza jest schorzeniem występującym kosmopolitycznie. Odsetek zakażonych osób choćby bezobjawowo wzrasta z wiekiem. U niemowląt i dzieci przeważnie występuje ostre schorzenie atakujące przede wszystkim ośrodkowy układ nerwowy. Wydaje się, że częściej zakażeniu ulegają kobiety niż mężczyźni. Ze względu na dość utrudniony sposób szerzenia się zarazków toksoplazmoza nosi pewne cechy choroby rodzinnej.

O drogach szerzenia się inwazji wiemy dotychczas bardzo mało. Nie ulega już wątpliwości przekazywanie zarazków w czasie ciąży z matki na płód. Mechanizmu tego procesu dokładnie nie znamy. Być może wzmóżona w czasie ciąży produkcja pewnych hormonów uaktywnia nieszkodliwe dotychczas zarazki tkwiące przeważnie w postaci wrzekomych cyst w ustroju matki, przy czym pasożyt atakuje jedynie młody rozwijający się organizm płodu. Droga zakażenia się doustnego, jakkolwiek nie potwierdzona jeszcze przez wszystkich, wydaje się mieć znaczenie w naturze. Spotykane czasem u pewnych osób lub zwierząt postacię żołądkowo-jelitowe toksoplazmozy wydają się świadczyć o tym. Pewne znaczenie może mieć również zakażenie się kropelkowe, co jednak nie znalazło jeszcze potwierdzenia. Zarazki wydzielać się mogą z ustroju z moczem, mlekiem oraz jak raz stwierdzono z kałem.

Zagadnienie stawonogów ssących krew jako przypuszczalnych przenosicieli zasługuje na oddzielne omówienie. Przez analogię z innymi chorobami wywołanymi przez pierwotniaki oraz na podstawie pewnych obserwacji wiele przemawia za tą drogą szerzenia się inwazji. Niestety nieliczne dotychczasowe badania nie potwierdziły przypuszczeń. Nie udało się jeszcze wykryć przenosicieli, którzy mogliby czynnie poprzez ukłucie przenieść zarazki z jednego zwierzęcia na drugie, jakkolwiek w organizmie wielu stawonogów stwierdzano przez pewien czas zjadliwe jeszcze pasożyty. Wydaje się, że o ile ten sposób szerzenia się choroby ma zastosowanie praktyczne nie jest jedynym w naturze. Przemawiają za tym rzadko spotykane pasożyty we krwi obwodowej osób i zwierząt zakażonych, jak również wydzielenie się ich z ustroju innymi drogami. Zarazki toksoplazmy spotykane u różnych gatunków zwierząt, albo nie odznaczają się szczególnym powinowactwem do jakichś przenosicieli, albo też przenosiciele atakować mogą różne nawet odległe sobie zoologicznie gatunki zwierzęce, przy czym stawonogi powinny się odznaczać dość daleko idącym kosmopolityzmem. Dokładne badania nad tym zagadnieniem poparte badaniem histopatologicznym stawonogów mogą mieć prócz praktycznego olbrzymie znaczenie teoretyczne, przyczyniając się do rozwikłania cyklu rozwojowego toksoplazm. Od dawna bowiem podejrzewa się, że nie stwierdzona dotąd schizogonia ma miejsce w organizmie stawonogów.

Epidemiologia toksoplazmozy człowieka łączy się ściśle z występowaniem tych zarazków u różnych zwierząt dziko żyjących, a szczególnie domowych. Przyniesione dość liczne przykłady wskazują, że zwierzęta są stałym rezerwuarem zarazków w naturze. Toksoplazmoza jest więc chorobą odzwierzęcą, który to fakt przemawia za ścisłą współpracą lekarzy z lekarzami weterynarii, co jak dotąd jest jedynym wskazaniem profilaktycznym. Szczególną uwagę zwraca się ostatnio na psy oraz koty jako częste źródło zakażeń człowieka. Zwierzęta te chorują wśród różnych objawów, a ponadto znane są również zakażenia prawie bezobjawowe. To niezmiernie ważne zagadnienie dla zdrowotności kraju powinno być jak najprędzej obszernie rozpracowane. Zakażenie się drogą doustną oraz wydzielenie się zarazków z mlekiem nasuwa myśl poddania również badaniom zwierząt, których produkty spożywamy.

Odczyny immunobiologiczne jako najdogodniejsze dziś metody rozpoznania toksoplazmozy zostały opisane w następnym artykule tego samego pisma. Znajdą tam czytelnicy zasady pobierania materiału oraz przesyłania go do specjalnych pracowni rozpoznawczych.

З. Козар

ВОПРОСЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ТОКСОПЛАЗМОЗОВ

СОДЕРЖАНИЕ

Проблема токсоплазмоза по всей видимости является актуальной также на территории Польши и поэтому должна быть знакома широким кругам врачей. Как показывает обзор литературы эпидемиология токсоплазмоза изучена еще недостаточно. Этой чрезвычайно важной для понимания сущности болезни, а также для выработки методов борьбы и профилактики проблемой, исследователи заинтересовались только в течение последних двух лет. Все более частые описания диагностированных случаев токсоплазмоза у человека мы подразделили на четыре группы по степени вероятности правильного диагноза. Первую группу, наиболее точно установленную, но наименьшую в числовом отношении, основанную на выделении живого штамма токсоплазмы из человеческого организма и пассажах на животных, мы подвергли более подробному анализу с целью ознакомления читателей с наиболее характерными клиническими симптомами. Выделяются среди них случаи врожденного токсоплазмоза, приобретенного в детстве, а также токсоплазмоза у взрослых. Вторая группа охватывает случаи, подтвержденные микроскопическим обнаружением возбудителей в различных органах, преимущественно, однако, при посмертных исследованиях. Обе первые группы почти не вызывают сомнений в смысле правильности диагноза заболевания. Третья группа, может быть менее надежная, как основанная на положительных иммунобиологических реакциях, является особенно ценной для эпидемиологических соображений ибо охватывает исследования, проведенные у большого количества лиц. Из приведенных работ следует, что токсоплазмоз является очень распространенным заболеванием. Исследованиям подвергались лица, подозреваемые в возможности заражения на основе различных клинических синдромов, либо здоровые ни в чем не подозреваемые, либо больные с известной причиной болезни. Проценты положительных результатов колеблются в границах 2 — 40%. Это служит доказательством того, что сравнительно мало количество заражений протекает с типичными клиническими симптомами, среди которых только исключительные случаи диагностируются микроскопически или изолированием штамма, то есть могут быть зачислены в первую или вторую группу.

Огромное большинство заражений, особенно у взрослых протекает нетипично или даже бессимптомно, представляя, однако, с эпидемиологической точки зрения серьезную проблему особенно у рождающих женщин, когда это заболевание активизируется и часто дает трагические последствия у плода.

Обращается особенное внимание на новейшие исследования немецких авторов, которые в Гамбурге среди 13 недоношенных мертворожденных плодов у 10 обнаружили токсоплазмоз как этиологический фактор. Это проливает свет на проблему выкидышей и осложнений родов, а также важных с социальной точки зрения врожденных пороков. Четвертая группа случаев с диагнозом, основанный только на клинических симптомах не принята во внимание.

Токсоплазмоз является космополитическим заболеванием. Процент лиц зараженных хотябы бессимптомно увеличивается с возрастом. У младенцев и детей встречаются главным образом острое заболевание, захватывающее

прежде всего центральную нервную систему. Повидимому женщины чаще подвергаются заражению чем мужчины. Ввиду довольно затрудненного способа распространения возбудителя, токсоплазмоз носит некоторые черты семейной болезни.

О путях распространения инвазии до сих пор известно очень мало. Не подлежит теперь сомнению передача возбудителей во время беременности от матери к плоду.

Механизм этого процесса в подробностях не известен. Возможно, что увеличенная во время беременности продукция определенных гормонов активизирует безредных до этого времени возбудителей, сохраняющихся в организме матери главным образом в форме цист, при чем паразит атакует только молодой, развивающийся организм плода. Повидимому имеет значение и заражение *per os* хотя и не признаваемое всеми. Подтверждается это встречающимися иногда у некоторых лиц или животных желудочно-кишечными формами токсоплазмоза. Может иметь определенное значение также каплевая инфекция, что, однако, не нашло еще подтверждения. Возбудители могут выделяться из организма с мочой, молоком и калом (обнаружено в одном случае).

Проблема кровососущих членистоногих как возможных переносчиков заслуживает отдельного рассмотрения. По аналогии с другими болезнями, вызываемыми простейшими, а также на основании некоторых наблюдений следует считать, что многое указывает на возможность инвазии этим путем. К сожалению немногочисленные до сих пор исследования не подтвердили предположений. Не удалось еще открыть переносчиков, которые бы активно посредством укуса перенесли возбудителей от одного животного к другому, хотя в организме многих членистоногих обнаружены в течении некоторого времени вирулентные еще паразиты. Если этот способ распространения болезни и имеет практическое значение, он не является единственным в природе. Это подтверждается тем, что редко встречаются паразиты в периферической крови зараженных людей и животных, а также выделением их из организма иными путями. Возбудители токсоплазмоза, встречаемые у различных видов животных не отличаются избирательным средством к каким либо переносчикам, а с другой стороны одни и те же переносчики могут атаковать разные систематически далеко отстоящие виды животных, при чем членистоногие отличаются сильно развитым космополитизмом. Подробные исследования этой проблемы, подтвержденные гистопатологическими исследованиями на членистоногих могут иметь кроме практического огромное теоретическое значение, способствуя выяснению цикла развития токсоплазм. Можно предполагать, что не обнаруженная до настоящего времени шизогония, имеет место в организме членистоногих.

Эпидемиология токсоплазмоза у человека тесно связана с наличием этих возбудителей у различных животных как диких так и особенно домашних. Многочисленные приведенные примеры указывают на то, что животные являются постоянным резервуаром возбудителей в природе. Таким образом, токсоплазмоз является болезнью, переносимой от животных. Это требует тесного сотрудничества врачей и ветеринаров как единственного до настоящего времени профилактического мероприятия. Особенное внимание обращается в последнее время на собак и кошек как частых источников заражения человека. Эти животные болеют с различными симптомами, а кроме того известны заражения почти бессимптомные. Эта очень важная проблема, имеющая значение для здравоохранения страны, должна быть как можно

быстрее и шире разработана. Заражение *per os* а также выделение возбудителей с молоком подсказывают необходимость исследования также животных, продукты которых мы употребляем.

Иммунобиологические реакции, как наиболее приемлемые в настоящее время методы диагноза токсоплазмоза описаны в следующей статье этого журнала. Найдут там читатели принципы собирания материала и его пересылки в специальные диагностические лаборатории.

Z. Kozar

EPIDEMIOLOGICAL PROBLEMS IN TOXOPLASMOSIS

Summary

There is every reason to believe that the problem of toxoplasmosis is of timely interest also in Poland; consequently, physicians in general ought to be acquainted with it. A survey of the literature demonstrates that our knowledge of the epidemiology of toxoplasmosis is still too scanty. Only during the last two years have research-workers become interested in this problem which is of such immense importance for gaining an understanding of the disease as a whole and for elaborating the proper methods of control and prophylaxis.

The diagnosed cases of toxoplasmosis in human beings, descriptions of which are becoming more and more numerous, are divided by the author into four groups in accordance with the degree of probability of a proper diagnosis. The first group, the most reliable one but also the smallest, is based on isolation of the living strain producing toxoplasmosis from the human organism and passing it through animals; the author analyzes this group in somewhat greater detail in order to make the reader familiar with the most characteristic clinical symptoms. Distinguished here are cases of congenital toxoplasmosis, acquired in childhood, and cases in adults.

Included in the second group are cases confirmed by microscopical discovery of the pathogenic micro-organisms in various organs, but chiefly at postmortem examinations. The first two groups hardly arouse now any more doubts as to correct diagnosis of the disease.

The third group, perhaps less reliable, being based on positive immunobiological reactions, is of particular value in discussing the epidemiology, including as it does studies carried out on a large number of persons. It follows from the works quoted that toxoplasmosis is a very widespread disease. Studied were either persons suspected of being infected on the basis of various clinical syndromes, or completely unsuspected individuals: healthy ones or ill from known causes.

The percentage of positive results oscillates from 2% to 40%. This proves that a comparatively small number of infections runs its course amid typical clinical symptoms; only exceptional cases are diagnosed microscopically or by means of strain isolation, consequently being included in the first or second group. An enormous majority of infections, especially in adults, runs a course which is atypical or without any symptoms at all, constituting nevertheless, from an epidemiological point of view, a serious problem, particularly in child-bearing women in which the disease is activated, frequently causing tragic results in the foetus. Special attention is drawn to the most recent investigations of German

authors who, in Hamburg, discovered toxoplasmosis to be the etiological factor in ten cases among thirteen premature stillborn children. Serious light is thus thrown upon the problem of abortions and childbirth complications, as well as the socially so important problem of congenital defects.

The fourth group of cases, in which the diagnosis was based solely on clinical symptoms, is not taken into account.

Toxoplasmosis is a disease which occurs cosmopolitically. The percentage of individuals infected, asymptotically at least, increases with age. In infants and children there occurs chiefly an acute form of the disease, attacking above all the central nervous system. It seems that women submit to the infection more frequently than men do. On account of the quite difficult mode in which the pathogenic microorganisms are spread, toxoplasmosis has certain characteristics of a familial disease.

Up to the moment very little is known of the routes by which the infection spreads. No longer is there any doubt that in pregnancy the micro-organisms pass from the mother to the foetus. The mechanism of this process is not known in detail. It may be that the production of certain hormones, increased in pregnancy, activates hitherto harmless microbes existing chiefly in the form of pseudocysts in the mother's organism, the parasite attacking only the young, developing organism of the foetus.

The route of peroral infection, although not yet confirmed by all workers, seems to be of importance under natural conditions. Gastrointestinal forms of toxoplasmosis, encountered occasionally in certain persons or animals, seem to be proof thereof. Droplet infection may be also of some importance, although this has not yet been confirmed. The parasites may be excreted from the organism with the urine, milk or, as once ascertained, with the faeces.

The problem of blood-sucking arthropods, as probable vectors, is worthy of separate discussion. By analogy to other diseases caused by protozoans and on the basis of certain observations, much supports the idea that invasion spreads by the above-mentioned route. Unfortunately, the small number of investigations hitherto carried out has not confirmed such surmises. Investigators have not yet succeeded in discovering vectors which would be able actively, by stinging, to transfer the pathogenic microbes from one animal to another, although in the organisms of many arthropods discovered to exist were parasites which were still virulent for some time. It appears that in this disease the latter method of spreading, if practically existent, is indeed not the only one under natural conditions. This is supported by the rare occurrence of parasites in the peripheral blood of infected human beings and animals, as well as their excretion from the organism by other routes. The pathogenic microbes of toxoplasmosis, encountered in various animal species, are either characterized by no special affinity for particular vectors, or else the vectors are able to attack various, zoologically even distant, animal species; furthermore, the arthropods ought to be characterized by quite far-reaching cosmopolitanism. Detailed studies of this problem, supported by histopathologic examination of arthropods, apart from their practical value, may be of enormous theoretical importance, contributing to the solution of the developmental cycle of *Toxoplasma*. As a matter of fact, it has long been suspected that schizonia, hitherto undiscovered, takes place in the organism of arthropods.

The epidemiology of toxoplasmosis in human beings is closely associated with the occurrence of the causal micro-organisms in various wild animals and particu-

larly in domestic ones. Quite numerous examples which have been quoted indicate that under natural conditions animals are a permanent reservoir of the microbes. Toxoplasmosis, therefore, is a zoonotic disease; this fact speaks for close cooperation between physicians and veterinarians, this being as yet the only prophylactic indication. Particular attention is being drawn lately to dogs and cats as frequent sources of infections in human beings. The latter animals suffer from the disease with various symptoms; moreover, also known to exist are infections which are almost asymptomatic. This problem, of enormous importance for the health of the country's population, ought to be extensively elaborated as quickly as possible. Peroral infection and excretion of the pathogenic micro-organisms in milk, suggest that also examined ought to be animals, the products of which are consumed by human beings.

PISMIENNICTWO

1. *Adams F. H., Cooney M., Kalber M. and Adams J. M.*: Experimental toxoplasmosis. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., 69: 258—260, 1949.
2. *Bamatter F.*: La toxoplasmose. Ann. Paediatrici, 168, 6, 1947.
3. *Blanc G., Brunneau G. et Chabaud A.*: Quelques essais de transmission de la toxoplasmose par arthropodes piqueurs. Ann. I. Fast. 78, 2, 1950.
4. *Christiansen M.*: Toxoplasmose hos Hare i Danmark. Madlemsblad for den Danske Dyrlaegeforening, 31, 4, 1948.
5. *Eichenwald H.*: Experimental toxoplasmosis. I. Transmission of the infection in utero and through the milk of lactating female mice. Am. J. Dis. of Childr., 76, 3, 1948.
6. *Fankhauser R.*: Toxoplasmose — Enzephalitis beim Hund. Schweiz. Arch. Tierheilk., 42, 4, 1950.
7. *Fankhauser R.*: Zwei neue Fälle von Toxoplasmose beim Hund. Schweiz. Arch. Tierheilk., 43, 1, 1951.
8. *Frenkel J. K.*: Dermal hypersensitivity to toxoplasma antigens (toxoplasmins). Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., 68: 634—639, 1948.
9. *Frenkel J. K.*: Uveitis and Toxoplasmin sensitivity. Am. J. Ophth., 32, 6, 1949.
10. *Frenkel J. K. and Naffziger H. G.*: An early fatal case of infantile toxoplasmosis in California. Calif. Medic., 72, 3, 1950.
11. *Havlik O.* Ustne informacije, 1950.
12. *Heidelman J. M.*: Evaluation of toxoplasma neutralization test in cases of chorioretinitis. Arch. Ophth., 34: 28—39, 1945.
13. *Jacobs L., Woke P. A., and Jones F. E.*: Studies on the transmission of *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol., 36, 6, Suppl., 1950.
14. *Kanabusowa I.*: O toksoplazmozie Pol. Tyg. Lek., 4, 8, 1949.
15. *Kean B. H. and Grocott R. G.*: Asymptomatic toxoplasmosis Am. J. Trop. Med., 27: 745—748, 1947.
16. *Kean B. H. and Grocott R. G.*: Congenital toxoplasmosis. J. A. M. A. 136, 2, 1948.
17. *Lewine S. Z.*: Toksoplazmoza. Przegl. Lek., 17, 1948.
18. *Piekarski G.*: Zur Epidemiologie der Toxoplasmose. Zeitschr. Parasitenkunde, 14, 4, 1949.

19. *Pinkerton A. and Henderson R. G.*: Adult toxoplasmosis. A previously unrecognized disease entity simulating the typhusspotted fever group. *J. A. M. A.*, 116, 9, 1941.
20. *Pluvinage R.*: La toxoplasmose. *La Presse Med.*, 57, 49, 1949.
21. *Sabin B. A.*: Toxoplasmic encephalitis in children. *J. A. M. A.*, 116, 1941.
22. *Sabin B. A.*: Toxoplasma neutralizing antibody in human beings and morbid conditions associated with it. *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.*, 51: 6—10, 1942.
23. *Sangiorgi G.*: Toxoplasmi e toxoplasmosi. *Rass. Clinico scientifica.* 25, 1, 1949.
24. *Syverton, J. F. and Slavin H. B.*: Human toxoplasmosis. *J. A. M. A.*, 131, 12, 1946.
25. *Van Thiel*: The transmission of toxoplasmosis and the role of *Calliphora erythrocephala meig.*, *Doc. Neerland. et Indones. de Morbis Trop.*, 1. 3. 1949.
26. *Tolentino P. e Razzi A.*: Ricerche sierologiche e cliniche di orientamento sulla frequenza della toxoplasmosi in Italia. *Min. Pediatr.* 1, 2, 1949.
27. *Tolentino P. e Razzi A.*: Risultati dell'intradermoreazione alla toxoplasmina in varie eta e in relazione ai test sierologici. *Atti del II Congr. Soc. Ital. Mal. Infett.*, 1950.
28. *Walenz H. und Westphal A.*: Toxoplasmose bei Kindern. *Monatschr. Kinderheilk.*, 98, 8, 1950.
29. *Westphal A.*: Das Vorkommen von Toxoplasmose in Deutschland und ihre Behandlungsmöglichkeit mit Aureomycin. *Zeitschr. Tropenmed. u. Parasitol.* 1, 4, 1950.
30. *Westphal A. und Finke L.*: Der Hund als epidemiologischer Faktor der Toxoplasmose des Menschen. *Zeitschr. Tropenmed. u. Paras.* 2, 2, 1950.
31. *Wickham N. and Carne H. R.*: Toxoplasmosis in domestic animals in Australia. *Austr. Vet. J.*, 26, 1, 1950.
32. *Wilk-Wilczyńska M.*: Toksoplazmoza. *Pol. Tyg. Lek.*, 4, 12/13, 1949.
33. *Wolf A., Cowen D., Paige B. H.*: Human toxoplasmosis. Occurrence in infants as an encephalomyelitis. Verification by transmission to animals. *Science*, 89: 226—227, 1939.

Zbigniew Kozar

ODCZYNY IMMUNOBIOLOGICZNE STOSOWANE PRZY TOKSOPLAZMOZIE

(Z Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej
w Gdańsku)

Toksoplazmoza jest chorobą zakaźną człowieka i zwierząt. Dość dokładne rozpracowanie jej w ostatnich latach pozwala nam coraz częściej na zrozumienie dotychczas niejasnych i niewytłumaczonych objawów klinicznych. Nie jest to tak rzadkie schorzenie jak przypuszczaliśmy, a coraz częstsze stwierdzenie jego we wszystkich niemal państwach Europy pozwala nam sądzić, że również w Polsce, prócz dwu opisanych dotąd przypadków, spotykamy się z toksoplazmozą znacznie szerzej. Prócz postaci ostrych z przewagą objawów neurologicznych występujących przeważnie u płodów, niemowląt i dzieci, mamy często do czynienia z toksoplazmozą osób dorosłych, gdzie na pierwsze miejsce wysuwają się objawy trzewiowe. Pamiętać również musimy o znacznie częstszych przypadkach toksoplazmozy bezobjawowej, utajonej, szczególnie groźnej dla kobiet, mających rodzić potomstwo. Zagadnienie to poruszone zostało nieco dokładniej w innym artykule tego samego pisma.

Wcześniej postawione właściwe rozpoznanie toksoplazmozy może nawet dzisiaj przy niedoskonałych jeszcze środkach leczniczych czasem zapobiec nieszczęśliwym następstwom u osób zakażonych, jak również ich najbliższego otoczenia. Zarazki *Toxoplasma* jako pasożyty wewnątrzkomórkowe atakować mogą niemal wszystkie komórki ustroju dając przez to bardzo bogatą skalę różnorodnych objawów klinicznych. Toteż kliniczne rozpoznanie toksoplazmozy, tak przypominającej nam różne inne schorzenia, natrafia na olbrzymie trudności. Do najbardziej typowych objawów należą zwłaszcza u niemowląt różnego rodzaju zapalenia mózgu i opon mózgowych oraz ich następstwa jak wadliwe kształtowanie się czaszki, wodogłowie, małogłowie, rozszerzenie komór, zwapnienie mózgowe, zahamowanie w rozwoju umysłowym i fizycznym, epilepsje, niedo-

włady, porażenia, zaburzenia nerwu okoruchowego, uszkodzenia systemu wegetatywnego, przejawiające się w zaburzeniach ciepłoty, snu, trudności w przyjmowaniu pokarmu itp. Obserwuje się również dość duże powinowactwo zarazków do narządu wzroku. Mogą więc być różnego rodzaju porażenia: małoocze, bardzo typowe zapalenie naczyńówki i siatkówki, rozległe zmiany, szczególnie w okolicy plamki żółtej, katarakty, atrofia gałki ocznej i inne. Przy toksoplazmozie trzewiowej spotykanej w postaciach nabytych, przeważnie u osób starszych, występować mogą zaburzenia w śledzionie i wątrobie z żółtaczką, schorzenia sercowe, płucne przypominające śródmiąższowe zapalenie płuc, schorzenia żołądkowo-jelitowe połączone niekiedy z owrzodzeniami, a nawet jak ostatnio przypuszczają z zapaleniem wyrostka robaczkowego. Niekiedy występuje wysoka gorączka oraz wysypka skórna przypominająca niektóre rickettsjozy. Wymienione tu ważniejsze tylko ze spotykanych w piśmiennictwie objawów pozwalają nam poszukiwać toksoplazmozy niemal we wszystkich klinikach.

Skoro objawy kliniczne są tak różnorodne i nietypowe, posługiwać się musimy próbami laboratoryjnymi, które mogą niekiedy potwierdzić nasze przypuszczenia. Najpewniejszą ze wszystkich prób jest stwierdzenie pasożytów metodą pasażowania na zwierzętach doświadczalnych. Materiałem wyjściowym za życia pacjenta jest tu najczęściej osad płynu mózgowo-rdzeniowego. Metoda ta często jednak zawodzi. Czasem dopiero w drugim lub w trzecim pasażu na myszkach udaje się stwierdzić pasożyty. O trudnościach tej metody świadczy fakt dotychczasowego wyizolowania z chorych ludzi zaledwie kilku szczepów *Toxoplasma* na całym świecie. Drugim, może nie mniej pewnym sposobem jest mikroskopowe stwierdzenie pasożytów w płynach i tkankach zakażonych osób. Udaje się to już znacznie częściej, choć dopiero po śmierci pacjenta, ale również wymaga dużej wprawy badających. Poszukiwanie pasożytów we krwi przeważnie jest bezcelowe. W piśmiennictwie mamy zaledwie dwie wzmianki o wykryciu ich u człowieka tą drogą, ale i wtedy autorzy nie byli zbyt pewni diagnozy. Nic więc dziwnego, że z dużą energią i zapalem zwrócono się w kierunku immunologii do opracowania prób serologicznych i alergicznych. Trzeba tu podkreślić, że niepowodzenia, trudności techniczne i inne sprawiły, że właśnie przy toksoplazmozie opracowano pewne szczególne i godne uwagi próby niestosowane gdzie indziej, a jednak swą zasadą mogące zainteresować wszystkich badaczy o ile nawet nie znajdują szerszego zastosowania. Niestety wiele danych dotyczących różnych szczegółów jest jeszcze niezgodnych u poszczególnych autorów.

a nawet u tych samych spotyka się różnicę poglądów na przestrzeni kilku lat. Fakt, że wyniki badań w tej dziedzinie jeszcze się nie skryształizowały nie może nas zniechęcać i powinniśmy już korzystać z dotychczasowych zdobyczy. Zadaniem niniejszego artykułu jest więc zapoznanie polskich czytelników z zasadą odczynów immunobiologicznych stosowanych przy toksoplazmozie wraz z dość dokładną analizą tych zagadnień, która może się przydać pracownikom naukowym interesującym się tym problemem. Wskazówki dla lekarzy praktyków umieszczone na końcu artykułu zachęcą ich do częstszego zwracania się o pomoc do specjalnych pracowni rozpoznawczych.

Już w r. 1914 *Sarrailhe* badał wpływ surowicy psów i myszy, które przechorowały toksoplazmozę i wstrzykiwał zawiesinę jej łącznie ze zjadliwym zarazkiem dootrzewnowo innym myszom. Niestety nie udało mu się stwierdzić jakichś przeciwciał obronnych. Nie powiodły się próby *Levaditiego* i jego współpracowników (1929). Wstrzykuje królikom domózgowo i doocześnie zawiesinę toksoplazm i surowicy po kilku-godzinym ogrzewaniu w 37° C wywoływał u nich zupełnie normalne zakażenia. Nawet równoczesne dożylnie zastrzyki odpornościowej surowicy króliczej nie chroniły zwierząt przed zakażeniem. Autorzy ci doszli do wniosku, że u zdrowiejących królików nie ma w ogóle odporności, a jeżeli jest, to chyba natury komórkowej. A jednak w kilka lat później (1937) udało się *Sabin'owi* i *Olitzky'emu* wykazać przeciwciała obronne w surowicy zwierząt, które przechorowały toksoplazmozę. Zwierzętami tymi były małpy. Nie stwierdzili oni początkowo tych przeciwciał ani u królików, ani u psów lub myszy. Taka jest geniza próby neutralizacyjnej lub zobojętniającej opisanej dokładnie przez *Sabina* i *Ruchmana* w r. 1942. Zasada jej polega na tym, że w mózgu zaszczipionych przed czterema dniami myszek sporządza się zawiesiny toksoplazm w płynie Tyroda w różnych rozcieńczeniach. Po zmieszaniu tego z równą objętością badanej nierozcieńczonej surowicy oraz przetrzymaniu w temperaturze pokojowej przez 30 minut wstrzykuje się wśródskórnice królikowi po 0,2 kilka różnych rozcieńczeń przy równoczesnym wstrzyknięciu dla kontroli samych toksoplazm jak również i samej surowicy. Na wynik niestety trzeba czekać dość długo, bo po czterech dniach ustępują normalne reakcje po surowicy ludzkiej i dopiero wtedy pojawiają się zmiany toksoplazmowe jak wyniosłość, stwardnienie, a nawet nekroza, najsilniej siódmego i ósmego dnia, by znów ustąpić uogólnionej infekcji i wreszcie śmierci zwierzęcia między 9—12 dniem. Przez porównywanie zmian skórnych toksoplazmowych z kontrol-

nymi odczytuje się wynik. Próba niezbyt wygodna, trudna, kosztowna i wymagająca kilku dni, ale nas interesuje tu raczej istota próby. Przeciwciała neutralizacyjne wykazano najpierw u małąp i człowieka. Ilość ich nie jest zbyt duża, bo już przy rozcieńczeniu surowicy 1:10 nie można ich było wykazać. Stwierdzono następnie jak gdyby wielką wrażliwość tych przeciwciał. Ginęły szybko w surowicy trzymanej w ciepłocie pokojowej, ale nawet i w lodówce po około dwóch tygodniach większość surowic dodatnich traciła swą moc. Jedynie trzymanie w temperaturze stałego CO₂ lub w stanie zliofilizowanym zabezpieczało surowicę przed utratą przeciwciał neutralizacyjnych. Jak podawali w swej pierwszej pracy wyżej wspomniani autorzy, przeciwciała te są ciepłochwienne, ginęły bowiem przy ogrzewaniu w 56° C przez 30 minut. U zwierząt zakażonych można je już stwierdzić po pierwszym tygodniu, a począwszy od drugiego tygodnia utrzymują się mniej więcej na równym poziomie przez szereg miesięcy (*Sabin* i *Ruchman* obserwowali przez 14 miesięcy).

Co ciekawsze, jak stwierdzają wyżej wspomniani trwałość przeciwciał w surowicy nie jest zależna od trwałości inwazji, bo u trzech małąp zabitych w 14, 17 i 26 tygodni od zakażenia w żaden sposób nie udało się stwierdzić zarazków pomimo obecności przeciwciał. Ponieważ surowice zdrowych zwierząt i ludzi prawdopodobnie nie zawierają tych przeciwciał, można więc próbę powyższą przyjąć do pewnego stopnia za miarodajną przy rozpoznawaniu toksoplazmozy. Stosowano ją też wielokrotnie w przypadkach ludzkich. Według zdania *Sabin'a* dodatni wynik może świadczyć o minionym lub jeszcze toczącym się procesie chorobowym, ujemny nie może jednak wykluczyć możliwości zakażenia toksoplazmą.

Interesujące jest tu zagadnienie niezwykłej wrażliwości na ciepło i niestałości przeciwciał *in vitro* w porównaniu z ustrojem żywym. A dalej działanie tych przeciwciał wykazywano początkowo tylko *in vivo*. Wspomnianym autorom nie udało się bowiem wykryć *in vitro* ani precypityn, ani aglutynin, ani lizyn, a nawet gdy wyżej omawianą mieszaninę oczyszczono wtórnie od surowicy, to same toksoplazmy wstrzyknięte zupełnie nie traciły swej dawnej zjadliwości, czyli że nie były trwale uszkodzone pod działaniem przeciwciał, albo też ich uszkodzenie jest możliwe tylko przy obecności jakichś innych czynników, znajdujących się w żywym organizmie.

W roku 1948 badacz szwedzki *Alm* i angielski *Macdonald* radzą używać przy próbie neutralizacyjnej zamiast królików błony kosmówkowo-omoczniowej zarodków kurzych. Metoda ta wydaje się

być tańszą i szybszą, wymaga jednak znajomości specjalnej techniki jajowej. Brak jeszcze w literaturze prócz prac pierwotnych krytycznej oceny tej metody.

Równocześnie badania nad immunologią toksoplazmozy szły i w innym kierunku. W roku 1942 *Warren* i *Sabin* opisują próbę wiązania dopełniacza. Antygenem dla nich jest zawiesina mózgu zakażonych królików mrożona w stałym CO₂ i tajona kilkakrotnie dla rozbicia komórek. Technika wykonania próby normalna. Przeciwciała wiązania dopełniacza okazały się trwalsze na warunki zewnętrzne jak neutralizacyjne, nie ginęły tak szybko w lodówce ani pod wpływem inaktywacji.

Pojawiały się już w tydzień do 4 tygodni po zakażeniu, ale utrzymywały się w zakażonym zwierzęciu krócej, bo już po dwóch miesiącach trudno je było wykryć. Dziwny tu jest fakt, dlaczego wyciąg z zakażonych mózgów królików okazał się dobrym antygenem, podczas gdy mózg myszy nie dawał wyników pomimo, że zawierał również liczne pasożyty. Wyciągi z innych narządów również zawiodły, co zresztą jest sprzeczne z wcześniejszą pracą autorów rumuńskich *Nicolau* i *Ravelo* (1947), którzy używali jako antygeny do tej samej próby wyciągu alkoholowego ze sproszkowanej śledziony zakażonego królika. Dalej autorom amerykańskim nie udało się wykryć przeciwciał wiązania dopełniacza u zakażonych zwierząt, podczas gdy udawało się to autorom rumuńskim w przypadku psów, kotów, świńek i gołębi. Porównując u ludzi wyniki próby neutralizacyjnej i wiązania dopełniacza stwierdza się pewną ilość zgodnych dodatnich wyników oraz wiele ujemnych wyników przy wiązaniu mimo obecności przeciwciał neutralizacyjnych. Można to wytłumaczyć szybszym znikaniem z krwiobiegu przeciwciał wiązania dopełniacza, które utrzymują się jedynie przy czynnych procesach. Dodatni wynik wiązania dopełniacza dowodzi obecności świeżego zakażenia, albo niedawnego kontaktu z antygenem toksoplazmowym. Wiązanie ma natomiast tę zaletę, że szybciej może wykryć proces chorobowy, bo już po jednym tygodniu i łatwiej je przeprowadzić aniżeli odczyn neutralizacyjny oraz surowicę można jakiś czas przechowywać w normalnej lodówce. W roku 1948 *Warren* i *Russ* wprowadzają jako antygen do próby wiązania dopełniacza wyciąg z zakażonych błon kosmówkowo-omoczniovych zarodków kurzych, który uważają za lepszy od poprzednio stosowanych.

Od r. 1948 stosuje się przy toksoplazmoziozie wprowadzoną przez *Frenkel'a* próbę wśródskórną. Antygeny nazwane przez autora toksoplazminą sporządza się albo z zakażonych zarodków jaja kurzego, albo z eksudatu zakażonych dootrzewnowo myszy lub króli-

ków. Ten drugi sposób wydaje się korzystniejszy z uwagi na to, że stosunkowo lepszy jest stosunek pasożytów do innych komórek żywiciela. Według opinii autora próba jest prosta w użyciu, nadaje się również do wykrycia przypadków dawnych lub utajonych. Odczyn występuje w późniejszym terminie podobnie jak przy tuberkulinie. Nabrzmienie i zaczerwienienie przekraczające średnicę 10 mm przy równoczesnym ujemnym wyniku z antygenem kontrolnym może być uważane za odczyn dodatni, świadczący o przebytym lub trwającym zakażeniu. Nie ma zależności między nasileniem dodatniej reakcji, a stopniem aktywności klinicznej. Obserwuje się natomiast pewną zależność między próbą wśródskórną, a obecnością przeciwciał neutralizacyjnych. Ci jednak, u których reakcja skórna była dodatnia, często wykazywali wzrost przeciwciał neutralizacyjnych. Podobną zależność zaobserwowano i w stosunku do próby wiązania dopełniacza. Pacjenci z kilkakrotną ujemną próbą skórną prawie z reguły nie mieli we krwi przeciwciał wiązania dopełniacza, ani też nie rozwijały się one u nich w następstwie antygeny. A natomiast ci, którzy dodatnio reagowali próbą skórną, a poprzednio nigdy nie wykazywali dodatniego wiązania dopełniacza, często okazywali to ostatnie dopiero w następstwie iniekcji antygeny. Próba wśródskórna okazywała się tu pożytecznym czynnikiem wyzwalającym nieuchwytnie dotąd przeciwciała wiązania dopełniacza.

Nie będę tu wspominał o specjalnej próbie jak wykrywanie antygeny w płynie komórkowym niemowląt i płodów z wodogłowiem ani o mało jeszcze znanej próbie z hodowlą tkankową i białymi ciałkami krwi pacjenta (*Nantz i Blatt, 1947*) natomiast omówię dokładniej próbę barwną *Sabina i Feldmana* (1948). Praca ta, jak również dokładna analiza próby podana przez *Westphala i Mühlfordta* (1950) są podstawą do wykonywania tej reakcji, ostatnio najczęściej stosowanej ze względu na stosunkowo prostą technikę oraz dość dużą specyficzność. Ponieważ zasada próby opiera się na nowych nie stosowanych dotąd przesłankach, istota jej powinna interesować nie tylko badaczy toksoplazmozy, ale również wszystkich interesujących się immunologią bakteriologiczną i parazytologiczną. *Sabin i Feldman* wykazali, że przy pomocy pewnych barwników możliwe jest stwierdzenie wpływu swoistych przeciwciał na protoplazmę zarazków. Próba ta ma swój początek w omówionej już próbie neutralizacyjnej. Tam działanie przeciwciał w surowicy odpornościowej na żywe zewnątrzkomórkowe toksoplazmy badano *in vitro* wstrzykując mieszaninę ich do skórnicy królika lub na *chorioallantois* zarodka kurzego. Tu zachodzącą reakcję bada się przy pomocy barwników mikroskopowo. Gdy więc zmieszają

się eskudat zakażonej myszy, zawierającej liczne zewnątrzkomórkowe pasożyty z surowicą człowieka lub zwierzęcia zakażonego, a po pewnym czasie doda do tej mieszaniny barwnika, to obserwujemy, że protoplazma większości wolno leżących toksoplazm jest pokurczona, słabo się barwi lub w ogóle się nie barwi w porównaniu z silnie zabarwioną o strukturze ziarnistej protoplazmą pasożytów umieszczonych w surowicy normalnej. Chromatyna jądrowa natomiast pozostaje w obu wypadkach jednakowo zabarwiona. Toksoplazmy wewnątrzkomórkowe znajdujące się przeważnie w dużych monocytach barwią się zupełnie dobrze nawet po uprzednim działaniu surowicy odpornościowej. Potwierdzałoby to ogólnie przyjęty pogląd, że pasożyty jak również bakterie i wirusy umieszczone wewnątrzkomórkowo chronione są od wpływu przeciwciał.

Do wykazania różnicy pomiędzy protoplazmą pasożytów poddanych działaniu surowicy odpornościowej czy też normalnej używano całego szeregu barwników i różnych połączeń. Tionina, błękit metylenowy, błękit toluidynowy, czerwień obojętna itp. w stężeniu 0.5% dobrze barwią cytoplazmę normalnych pasożytów, a nie barwią pasożytów jak gdyby uszkodzonych działaniem przeciwciał. Powolne działanie tych barwników w normalnych roztworach wodnych zostaje przyśpieszone, gdy doprowadzimy je do silnego odczynu alkalicznego. Charakter bowiem normalnej cytoplazmy toksoplazm jest kwaśny. Wręcz przeciwne działanie wykazuje barwik z grupy ksantenowej phloxyna, barwiąc właśnie protoplazmę komórek zmienionych działaniem przeciwciał, a nie barwiąc normalnych pasożytów. Inne barwiki jak kwaśna fuksyna, czerwień Congo itp. w ogóle nie barwią toksoplazm jednych i drugich. Po wielu doświadczeniach *Sabin* i *Feldman* wybrali jako najlepszy barwik do opisywanej właśnie próby silnie alkaliczny (pH 11) roztwór błękitu metylenowego z boraksem przyrządzony na świeżo.

Początkowo wydawało się, że przeciwciała dające się w tej próbie wykryć podobnie jak przeciwciała neutralizacyjne, są bardzo nietrwałe, już po trzech dniach w temp. pokojowej zupełnie giną jak również pod wpływem inaktywacji. Dalsze jednak badania wykazały, że w danym wypadku nie niszczą się specyficzne przeciwciała, a tylko jakiś ciepłochwiejny czynnik dodatkowy („*accessory factor*“), który nazwano aktywatorem. Stwierdzono dalej, że ów aktywator znajduje się w każdej normalnej świeżej surowicy ludzkiej i zwierzęcej, ale w małych ilościach.

Omawiana próba przebiega więc w następujący sposób. Świeże toksoplazmy pochodzące z wysięku mysiego z dodatkiem heparyny 1:5000 miesza się z podwójną ilością aktywatora i pojedynczą ilością

badanej surowicy w różnych wzrastających rozcieńczeniach. Po 1 godzinnym przetrzymaniu tej mieszaniny w łaźni wodnej lub termostacie przy 37° C dodaje się roztworu barwnika w stosunku 1:3 (ogólnej ilości). Z kolei robi się preparaty i ogląda pod mikroskopem. Wystarczy policzyć 50 wolno leżących pasożytów z zanotowaniem jaki odsetek ich zabarwił się, a jaki nie. Miano surowicy badanej jest najwyższym jej rozcieńczeniem, pod której działaniem jeszcze przynajmniej 50% toksoplazm pozostało z niezabarwioną protoplazmą.

Przy dalszym rozpracowaniu próby wyłoniła się nowa trudność. Stwierdzono mianowicie, że próba może być w wielu wypadkach niespecyficzna. Sama już bowiem normalna, świeża surowica dodawana jako aktywator może wywołać zmiany w protoplazmie dając pewien odsetek pasożytów niezabarwionych. Autorzy niemieccy badając kilkadziesiąt surowic ludzkich i różnych zwierząt wykazali, że one same pewien dość wysoki procent toksoplazm czynią niezdolnymi do zabarwienia się. Spotyka się więc surowice, które wykazują to działanie w 0—6%, ale również surowice wpływające ujemnie w 10—16% a nawet w 28—64%. Nie pozostaje to naturalnie bez wpływu na ustalenie miana surowicy odpornościowej. Surowica odpornościowa np. której miano z aktywatorem (3/50) wynosiło 1:800 przy zastosowaniu aktywatora innego (10/37) wykazała miano 1:1600, co naturalnie jest błędnym wynikiem. Mamy tu więc do czynienia z jeszcze innym niespecyficznym czynnikiem znajdującym się w normalnych surowicach w różnym stopniu, który sam zmienia barwliwość toksoplazm. Widocznie zachodzi tu jakaś koloidalna reakcja między białkami surowic a protoplazmą toksoplazm. Ten niekorzystny dla nas w próbie wpływ surowic normalnych wzrasta w miarę starzenia się surowicy i to szybciej w cieple pokojowej. Widocznie zwiększa się stopień dyspersji reagujących w surowicy koloidów. Inaktywowanie surowicy znosi to jej działanie. Staje się więc jasne, że do próby musi się jako aktywatora używać świeżej surowicy ludzkiej lub zwierzęcej, która ma jak najmniej tego czynnika nieswoistego. Wykazano, że najwyżej jeszcze 6% toksoplazm może ulegać pod jej działaniem zmianie, aby ją można było bezkarnie zastosować do próby. Dobry aktywator nie traci szybko swych własności, można go więc z powodzeniem przechowywać w lodówce przez tydzień, w którym to czasie nieswoista jego właściwość podnosi się w dopuszczalnych jeszcze granicach. Wspominałem już, że inaktywacja surowicy pozbawia ją tych niespecyficzných właściwości. Nie możemy jednak z tego korzystać, bo przez podgrzewanie równocześnie zniszczymy pożądaną przez nas czynnik zwany aktywatorem. Wydaje się więc, że dzia-

lanie aktywatora opiera się również tylko na reakcji koloidalnej.

Stwierdzono dalej, że potrzebny tu aktywator nie jest tym samym co dopełniacz używany w systemach litycznych. Ich pozorne podobieństwo polega na ciepłochwiejności. Aktywator potrzebny jest w dużych ilościach i jest mniej wrażliwy na przechowywanie, niż komplement. Przez dodanie preparatów z frakcji ciepłochwiejnej C₁ i C₂ ludzkiego dopełniacza zamiast aktywatora nie udało się przeprowadzić próby barwnej z toksoplazmą, pomimo, że preparaty te wystarczały do przywrócenia surowicy inaktywowanej zdolności hemolizy uczulonych krwinek. Próbowano również bezskutecznie użyć zamiast aktywatora preparatu „AcG“, który jest frakcją plazmy bydłowej używaną do przyspieszenia przejścia protrombiny w trombinę. Dotychczasowe więc próby wydzielania z surowicy substancji czynnej jako aktywatora od ciał nieswoistych nie powiodły się, jak również zaprzeczyły identyczności tego pierwszego ciała z dopełniaczem. Aktywator działa bezpośrednio na samą reakcję, a komplement przy wiązaniu dopełniacza w wypadku ujemnym wchodzi w reakcję dopiero z drugim układem barwnym.

Surowice badane a więc przypuszczalnie odpornościowe powinno się inaktywować, niszczymy bowiem w ten sposób wszystkie ich niespecyficzne ciepłochwiejne składniki, przez co właściwa reakcja będzie bardziej specyficzna. Wielokrotne próby potwierdziły słuszność a nawet często konieczność tego zabiegu, gdyż tym sposobem unika się spotykanego czasem utajania się przeciwciał okazujących się dopiero po podgrzaniu surowicy.

Używana w próbie zawiesina toksoplazm musi być świeża nie przechowywana dłużej jak godzinę. Należy również dążyć do tego, aby między zadaniem barwika, a oglądaniem preparatu nie upłynęło więcej jak pół godziny. Jest to bardzo ważna i również ciekawa obserwacja dowodząca jak gdyby nietrwałości zachodzącego tu procesu.

Przeciwciała wykazywane w próbie barwnej pojawiają się w organizmie zwierzęcia zakażonego dość szybko; u szczurów stwierdzono je już piątego dnia, a u małp nawet w 3 dni. Miano ich rośnie w ciągu kilku dni sięgając czasem rozcieńczeń 1:4096 i wyżej. Utrzymują się one w surowicy stosunkowo długo, po czym miano ich stopniowo maleje. Na podstawie więc wysokości miana można w przybliżeniu określić czas powstania choroby. *Sabin* i *Feldman* proponują przyjąć następujący wskaźnik. Gdy miano wynosi 1:2556 do 1:16384, to okres powstania choroby nie jest dłuższy jak 2—5 lat. Gdy natomiast miano są niższe 1:16 do 1:64, możemy przypuszczać, że schorzenie datuje się od 6—7 lat, a na-

wet dłużej. Próba barwna łatwiejsza do wykonania od próby neutralizacyjnej znajduje duże zastosowanie praktyczne szczególnie do wykrywania utajonej postaci toksoplazmozy. Przeciwciała wykrywane tu nie są prawdopodobnie identyczne z wykrywanymi przy pomocy wiązania dopełniacza, ponieważ te ostatnie pojawiają się w późniejszym okresie choroby i szybciej giną, a więc u chorych często ich nie stwierdzano mimo obecności pierwszych. Próba barwna może znaleźć szerokie zastosowanie do wykrywania zakażeń u zwierząt, co ma tak duże znaczenie epidemiologiczne.

Na wytłumaczenie istoty reakcji mamy 2 hipotezy. Już *Sabin* i *Feldman* stwierdzili, że w protoplazmie niezabarwionych pasożytów nie dochodzi do zmiany barwnika w jego bezbarwną zasadową postać „leuko“. Byli oni natomiast skłonni przypuszczać, że protoplazma toksoplazm poddanych działaniu surowicy odpornościowej ulega jakimś strukturalnym zmianom, uwydatniającym się zmniejszonym powinowactwem do barwników. Wychodzili oni bowiem z założenia, że skoro barwi się w obu wypadkach jądro pasożytów, to nie ma tu mowy o jakiejś zwiększonej nieprzepuszczalności błony komórkowej. Odmiennego zdania są autorzy niemieccy. Wychodzą oni ze wspomnianej już obserwacji, że barwliwość pasożytów zależy w dużym stopniu od czasu działania barwnika, który to fakt sugeruje myśl że zjawisko to wytłumaczyć można właściwie zmienioną przepuszczalnością powierzchni zewnętrznej. Rozumują oni dalej, że nie wszystkie składniki komórki odznaczają się jednakowym powinowactwem do barwników. Chromatyna jądrowa ma większe powinowactwo aniżeli protoplazma. Dlatego też chromatyna barwi się nawet w pasożytach poddanych działaniu przeciwciał, co pokrywa się z faktem, że tylko mała ilość barwnika przechodzi przez zmienioną błonę komórkową. W danym wypadku chodzi o wiązanie na powierzchni specyficznych przeciwciał z następnym nagromadzeniem się pewnych białek z normalnej surowicy albo też o własną reakcję niewłaściwych aktywatorów czyli koloidalne niespecyficzne nagromadzenie. Byłoby to więc czysto mechaniczne wzmocnienie powierzchni zewnętrznej pasożyta, co wykazano zresztą gdzie indziej również pod wpływem działania przeciwciał. Jest możliwe, że przy próbie barwnej stosunki powierzchniowych ładunków elektrycznych mają decydujące znaczenie, aby koloidalne barwniki mogły reagować. *Karczag* i *Hajos* (1923) badali stosunki ładunków elektrycznych przy bakteriach gdzie właśnie wskaźnikiem było przeistaczanie barwników w połączenia bezbarwne.

Ta ostatnia hipoteza wydaje się dosyć wiarygodna, choć budzić może pewne wątpliwości. Prawdopodobnie przeciwciała wy-

krywane próbą barwną są tymi samymi, które wykazuje się przy omówionej już próbie neutralizacyjnej *in vivo*. Stwierdzono bowiem wiele razy zgodność obu prób jak również wyjaśniono poprzednio błędnie pojmowaną ciepłochwiejność przeciwciał neutralizacyjnych. Udaje się bowiem nawet w surowicach inaktywowanych po dodaniu aktywatora stwierdzić przeciwciała neutralizacyjne na króliku. Wydaje mi się więc, jeżeli identyczność obu przeciwciał jest faktem, równie słuszny amerykański pogląd na istotę próby barwnej. Skoro przeciwciała te są przyczyną, że zjadliwe toksoplazmy wstrzyknięte doskórnie królikowi stają się mniej toksyczne i wyraźnie osłabione, to zmiany powstałe w nich muszą chyba sięgać głębiej aniżeli tylko do zewnętrznej otoczki. Autorzy niemieccy podkreślają bardzo krótkie działanie tych przeciwciał *in vitro*, bo tylko pół godziny po którym to czasie pasożyty zaczynają się już barwić normalnie. Pamiętać musimy, że w żywym organizmie osłabione zarazki przebywają znacznie dłużej, bo dopiero po kilku dniach wywołują jakies osłabione zmiany. Być może, że prawda leży tu pośrodku, jedna i druga hipoteza dałaby się uzgodnić.

Jak wspomina *Sabin* i *Feldman* zasada próby barwnej przy toksoplazmozie mogłaby przy użyciu odpowiednich barwników znaleźć szersze zastosowanie. Może dałoby się użyć ją do wykrywania przeciwciał występujących przy innych pierwotniakach jak *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Plasmodium*, *Entamoeba* itp. Jest również prawdopodobne, że przeciwciała bakteriobójcze wykrywane dotychczas metodą hodowlaną dałyby się stwierdzić *in vitro* przy użyciu odpowiednich barwników. A nawet i przy wirusach teoretycznie możliwe są pewne jej zastosowania. Przy jednych wirusach (np. poliomyelitis) przeciwciała neutralizacyjne są ciepłostale, podczas gdy przy innych (np. denga) są bardzo wrażliwe na ogrzewanie. Może więc i tym razem potrzebny jest ciepłochwiejny aktywator. Próby te dałoby się przeprowadzać na wirusach zaadsorbowanych na cząsteczkach kolodium.

Państwowy Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej (Gdańsk -Wrzeszcz, ul. Morska 1c) przystąpił od kilku miesięcy do badań nad toksoplazmozą. Między innymi wykonujemy również omówione poprzednio ważniejsze odczyny immunobiologiczne z antygenami własnej produkcji. Dopóki zagadnienie diagnostyki toksoplazmozy nie zostanie rozwiązane inaczej, pragniemy przyjąć już dziś z pomocą klinikom oraz poszczególnym lekarzom w właściwym rozpoznaniu choroby. Możemy pewną nie dużą ilość prób przyjąć do

diagnozy na zasadach współpracy naukowej. Każdorazowo prosimy o możliwie wyczerpujące dane kliniczne odnośnie pacjenta nasuwające podejrzenie toksoplazmozy. Uprzednio należy wykonać normalne próby kliniczne, zwłaszcza odczyn Wassermana i wyniki ich przesłać. W przypadku stanów zapalnych lub powikłań ośrodkowego układu nerwowego wskazane jest przebadanie płynu mózgowo-rdzeniowego oraz przesłanie nam możliwie świeżego (kilka ml) celem badań mikroskopowych oraz pasażowania na wrażliwe zwierzęta. Poza tym najważniejszym materiałem będzie surowica. Ponieważ przeciwciała zwłaszcza uchwytnie w próbie barwnej są bardzo wrażliwe na czynniki zewnętrzne szczególnie w miesiącach letnich, konieczne jest oddzielenie na miejscu surowicy przez wirowanie, inaktywowanie jej przez ogrzewanie w 56° C przez 30 minut i możliwie szybkie przesłanie (w ilości około 3 ml od osób dorosłych z uwzględnieniem konieczności pobrania mniejszej ilości od dzieci). W wypadku płodów, niemowląt i dzieci należy również przesłać surowicę matki w celu stwierdzenia czy zakażenie jest wrodzone.

STRESZCZENIE WNIOSKÓW

Reasumując całość omówionych odczynów immunobiologicznych przy toksoplazmozie zauważyć możemy dużo sprzecznych jeszcze poglądów zarówno co do istoty prób, jak i samej techniki ich wykonania. Świadczy to, że badania są dopiero w początkach oraz zbyt mało mamy jeszcze wyników szerszego ich zastosowania. Tym niemniej widoczna już jest korzyść tych prac, gdyż pozwalają na znacznie częstsze i stosunkowo łatwiejsze stwierdzenie toksoplazmozy, zwłaszcza że wszystkie inne metody diagnostyczne są jeszcze trudniejsze i zbyt często zawodzą. W obecnej chwili największym wzięciem cieszy się próba barwna *Sabin-Feldmana* rozpracowana dokładnie przez *Walenz-Westphala*. Wypiera ona coraz bardziej trudną i kosztowną próbę neutralizacyjną na królikach, gdzie prawdopodobnie mamy do czynienia z tymi samymi przeciwciałami. Pomimo teorii o unitarnej istocie wszystkich przeciwciał odpornościowych wiązanie dopełniacza przy toksoplazmozie daje odczyn dodatni w innych okresach choroby aniżeli poprzednio wymienione próby, co nasuwa myśl, że mamy tu do czynienia z innymi przeciwciałami pojawiającymi się i znikającymi nieco wcześniej w ustroju. Próby alergiczne ostatnio znajdują dość wielu przeciwników. Według jednak zapewnień *Frenkela* próba wśródskórna przy toksoplazmozie może być uważana za dość swoistą. Powinna ona znaleźć szerokie zastosowanie tym bardziej, że jest prosta w wykonaniu i daje

się zastosować w terenie. Wydaje mi się, że obecnie powinniśmy korzystać przy każdym podejrzanym przypadku ze wszystkich trzech prób równocześnie. Dopiero wszystkie wyniki odpowiednio interpretowane pozwolą nam wyrobić sobie pogląd na chorobę, a nawet w przybliżeniu określić czas zakażenia. Naturalnie wiele zagadnień pozostaje tu jeszcze do rozpracowania. Najważniejszą rzeczą jest otrzymanie możliwie czystych antygenów. Stosowane bowiem obecnie antygeny są wyciągami z płynów i różnych narządów zwierząt laboratoryjnych lub błon płodowych jaja kurzego, w których w mniejszym czy większym stężeniu znajdują się pasożyty, o które nam właśnie chodzi. Mamy więc duże prawdopodobieństwo odczynów nieswoistych np. przy stosowaniu antygeny z błon jaja kurzego u osób uczulonych już dawniej szczepionkami jajowymi. Musimy więc dążyć do jak najdokładniejszego oddzielenia ciał pasożytów od komórek i białek żywiciela, a nawet dalej starać się wyizolować istotne przy odczynach frakcje antygenowe. Pamiętać również musimy, że tak jak wszystkie prawie odczyny immunobiologiczne również i przy toksoplazmozie nie mogą być uważane za zupełnie pewne. Dane kliniczne, wywiad i inne czynniki muszą być brane pod uwagę przy ostatecznej decyzji. Dokładnie zanalizowana istota próby barwnej swą zasadą zainteresować może ogół osób zajmujących się immunologią. W podejrzanym przypadku należy przesyłać do specjalnych pracowni parazytologicznych płyn mózgowo-rdzeniowy oraz inaktywowaną surowicę.

З. К о з а р

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ ТОКСОПЛАЗМозЕ

СОДЕРЖАНИЕ

Резюмируя совокупность рассмотренных иммунобиологических реакций при токсоплазмозе следует отметить много противоречивых мнений как в вопросе о сущности этих реакций так и в самой технике их выполнения. Это свидетельствует о том, что исследования находятся только в начальной стадии, а кроме того слишком мало еще результатов широкого их применения. Тем не менее уже очевидна польза этих работ ибо они позволяют на значительно более частое и более легкое обнаружение токсоплазмоза тем более, что все остальные диагностические методы являются трудными и несовершенными. В настоящее время наибольшей популярностью пользуется цветная реакция *Salin — Feldman'a*, разработанная подробно *Walenz — Westphal'em*. Эта реакция все более вытесняет трудную и дорого стоящую пробу нейтрализации на кроликах, при которой вероятно речь идет о тех же самых антителах. Несмотря на унитарную теорию антител, связывание ком-

плимента при токсоплазмозе дает положительную реакцию в иных периодах болезни нежели вышеупомянутые пробы.

Возможно поэтому что мы имеем тут дело с другими антителами, появляющимися и исчезающими из организма несколько раньше других. Аллергические реакции встречают в последнее время довольно много противников. Однако, согласно утверждению Френкеля внутрикожная реакция при токсоплазмозе может считаться достаточно специфической. Она должна найти широкое применение тем более, что является просто выполняемой и может быть применена на месте. Автор считает, что в настоящее время следует в каждом подозрительном случае пользоваться всеми тремя реакциями одновременно.

Только совокупность всех результатов, интерпретированная соответствующим образом позволит выработать суждение о болезни и даже приблизительно определить время заражения. Естественно, остается еще много вопросов для дальнейшей разработки. Наиболее важным является получение возможно чистых антигенов. Применяемые в настоящее время антигены представляют собой вытяжки из жидкой и различных органов лабораторных животных либо плодовых оболочек куриного яйца, в которых в больших или в меньших концентрациях находятся интересующие нас паразиты.

Таким образом, имеется здесь большая вероятность неспецифических реакций, например при применении антигена из оболочек куриного яйца у лиц сенсibilизированных раньше вакцинами того же типа. Для этого следует стремиться к возможно более полному отделению тел паразитов от клеток и питательных белков и даже стараться изолировать антигенные фракции важные при реакциях. Необходимо помнить, что реакции при токсоплазмозе как и другие иммунобиологические реакции не могут считаться вполне надежными.

При окончательном решении должны быть учтены клинические данные, анамнез и другие факторы. Подробный анализ сущности цветной реакции может заинтересовать лиц, занимающихся иммунологией. В подозрительных случаях следует присылать в специальные паразитологические лаборатории спинно-мозговую жидкость и инактивированную сыворотку.

Z. Kozar

IMMUNOBIOLOGICAL REACTIONS IN TOXOPLASMOSIS

Summary of conclusions

Summing up all of the discussed immunobiological reactions employed in toxoplasmosis, it is noticeable that many contradictory opinions still exist, both as to the principle of the reactions and the technique itself of their execution. This proves that studies have been just begun and that the results of a widespread application of the reactions are as yet inadequately available. Nevertheless, the value of such investigations is already evident, inasmuch as they make possible a considerably more frequent and comparatively easier discovery of toxoplasmosis, the more so as all other diagnostic methods are still more difficult and fail too often.

At present the most popular is the Sabin-Feldman colour test, elaborated in detail by Walenz-Westphal. It is supplanting more and more the difficult and costly neutralization test on rabbits, present in which are probably the same

antibodies. In spite of the theory proclaiming a unitary nature of all immune antibodies, complement fixation in toxoplasmosis gives a positive reaction in other stages of the disease than the previously quoted tests; this suggests that we have here different antibodies, appearing in the organism and disappearing somewhat sooner.

Allergy tests have been lately opposed by quite many investigators. According to Frenkel, however, the intradermal test may be considered in toxoplasmosis as quite specific. This test ought to be applied widely, the more so as it is simple to execute and applicable in the field.

It seems to the author that at present in every suspected case simultaneous use ought to be made of all three tests. The joint results only, properly interpreted, allow one to form an opinion concerning the disease, and even to determine approximately the date of infection. Naturally, many problems still remain to be elaborated. The most important thing is to obtain antigens which are as pure as possible. As a matter of fact, the antigens used at present are extracts obtained from fluids and various organs of laboratory animals or from the foetal membranes of hens' eggs, which contain the parasites in question in a high or low concentration. There exists, therefore, a great probability of nonspecific reactions, e. g., when an antigen from the membranes of hens' eggs is applied to persons previously sensitized with egg vaccines. Consequently, endeavours must be made to separate, as accurately as possible, the parasitic bodies from the cells and proteins of the host, and, furthermore, pains should be even taken to isolate the antigenic fractions which are essential for the reactions.

It must be also kept in mind that, the same as almost all immunobiological reactions, the ones employed in toxoplasmosis cannot be considered to be altogether reliable. Clinical data, case history, and other factors must be taken into consideration before arriving at a final decision. The accurately analyzed principle of the dolour test might arouse the interest of immunologists in general. In suspected cases the cerebrospinal fluid and inactivated serum ought to be sent for examination to special parasitological laboratories.

PISMIENICTWO

1. Adams F. H., Kabler P., Coney M. and Adams J. M.: Diagnostic tests for toxoplasmosis. *Pediatrica*. 1949, 4, 4: 490—497.
2. Frenkel J. K.: Dermal hypersensitivity to toxoplasma antigens (toxoplasmins). *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.*, 1948, 68: 634—639.
3. Frenkel J. K. Uveitis and toxoplasmin sensitivity. *Amer J. Ophth.*, 1949, 32, 6: 127—135.
4. Frenkel J. K.: Pathogenesis, diagnosis and treatment of human toxoplasmosis. *J. A. M. A.* 1949, 140: 369—377.
5. Havlik O.: Laboratorni diagnostika toxoplazmosy. *Cas. lek. ceskych*, 1949, 88: 653.
6. Kozar Z.: Epidemiologiczne zagadnienia toksoplazmozy. *Przegl. Epidemiologiczny*, 1951, 1.
7. Macdonald A.: Serological diagnosis of human toxoplasmosis. *The Lancet*. 1949: 950.
8. Meyer H. and Roth W.: Weitere experimentelle Beobachtungen bei der Toxoplasmose Infektion. *Schw. Zeitschr. Path. u. Bakt.*, 1949, 12, 5: 513—517.

9. *Sabin A. B.*: Toxoplasma neutralizing antibody in human beings and morbid conditions associated with it. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 1942, 51, 1: 6—10.

10. *Sabin A. B. and Ruchman I.*: Characteristics of toxoplasma neutralizing antibody. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., 1942, 51, 1: 1—6.

11. *Sabin A. B. and Feldman H. A.*: Deyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a prozozoon parasite (toxoplasma). Science. 1948, 108, 28151 660—663.

12. *Tolentino P. e Razzi A.*: Ricerche sierologiche e cliniche di orientamento sulla frequenza della toxoplasmosi in Italia. Minerva Pediatrica. 1949, 1, 2: 63.

13. *Tolentino P. e Razzi A.*: Risultati della intradermoreazione alla toxoplasmina in varie eta e in relazione ai test sierologici. II Cngr. Soc. Ital. Malattie Infettive e Parastarie. 1950.

14. *Tolentino P.*: Le reazioni immunologiche per la toxoplosmosi ed il loro significato diagnostico ed epidemologico. Minerva Medica, 1950, 41, 9.

15. *Warren J. and Sabin A. B.*: The complement reaction in toxoplasma infection. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., 1942, 51, 1: 11—14.

16. *Warren J. and Russ S. B.*: Cultivation of toxoplasma in embryonated egg. An antigen from chorioallantoic membrane. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., 1948, 67, 1: 85—89.

17. *Westpal A. and Mühlpfordt H.*: Untersuchungen über Wesen und Fehlerquellen des Toxoplasma-Serofarbtstes nach Sabin und Feldman. Zeitschr. f. Hyg. 1950, 131: 423—434.

18. *Winsser J. i Makstieniks P.*: Een nieuwe serologische methode voor de diagnostiek van toxoplasmosis. Nederl. Tijdschr. v. Geneesk., 1949, 93, 43: 3630—3640.

Z braku miejsca nie podaje się reszty piśmiennictwa.

Bernard Zabłocki

HIALURONIDAZA

(Z Zakładu Bakteriologii U. Ł. Kierownik prof. dr B. Zabłocki)

Od chwili ukazania się mojej publikacji na temat „Czynnik dyfuzyjny i jego znaczenie w medycynie“ (Spółdz. Wyd. „Książka“, 1948) upłynęło 3 lata. Postęp, jaki w przeciągu tego czasu nastąpił, jest olbrzymi. Zakres tematyki uległ znacznemu rozszerzeniu. Coraz więcej prac poświęca się licznym zagadnieniom związanym z fizjologicznym znaczeniem substratu hialuronidazy — tj. kwasu hialuronowego. Szczególnie sprawa metabolizmu kwasu hialuronowego i jego rola w fizjologii i patologii budzi coraz to wzrastające zainteresowanie badaczy najróżnorodniejszych specjalności. Nie ulega obecnie wątpliwości, że czynności fizjologiczne skóry, płynów oka, płynu synowialnego oraz tkanki łącznej, muszą zależeć od ilości i od stopnia agregacji kwasu hialuronowego. Nie ustają też prace nad wzajemnym stosunkiem zakażeń bakteryjnych (i wirusowych), a układem hialuronidaza — kwas hialuronowy. Mechanizm inwazji został wzbogacony pracami *Haasa* (90) o roli proinwazyn i antyinwazyn w tym procesie. Na temat obecności ciepłostajłych inhibitorów hialuronidazy we krwi (obok przeciwciała swoistego — antyhialuronidazy i antyinwazyn) ukazało się mnóstwo prac. W oparciu o te prace i swoje własne badania *Zabłocki* (79) tłumaczy zwiększone szybkości opadania krwinek (objaw *Biernackiego*) występowaniem we krwi glukoprotein w zwiększonej ilości.

Temat udoskonalenia metod oczyszczania preparatów hialuronidazy i jego substratu, kwasu hialuronowego, oraz sposobów miareczkowania enzymu jest szeroko uwzględniony w najnowszym piśmiennictwie. Badacze radzieccy w okresie wojny zajmowali się praktycznym zastosowaniem układu: hialuronidaza — kwas hialuronowy do ustalenia prognozy zakażeń przyrannych — prace *Smirnowej* (34), *Burdenko* (33), *Hejmana* (32), *Jermoljowej* (33), *Byczkowa* (1A). W piśmiennictwie radzieckim napotykamy na cały szereg obszernie opracowanych referatów poglądowych: *Hejman* (32), *Byczkow* (2A), *Smirnowa* (3A), *Mogilewski* i *Kogan* (4A).

W tej pracy podaję czytelnikowi najważniejsze metody badań, dotyczące układu hialuronidaza — kwas hialuronowy w przekonaniu, że przyjdę z pomocą tym, którzy tymi zagadnieniami interesują się ze strony doświadczalnej.

WYSTĘPOWANIE HIALURONIDAZY

Enzym hialuronidaza (*spreading factor*) został wykryty w roku 1928 przez *Duran-Reynalsa* (1) w jądrach zwierzęcych. Hialuronidaza znajduje się w plemnikach (*Mc Clean* (2)) natomiast wydzielina gruczolu krokowego nie zawiera tego enzymu. Hialuronidaza występuje w dużej ilości jedynie w jądrach wykazujących żywą spermatogenezę. Z innych narządów zawierających hialuronidazę należy wymienić przede wszystkim przysadkę mózgową, tarczycę i nerki. Skóra, mózg i łożysko zawierają mało hialuronidazy. Mięśnie, krew, wyciągi ze śledziony i szpiku kostnego nie zawierają hialuronidazy.

Obecność hialuronidazy w komórkach pneumokoków stwierdził *Goodner* (6). Nieco później *Mc Clean* (7) wykrył obecność enzymu w hodowlach płynnych zjadliwych pneumokoków typu *I. Duran-Reynals* (8) wykazał obecność znacznych ilości hialuronidazy w hodowlach gronkowców złocistych i paciorkowców hemolizujących. Wytwarzanie hialuronidazy zależy od stopnia inwazyjności badanych szczepów (8). Szczepy pneumokoków postaci R nie wytwarzają hialuronidazy. (*Zabłocki* (9/10) wykazał obecność hialuronidazy w hodowlach płynnych paciorkowców hemolizujących grupy A i gronkowców złocistych hemolizujących (100% zbadanych szczepów). Natomiast stwierdził brak wytwarzania hialuronidazy w hodowlach gronkowców białych, nawet hemolizujących. Do oznaczenia hialuronidazy *Zabłocki* (11) używał metody *in vivo* we własnej modyfikacji („metoda bąblowa“), która jest najbardziej czułym testem do oznaczania hialuronidazy wytwarzanej w drobnych ilościach. *Mc Clean* (7) wykazał obecność hialuronidazy w hodowlach laseczek zgorzeli gazowej: *Cl. Welchii*, *Cl. Chauvei*, *Cl. oedematiens*; *Cl. tetani* nie wytwarza hialuronidazy. Maczugowce błonicy wytwarzają ten enzym w małej i zmiennej ilości, przy tym nie ma pod tym względem żadnych różnic między typami *gravis* i *mitis* (7). *Robertson*, *Ropes* i *Bauer* (12) metodą *in vitro* (badanie obniżenia lepkości płynu synowialnego) wykazali, że następujące gatunki drobnoustrojów: *collii*, *subtilis*, *proteus*, *prodigiosus*, *pyocyaneus*, *tetanus*, *botulinus*, *bifermentans*, *gonococcus* i inne nie wytwarzają hialuronidazy. Najwięcej hialuronidazy ze wszystkich drobnoustrojów chorobotwórczych wytwarza *Cl. perfringens*. Je-

śli przyjąć ilość enzymu w hodowlach *Cl. perfringens* za 100, to dla innych gatunków bakteryjnych wypadają porównawczo następujące cyfry:

<i>Streptococcus bovis</i>	30
<i>Pneumococcus</i> typ VIII	15
" " XIII	12
<i>Bac. oedematiens</i>	1—2
<i>Vibrio septique</i>	3—4
<i>Streptococcus viridans</i>	25
<i>Streptococcus hemolyticus</i>	15

Sołowiowa (13 i 14) wykryła obecność hialuronidazy w jadach błoniczych. To samo stwierdził *O'Meara* (15). *Zelewinskaja*, *Wołkowa* i *Konstantinowa* (16) wykazały obecność hialuronidazy w hodowlach płynnych *Cl. perfringens*. Według tych autorek nie udaje się wyosobnić hialuronidazy z samych komórek bakteryjnych; natomiast enzym ten występuje w dużej ilości w przesączach hodowli płynnych. Wobec tego zaliczają one hialuronidazę do egzofermentów.

Wzrost wytwarzania hialuronidazy przez dodanie do podłoża wzrostu substratu - hialuronatów stwierdzili *Mc Clean* i *Hale* (17) dla *Clostridium Welchii*. Systematyczne badania w tym kierunku zostały przeprowadzone przez *Rogersa* (18 i 19). Dla paciorkowców grup A i C dodanie kwasu hialuronowego do podłoża wzrostu powoduje podskok miana enzymu z 1:50 do 1:100.000 jednostek, o ile pH podłoża utrzymuje się na poziomie obojętnym (przez dodanie 8,5% glicerofosforanu sodu). Wzrost miana hialuronidazy dla gronkowców występuje, jeśli do podłoża dodać peptonu, otrzymanego przez trawienie papainą (20). *Zablocki* i współpracownicy (21) stwierdzili wzrost wytwarzania hialuronidazy przez niektóre szczepy gronkowców złośliwych hemolizujących przy dodaniu do podłoża kwasu hialuronowego w ilości 5 mg na 8—10 ml bulionu.

Crowley (22) poświęcił dużo pracy kwestii wytwarzania hialuronidazy przez paciorkowce hemolizujące, uwzględniając ich przynależność grupową lub typową, obecność otoczki i źródła. Wszystkie szczepy wytwarzające hialuronidazę nie zawierały otoczek; wśród szczepów bezotoczkowych można było spotkać się ze szczepami nie wytwarzającymi hialuronidazy. Autor stwierdził brak korelacji pomiędzy wytwarzaniem enzymu a zjadliwością szczepów badanych. *Meyer*, *Chaffee*, *Hobby* i *Dawson* (23) wykazali, że hialuronidaza paciorkowcowa zarówno obecna w podłożu, jak i oczyszczona, szybko wykazuje spadek miana w porównaniu do bardziej trwałej hialuronidazy pneumokoków.

Na znaczenie zawartości substratu hialuronidazy — kwasu hialuronowego w otocze paciorkowców, jako czynnika zjadliwości, pierwszy zwrócił uwagę *Hirst* (24). Cały szereg autorów (25/26) udowadnia, że białe myszy, którym wstrzyknięto wielokrotną dawkę śmiertelną paciorkowców hemolizujących, można uratować przez podanie hialuronidazy.

Humphrey (27) w przeciwieństwie do *Duran-Reynalsa* twierdzi, że nie ma żadnej zależności pomiędzy wytwarzaniem hialuronidazy a zjadliwością względnie typem pneumokoków. *Boe* (28) stwierdza to samo dla gronkowców. Jednakże *Schwabacher* i współpracownicy (29) oraz *Zabłocki* (30) dowiedli, że hialuronidaza jest wytwarzana przez gronkowce zjadliwe.

Mc. Clean i współpracownicy (31) pierwsi zaproponowali oznaczenie zawartości hialuronidazy i lecytynazy do wczesnej diagnostyki zgorzeli gazowej. Badacze radzieccy (33, (34), (32) potwierdzili w zupełności przydatność oznaczania hialuronidazy w wydzielinach ran zarówno dla diagnostyki, jak i dla prognozy (badania z okresu wojny 1941-1945).

Jady zwierzęce zawierają duże ilości hialuronidazy (35). W jadach żmij, obok właściwych toksyn, występuje enzym jako substancja niezależna, (36). Jady żmij, wykazujące silne działanie miejscowe (jady *Viperidae*), zawierają więcej enzymów niż jady działające wybitnie neurotoksycznie, np. jad kobra (37). Niektóre jady żmij wykazują działanie dyfuzyjne jeszcze w rozcieńczeniu 10⁻⁶. Na drodze ogrzewania lub dodania kwasu solnego, można wybiórczo uzyskać wydatne obniżenie siły toksycznej jadu bez uszkodzenia zawartej w nim hialuronidazy.

Jady pajaków, pszczoł i komarów tak samo zawierają hialuronidazę. Największe ilości enzymu znalezione w przednim odcinku przewodu pokarmowego pijawek (w stężeniu 50—100 razy większym niż w jądrach zwierzęcych). Występowanie hialuronidazy u pijawek jest niezależnie od zawartości hirudyny (38).

Duran-Reynals i *Stewart* (39) badali wodne wyciągi z tkanek nowotworowych na zawartość hialuronidazy. Wykazali oni, że niektóre wyciągi tkanki rakowej, ale nie mięsakowej, zawierają sporą ilość hialuronidazy. Szczególnie dużo enzymu stwierdzili w przeszczepialnych rakach myszy i szczurów (to samo *Van der Schueren* (40)). Zawartość hialuronidazy w wyciągach z tkanek nowotworowych nigdy jednakże nie przewyższała ilości występującej w normalnych jądrach zwierzęcych. Badania *Boylanda* i *Mc Cleana* (41) dowiodły, że wyciągi szybko rosnących nowotworów przeszczepialnych ssaków zawierają hialuronidazę w ilości odpowiadającej w przybliżeniu ich szybkości wzrostu.

METODY OTRZYMYWANIA I OCZYSZCZANIA HIALURONIDAZY

Technika otrzymywania hialuronidazy jest zależna od materiału wyjściowego. Jak wynika z rozdziału I, hialuronidaza występuje w niektórych narządach zwierzęcych (jądra, przyjądrza, przysadka i in.), w hodowlach niektórych gatunków inwazyjnych drobnoustrojów, w jadach zwierzęcych oraz wyciągach wodnych z tkanek niektórych nowotworów. Stwierdzono też obecność hialuronidazy w *ankylostoma duodenalis* (42). Metod otrzymywania hialuronidazy i dalszego jej oczyszczania jest wiele.

A. Metody otrzymywania i oczyszczania hialuronidazy z jader zwierzęcych.

Chociaż stwierdzono wyższą zawartość hialuronidazy w jądrach królików i szczurów niż w jądrach byka i świnek morskich, to jednakże praktycznie do otrzymywania enzymu używa się wyłącznie jąder byka.

I. Otrzymywanie wyciągu surowego.

Po usunięciu błon jądra rozdrabnia się, przepuszczając je kilkakrotnie przez maszynkę do mięsa. Uzyskaną papkę jądrową rozciera się w moździerzu porcelanowym z piaskiem (uprzednio wyprażonym) i dodaje jałowej wody destylowanej w ilości równej objętości papki. Po 15—30 min. należy odwirować. Płyn z nad osadu sączy się przez bibułę. Przesącz stanowi wyciąg surowy zawierający około 42,8 mg suchej substancji w 1 ml. Wyciąg surowy otrzymany w tej postaci należy przechować w chłodni (do — 5°). Jest to preparat hialuronidazy nietrwały i można używać doraźnie w ciągu najdalej tygodnia (43).

II. Otrzymywanie trwałego wyciągu z jąder w postaci sproszkowanej [Zablocki (43)].

Papkę jądrową rozciera się w moździerzu porcelanowym z piaskiem i z równą objętością 0,1 N kwasu octowego. Mieszankę zostawia się w chłodni na noc. Po odwirowaniu odciąga się płyn i sączy przez bibułę. Do przesączu dodaje się 4 objętości acetonu. W powstałym osadzie zawarta jest hialuronidaza. Wilgotny osad zebrany na sączu Buchnera zdejmuje się bagietką szklaną i rozpościera go na powierzchni dużej płytki Petriego. Wilgotną masę osadu suszy się w eksykatorze nad chlorkiem wapnia pod zmniejszonym ciśnieniem (wystarczy połączenie eksykatora z wodną pompą ssącą). Po całkowitym wyschnięciu osadu zdrapuje się lancetem zeschniętą masę z powierzchni płytki Petriego i rozciera się ją na proszek w moździerzu porcelanowym. Otrzymany w ten sposób trwały preparat hialuronidazy (data ważności wynosi kilka miesięcy) dobrze nadaje się do wszelkich badań. Każdorazowo należy rozpuścić potrzebną do badania ilość proszku w soli fizjologicznej (drogą energicznego rozcierania w moździerzu). Pamiętać należy, że proszek nie całkowicie rozpuszcza się w soli fizjologicznej. Część nierozpuszczoną należy odrzucić, gdyż hialuronidaza przechodzi do roztworu (najlepiej na drodze odwirowania w ciągu kilku minut przy 3000 obrotach).

III. Otrzymywanie oczyszczonej hialuronidazy z jąder metodą Claude'a i Duran-Reynalsa (44).

Proszek hialuronidazy uzyskany po wytrąceniu acetonem, (patrz metoda II) rozpuszcza się w wodzie destylowanej przez rozcieranie w moździerzu (1 gr na

25 ml H₂O). Część nierozpuszczającą się w wodzie należy odwirować. Do płynu zebranego z nad osadu dodaje się nasycony roztwór siarczanu amonu. Osad powstały odrzucamy gdyż hialuronidaza zostaje w roztworze. Do płynu zebranego z nad osadu (nieczynnego) dodaje się siarczanu amonu *in substantia* do pełnego wysycenia. W powstałym osadzie znajduje się hialuronidaza. Osad zebrany na sączku z bibuły rozpuszcza się w małej objętości wody. Rozczyn wodny hialuronidazy poddaje się dializie aż do usunięcia całkowitego siarczanu amonu. Z rozczyну wodnego można substancję czynną wytrącić acetonem, alkoholem w celu otrzymania proszku stabilizowanego.

Własności hialuronidazy otrzymanej metodą III:

Substancja sucha zawiera 14,1% N; daje dodatnie odczyny biuretowy i ninhidrynowy. Nie hemolizuje krwinek czerwonych. Wykazuje działanie dyfuzyjne (*spreading*) w rozcieńczeniu 1:100 000. Czynna substancja jest ciepłochwiejna: nie wytrzymuje dłuższego ogrzewania w temp. 60°. Nie traci własności dyfuzyjnych pH = 2. Jest rozkładana przez działanie fermentów takich jak trypsyna i pepsyna, natomiast nie jest naruszana przez enzymkarboksypolipeptydaza. Nie dializuje. Dalsze badania nad własnościami chemicznymi enzymu, przeprowadzone przez *Aylwarda* (44A), wykazały, że substancja czynna jest trwała w stanie suchym, w roztworze musi być przechowywana w chłodni. Oczyszczony enzym znosi 5 min: ogrzanie w temp. 100°. Daje słabo dodatni odczyn Molischa i w związku z tym poddany hydrolizie kwaśnej wyzwała w niedużej ilości substancje redukujące. Odczyny ksantoproteinowe i Millona wyraźnie dodatnie, natomiast odczyn biuretowy wypada słabododatnio. Analiza elementarna preparatu 3-krotnie wytrąconego acetonem wykazuje w odsetkach następujące wartości: 38 C, 5,8 H, 11,4 N, 0,98 S, 3,9 P i 19,7 popiołu.

IV. Metoda Morgana i McCleana (45).

Jądra bycze, po oddzieleniu błon i dodatków, rozdrabnia się w młynku. Na każde 500 g papki dodaje się 2 litry wody destylowanej i pozostawia w chłodnym miejscu na przeciąg 24 godzin. Na następny dzień sączy się przez gazę i dodaje do papki jeszcze 1 litr wody destylowanej, (na każde 500 g). Zabieg ten powtarza się na 3 dzień. Czwartego dnia zawiesinę wodną odsącza się przez gazę. Wszystkie trzy wyciągi wodne łączy się razem, jako wyciąg surowy. Do wyciągu surowego dodaje się kwasu octowego 2 N aż do uzyskania pH = 4,6. Osad, powstający po staniu w chłodnym miejscu przez noc, odrzuca się. Płyn znad osadu odciąga się, odwirowuje i dopełnia do wyjściowej objętości. Klarowny płyn nastawia się na pH 7,2—7,4 przez dodanie 2 N NH₄OH i dodaje się obojętnego roztworu octanu ołowiu (roztwór nasycony) w nadmiarze, tj. tyle, aby dalszy dodatek nie powodował powstawania osadu. Osad zbiera się na dnie naczynia po staniu przez noc w chłodnym miejscu. Płyn z nad osadu odciąga się, o ile jest mętny, sączy się przez filtr Seitza. Do tego płynu znowu dodaje się nadmiar nasyconego roztworu octanu ołowiu (20—30 ml na 4 l płynu) i przez dodatek 2 N NaOH nastawia się na pH 8,2—8,4. Osad zbiera się po staniu w chłodnym miejscu. Ten drugi osad po octanie ołowiu zawiera czynny enzym. Osad ten zamieszany w wodzie destylowanej, wziętej w ilości równej 1/10 objętości wyciągu surowego. Przez dodanie 2 N kwasu octowego (do pH 4,6) rozpuszczamy osad. Rozczyn sączymy przez filtr Seitza — rozczyń I.

Z rozczyń I wytrącamy na nowo osad przez dodanie obojętnego octanu ołowiu w nadmiarze i przez zalkalizowanie do pH 8,2—8,4. Powstały osad zawieszamy w wodzie destylowanej, wziętej w ilości równej 1/5 objętości rozczyń I.

Przez dodanie kwasu octowego osad zostaje rozpuszczony (jak wyżej). Po przesączeniu otrzymuje się rozczyzn II.

Rozczyn II dializuje się w błonie celofanowej zanurzonej w wodzie wodociągowej w ciągu 24 godzin aż do zniknięcia reakcji na jon Pb. Przy tym może dojść do wytworzenia osadu węglanu ołowiu, spowodowany działaniem CO₂ wody. Dializę prowadzi się dalej w niskiej ciepłocie w wodzie destylowanej doprowadzonej do pH 4,6—5 kwasem octowym. Węglan ołowiu zostaje rozpuszczony i dializę prowadzi się dalej aż do zniknięcia śladów ołowiu (dodatek H₂S do wody nie powinien dawać osadu).

W ten sposób otrzymany rozczyzn III należy przesączyć przez filtr bakteryjny i dla utrzymania aktywności enzymu należy przechować w chłodni i w optymalnym pH 4,6—5.⁴

Dalsze oczyszczenie enzymu można uzyskać przez wysalanie siarczanem amonu (do 40%) lub wytrącenie alkoholem (do 10%). Przy użyciu siarczanu amonu należy osad odrzucić i płyn dializować w wodzie destylowanej, lekko zakwaszonej aż do uzyskania ujemnej reakcji na jon SO₄ (próba z BaCl₂). Przy użyciu alkoholu należy powstały osad również odrzucić (jako nieczynny) i płyn z nad osadu dializować aż do usunięcia resztek alkoholu. Płyn tak oczyszczone nastawia się na pH 4,6 przy pomocy buforu fosforanowego.

V. Oczyszczenie hialuronidazy jądrowej według *Freemana, Andersona, Oberga i Dorfmana* (47A).

Poszczególne etapy otrzymywania bardzo oczyszczonych preparatów z jąder byka autorzy dzielą w sposób następujący:

1. ekstrakcja świeżej tkanki kwasem octowym,
2. wstępna precypitacja enzymu siarczanem amonu,
3. dializa i oddzielenie nierozpuszczalnych składników nieczynnych,
4. frakcjonowane wytrącenie siarczanem amonu,
5. frakcjonowane wytrącenie etanolem,
6. powtórne frakcjonowane wytrącenie etanolem,
7. frakcjonowane oddzielenie składników o niskiej aktywności siarczanem amonu lub etanolem.

ad 1. Jądra użyto w stanie zamrożonym. Po odmrożeniu zdejmuje się błony i przepuszcza się je przez maszynkę do mięsa. Ochłodzoną papkę jądrową miesza się w ciągu godziny z jednakową ilością wagową ochłodzonego 0,1 N kwasu octowego i mieszaninę tę zostawia się na noc w temperaturze 5°. Wyciąg w kwasie octowym odwirowuje się przy 5 000 obrotach w przeciągu 15 minut. Dwukrotna ekstrakcja pozostałości 0,1 N kwasem octowym użytym w objętości 1/3 podnosi wydajność enzymu o 15%. Zmieszane wyciągi sączono przez arkusze filtracyjne z miazgi drzewnej pod zmniejszonym ciśnieniem. Przesącz zawiera około 800 000 jednostek enzymu (z 1 kg świeżej tkanki). Wskaźnik oczyszczenia wynosił 250 j/1 mg N.

ad 2. Do 1 litra surowego wyciągu dodano 212 g siarczanu amonu energicznie mieszając. Płyn odstawiono na krótki przeciąg czasu do temperatury 5°. Nieczynny osad oddzielono na drodze sączenia. Do klarownego (czynnego) przesączu dodano jeszcze 282 g siarczanu amonu. Po staniu przez noc odrzuca się nieczynne pływające na powierzchni składniki i czynny precypitat odsąca się. Precypitat z każdego kg świeżej tkanki rozpuszcza się w 150—200 ml wody. Roztwór zawiera 90% enzymu (ekstrahowanego kwasem octowym). Wskaźnik oczyszczenia wynosił 800—1 200 jednostek enzymu/1 mg N.

ad 3. Dializę prowadzi się w przeciągu 12—14 godzin w temperaturze 5°. Składniki nieczynne pływające na powierzchni usuwa się. Płyn odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem. Dializę prowadzi się w niskiej temperaturze dla uniknięcia strat (od 20 do 40%).

ad 4. Uzyskuje się frakcje o wskaźniku oczyszczenia = 2000 j./l mg N. przy dalszych frakcjonowanych wytrąceniach autorzy otrzymywali niekiedy produkty oczyszczone wykazujące 18 000 j./l mg N.

B. Metody otrzymywania i oczyszczania hialuronidazy z hodowli bakteryjnych.

Do otrzymywania enzymu można użyć płynnych hodowli bakteryjnych zamiast jader zwierzęcych. Do tego celu nadają się zwłaszcza hodowle *Cl. perfringens*. Można bowiem natrafić na odpowiednie szczepy, które wykazują działanie dyfuzyjne w dawce 0,000015 ml przesączu hodowli (7). Z reguły przesącze hodowli *Cl. perfringens* wykazują działanie dyfuzyjne (*spreading*) w rozcieńczeniu 1:20 000 — 1:30 000. Stoi to w zgodzie ze spostrzeżeniami *Glenny'ego*, *Llewellyna* i *Masona* (46), którzy notowali szybkie wchłanianie toksyn *Cl. perfringens* przy do-skórnym i podskórnym wprowadzeniu koniom, bez zdania sobie sprawy z udziału hialuronidazy w tym zjawisku.

I. Metoda McCleana (7) otrzymywania hialuronidazy z przesączów hodowli *Cl. perfringens*.

Przesącz hodowli płynnej nastawia się na pH — 7 i na temp. 0—4°. Do oziębionego przesączu dodaje się obojętnego octanu ołowiu w nadmiarze. Powstały osad odrzuca się (nie zawiera czynnej substancji). Do płynu (pH=7; 0—4° temp.) dodaje się zasadowego octanu ołowiu w nadmiarze. Powstały osad (II), zawierający enzym, rozpuszcza się w wodzie destylowanej (1/60 objętości przesączu hodowli z dodatkiem 2 N kwasu octowego (pH 4,5). Dializuje się w lekko zakwaszonej wodzie destylowanej aż do zniknięcia odczynu na kation ołowiu.

II. Metoda Robertsona, Ropesa i Bauera (12) otrzymywania hialuronidazy z przesączy hodowli *Cl. perfringens*.

Metoda tych autorów jest znacznie prostsza od poprzedniej. Zagęszczenie hialuronidazy uzyskane tą metodą wynosi 900 razy. Do 500 ml przesączu 18-godzinnej beztlenowej hodowli bulionowej *Cl. perfringens* dodaje się 500 ml lodowatego acetonu i 0,5 ml nasyconego roztworu chlorku wapnia. Wytrącenie prowadzi się w temp. poniżej 10°. Powstający osad fosforanu wapnia adsorbuje na swej powierzchni hialuronidazę. Osad należy odwirować w 70 ml wody destylowanej. Adsorbens rozpuszcza się w 3 N kwasu octowym. Dializuje się w zimnej wodzie w ciągu 48 godzin. Rozczyn zawierający enzym, przechowywany w temp. 4°, wykazuje miesięczny ubytek aktywności równy 20%. Ogrzewanie w temp. 60° doprowadza do inaktywacji enzymu.

III. Otrzymywanie hialuronidazy z autolizatu bakterii metodą Meyera, Hobbeego, Chaffee'go i Dawsona (47).

Dla przykładu przytaczam sposób otrzymywania hialuronidazy z komórek pneumokoka. Użyto bezotoczkowego szczepu pneumokoka. Osad bakterii, uzyskany na drodze odwirowania z 9 litrów hodowli bulionowej (5,5 godz. wzrostu w temp. 37°), zawieszają w 500 ml soli fizjologicznej. Bakterie poddaje się 48 godzinnej autolizie w temp. 37° pod warstwą toluolu. Autolizat nastawia się na pH = 4,6—4,8 i odwirowuje w ciągu jednej godziny. Do płynu dodaje się 1 N kwasu siarkowego do uzyskania pH = 3,5—4; osad powstający po 1 godz. staniu w chłodni odrzuca się. Enzym zawarty w płynie wytrąca się przez dodanie 1/20

objętości 4% roztworu *Natrium flavianat* (naphtolgelb S) Żółty osad po odwirowaniu zawieszamy w 50 ml wody i rozpuszczamy, ostrożnie dodając 1 N NaOH. Następnie znów wytrącamy osad po dodaniu kilku kropel 10% kwasu octowego. Osad ponownie rozpuszcza się w 10 ml wody, zobojętnia ługiem sodowym i wysusza w aparacie próżniowym w stanie zamrożenia. Suchy preparat (wydajność 50—100 ml) wykazuje obecność enzymu po 6 miesiącach przechowywania w temperaturze pokojowej.

WYSTĘPOWANIE I WŁASNOŚCI KWASU HIALURONOWEGO

Kwas hialuronowy został po raz pierwszy wyosobniony z płynu szklanego oka bydłęcego (48). Następnie został otrzymany z peptyny ludzkiej (49), z paciorkowców hemolizujących grup A i C (50), z płynu synowialnego (51), z niektórych nowotworów mezenchymalnych (52), z płynu opłucnej i otrzewnej w przypadku *mesentelioma* (53), z guza *Rousa* i *Fuyinami* (54), ze skóry świń (55). Kwas hialuronowy prawdopodobnie występuje w międzykręgowym jądrze szklanym oraz w małych ilościach w tkance łącznej (56).

Kwas hialuronowy otrzymano z płynów szklanych różnych gatunków zwierząt. Ilości tego kwasu są różne: najmniejszą zawartość wykazuje płyn szklany kotów — 9 mg %, największą — płyn szklany bydła — 48 mg %. Pochodzenie kwasu hialuronowego w płynach oka jest niewyjaśnione. Obecność tego kwasu w płynach oka i brak jego w surowicy krwi świadczy raczej o jego wydzielniczym pochodzeniu (nie jest zaś dializatem). Enzymatyczna depolimeryzacja kwasu hialuronowego *in vivo* w płynach oka odbywa się stale i produkty depolimeryzacji są stale usuwane. Prawdopodobnie kwas hialuronowy i jego sole utrzymują turgor ciała szklanego w oku (57).

Kwas hialuronowy w płynie synowialnym występuje jako glikoproteina (57a). *K. Meyer* nie podziela tego zdania. Należy przypuścić, że kwas hialuronowy jest produktem wydzielania pewnych komórek wyściółki synowialnej. Na dowód powyższego twierdzenia można przytoczyć fakt wyosobnienia tego kwasu z przerzutów nowotworu — *synovioma* w wątrobie. W płynie synowialnym bydła stężenie kwasu hialuronowego wynosi 20—25 mg % (51). W stawie kolanowym chorych na gościec stawowy stężenie kwasu hialuronowego wynosi 60, 132 i 206 mg % (dane od 3 chorych). Płyn synowialny bydła wykazuje mniejszą lepkość niż płyn synowialny pochodzący od ludzi. Objętość płynu synowialnego, pobranego bezpośrednio po uboju bydła, jest stosunkowo duża — ok. 50 ml (57).

Płyny synowialne normalne (zawierające od 80—150 mg % kwasu hialuronowego) dają strąty włókniste zbite w metodzie turbidymetrycznej. Natomiast płyny patologiczne (zawierające od

80—270 mg % kwasu hialuronowego) dają jednolite zmętnienie w metodzie turbidymetrycznej. Chcąc oznaczyć zawartość kwasu hialuronowego w płynach normalnych metodą turbidymetryczną, należy dodać do nich nieznaczne ilości hialuronidazy (nie wystarczające do spowodowania rozpadu), która znosi zjawisko występowania zbitych włóknistych strąków. Przypuszcza się, że w płynach synowialnych patologicznych występują nieznaczne ilości enzymu — hialuronidazy.

W skórze i pępowinie kwas hialuronowy znajduje się w większych ilościach. W tych dwóch tkankach obok kwasu hialuronowego występuje też inny mukopolisacharyd — siarczan chondroityny w stężeniu mniej więcej równym. Obie te substancje należy uważać za podstawowy składnik cementujący te tkanki.

Podaję w skróceniu ogólne podstawy otrzymywania i oczyszczania kwasu hialuronowego z różnych źródeł (szczegółowa metodyka będzie podana niżej. Z płynów zawierających kwas hialuronowy wytrąca się go w połączeniu z białkiem. Do tego celu płyny rozcieńcza się 2—5 objętościami ochłodzonej wody i zakwasza je do pH 4 (50% kwasem octowym). Powstały „śluzowy skrzep“ zostawia się na 24 godziny w temperaturze 0°. Na następny dzień przemywa się ten „skrzep“ ochłodzoną wodą i wyciąga 5—10% octanem w pH=9 (przez dodanie ługu). Do otrzymania kwasu hialuronowego z tkanek (pępowiny, niektóre nowotwory, ciało szkliste oka itp.) najlepiej użyć je w stanie sproszkowanym. Z proszków, uzyskanych na drodze liofilizacji, wyciąga się kwas hialuronowy 5—10% octanem. Z roztworu wytrąca się kwas na drodze zakwaszenia do pH = 4 i dodania 1,5 objętości etanolu. Osad po odwirowaniu i przemyciu rozpuszcza się na nowo w octanie. Dalsze oczyszczenie jest jednakowe, mianowicie, dąży się do oddzielenia białek połączonych z kwasem hialuronowym. Można to osiągnąć na drodze dodania mieszaniny chloroformu i alkoholu amyłowego, która strąca białko w postaci żelu. Dalsze zanieczyszczenia azotowe usuwa się na drodze adsorpcji na wodorotlenku cynku w pH 7,2 lub na drodze adsorpcji na odczynniku Lloyda w pH = 4. Z płynu pozostającego nad osadem kwas wytrąca się 1,5 objętościami etanolu w pH = 4. Lepką masę rozpuszcza się w niewielkiej objętości wody, wytrąca alkoholem (w obecności octanu), osad przemywa się alkoholem i eterem i suszy w próżni nad P₂O₅.

Preparaty kwasu hialuronowego, otrzymane różnymi metodami, zawierają poza zanieczyszczeniami azotowymi domieszki glikogenu i siarczanów (organicznych i nieorganicznych). Glikogen można usunąć przez dodanie amylazy handlowej. O wiele trudniej pozbyć się domieszki siarczanów.

Oczyszczone preparaty kwasu hialuronowego bada się w następujących kierunkach: 1. azot oznacza się metodą Kjeldahla; 2. heksozoaminę, acetyl oznacza się metodą Kuhn-Rotha; 3. kwasy uronowe oznacza się metodą Tollens-Lefevre'a w modyfikacji Freudenberg'a i 4. oznacza się zawartość popiołu.

Wartość (α) 20 soli sodowej kwasu hialuronowego wynosi -70° . Lepkość względna (w porównaniu do 0,9% NaCl w temp. 37°) 0,3% roztworu soli sodowej kwasu hialuronowego wynosi 4 i różni się w zależności od źródła otrzymania. Długość cząstek różnych preparatów hialuronatów waha się w granicach od 4.800 A⁰ do 10 000 A⁰. Ciężar cząsteczkowy waha się w granicach od 200.000 do 500.000 (są to wartości minimalne).

Lepkość wyosobnionego kwasu hialuronowego jest mniejsza od lepkości płynów, z których został otrzymany. Brak jasnego wytłumaczenia tych różnic lepkości (procesy utlenienia, depolimeryzacji, dezagregacji itp.). W płynach ustrojowych kwas hialuronowy pozostaje w połączeniu z białkiem. Dodanie hialuronidazy do tych płynów obniża ich lepkość do wartości odpowiadającej białkom. Kwas hialuronowy występuje w płynach ustrojowych w różnym stopniu agregacji i polimeryzacji. Agregacja dotyczy słabych wiązań wtórnych pomiędzy wielocukrem i białkiem oraz pomiędzy cząsteczkami samych wielocukrów. W czasie wyodrębniania te słabe wiązania doznają rozerwania.

Dokładna struktura chemiczna kwasu hialuronowego nie jest znana. Analiza chemiczna wykazuje ekwimolarne ilości heksozoaminy, acetylu i kwasu uronowego. Glukozoaminę otrzymano w postaci krystalicznego chlorowodoru w ilości odpowiadającej 95% oznaczonej na drodze kolorymetrycznej. Kwas glukoronowy wykazuje się na drodze utlenienia kwasu hialuronowego przez dodanie HNO₃ do kwasu cukrowego (uzyskuje się krystaliczną sól potasową tego kwasu). Kwas hialuronowy w przeciwieństwie do siarczanu chondroityny nie zawiera (lub w b. małym stopniu) łańcuchów bocznych.

Podstawową jednostką w strukturze kwasu hialuronowego jest dwucukier — kwas aldobionowy, którego grupa aldehydowa jest związana z acetyloglukozoaminą.

Kwas hialuronowy wstrzykiwany zwierzętom nie powoduje powstawania przeciwciał.

Kwas hialuronowy, podobnie do innych dużych cząsteczek asymetrycznych (o budowie łańcuchowej) powoduje *in vitro* wzrost szybkości opadania krwinek (58). *Springarn* i *Jones* (59) stwierdzili, że kwas hialuronowy dodany do zawiesiny krwinek czerwo-

nych powoduje zjawisko zbijania się ich w słupki. *Zabłocki (60)* zbadał ilościowo zjawisko przyśpieszenia szybkości opadania krwinek i zbijania się ich w słupki. Autor stoi na stanowisku, że zjawisko to można wyzyskać do standaryzacji otrzymanych preparatów kwasu hialuronowego. Najmniejsze bowiem dawki kilku różnych kwasów hialuronowych (otrzymanych z pępowin) wykazały te same dawki, jeżeli chodzi o to zjawisko. Nieznaczne różnice dotyczyły zjawiska zbijania się krwinek czerwonych w słupki. O wykorzystaniu tej własności kwasu hialuronowego do miareczkowania hialuronidazy będzie mowa niżej.

MECHANIZM HYDROLITYCZNEGO DZIAŁANIA HIALURONIDAZY

Obecność 2 wiązań glukozydowych w cząsteczce kwasu hialuronowego: jednego, odnoszącego się do acetyloglucozaminy, drugiego — do kwasu glukoronowego, nasuwa przypuszczenie, że depolimeryzacja i hydroliza kwasu hialuronowego do jednocukrów wymaga obecności 2 enzymów. Porównawcze oznaczenia hialuronidazy, pochodzącej z różnych źródeł, rzeczywiście wskazuje na złożony skład hialuronidazy i potwierdza obecność w preparatach 2 enzymów: jednego atakującego długi łańcuch cząsteczki kwasu hialuronowego, drugiego hydrolizującego powstałe jednostki kwasu aldobionowego (61). Hialuronidaza pneumokoka hydrolizuje substrat w 100%, gdy tymczasem hialuronidaza jądrowa czyni to tylko w 50%. Duże różnice pomiędzy wartościami redukującymi a stopniem obniżenia lepkości substratu wykazują preparaty hialuronidazy otrzymane z pijawek, (62). Tenże badacz wyosobnił z hialuronidazy jądrowej 2 enzymy: mukopolisacharydazę — hydrolizującą do kwasu aldobionowego i mukooligosacharydazę (lub glukoronidazę) — hydrolizującą ten dwucukier do jednocukrów. Dwa te enzymy autor rozdzielił na drodze wysalania $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ i wytrącania octanem ołowiu. Drugi enzym wytrącał się w pierwszych frakcjach. Jeszcze jeden enzym daje się wyosobnić z surowych wyciągów jądrowych. Enzym ten nie pozostaje w związku z działaniem hialuronidazy na substrat, został on określony jako beta-acetyloglucozaminidaza. (*Helperich i Hoff (63)*) wyosobnili ten enzym z emulsji i słodkich migdałów. Daje się on oddzielić od hialuronidazy jądrowej za pomocą frakcjonowanego wytrącania octanem ołowiu lub siarczanem miedzi lub wreszcie adsorbcją na kaolinie. Ogólnie należy stwierdzić, na podstawie bardzo bogatego piśmiennictwa, że hialuronidazy z różnych źródeł zawierają różne enzymy, lecz ich liczba i sposób działania nie są w pełni jeszcze znane. Hia-

luronidaza jądrowa (oczyszczona) hydrolizuje oprócz kwasu hialuronowego 2 inne mukopolisacharydy: 1. kwaśny ester monosiarkowy kwasu hialuronowego, otrzymanego z rogówki (64) i 2. siarczan chondroityny otrzymany z chrząstki szklistej (65). Zwłaszcza hydroliza siarczanu chondroityny zasługuje na uwagę, gdyż związek ten występuje obok kwasu hialuronowego w tkance mezodermalnej (sznuru pępowinowy, skóra) w równej ilości. Powstaje pytanie, czy siarczan chondroityny jest substratem hialuronidazy? Na to pytanie należy odpowiedzieć negatywnie, gdyż hialuronidazy bakteryjne oraz hialuronidaza z pijawek nie rozkładają tego związku. Należy więc przyjąć, że enzym rozkładający ten siarczan występuje w wyciągach jądrowych obok hialuronidazy. Preparaty hialuronidazy z jąder, oczyszczone na drodze precypitacji acetonem, tracą zdolność rozkładania siarczanu chondroityny bez naruszenia aktywności hialuronidazy.

WPLYW RÓŻNYCH CZYNNIKÓW NA DZIAŁANIE HIALURONIDAZY

a) Wpływ pH.

Wpływ pH na czynność enzymu jest zależny od źródła jego otrzymania, od stężenia soli i od metodyki oznaczania. Jak wynika z badań Meyera i współpracowników (57), hialuronidaza jądrowa wykazuje 2 punkty optymalne pH: jeden około 4,5, drugi — ok. 5,7 (co świadczy m. in. o istnieniu 2 enzymów). Optymalne pH hialuronidazy otrzymanej z pneumokoków i *Cl. perfringens* wynosi 5,8. Cyfry optymalne pH dotyczą wartości otrzymanych przy oznaczaniu aktywności hydrolizującej enzymu. *Mc Clean* (66) wykazał dla hialuronidazy jądrowej znaczną zależność punktu optymalnego pH (metodą wiskozymetryczną) od stężenia soli. W buforze M 60 optymu pH wynosi 6,8, natomiast w buforze M 6 optymu pH przesuwa się do 5.

b) Wpływ soli

Badania *Robetsona* i współpracowników (12) wykazały, że dializowany preparat hialuronidazy otrzymany z *Cl. perfringens* nie działa na dializowany kwas hialuronowy. Dodatek fosforanu lub innych soli w stężeniach wzrastających 0,1 M wywołuje aktywność hialuronidazy. To samo stwierdzili *Madinavetia* i *Qurbell* (67) w stosunku do hialuronidazy jądrowej. Autorzy ci zwracają uwagę na korzystny wpływ soli kuchennej: optimum jest zawarty pomiędzy 0,07 a 0,17 NaCl.

c) Inhibitory hialuronidazy

Mc Clean (68) podaje, że surowiec świnki morskiej, królika, myczanu chondroityny na aktywność hialuronidazy. Kwas hialuronowy częściowo zdepolimeryzowany kwasem octowym także ujemnie wpływa na hialuronidazę. To samo potwierdził *Meyer* (57). Wykazał on ponadto, że siarczan chondroityny działa w słabszym stopniu (stosunek 1:100). *Meyer* i współpracownicy (69) pierwsi wykryli zjawisko hamującego działania surowic normalnych ludzkich i zwierzęcych na aktywność hialuronidazy.

Mc Clean (68) podaje, że surowiec świnki morskiej, królika, myszy, konia, barana i człowieka działają hamująco zarówno na hialuronidazę jądrową jak i na hialuronidzę bakteryjną oraz jądów żmij. Według *Mc Cleana* działanie hamujące surowicy jest związane z jej frakcją pseudoglobulinową i prawdopodobnie zależne jest od zawartości węglowodanów w tej frakcji. *Meyer* (69a) wygłasza pogląd podobny, twierdząc, że węglowodany związane z frakcją globulin surowicznych zawierają, jako główny składnik, heksozoaminy. *Mc Clean* wreszcie przypuszcza, że substancje hamujące aktywność hialuronidazy, zawarte w surowicy krwi, są zbliżone swą strukturą chemiczną do kwasu hialuronowego.

Antyenzymatyczne działanie surowicy krwi osób chorych (zakażenia paciorkowcowe, gościec stawowy itp.) zależy od obecności swoistego przeciwciała — antyhialuronidazy i (70), i (71), i (72)). Antyhialuronidaza swoista jest związana z frakcją gama-globuliny. Ogrzewanie tego przeciwciała w temp. 56° w ciągu 30 minut niszczy je. Autorzy twierdzą, na podstawie swych prac, że przeciwciała to różni się od substancyj — inhibitorów, występujących w normalnej surowicy, które są ciepłoodporne, nie działają swoście oraz są związane z albuminami surowicy krwi.

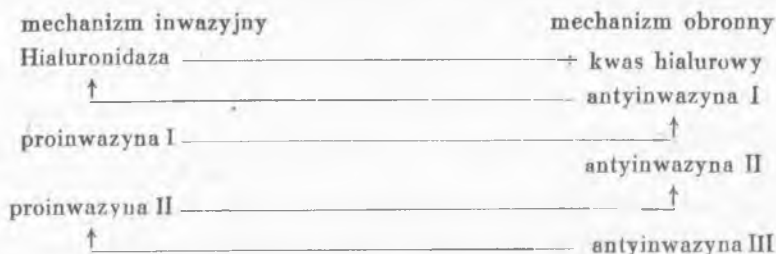
Poza przeciwciałami swoistymi w surowicach krwi można wykazać obecność całego szeregu substancyj ciepłotałych hamujących działanie hialuronidazy, tzw. czynników nieswoistych (nie przeciwciał), lub inhibitorów hialuronidazy. Do takich inhibitorów należą m. in. hormony steroidowe, pochodne hemoglobiny i sole żółci (73). Stężenie tych substancji we krwi w małym stopniu wpływa na własności antyenzymatyczne surowicy (chodzi tu o stężenie fizjologiczne). Są to czynniki hamujące ciepłotałe, ich aktywność nie wzrasta w obecności fosforanu (uwaga: jon magnezowy wpływa na zwiększenie właściwości hamujących surowicy krwi). Zawartość inhibitorów w surowicy krwi wzrasta w przebiegu niektórych chorób.

W ostatnich latach liczni badacze zajęli się zagadnieniem obecności i rodzaju inhibitorów hialuronidazy w surowicach krwi (74),

(75), (76), (77), (78). Na ogół ogromna większość badaczy stoi na stanowisku, że inhibitory są to sympleksy węglowodanowo-białkowe. *Zablocki* (79) stwierdził, że wzrost zawartości substancji wielocukrowych (wykazujących działanie antyenzymatyczne) w surowicach krwi osób chorych, jest powodem przyspieszenia szybkości opadania krwinek czerwonych w przebiegu wielu chorób.

O wzroście zawartości frakcji węglowodanowej w białkach surowicy krwi w przebiegu najrozmaitszych spraw chorobowych (przeważnie natury zakaźnej) donoszą: 1. *Blix, Tiselius*, i *Svenson* (80) stwierdzili wzrost zawartości frakcji węglowodanowej związanej z alfaboglobuliną (od 6% do 9,9%) w przebiegu krupowego zapalenia płuc. 2. *Nilson, West* (81) stwierdzili wzrost zawartości heksozoamin w białkach surowicy krwi w przebiegu wielu spraw gorączkowych. 3. *Winzler* i współpracownicy (82) stwierdzili wzrost mukoprotein plazmy u chorych na raka i zapalenie płuc. 4. *Troisier, Bariety, Brouet* i *Brissaud* (83) stwierdzili wzrost haptoglobiny (glukoproteina zawierająca 10% aminocukru) w przebiegu gruźlicy. 5. *Seibert, Atno* i *Seibert* (84) wykazali wzrost zawartości węglowodanów związanych z białkami surowicy krwi w przebiegu raka i gruźlicy. 6. *Prinzmetal* i współpracownicy (85) zauważyli wzrost mukoprotein w białkach surowicy krwi w przebiegu zawału mięśnia sercowego. 7. *Mehl, Golden* i *Winzler* (86) stwierdzili wzrost zawartości mukoproteiny — inhibitora hialuronidazy w surowicy krwi (wyosobnionej z surowcy na drodze elektroforezy w $\text{pH} = 4,5$) w przebiegu raka, zapalenia płuc i niektórych innych chorób. 8. *Niazi* i *Stote* (87) stwierdzili wzrost zawartości węglowodanu w surowicy krwi w przebiegu wielu chorób infekcyjnych. Potwierdzenie tego znajdujemy w pracy *Glicka* i *Galle* (88). 9. *Thompson, Frion* i *Werner* (89) stwierdzili wzrost inhibitorów (natury mukoprotein) w przebiegu chorób zakaźnych.

Do substancji hamujących działanie enzymatyczne hialuronidazy należy w końcu zaliczyć tzw. antyinwazyny Haasa (90). Antyinwazyny I, czynnik niszczący hialuronidazę, występują w surowicy ludzkiej, konia, bydła, królików, kur i ryb: Antyinwazyny są ciepłochwienne i nie działają przez błony celofanowe. Oprócz antyinwazyn I Haas odróżnia antyinwazyny II i III. Antyinwazyna II tym się różni od antyinwazyny I, że jest bardziej ciepłoodporna. Obecność antyinwazyny II wykazano tak samo w plazmie ludzkiej, bydłowej, kurzej i rybkiej. Stosunek antyinwazyn do hialuronidazy i proinwazyn (ciała niszczone przez antyinwazyny) daje się ująć w następujący schemat:



METODY OTRZYMYWANIA I OCZYSZCZANIA KWASU HIALURONOWEGO

Do wszystkich metod miareczkowania hialuronidazy *in vitro* używa się jego substratu — kwasu hialuronowego (który można otrzymać z pępowiny, ciała szklistego, płynu synowialnego grzebienia koguta itp.). Otrzymuje się preparaty substratu mniej lub więcej oczyszczone.

I. Otrzymywanie kwasu hialuronowego z płynu synowialnego metodą Robertsona, Ropesa i Bauera (12).

Płyn odwirowany (objętość = a) rozcieńcza się pięciokrotną ilością wody i dodaje kwasu octowego do stężenia 1%. Powstały osad przemywa się w wodzie i rozpuszcza się w 0,05 częściowym roztworze dwuzasadowego fosforanu sodu w objętości = a/2 (rozpuszczanie trwa 2 godziny). Do roztworu dodaje się 2 objętości etanolu energicznie mieszając. Wytwarzanie precipitatu polepsza dodatek 1 objętości eteru. Precypitat przemywa się w wodzie i znowu rozpuszcza w fosforanie jak wyżej. Roztwór II wlewa się do 1% kwasu octowego wziętego w objętości = 2a. Wytrąconą mucynę przemywa się i rozpuszcza w 0,5% roztworze węglańku sodu. Dializuje się w zimnej wodzie w przeciągu 2 godzin. Po odwirowaniu klarowny płyn zagęszcza się w niskiej temperaturze i do konserwacji dodaje się 0,2 częściowego roztworu buforanu fosforanowego o pH = 7,4.

II. Metoda otrzymywania czystego kwasu hialuronowego z płynu synowialnego według Robertsona, Ropesa i Bauera (12).

Materiałem wyjściowym do uzyskania czystych przetworów kwasu hialuronowego jest precipitat otrzymany z 10 litrów płynu synowialnego przez wytrącenie kwasem octowym. Precypitat ten rozpuszcza się w 2 litrach 0,5% roztworu węglańku sodu. Ponowne wytrącenie przeprowadza się przez dodanie 4 objętości 2% roztworu kwasu octowego. Mucynę ponownie rozpuszcza się w 2 litrach 0,5% roztworu węglańku sodu. Kolejno 3. wytrącenie dokonuje się przez dodanie 2 objętości etanolu zakwaszonego kwasem octowym. Precypitat po alkoholu rozpuszcza się w 0,5% węglańku sodu i alkalizuje do pH = 9,0. Trawienie białek przeprowadza się trypsyną dodaną w ilości 5 g. w przeciągu 36 godzin w temperaturze 38°. (Po trawieniu dodanie rozcieńczonego kwasu octowego nie powoduje mętnienia). Dla usunięcia resztek substancji białkowych dodaje się kwasu trójchlorooctowego do uzyskania stężenia kwasu = 10%. Po odwirowaniu zobjętnia się płyn klarowny ługiem i dodaje 3 objętości etanolu. Osad zbiera się do 600 ml wody i znowu dodaje 3 objętości etanolu. Ostatecznie przemywa się osad eterem zakwaszonym kwasem octowym i suszy w próżni. Autorzy z 10 litrów płynu synowialnego

otrzymali 3 gramy wielocukru (kwasu hialuronowego) w postaci proszku. Proszek ten rozpuszcza się łatwo w wodzie. Roztwór 0,2% tego proszku wykazuje lepkość 40 razy większą od lepkości wody w temperaturze 25°.

III Otrzymanie preparatów mucyny z pępowin według Favilli'ego (91).

Pępowiny tuż po porodzie przemywa się i przechowuje w acetonie. 10—15 pępowin miele się jednorazowo w maszynce do mięsa. Do otrzymanej papki dodaje się 500 ml kwasu octowego. Po 24 godzinach papkę wyciska się, przemywa alkoholem do usunięcia nadmiaru kwasu octowego i ekstrahuje się 300 ml wody zalkalizowanej przez dodatek NaOH. Papkę wyciska się przez warstwy z gazy a płyn wyciśnięty odsącza się. Ekstrakcję przy pomocy wody alkaliczowanej powtarza się jeszcze 2 razy. Zmieszane 3 wyciągi wodne traktuje się alkoholem wziętym w objętości = 4—5. Mucyna wytrąca się w postaci masy nitkowatej. Nitki mucyny wyłapuje się przy pomocy bagietki szklanej. Jednocześnie powstający proskowaty osad należy odrzucić. Nitki mucyny rozściera się na dnie dużej płytki Petri'ego i poddaje się suszeniu w próżni nad CaCl₂. Masę wyschniętą rozciera się w moździerzu na proszek. Proszek ten rozpuszcza się w wodzie, w stężeniu 0,25% (w soli fizjologicznej) daje dostateczny lepki roztwór.

IV. Otrzymanie preparatów mucyny z ciała szklistego według Favilli'ego (91).

Świeże ciała szkliste bydła w ilości 30 sztuk wyciska się przez gazę. Ciągający się płyn zadaje się 4—5 objętościami acetonu ciągle mieszając. Powstaje nitkowata masa podobna do azbestu. Masę tę zbiera się bagietką szklaną, przemywa acetonem i poddaje się wstępnemu suszeniu w cieplarni w przeciągu kilku godzin. Końcowe wysuszenie przeprowadza się w ekcykatorze w próżni. Dla uzyskania proszku rozciera się masę wysuszoną w moździerzu. Otrzymany w ten sposób proszek jest słabo rozpuszczalny. Najlepiej do badań ekstrahować go w roztworze buforanu fosforanowego, po odwirowaniu uzyskuje się klarowny lepki roztwór.

Ekstrakcja 10 ml soli fizjologicznej 125 mg proszku daje w przybliżeniu roztwór odpowiadający pod względem lepkości rozworowi 0,25% mucyny otrzymanej z pępowin.

V. Otrzymanie kwasu hialuronowego z grzebieni kogucich według Boosa (92).

Dojrzałe grzebienie kogucie zbiera się w 4 godziny po zabiciu. 500 gr przepuszcza się 2-krotnie przez elektryczną maszynkę do mielenia mięsa (o otworach 1/8 cala). Papkę zadaje się 1 litrem acetonu w lodówce. Po upływie 24 godzin masę się wyciska od acetonu i dodaje się świeżego acetonu. Czynność tę powtarza się 10 razy. Po ostatnim wyciśnięciu odparowuje się resztki acetonu w strumieniu powietrza. Waga odtłuszczonych i wysuszonych grzebieni wynosi 80 g. Ekstrakcję przeprowadza się octanem sodu 5% wziętym w ilości 1 litra. Czynność tę powtarza się 10-krotnie w odstępach 24-godzinnych. Za każdym razem płyn wyciska się przez worek od sera. Resztę po ostatniej ekstrakcji odrzuca się. Z wyciągu wytrąca się mucynę 1,5 objętościami alkoholu. Precipitat rozpuszcza się w 5% octanie sodu. Po odwirowaniu otrzymuje się klarowny płyn. Substancje białkowe oddziela się na drodze kilkakrotnego dodawania chloroformu i alkoholu amyłowego aż do ustania wytwarzania galaretki (alkohol amyłowy bierze

się w stosunku 1:4 lub 1:2). Po przeprowadzeniu dializy dodaje się octanu sodu do otrzymania stężenia = 5%. Po zakwaszeniu do pH = 4,0 wytrąca się mucynę etanolem. Precypitat po alkoholu suszy się w próżni nad CaCl₂.

METODY OZNACZANIA HIALURONIDAZY

Opisane dotąd metody oznaczania hialuronidazy dzielą się na biologiczne, fizyko-chemiczne i chemiczne. Metody biologiczne opierają się na zdolności przenikania tego enzymu. Hialuronidaza nie tylko sama jest obdarzona zdolnością rozprzestrzeniania się w skórze, ale jednocześnie zwiększa w znacznym stopniu zdolność do wchłaniania dodanych substancyj, jak barwników, bakterii, jadów i wirusów.

Najczęstsze zastosowanie mają metody fizyko-chemiczne. Test mucynowy McCleana i Hale polega na rozczepieniu przez hialuronidazę sympleksu: kwas hialuronowy + białko. Sympleks ten wytrąca się rozcieńczonym (2N) kwasem octowym, dając zmętnienie. Natomiast kwas hialuronowy sam nie daje zmętnienia z kwasem octowym. Badania Mc Cleana i współpracowników wykazały złożoną budowę hialuronidazy. Toteż rozkład substratu przez enzym odbywa się stopniowo. Najpierw ulega rozbiciu związek między kwasem hialuronowym a białkiem (I faza została właśnie wyzyskana do opracowania testu mucynowego Mc Cleana). W fazie II następuje depolimeryzacja, z którą łączy się utrata lepkości. To zjawisko zostało wyzyskane do opracowania metod wiskozymetrycznych i turbidimetrycznych oznaczania hialuronidazy *in vitro*. Wreszcie w fazie III następuje hydroliza wiązań glikozydowych między acetyloglukozoaminą a kwasem glukoronowym, przy czym powstają substancje redukujące. Ta z kolei faza została wyzyskana do opracowania metody chemicznej określania zawartości hialuronidazy. Porównawcze określenia hialuronidazy różnymi metodami (biologiczną, fizyko-chemicznymi i chemiczną) nie zawsze dają wyniki zgodne. Zwłaszcza największe różnice zachodzą między metodą *in vivo* a metodami *in vitro*. Metoda *in vivo*, aczkolwiek najbardziej czuła, jest jednocześnie najmniej swoista.

METODY BIOLOGICZNE

Metody biologiczne zostały opracowane przez Duran-Reynalsa — odkrywcę hialuronidazy jądrowej. Dokładne omówienie metodyki oznaczenia hialuronidazy *in vivo* znajdziemy w jego pracy z r. 1942 (93). Z góry musimy się zastrzec, że metoda *in vivo* nie może być uważana za swoistą, gdyż wiele nieswoistych czynników może wpływać przyspieszająco lub opóźniająco na zjawiska dyfuzyjne

w skórze (jak np. glukozyt florydzyina — (94), uretan i glukonian wapnia — (95), kallikreina — (96), azoproteiny i As_{203} — (97).

Przetwory badane na zawartość hialuronidazy (szereg rozcieńczeń) wstrzykuje się doskórnie królikowi (najlepiej samiczce zdepiłowanej w sposób mechaniczny) z dodatkiem 0,75% błękitu trypanu w soli fizjologicznej. Zazwyczaj bierze się 0,1 ml badanych rozcieńczeń i 0,1 ml roztworu barwnika, aby łączna dawka doskórna nie przekraczała 0,2 ml. Jako kontroli używa się soli fizjologicznej (0,1 ml i roztworu barwnika 0,1 ml). Po upływie określonego czasu (wykazującego *maximum* różnic) notuje się wymiary powierzchni barwnych zarówno w próbie głównej jak i kontroli. Według *Humphreya* (99) powiększenie plamy barwnej o 20% w porównaniu do kontroli należy ocenić jako wynik dodatni. Według *Meyera* (57), najlepszymi barwnikami do tej próby są: tusz indyjski oraz barwnik błękitny T1824. Inni badacze polecają 0,75% roztwór błękitu trypanu w soli fizjologicznej. *Mc Clean* i *Favilli* (98) stosowali zamiast barwników jad błoniczy. Wobec różnic dyfuzji w rozmaitych częściach ciała, najlepiej wykonywać wstrzykiwania doskórne w skórę grzbietu królika.

1. Metoda ilościowa *Humphreya*'ego (99)

Humphrey wstrzykuje przetwór badany doskórnie grupom z 6 świnek morskich. Zwierzęta zabija po 20 min. od chwili wstrzyknięcia; natychmiast usuwa skórę i oznacza wielkość pęcherzy na wewnętrznej stronie skóry. Dawka najmniejsza powodująca zwiększenie powierzchni pęcherza o 20% w stosunku do kontroli uważa za najmniejszą dawkę dyfuzyjną.

22. Odmiana metody oznaczania hialuronidazy *in vivo* według *Zablockiego* (11)

Posiłkując się między innymi metodą *in vivo* oznaczania hialuronidazy jądrowej i otrzymanej z hodowli bakteryjnych, natknąłem się na wiele niedogodności i nawet nieścisłości. Jak wiadomo jedyna metoda oznaczania hialuronidazy *in vivo* polega na różnicy powierzchni plam barwnikowych w skórze królika po spożyciu przetworu badanego i soli fizjologicznej jako kontroli. Stwierdzone przeze mnie nieścisłości są następujące: 1. granice plam barwnikowych są często zatarte i nie pozwalają na porównawcze oznaczanie ich powierzchni, 2. w razie dużej zawartości hialuronidazy w badanym przetworze (przesączu hodowli płynnej), nierzadko występuje zjawisko paradoksalnej; plama barwnikowa w porównaniu z kon-

trolną po soli fizjologicznej jest mniejsza. Tłumaczy się to szybszym wchłanianiem barwnika (błękitu metylenowego), 3. czas odczytywania (optymalny) jest różny dla rozmaitych przetworów badanych i nie da się z góry ustalić; na przykład dla hialuronidazy gronkowca optymalny czas stwierdzenia różnic wynosi tylko 20 minut, 4. roztwór barwnika, podany w piśmiennictwie, jest stanowczo za słaby; należy używać roztworów conajmniej 2 razy bardziej stężonych, to jest 1,5% (jeżeli chodzi o błękit metyl.).

Proponowana przeze mnie odmiana metody odznaczania *in vivo* hialuronidazy opiera się na następującym zjawisku: całkowite spłaszczenie bąbla, wywołanego w skórze królika przez doskórne wprowadzenie przetworu badanego w ilości 0,2 ml, następuje w różnym czasie w zależności od zawartości enzymu. Roztworu barwnika do tej odmiany nie potrzeba. Jako kontroli używa się soli fizjologicznej. W razie badania przesączy hodowli bakteryjnych na zawartość hialuronidazy używam dodatkowo jeszcze kontroli z gotowanym przesączem (hialuronidaza jest wtedy zniszczona).

Do próby tej należy używać samiczki. Depilację najlepiej wykonać mechanicznie, a nie chemicznie. Pielęgnację skóry królika osiąga się przez codzienne smarowanie gliceryną lub wazeliną natychmiast po odczytaniu wyników.

Zalety tej modyfikacji są następujące: 1. prostota wykonania, 2. dokładność w odczytywaniu, 3. szybkość — czas oznaczania nie przekracza 1 godziny, (szczegóły w oryginale pracy).

METODY FIZYKO-CHEMICZNE

Z metod fizyko-chemicznych wyróżniamy 3 najważniejsze: test mucynowy *Mc Cleana* („*the mucin clot prevention test*“), metoda wiskozymetryczna i metoda turbidimetryczna.

1. Test mucynowy *Mc Cleana*

Test mucynowy *Mc Cleana* opiera się na obserwacji, że naturalny kwas hialuronowy w roztworze kwaśnym w połączeniu z białkiem strąca się, dając włókienkowy strąk mucyny. Po potraktowaniu mieszaniny kwasu hialuronowego i białka hialuronidazą zmienia się charakter tego strątu (z włókienkowego — na kłaczkowaty) i ilość (aż do niewystępowania w ogóle). Stoi to w związku z ilością hialuronidazy. Próba ta była po raz pierwszy użyta przez *Robertsona, Ropesa i Bauera* (12) i następnie zmodyfikowana przez *Mc Cleana* i współpracowników (31). Próba ta jest bardzo prosta i nadaje się do oznaczeń seryjnych. Prawdopodobnie jest najbar-

dziej czułą do oznaczenia małych stężeń hialuronidazy. Błąd tej próby jest określony na $\pm 20\%$. Meyer (57) nie stwierdził korelacji pomiędzy tą próbą a metodą wiskozymetryczną.

2. Ujednostajnienie próby mucynowej McCleana przez Mogilewskiego i Kogana (4a)

Autorzy radzieccy zajęli się głównie sprawą ścisłej standaryzacji substratu do tej próby. W swojej pracy *Mogilewski i Kogan* udowodniają, że porównawcze wyniki miareczkowania tej samej hialuronidazy przy użyciu jednakowych ilości wagowych kilku substratów wybitnie się różnią (1 : 4 800 do 1 : 38 400). Autorzy stąd wnioskują, że przy miareczkowaniu aktywności hialuronidazy nie można używać stałej wagowej koncentracji substratów bez uwzględnienia ich własności — lepkości. Ponadto autorzy stwierdzili, że wzrost lepkości przetworów kwasu hialuronowego idzie w parze z ich zdolnościami wiązania się z białkami i dawania strąków mucynowych w kwaśnym środowisku. Dopiero użycie substratów mających jednakowe wartości lepkości (na drodze rozcieńczenia wodą) doprowadza do jednolitych wyników w próbie mucynowej. Optymalną lepkością dla różnych przetworów kwasu hialuronowego okazała się lepkość względna = 3. Standaryzacja substratów przez doprowadzenie ich do jednakowej lepkości wpływa na czułość próby mucynowej, pozwalając wykrywać małe ilości hialuronidazy nawet w hodowlach bakteryjnych. W swej poprzedniej pracy autorzy (100) wykazali wpływ aktywizujący elektrolitów na czynność hialuronidazy.

Opis metodyki: modyfikacja autorów przewiduje użycie następujących ingredientów: 1) preparaty soli sodowej kwasu hialuronowego utrzymuje się z pępowin; wodne roztwory nie powinny dawać strąków z kwasem octowym, 2) mieszanina substratu i białka i jej przygotowanie: roztwór kwasu hialuronowego o lepkości = 3 rozcieńcza się taką samą objętością normalnej rozcieńczonej surowicy końskiej (12 ml na 100 ml wody); mieszaninę tę należy przechowywać pod toluolem w lodówce; roztwór, który traci 5% lepkości podczas przechowywania, nie może być użyty do miareczkowania hialuronidazy, 3) bufor fosforanów $\frac{\text{Mo}}{15}$ pH = 7, 4) kwas octowy 2N, 5) inkubacja podczas miareczkowania powinna trwać 20 min., 6) szereg rozcieńczeń hialuronidazy badanej powinien wykazywać różnice o 50 lub 100%, 7) w kontroli używa się gotowego preparatu enzymu badanego.

MIARECZKOWANIE HIALURONIDAZY W MODYFIKACJI AUTORÓW

Do szeregu probówek dodaje się po 0,5 ml — buforu fosforanów o $\text{pH} = 7$. Do pierwszej probówki dodaje się 0,5 ml badanego roztworu hialuronidazy i po dokładnym wymieszaniu przenosi się 0,5 ml płynu z pierwszej probówki do drugiej; w ten sam sposób — z drugiej do trzeciej itd. aż do ostatniej. Z ostatniej probówki wylewa się 0,5 ml płynu. Do wszystkich probówek dodaje się (poczynając od końca) 1 ml mieszaniny : substrat + białko. Szybko i dokładnie miesza się i wstawia do cieplarki o temp. 37° . Po 20 min. statyw z probówkami wyjmuje się z cieplarki i przenosi do wody z lodem na przeciąg 5 min. Następnie dodaje się do wszystkich probówek po 0,2 ml 2N kwasu octowego i odczytuje się wynik miareczkowania. Największe rozcieńczenie badanego roztworu hialuronidazy, które zapobiega powstaniu strątu mucynowego, zawiera 1 jednostkę hialuronidazy.

Przygotowanie roztworu kwasu hialuronowego o względnej lepkości = 3: preparaty soli sodowej kwasu hialuronowego w stężeniu 0,05 — 0,1% całkowicie rozpuszczają się w wodzie destylowanej (najlepiej w temp. 37° i na drodze rozcierania). Lepkość oznacza się przy pomocy wiskozymetru Oswalda. Roztwór wyjściowy przez rozcieńczenie doprowadzamy, w miarę potrzeby, do lepkości = 3.

3. Metoda wiskozymetryczna w modyfikacji Meyera

Zaletą tej metody jest jej dokładność i prosta kinetyka przebiegu. Pierwszy dokładny opis tej metody podali *Madinaveitia* i *Quibell* (101). 5 ml 0,3% roztworu czystej soli sodowej kwasu hialuronowego, rozpuszczonej w 0,1 mol. buforu octanowego o $\text{pH} = 6$ zawierający 0,15 mol. chlorku sodowego ogrzewa się w temp. 37° w przeciągu 5 min. Rozpuszcza się 1 ml enzymu w powyżej przytoczonym buforze i dodaje się do 5 cm substratu (przygotowanej jw.). 5 ml mieszaniny (enzymu i substratu) przenosi się natychmiast do wiskozymetru Oswalda, umieszczonego w łaźni wodnej o stałej temp. 37° . Oznaczania lepkości wykonywane są kilkakrotnie aż do uzyskania wartości = połowie wartości wyjściowej. Jedną jednostką enzymu będzie ilość wymagana do uzyskania pół wartości lepkości w przeciągu 30 min. Lepkość substratu w kontroli (bez dodatku enzymu) wynosi ok. 4 w stosunku do rozpuszczalnika. Lepkość tego substratu pozostaje stałą w temp. 4° w przeciągu 2 tygodni.

4. Metoda turbidimetryczna w modyfikacji Meyera (57)

Próba turbidimetryczna została po raz pierwszy opisana przez *Kassa* i *Seastone* (102). Opiera się na obserwacji, że czysty kwas hialuronowy zmieszany z rozcieńczoną surowicą o $\text{pH} = 4,2$ daje stałą zawiesinę koloidalną, natomiast depolimeryzowany kwas hialuronowy daje roztwór klarowny. Metoda ta wymaga mało substratu i nadaje się do badań seryjnych.

W modyfikacji Meyera czas inkubacji pozostaje stały i reakcję prowadzi się w obecności chlorku sodowego. Rozcieńczenia enzymu w 1 ml 0,1 mol. buforu octanu o $\text{pH} = 6$ ogrzewa się w temp. 37° w przeciągu 5 min. Do każdej próbówki dodaje się 1 ml substratu zawierającego 4 mgr. (1 ml soli sodowej kwasu hialuronowego rozpuszczonej w mol.) 10 octanu o $\text{pH} = 6$ i 0,3 mol. chlorku sodowego. Mieszaniny wstawia się na okres 30 min. w temp. 37° . Następnie statyw z próbówkami przenosi się do łaźni wodnej o temp. 60° na przeciąg 10 min. dla inaktywacji enzymu. Z każdego rozcieńczenia odciąga się pipetą 1 ml do próbówki zawierających 3 ml 0,5 mol. octanu o $\text{pH} = 4,2$ i 1 ml zakwaszonej surowicy końskiej. Rozczyn białka przygotowuje się na drodze rozcieńczenia 10-krotnego jałowej surowicy końskiej (nie zawierającej środków konserwujących) z 0,5 mol. buforu octanu o $\text{pH} = 4,2$ i zakwaszonego do $\text{pH} = 3,1$ przez dodanie 4 N kwasu solnego. Zmętnienia odczytuje się po upływie 30 min. w temp. pokojowej w spektrofotometrze Colemana przy użyciu długości fali 580 milimikronów. Jako jedną jednostkę oznacza się tę ilość enzymu, która redukuje zmętnienie wykazywane przez 0,2 mgr. soli kwasu hialuronowego do wartości wykazywanej przez 0,1 mgr. Miano odczytuje się z krzywej standartowej, opracowanej z dziesięciu różnymi przetworami kwasu hialuronowego pochodzącego z różnych źródeł. Stcsunek jednostek oznaczonych wiskozymetrycznie do ilości jednostek oznaczonych metodą turbidimetryczną waha się od 1,2 do 1,4.

METODY CHEMICZNE

Chemiczne oznaczenie hialuronidazy polega na oznaczeniu ilości cukru redukującego lub na określeniu wolnej acetyloglukozoaminy. Jest rzeczą oczywistą, że do metod chemicznych należy użyć oczyszczonych soli kwasu hialuronowego o znanej zawartości heksozoaminy i kwasu uronowego. Kinetyka tych reakcji jest bardzo powikłana i wyniki otrzymane przy miareczkowaniu tą metodą różnych enzymów nie dają wartości jednakowych. Na ogół metody

chemicznej nie używa się do miareczkowania hialuronidazy, natomiast badania chemiczne używa się dla identyfikacji substratów.

METODA OZNACZANIA *IN VITRO* HIALURONIDAZY OPARTA NA ZJAWISKU OPANOWANIA KRwinek WEDŁUG ZABŁOCKIEGO (60)

Założenia teoretyczne: z badań wielu uczonych ((103), (104), (105), dowiedzieliśmy się, że liczne substancje (kwas dezoksyrybonukleinowy, wielocukry pneumokoka, niektóre wielocukry pałeczek *Salmonella* i inne) wpływają przyspieszająco *in vitro* na opadanie krwinek. Meyer, Hahnel i Fajner (58) wykazali w r. 1943, że dodatek kwasu hialuronowego tak samo wpływa przyspieszająco na opadanie krwinek czerwonych. Springarn i Jones (59) opisali ponadto ciekawe zjawisko zbijania się krwinek czerwonych w słupki pod wpływem dodania kwasu hialuronowego do krwi cytrynianowej. Do opracowania tej metody wyzyskałem właśnie zjawisko przyspieszenia opadania krwinek pod wpływem substratu hialuronidazy. Na wstępie należy oznaczyć najmniejszą ilość kwasu hialuronowego (otrzymanego zazwyczaj z pepowin metodą Favilli'ego) powodującą przyspieszenie opadania krwinek. Szczegóły techniczne znajdzie czytelnik w mojej pracy, ogłoszonej w Polskim Tygodniku Lekarskim, 1950 r. R. V., Nr. 14.

INNE METODY OZNACZANIA HIALURONIDAZY, MAJĄCE RACZEJ ZNACZENIE TEORETYCZNE

1. Metoda Fekete i Duran-Reynolsa (106)

Metoda oparta jest na obserwacji dezagregacji komórek foliularnych jaja ssaków *in vitro* pod wpływem hialuronidazy. Oznacza się czas niezbędny do wywołania całkowitej dezagregacji.

2. Metoda dekapsulacji otoczkowych szczepów paciorkowców

Metoda ta została opracowana przez McCleana (107). Polega ona na tym, że otoczki hialuronowe niektórych szczepów paciorkowców hemolizujących z grup A i C zostają zniszczone przez działanie hialuronidazy w materiale badanym. Metoda ta nie jest dokładna, gdyż drobnoustroje te mogą stracić swoje otoczki w różnych warunkach, gdzie udział hialuronidazy na pewno jest wykluczony.

PISMIENICTWO

1. Duran-Reynals F.: C. R. Soc. Biol. 1928, 99, 6.
2. Byczkow G. M.: Żurnal Mikr. Epid. i Immun., 1944, 12, 34.
3. McClean D.: J. of Path. 1930, 33, 1045—1070.
4. Byczkow G. M.: Uspiechi Sowr. Biol. 1948, 25, 1.
5. Hoffman D. C. i Duran Reynals F.: J. exper. Med. 1931, 53, 43—50.
6. Smirnowa L. G.: Uspiechi Sowr. Biol. 1947, 1, 302.
7. Sprunt D. H., Hooker Ch. W. i Raper J. S.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1939, 41, 398—402.
8. Mogilewski M. i Kogan L.: Woprosy Medic. Chim. 1949, 1, 344—356.
9. Pijoan M.: J. Exper. Med. 6931, 53, 37—42.
10. Goodner K.: J. of exper. Med. 1931, 54, 847—858.
11. McClean D.: J. of Path. 1936, 42, 477—512.
12. Duran-Reynals F.: J. exper. Med. 1933, 58, 161—181.
13. Zabłocki B.: Med. Dośw. i Społ. 25, 41—45.
14. Zabłocki B.: Med. Dośw. i Mikrob. 1949, R. 1, Nr 2.
15. Zabłocki B.: Polski Tyg. Lek. 1950, R. 5, Nr 24.
16. Robertson W., Ropes M. W. i Bauer W.: J. biol. Chem. 1940, 133, 261—276.
17. Sołowjowa J.: Żurnal Mikrob. Epid. Immun. 1945, Nr 1—2, 36.
18. Sołowjowa J. i Ananiewa E. P.: Żurnal Mikrob. Epid. i Immun. 1945, Nr 1—2, 41.
19. O'Meara: J. Path. Bact. 1941, 51, 317.
20. Zelewinskaja, Wołkowa i Konstantinowa: Żurnal Mikrob. Epid. i Immun. 1946, nr 5, 23—31.
21. McClean D. i Hale C. W.: Biochem. J. 1941, 35, 159.
22. Rogers H. J.: J. Path. Bact. 1944, 56, 284.
23. Rogers H. J.: Biochem. J. 1945, 39, 435.
24. Rogers H. J.: Biochem. J. 1946, 40, 583.
25. Zabłocki B., Szydłowski S. i Rolicka M.: O hialuronidazie gronkowców (w opracowaniu).
26. Crowley N.: J. Path. Bact. 1944, 56, 27.
27. Meyer K., Chaffe E., Hobby G. L., Dawson M. H.: J. exper. Med. 1941, 73, 309.
28. Hirst G. K.: J. exper. Med. 1941, 73, 493.
29. Blundell G. P.: Yale J. Biol. 1942, 14, 373.
30. Kass E. R. i Seastone C. V.: J. exper. Med. 1944, 79, 319.
31. Humphrey J. H.: J. Path. Bact. 1944, 56, 273.
32. Roe J.: Acta Path. Microb. Scand., 1944, 21, 587.
33. Schwabacher H., Cunliffe A. C., Williams E. O. i Harpner G. J.: Brit. J. Exper. Path., 1945, 26, 124.
34. Zabłocki B. i współpracownicy (w opracowaniu).
35. McClean D., Rogers H. J. i Williams B. W.: Lancet, 1943, 1, 355.
36. Hejman E. J.: Uspiechi Sowr. Biol., 1947, 23, 323—334.
37. Burdenko i Jermoljewa: cyt. wg Hejmana.
38. Smirnowa L. G.: Cyt. wg Hejmana.
39. Duran-Reynals F.: Science (N. Y.), 1936, 83, 286.
40. Zeller A.: Adv. in Enzymology, 1947, 8, 459—495.
41. Duran-Reynals F.: J. exper. Med. 1939, 69, 69—81.
42. Claude A.: J. exper. Med. 1937, 66, 353—366.

43. Duran-Reynals F. i Stewart F. W.: Amer. J. Canc., 1931, 15, 2790.
44. Van der Schueren G.: C. R. Soc. Biol. 1935, 120, 261—263.
45. Beyland E. i McClean D.: J. of Path. 1935, 41, 553.
46. Duran-Reynals F.: Bact. Revs., 1942, 6, 197.
47. Zablocki B.: Pol. Tyg. Lek., 1950, R. 5, Nr 35^o36.
48. Claudé A. i Duran-Reyne F.: J. exper. Med., 1937, 65, 661.
49. Aylward F. X.: Proc. Soc. exp. Med., 1937, 36, 477.
50. Morgan W. T. J. i McClean D.: J. Soc. Chem. ind., 1932, 51, 44.
51. Glenney A. T.: Llewellyn-Jones i Mason J. M.: J. of Path., 1931, 34, 201.
52. Meyer K., Hobby G. L., Chaffe E., Dawson M. H.: J. exper. Med., 1940, 71, 137.
53. Freeman, Anderson, Oberg i Dorfman: J. Biol. Chem., 1949, 180, 655.
54. Meyer K. i Palmer J. W.: J. Biol. Chem., 1934, 107, 629.
55. Meyer K. i Palmer J. W.: J. Biol. Chem., 1936, 114, 689.
56. Kendall F. E., Heidelberger M. i Dawson M. H.: J. Biol. Chem., 1937, 118.
57. Meyer K., Smyth E. M., i Dawson M. H.: J. Biol. Chem., 1939, 128, 319.
58. Kabat E. A.: J. Biol. Chem., 1939, 130, 143.
59. Meyer K. i Chaffe E.: J. Biol. Chem., 1940, 133, 83.
60. Pirie A.: Brit. J. Exper. Path., 1942, 23, 277.
61. Meyer K. i Chaffe E.: J. Biol. Chem., 1941, 138, 491.
62. Meyer K.: patrz Nr 57.
63. Meyer K.: Physiol. Reviews, 1947, 27, 335.
64. Bauer W., Roper M. W. i Waime H.: Physiol. Reviews, 1940, 20, 272.
65. Meyer K., Hahnel E. i Feiner R. R.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1945, 58, 36.
66. Spingarn C. i Jones J.: U. S. Navy Med. Bull., 1945, 44, str. 5 i 963.
67. Zablocki B.: Pol. Tyg. Lek., 1950, R. 5 Nr 14.
68. Hahn L.: Biochem. Z., 1943, 315, 83.
69. Hahn L.: Ark. f. Kemi, Miner. o Geof., 1945, 21A, Nr 1.
70. Helferich B. i Hoff A.: Z. f. Physiol. Chem., 1933, 221, 252.
71. Meyer K. i Chaffee E.: Amer. J. Opht., 1940, 23, 1320.
72. Medinavetia x. i Stacey M.: Biochem. J., 1944, 38, 413.
73. McClean D.: Biochem. J., 1942, 37, 169.
74. Medinavetia J. i Quibell T. H.: Biochem. J., 1940, 35, 453.
75. McClean D.: J. Path. Bact., 1942, 54, 284.
76. Hobby C. L., Dawcon M. H., Meyer K. i Chaffee E.: J. Exper. Med. 1941, 73, 109.
77. Meyer K.: Cold Spr. Harb. Sympos. Quant. Biology, 1938, 6, 91.
78. Moore D. H. i Harris T. N.: J. Biol. Chem., 1949, 179, 377.
79. Quin R. W.: J. of Clin. Investig., 1948, 27, 471.
80. Harris T. N. i Harris S.: The Amer. J. of Med. Scienc., 1949, 217, 174.
81. Wattenberg L. i Glick D.: J. Biol. Chem., 1949, 179, 1213.
82. Dorfman A., Melvin O. i Whitney R.: J. Biol. Chem., 1948, 174, 621.
83. Calesnick B. Bi Beutner R.: Proc. Soc. exper. Biol. Med., 1949, 72, 629.
84. Mehl J., Goledn F. i Winzler R.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1949, 72, 110.
85. Glick D. i współprac.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1949, 71, 412.
86. Freeman M., Whitney R. i Dorfman A.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1949, 70, 524.
87. Zablocki B.: Pol. Tyg. Lek., 1950, R. 5, Nr 33/34.

88. Blix, Tiselius i Svenson: Cyt wg K. Meyera w Adv. in Protein Chem., 1945, 249—275.
89. Nilson i West: cyt. jak 80.
90. Winzler R.: cyt. wg Glicka i współprac., Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1949, 71, 412.
91. Trisier, Bariety, Brouet i Brissaud: cyt. z książki P. Gastinel Prec. de Bacter., 1949, str. 759.
92. Seibert, Atno i Seibert: cyt. jak 82.
93. Prinzmetal i współprac.: cyt. jak 82.
94. Mehl J., Golden F. i Winzler R.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1949, 77, 110.
95. Niazi i Stote: cyt. jak 82.
96. Glick D. i Gal F.: J. of. inf. Dis., 1948, 83, 200.
97. Thompson, Frion i Werner: cyt. jak 82..
98. Haas E.: J. Biol. Chem., 1946, 163, 63, 89 i 101.
99. Favilli G.: Boll. Ist. Sierot. Milan., 1940, 19, 481.
100. Boos N.: J. Biol. Chem., 1949, 181, 573.
101. Duran-Reynal F.: Bact. Rev., 1942, 6, 197.
102. Schultz M. P. i Rose E. J.: Publ. Health. Rep., 1939, 54, 657.
103. Fivilli G.: Sperimentale, 1933, 87, 541.
104. Christiansen J. F.: J. of Path., 1939, 48, 287.
105. Claude A.: J. Exper. Med., 1939, 69, 641.
106. Mc Clean D. i Favilli G.: J. of Path., 1934, 38, 253.
107. Humphey J. H.: Biochem. J., 1943, 37, 177.
108. Mogilewski M. i Kogan L.: Biochimija, T. 13, 417, 1948.
109. Madinavetia J. i Quibell T. H.: Biochem. J., 1940, 34, 625.
110. Kass E. H. i Seastone C. V.: Exper. Med., 1944, 79, 319.
111. cyt. wg Rzucidło (p. 105).
112. cyt. wg Rzucidło (p. 105).
113. Rzucidło L.: Medycyna doświadczalna i Mikrob., 1949, 1, Nr 2.
114. Fekete E. i Duran-Reynals F.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1943, t. 52, 119.
115. McClean D.: J. Path. Bact. 1942, 54, 284.

Jerzy Borowski

PRZEGLĄD PRAC POLSKICH NAD BEZTLENOWCAMI W OKRESIE 1945 — 1950 R

1. MORFOLOGIA

Dość ciekawe fakty z dziedziny beztlenowo rosnących zarodnikowców zaobserwowali *H. Meisel, I. Rybicka, P. Meisel*, którzy przeprowadzali badania nad działaniem penicyliny na beztlenowce. Hodowle badanych bakterii zakładano w warunkach beztlenowych pod jałową parafiną lub do pożywki dodawano witaminę C i hodowano w warunkach tlenowych. W celu wykazania działania penicyliny używano metody seryjnych rozcieńczeń. Autorzy na podstawie własnych obserwacji potwierdzili fakty podawane przez badaczy anglosaskich, że beztlenowce rosnąc na podłożach z małą ilością penicyliny tworzyły kłaczki trzymające się ściany probówek lub opadające na dno (*H. Meisel, I. Rybicka, P. Meisel* — 10).

W wypadku dodawania do podłoża małych ilości sulfonamidów zjawiska podobnego nie zaobserwowano. (*H. Meisel, I. Rybicka, P. Meisel* — 14 — 17).

W preparatach mikroskopowych z hodowli z małą ilością penicyliny stwierdzono obecność długich cienkich nitek przypominających grzybnie. Dowodzi to, że penicylina — między innymi — powoduje powstanie zaburzeń w podziałach komórki bakteryjnej (10).

W preparacie tuszowym podbarwionym fuksyną autorzy stwierdzili, że laseczki *Cl. perfringens* nie miały owego szerokiego jasnego pola charakterystycznego dla tego drobnoustroju (10).

Utrata otoczki dowodzi, że atak penicyliny jest skierowany na ektoplazmę komórki.

Wreszcie autorzy zaobserwowali, że odczyn swoistego pęcznienia w wypadku hodowania na podłożach z małą ilością penicyliny jest ujemny (*H. Meisel, I. Rybicka, P. Meisel* — 10).

2. HODOWLA

Jak wiadomo jedną z metod usuwania tlenu z pożywki celem umożliwienia wzrostu beztlenowców jest metoda biologicznego od-

tlenienia bakteryjnych hodowli w płytkach Fortnerowskich. Meto-
dzie tej zarzucano jednak, że daje często wyniki ujemne i jest nie-
pewna przy badaniu materiału nieznanego. Prace *Blawata* rozwią-
zują pewne niejasności tej metody i definitywnie określają jej sku-
teczność. W pracy swojej autor poszedł dwoma drogami: z jednej
strony za pomocą bezpośrednich metod chemicznych obserwował
powstawanie warunków beztlenowych, z drugiej strony wysiewając
znane szczepy beztlenowców obserwował ich wzrost i przez to rów-
nież obserwował powstawanie warunków beztlenowych. Jako indy-
katora beztlenowości autor użył błękitu metylenowego (0,0015%
bł. met. na bulionie z 1% glukozy). Małe miseczki wypełnione wyżej
wymienionym wskaźnikiem wstawiał do płytek Fortnerowskich.
Jako reduktorów autor używał *B. subtilis* i *Chromobacterium pro-*
digiorum (*Serratia marcenscens*). W wyniku licznych prób autor
stwierdził, że wyżej wymienione bakterie wysiane na połowie płytki
powodują skuteczne odtlenienie środowiska, czego wyrazem jest
odbarwienie indykatora beztlenowości oraz wzrost wysianych zna-
nych szczepów beztlenowców. W wypadku zastosowania *Serratia*
marcenscens odbarwienie następowało w czasie około 18 godzin po
posianiu na połowie płytki. Odtlenienie musiało wystąpić jednak
wcześniej, gdyż według obserwacji autora czas odbarwienia indy-
katora wynosił około 3 godziny. W wypadku zastosowania *B. subti-*
lis czas odbarwienia indykatora jest dłuższy: opóźnienie to tłumac-
zy się czasem potrzebnym do rozwijania się form wegetatywnych
z zarodników (*Fr. Blawat* — 1, 2).

Zostało stwierdzone, że siła odtlenienia w zamkniętych płyt-
kach nie jest wprost proporcjonalna do powierzchni wysiewu tle-
nowców. Ważne jest to, że tlenowce używane w tej metodzie po-
winny być przyzwyczajone do podłoża, na którym będą wysiane.
W wypadku zastosowania nowego dla nich podłoża zostało stwier-
dzone znaczne opóźnienie czasu odbarwiania się wskaźnika, co się
tłumaczy prawdopodobnie dostosowywaniem się metabolizmu bak-
terij do zmienionego podłoża (*Fr. Blawat* — 1, 2).

Metoda hodowania beztlenowców na płytkach Fortnerowskich
przy użyciu wskaźnika przygotowanego jak wyżej jest metodą pe-
wną, zwłaszcza przy wykonywaniu prac naukowych, badaniu ma-
teriału nieznanego; pozwala wykryć błędy techniczne mogące się
zdarzyć zwłaszcza przy masowych badaniach. Takim błędem tech-
nicznym może być na przykład użycie płytek z drobnymi skazami na
szkle (*Fr. Blawat* — 1, 2).

3. WPLYW ŚRODKÓW CHEMOTERAPEUTYCZNYCH NA BAKTERIE

A. Wrażliwość

Jak zostało stwierdzone przez *H. Meisla*, *I. Rybicką* i *P. Meisel* wrażliwość całego szeregu beztlencowców na działanie penicyliny jest zmienna w zależności od podłoża i metody hodowania. Szczepy hodowane w warunkach beztlencowych na bulionie z glukozą są bardzo wrażliwe na działanie penicyliny (np. *Cl. histolyticum* w rozcieńczeniu 1:3 miliony). Wrażliwość w hodowli tlenowej na bulionie gronowym i w hodowli beztlencowej na podłożu wątrobowym jest mniejsza. Najmniejszą wrażliwość, bo w niektórych wypadkach ledwie dającą się stwierdzić jakościowo otrzymuje się z hodowli tlenowej na bulionie wątrobowym z dodatkiem wątroby i witaminy C. (10).

Już przedtem autorzy anglosascy stwierdzili, że penicylina działa na drobnoustroje tylko w warunkach sprzyjających ich rozwojowi. Wyniki badań *H. Meisla*, *I. Rybickiej*, *P. Meisel* wnoszą poprawki do powyższego wniosku. Autorzy stwierdzili, że stwarzając lepsze warunki rozwojowe nie osiągnie się zwiększonej wrażliwości. Wręcz przeciwnie — stworzenie bardzo dobrych warunków przez dobór podłoża (bulion wątrobowy z dodatkiem wątroby i witaminy C) — wybitnie obniżało działanie penicyliny. (10). Autorzy zjawisko to tłumaczą w ten sposób, że w lepszych warunkach rozwojowych drobnoustroje mobilizują swoje wszystkie siły obronne: między drobnoustrojem a penicyliną toczy się walka, w której drobnoustrój bierze żywy udział.

Penicylina działa na beztlencowce w różny sposób zależnie od dawki. Duże dawki penicyliny działają bakteriobójczo, mniejsze bakteriostatycznie.

Ci sami autorzy badając wpływ sulfonamidów na beztlencowce, potwierdzili wyniki innych badaczy, że beztlencowce są *in vitro* mało wrażliwe na sulfonamidy oraz że sulfonamidy działają bakteriostatycznie, a nie bakteriobójczo jak penicylina. (*H. Meisel*, *I. Rybicka*, *P. Meisel* — 14, 17).

Stwierdzono w wyniku dalszych badań, że między przetworami czynnymi jest duże zróżnicowanie stopnia aktywności. Najbardziej czynne okazały się dwa preparaty zawierające grupę tiazolową: ftiazol i sulfatiazol. Zaobserwowany fakt, że sulfatyl mimo, że zawiera także grupy tiazolowe nie wywierał żadnego wpływu na rozwój *Cl. perfringens* — jest dowodem, że należy bardzo ostrożnie wyciągać wnioski o wpływie sulfonamidów na beztlencowce na podsta-

wie budowy chemicznej preparatu (*H. Meisel, I. Rybicka, P. Meisel* — 14, 17). Poza tym stwierdzono, że różne szczepy laseczki zgorzeli gazowej okazują niejednakową wrażliwość na sulfonamidy (*H. Meisel, I. Rybicka, P. Meisel* — 14, 17).

B. Zjadliwość

W cyklu badań wyżej wymienionych autorów nad działaniem penicyliny na beztlenowce, zbadano wpływ penicyliny na zjadliwość niektórych szczepów beztlenowców. Doświadczenia polegały na tym, że szczepiono białe myszki zawiesiną, którą była hodowla *v. septique* na bulionie wątrobowym z dodatkiem małej ilości penicyliny. Stwierdzono, że penicylina spowodowała utratę zjadliwości. Myszki bowiem szczepione wyżej wymienioną zawiesiną (hodowla beztlenowa — dodatek penicyliny 1/800000) żyły do 8 dni. W wypadku szczepienia myszek zawiesiną z hodowli tlenowej z dodatkiem antybiotyku 1/400000 — myszki nie ginęły wcale (*H. Meisel, I. Rybicka, P. Meisel* — 10).

4. BUDOWA ANTYGENOWA

H. Meisel celem dokładniejszego poznania struktury antygenowej laseczki zgorzeli gazowej poddał analizie cztery szczepy pochodzenia zwierzęcego, wchodzące wraz z klasyczną laseczką zgorzeli gazowej pochodzenia ludzkiego do grupy *perfringens*. Do doświadczeń wziął następujące szczepy: B., C., D i *b. ovitoxicus*. Każdym z tych szczepów uodporniano króliki i sporządzano monowalentne surowice, po czym wykonywano odczyny aglutynacyjne. Stwierdzono, że: 1) odczyny aglutynacyjne ze szczepami wszystkich typów wchodzących w skład grupy *perfringens* mają charakter swoisty; 2) u typu A odpowiada każdej rasie serologicznej odmienny nie spotykany u innych typów aglutynogen; 3) każdy z badanych szczepów pochodzenia zwierzęcego ma odmienny aglutynogen nie mający nic wspólnego z aglutynogenem którejkolwiek rasy typu A. Szczepy D i *ovitoxicus* mają identyczny aglutynogen, należą zatem do tego samego typu (*H. Meisel* — 18).

Następnie autor metodą, którą opracowali Avery i Heidelberger, otrzymał z badanych szczepów ciała o charakterze wielocukrów. Analiza odczynów wiązania dopełniacza z tymi wielocukrami i porównanie wyników tu uzyskanych z wynikami aglutynacji wykazują, że: 1) aglutynogenem poszczególnych ras typu A odpowiadają wielocukry zróżnicowane serologicznie, nie spotykane u innych typów; 2) aglutynogenom poszczególnych typów zwierzęcych: B. C. D. *ovitoxicus* odpowiadają odmienne serologicznie wielocukry

nie wykazane u żadnego z ras typu A. Szczepy D i *ovitoxicus* mające wspólny aglutynogen mają i wspólny serologicznie wielocukier.

W dalszym ciągu autor opracował zagadnienie zmienności wzgl. dysocjacji i jej wpływu na budowę antygenową laseczki zgorzeli gazowej. Autor do doświadczenia wziął cztery szczepy *perfringens* typu A reprezentujące serologicznie inne rasy i odpowiadające wg terminologii *Stevensa Franklina* formie „M“ (tzn. przedstawiały formę gładką, otoczkową). Celem otrzymania wariantów autor hodował na bulione o pH 7,6 + 0,1% glukozy + surowica homologiczna. Co 24 godziny przesiewano drobnoustroje na nowe podłoże. Po 7—14 pasażach w zależności od szczepu drobnoustroje rozwijające się w bulionie przestawały ulegać aglutynacji i bulion stawał się mętny. Następnie kilkakrotnie przesiewano na agar i odwrotnie. W rezultacie otrzymywano czystą hodowlę z jednego rodzaju kolonii, odróżniającą się od kolonii szczepu wyjściowego. Wyodrębniane szczepy miały dużo wspólnych własności ze szczepami macierzystymi i to takich własności, na których w dużej mierze rozpoznawanie laseczek z grupy *perfringens* winno się opierać. Najważniejszą cechą odróżniającą te warianty od szczepów macierzystych był brak otoczki i co za tym idzie odmienny wygląd kolonii. W rezultacie wariant przedstawiał się więc jako bezotoczkowa forma beztlenowo rosnącego otoczkowca.

Największe różnice między szczepami pochodnymi a macierzystymi uwidoczniły się w odczynach serologicznych. Na podstawie odczynów aglutynacyjnych stwierdzono, że szczepom bezotoczkowym brak jest aglutynogenów powodujących zróżnicowanie rasowe szczepów otoczkowych. Szczepy bezotoczkowe, bez względu na to, z której rasy serologicznej je otrzymano, posiadają jeden wspólny aglutynogen.

Wyniki odczynów precypitacji i wiązania dopełniacza, w których rola antygeny była spełniana przez wyodrębnione ze szczepów bezotoczkowych ciała o charakterze wielocukrów, są podobne do wyników aglutynacyjnych odczynów drobnoustrojów, z których owe wielocukry otrzymano. Stwierdzono więc — wręcz przeciwnie jak u form otoczkowych — że jednemu aglutynogenowi wspólnemu wszystkim bezotoczkowym pochodnym odpowiada jeden wielocukier niestwierdzony zastosowaną techniką ani u szczepów otoczkowych typu A, ani u szczepów innych typów *perfringens*.

W dalszym ciągu swojej pracy autor poddał analizie ciała białkowe wyodrębnione z komórki metodą Lustiga. Białka wyodrębnione tą metodą są właściwie mieszaniną ciał białkowych, którą w bakteriologii określa się często nazwą nukleoproteidów. Wyodrębnianie tych ciał z form bezotoczkowych udawało się łatwo, ze szczepów

otoczkowych było to trudniejsze, a nawet niekiedy w ogóle niemożliwe.

Z roztworami tych ciał białkowych wykonano odczyny wiązania dopełniacza, używając surowic otrzymanych przez szczepienie królików pełnymi drobnoustrojami.* Stwierdzono, że nukleoproteidy wyodrębnione z laseczki zgorzeli gazowej są prawdopodobnie wspólne wszystkim typom laseczek z grupy *perfringens* i innym szczepom beztlenowo rosnących zarodnikowców sacharolitycznych, które wraz z laseczką *perfringens* wchodzi w skład jednej wielkiej grupy laseczek gangreny gazowo-wysiękowej. Otrzymano bowiem silne odczyny z surowicami szczepu *perfringens* B. C. D. i *ovitoxicus*, a nawet z surowicami sporządzonymi przy pomocy szczepów szelestnicy i *v. septique*.

5. TOKSYNY

Nad zagadnieniem toksyn wytwarzanych przez beztlenowce pracowali *H. Meisel*, *I. Rybicka*, *P. Meisel*. Badali oni wpływ penicyliny i sulfonamidów na wytwarzanie toksyn przez wyżej wymienione bakterie. W badaniach tych specjalną uwagę zwrócono na *Cl. perfringens* typu A; z całego szeregu toksyn wytwarzanych przez te bakterie określano miano tylko hemotoksyny.

Przed przystąpieniem do właściwego zagadnienia autorzy opracowali zagadnienie pewnych czynników wpływających na pojawienie się hemotoksyny w hodowlach *Cl. perfringens* typu A. Stwierdzono następujące fakty:

1) Bakteriologiczny pepton nie sprzyja wytwarzaniu się hemotoksyn. Dodatnio natomiast wpływa pepton typu proteose-pepton.

2) Dodatek inaktywowanej surowicy ludzkiej bardzo często powoduje obniżenie się miana hemotoksyn.

3) Dodatek białka jaja kurzego wybitnie ujemnie wpływa na wytwarzanie się hemotoksyn. Prawdopodobnie chodzi tu o hamujące działanie awidyny.

4) W granicach pH podłoża 7,0—7,6 obojętnym jest dla wytwarzania się hemotoksyn czy dodatek glukozy wynosi 0,2% czy 0,1%.

5) Pomimo zasiania tych samych szczepów beztlenowców w probówkach z bulionem tej samej serii, wartości hemotoksyn są bardzo różne.

6) Zawartość hemotoksyn w hodowlach 18 godzinnych jest identyczna z wartością hemotoksyn z hodowli 6 godzinnej.

7) Wartości hemotoksyn są różne w zależności od tego jakiego płynu użyto do rozcieńczenia.

Już na samym początku swych badań autorzy (*H. Meisel*, *I. Rybicka*, *P. Meisel*, — 11, 12, 13, 15) zwrócili uwagę na pewien fakt: w beztlenowej hodowli na bulionie z glukozą z dodatkiem ma-

łej ilości penicyliny stale stwierdzano większą zawartość hemotoksyny w porównaniu z próbkami z większą ilością penicyliny i próbkami kontrolnymi, tj. bez penicyliny.

Należy przy tym podkreślić, że wzrost miana hemotoksyn stwierdzano tylko i wyłącznie w hodowlach beztlenowych i tylko w wypadku *Cl. perfringens*, a nie np. *v. septique* (*H. Meisel, I. Rybicka, P.Meisel* — 11, 12, 13).

Autorzy na razie nie tłumaczą jaki jest mechanizm, który prowadzi do wzrostu miana ciał toksycznych pod wpływem małych dawek penicyliny. W każdym bądź razie odrzucają tłumaczenie, że pod wpływem małych dawek penicyliny bakterie ulegają rozpadowi i to powoduje przejście toksyn do podłoża. Przemawia bowiem przeciwko temu fakt, że dawka 0,125 działa silniej stymulująco niż dawka 0,5.

Odnośnie dawek większych, a więc 1/2 i 1/8 dawki bakteriostatycznej, nigdy nie stwierdzono, by pod działaniem penicyliny dodanej do podłoża średnia arytmetyczna opadła poniżej ± 26 obliczonej dla szeregu bez penicyliny. Gdy do miareczkowania użyto 0,9% roztwór NaCl stwierdzono wprost przeciwnie, iż wartość średnia D_{90} obliczona dla szeregu z penicyliną przekraczała przeważnie średnią ± 26 obliczoną dla szeregu bez penicyliny lub mieściła się w jego granicach. Szczególnie regularnie stwierdzano to zjawisko, gdy pH podłoża odpowiadało 7,5, mniej regularnie gdy oddziaływanie przesuwało się ku stronie zasadowej, brak zaś tego zjawiska, gdy pH równe było 7,0 (*H. Meisel, I. Rybicka, P.Meisel* — 13, 16).

Nigdy nie stwierdzono, żeby szczepy nie posiadające zdolności tworzenia toksyn, nabyły ją pod wpływem penicyliny.

Zupełnie inaczej wygląda sprawa z wytwarzaniem toksyn w wypadku dodawania do podłoża sulfonamidów. Stwierdzono, że tylko niektóre sulfonamidy są czynne, a i te różnią się od penicyliny sposobem działania na wytwarzanie hemotoksyn przez laseczki zgorzeli gazowej. Dodatek sulfonamidów w dużych lub małych dawkach nigdy nie spowodował wzrostu miana hemotoksyn. Wpływ czynnych sulfonamidów wyrażał się tylko obniżaniem miana hemotoksyn. Zostało stwierdzone, że właściwość obniżania miana hemotoksyn w hodowlach laseczki zgorzeli gazowej nie jest związana z wpływem sulfonamidów na rozwój komórki bakteryjnej.

Najbardziej ciekawe wyniki otrzymano w wypadku zastosowania kwasu para-amino-benzoowego. Stwierdzono brak konfliktu pomiędzy PABA a sulfonamidami w hodowli laseczki zgorzeli gazowej. Dodatek samego kwasu paraaminobenzoowego powoduje obniżanie się miana ciał toksycznych i to nawet w stopniu silniejszym niż dodatek sulfonamidów. W wypadku dodawania do podłoża

i PABA i sulfonamidów stwierdzono sumowanie się działania tych ciał (*H. Meisel, I. Rybicka, P. Meisel* — 14, 17).

Widać z tego, że teoria Woodes-Fildes'a o konflikcie sulfonamidów i PABA nie potwierdza się w stosunku do laseczki zgorzeli gazowej. Podobnie jak PABA działa i prokaina i sól sodowa kwasu paraaminosalicylowego. Między dawkami PASu, PABA i prokainy, a skutkiem ich działania istnieje zależność: im więcej tych ciał dodano, tym mniejsze spostrzegano miana hemolizyn.

Na podstawie osiągniętych wyników *in vitro*, autorzy sądzą, że wyżej wymienione związki mogłyby mieć znaczenie w profilaktyce i leczeniu chorób spowodowanych przez wyżej wymienione bakterie.

6. DIAGNOSTYKA BEZTLENOWCÓW

I. Rybicka (21) przeprowadziła różniczkową diagnostykę *Cl. perfringens* na podstawie pewnych zespołowych cech, biochemicznych. Autorka brała pod uwagę wytwarzanie hemolizyny na agarze cukrowym z krwią, wytwarzanie lecytynazy na podłożu agarowym z zawiesiną żółtka jaja kurzego, własności redukcji Na_2SO_3 w obecności FeCl_3 oraz brak wzrostu na powierzchni płytek agarowych w warunkach tlenowych. Zaletą tej metody jest prosta technika nie wymagająca specjalnej aparatury i szybkie otrzymywanie wyników (18—21 godz.).

7. CHOROBOTWÓRCZOŚĆ DLA LUDZI I ZWIERZĄT

W polskiej literaturze powojennej jest dużo stosunkowo doniesień o zachorowaniu na tężec u ludzi, u koni oraz jeden przypadek dość ciekawy ze względu na jego rzadkość u sukii w następstwie *pruritus gravidarum* (*A. Senze* 23).

Z oryginalnych prac — *Kostrzewski* przeprowadził badania nad przemianą materii u chorych na tężec. W badaniach tych wykonanych na 16 chorych, główną uwagę zwrócono na przemianę azotową i na przemianę gazową. Autor potwierdził badania innych, że w przebiegu tężca może nie dochodzić do wzmożonego rozpadu ciał białkowych, a więc i wywozu azotu (*J. Kostrzewski, B. Mach* — 7, 8). Natomiast stwierdzono, że zużycie tlenu u chorych zwiększyło się do 140% lub nawet 192%, przy czym współczynnik oddechowy był bardzo wysoki, gdyż dochodził do 1 (*J. Kostrzewski, B. Mach* — 7, 8). Z niezwiększonego wywozu azotu z jednej strony i wysokiego współczynnika oddechowego z drugiej strony, wynika, że u tężcowych chodzi o wzmożone spalanie ciał energetycznych. Jak wiadomo, pomimo wzmożonej przemiany materii, chorzy mają najczęściej stany podgorączkowe, natomiast tuż przed śmiercią gorączka pod-

nosi się do 40°, na zwłokach gorączka w pierwszych godzinach po śmierci może sięgnąć do 45°

Autor zjawisko to tłumaczy w następujący sposób: w przebiegu tężca ośrodek zawiadujący gospodarką cieplną potęguje działanie ośrodka potnego (chorzy na tężec obficie się pocą) i naczynioruchowego. Natomiast ośrodek cieplny nie tłumia czynności ośrodka przemiany materii lub tłumia niedostatecznie. Gdy sprawność ośrodka zawiedzie, a dzieje się to zwykle na krótko przed śmiercią, przychodzi do nagłego wzrostu temperatury. Natomiast dopiero po śmierci, kiedy rozprężeniu ulegnie razem z innymi czynność ośrodków zawiadujących gospodarką cieplną, występuje wybitnie wzmożone spalanie.

Autor nie tłumaczy, który ze stanów mięśni wchodzących w grę w przebiegu tężca powoduje wzmożone zapotrzebowanie tlenu: stale napięcie, czy okresowo występujące dodatkowe przykurcze, czy oba te stany razem wzięte. Ażeby to wyjaśnić należałoby wykonać badania prądów czynnościowych w mięśniach ludzi chorych na tężec *Bolechowski* na podstawie obserwacji 12 przypadków zatrucia jadem kielbasianym w dość obszernym artykule omawia obraz kliniczny tego schorzenia. Autor podkreśla duże znaczenie rozpoznawcze wyrazu twarzy chorego, który umożliwia doświadczonemu lekarzowi prawie pewne rozpoznanie tej choroby na pierwszy rzut oka (*F. Bolechowski*, — 3).

8. EPIDEMIOLOGIA I EPIZOOCJOLOGIA

Epidemii chorób spowodowanych przez beztlenowce w Polsce nie opisywano. Według *Maltańskiego i Bolechowskiego* (3) szczególnie częste występowanie zatrucia jadem kielbasianym w województwie poznańskim łączy się z miejscowym sposobem przechowywania środków spożywczych w postaci konserw oraz mięsa peklowanego. Być może, przypuszcza *Maltowski*, odgrywa tu pewną rolę właściwość gleby, na której *Cl. botulinum* chętniej bytuje.

Zagadnienie epizoocji powodowanych przez beztlenowce było częściej poruszane w literaturze polskiej.

Osiński opisał wybuch epizoocji bradsotu owiec, która spowodowała śmierć 67 owiec ze stada liczącego 302 sztuki w ciągu dwóch dni. Badania bakteriologiczne materiału zakaźnego wykazały obecność beztlenowca *B. gigas* (*J. Osiński*, 20).

Parnas (19) przeprowadzając badania nad pełnowartościową szczepionką przeciw beztlenowcowym zakażeniom u zwierząt przebadał materiały zakaźne od bydła, koni i owiec padłych wśród objawów gazowej gangreny. U krów padłych wśród objawów szelestni-

cy stwierdzał *Cl. chauvoei* w czystej postaci lub *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. histolyticum* i również *Cl. chauvoei*. (*Parnas*, 19).

Autor uważa za właściwe pozostawić nazwę szelestnicy schorzeniu wywoływanemu przez *Cl. chauvoei*, natomiast schorzeniom wywoływanym przez bakterie tej ostatniej grupy nadać nazwę paraszelestnicy.

U koni padłych wśród objawów gazowej gangreny stwierdził *Cl. septique*, *Cl. perfringens*, *Cl. putrificum*.

Autor po raz pierwszy w Polsce opisał gazową enteroksemię u jagniąt, która, jak stwierdził, była wywołana przez *Cl. perfringens*. (*Parnas*, 19).

9. SZCZEPIONKI

Wobec niedoskonałości metody Lèclainche-Vallé'go używanej w Polsce do 1939 roku, *Parnas* przeprowadził badania nad nową metodą produkcji pełnowartościowej szczepionki przeciw paraszelestnicy.

Autor do produkcji szczepionki brał *Cl. chauvoei* w ilości — 20, *Cl. perfringens* — 2, *Cl. septique* — 5, *Cl. oedematiens* — 3. Przed zaszczepieniem do pożywki (bulion cukrowy + 10% krwi + 15% żelatyny) szczepy te były pasażowane przez świnki morskie. Szczepionkę rozbijano na trzy elementy zasadnicze:

1) Młoda 24 godzinna hodowla bakteryjna, odwirowana, zabita 5% formolem. Zawiera młode komórki bakteryjne.

2) Hodowla 15 dniowa, nie odwirowana, zabita 5% formolem. Zawiera produkty rozpadu komórek bakteryjnych, ich endo- i egzotoksyny.

3) Płyn z nad odwirowanej 14—37 godzinnej hodowli, z dodatkiem 1,5% formolu. Jest to anatoksyna.

Po zlaniu tych trzech elementów w stosunku 5 : 2 5 : 2,5 autor otrzymał pełnowartościową szczepionkę, której wartość sprawdzona na świnkach morskich okazała się dość duża. Stwierdzono jej atoksyczność, oraz możliwość dwukrotnego szczepienia bez komplikacji. Przez uodparnianie wyżej wymienioną szczepionką stwierdzono powstanie odporności świnek morskich w stosunku do wyżej wymienionych bakterii na okres trzech miesięcy (*Parnas*, 19). *Kobusiewicz* omawia wyniki szczepień 60 tysięcy koni, będących własnością przedwojennej armii polskiej. Konie szczepiono trzy razy za pomocą anatoksyny tężcowej. Wyniki szczepień były bardzo dobre. Po trzecim szczepieniu nie padł ani jeden koń. Po drugim szczepieniu zachorowały na tężec tylko trzy konie, ale i te wyleczono za pomocą

surowicy przeciwężcowej. Autor uważa, że dzięki szczepieniom problem tęcza przestał istnieć jako niebezpieczeństwo (*T. Kobusiewicz*, 4).

10. LECZENIE

Wobec małego znaczenia surowicy przeciwężcowej w leczeniu chorych na tęzec, poszukuje się innego, bardziej skutecznego leku. *Kostrzewski* w 1946 roku zastosował insulinę w leczeniu chorych na tęzec. Otrzymane wyniki są bardzo ciekawe i obiecujące. Wstrzykiwanie insuliny chorym powodowało stopniowe ustępowanie drgawek tęcowych, szczękościsku, sztywności karku, znaczne zmniejszenie zużycia tlenu i całkowite wyleczenie.

(*J. Kostrzewski, Ciośńska J., S. Kownacki* — 5; *J. Kostrzewski* — 6; *J. Kostrzewski, B. Mach* — 7, 8). Z obcych autorów — *Hoff* i *Silberstein* stosowali surowicę z insuliną. Zdaniem *Löwiego* insulina ma właściwość zwiększania przepuszczalności ścian komórki dla antytoksyny. *Kostrzewski* przypuszcza, że insulina działa dzięki temu, iż wkracza w gospodarkę węglowodanową, a to dla mięśni przy udziale jaki im przypadek w obrazie tęcza musi mieć ogromne znaczenie. Pewne jest, że insulina działa skutecznie niezależnie, czy obok niej stosuje się surowicę czy nie. Wobec powyższego tłumaczenie, że insulina ułatwia przenikanie antytoksyny do komórek układu nerwowego, jest niewłaściwe. Według dzisiejszych zapatrywań tęzec wydaje się być zatruciem acetylocholiną. Możliwe, że esteraza cholinowa, której jak wiadomo zadaniem jest rozkładanie acetylocholinę jest zatruta lub zablokowana przez toksynę i to powoduje gromadzenie się acetylocholinę. Być może, że insulina spełnia tu rolę tego rodzaju, że uczynnia lub nawet zastępuje esterazę cholinową (*A. Senze, F. Wandokanty* — 22). Z innych doniesień *A. Senze* i *F. Wandokanty* opisują przypadek wyleczenia konia za pomocą insuliny (22).

A. Senze opisuje przypadek tęcza u suki wyleczony za pomocą insuliny (23).

PISMIENNICTWO

1. *Bławat Fr.* (1949): Badania nad biologicznymi metodami odtleniania bakteryjnych hodowli beztlennowych. Przegląd Epidemiologiczny, t. 56, str. 187.

2. *Bławat Fr.* (1949): Investigations on biological methods of reduction of anaerobic cultures. Bulletin of the Institute of Marine and Tropical Medicine, Medical Academy in Gdańsk. Poland. t. 2, str. 221.

3. *Bolechowski F.* (1949): Obraz kliniczny zatrucia jadem kiełbasianym (*botulismus*) — Nowiny Lekarskie, t. 56, str. 146.

4. Kobusiewicz T. (1947): Istota szczepień przeciwężcowych ludzi i zwierząt anatoksyną tężcową. *Medycyna Weterynaryjna*, t. 3, str. 510.
5. Kos'rzewski J., Ciośniński J. i Kownacki S. (1947): Insulina w leczeniu chorych na tężec. *Przegląd Lekarski*, t. 3, str. 550.
6. Kostrzewski J. (1948): O leczeniu chorych na tężec. *Przegląd Lekarski*, t. 4, str. 143.
7. Kostrzewski J., Mach B. (1948): Badanie przemiany materii u chorych na tężec. *Sprawozdania z czynności i posiedzeń Polskiej Akademii Umiejętności*, t. 49, str. 509.
8. Kostrzewski J., Mach B. (1949): Badanie przemiany materii u chorych na tężec. *Rozprawy Wydziału Lekarskiego Polskiej Akademii Umiejętności*, t. 11, str. 351.
9. Małtański S. (1947): Przyczynki do zatrucia jadem kiszkowca (*botulismus*). *Polski Tygodnik Lekarski*, t. 2, str. 443.
10. Meisel H., Rybicka I., Meisel P. (1947): Doświadczalne badania nad działaniem penicyliny na beztlenowo rosnące zarodnikowce. *Polski Tygodnik Lekarski*, t. 2, str. 347.
11. Meisel H., Rybicka I., Meisel P. (1947): Doświadczalne badania nad działaniem penicyliny na beztlenowo rosnące zarodnikowce. *Polski Tygodnik Lekarski*, t. 2, str. 1320.
12. Meisel H., Meisel P., Rybicka I. (1949): Wpływ penicyliny na wytwarzanie hemolizyn przez laseczki zgorzeli gazowej (*B. perfringens*) typu A. *Polski Tygodnik Lekarski*, t. 4, str. 361.
13. Meisel H., Rybicka I., Meisel P. (1949): Analiza wpływu penicyliny na wytwarzanie hemolizyn przez laseczki zgorzeli gazowej. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*, t. 1, str. 565.
14. Meisel H., Rybicka I., Meisel P. (1949): Wpływ sulfonamidów, kwasu paraaminobenzoesowego (PABA), prokainy, kwasu paraaminosalicylowego (PASu), na wytwarzanie hemotoksyn przez laseczki zgorzeli gazowej. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*, t. 1, str. 579.
15. Meisel H., Rybicka I., Meisel P. (1949): Wpływ niektórych czynników na pojawienie się miana hemotoksyny w hodowlach laseczki zgorzeli gazowej (*Cl. perfringens*) typu A. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*, t. 1, str. 473.
16. Meisel H., Rybicka I., Meisel P. (1949): Analiza wpływu penicyliny na pojawienie się hemolizyn w hodowlach laseczki zgorzeli gazowej (*Cl. perfringens*) typu A. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*, t. 1, str. 474.
17. Meisel H., Rybicka I., Meisel P. (1949): Sprawozdanie z X Zjazdu Mikrobiologów Polskich. *Przegląd Epidemiologiczny*, t. 3, str. 537.
18. Meisel H. (1946): Budowa antygenowa laseczek z grupy *perfringens* z uwzględnieniem zmienności. *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*, t. 25, str. 89.
19. Parnas J. (1945): Badania nad pełnowartościową szczepionką przeciw beztlenowcowym zakażeniom zwierząt. *Medycyna Weterynaryjna*, t. 1, str. 7.
20. Osiński J. (1946): Bradsot owiec. *Medycyna Weterynaryjna*, t. 2, str. 17.
21. Rybicka I. (1949): Sprawozdanie z X Zjazdu Mikrobiologów Polskich. *Przegląd Epidemiologiczny*, t. 3, str. 537.
22. Senze A., Wandokanty F. (1948): Przypadek tężca u konia wyleczony insuliną. *Medycyna Weterynaryjna*, t. 4, str. 376.
23. Senze A. (1950): Przypadek tężca u suki w następstwie *pruritus gravidarum*. *Medycyna Weterynaryjna*, t. 6, str. 417.

Tadeusz Zachorowski

BRUCELLOZA W POLSKIM PIŚMIENICTWIE POWOJENNYM (1945-50)

W naszym piśmiennictwie powojennym wszystkie doniesienia o brucellozie u ludzi i zwierząt odnoszą się do zakażeń ypu *brucella abortus bovis*. *Goldschmied* stwierdza, że z punktu widzenia klinicznego podział na typy jest nieswoisty. *Kodejszko* opisuje jeden przypadek brucellozy spowodowany zarazkiem typu *abortus bovis* u lek. wet.: *Parnas* stwierdza kilka przypadków brucellozy. Brucelloza u ludzi nosi w Polsce charakter zakażeń odosobnionych przywiązanych szczególnie do grup ludzi zawodowo narażonych na styczność z chorym bydłem. W pierwszym rządzie zapadają na brucellozę lekarze wet. i to w dość znacznym procencie, oraz obsługa oborowa. Wysoce prawdopodobne są przypadki u personelu rzeźnianego. *Kamińska* i *Szaflarski* uzyskali na drodze serologicznej 34 przypadki dodatnie i wątpliwe na 146 badanych surowic, pobranych od lekarzy wet. z obszaru śląskiego. Podobne badania przeprowadzone przez tych autorów wśród ludzi zajętych w oborach na Śląsku dały 13,1% reakcji dodatnich. Brucelloza bydła natomiast wykazuje poważne nasilenie. *Lipnicki* podaje dane dotyczące nasienia brucellozy w majątkach państwowych w roku 1949. Zakażonych było 18,62% krów i 2% buhajów. Według statystyki zebranej przez *Jakubowskiego*, odnoszącej się do pewnych okolic obszaru Śląska, przeszło połowa amtejszego bydłostanu wykazuje zakażenie brucellozą. Na 23 264 krów w latach 1947 i 1948 nie zostało pokrytych w należnym czasie 1 162 krów, co autor ten wiąże z brucellozą. *Jaśkowski* i *Wałkowski* stwierdzili przeszło połowę zagrod i blisko połowę pogłowia bydłowego w pewnych okolicach Pomorza zakażonych brucellozą. Badania *Czarnowskiego* objęły po jednej gminie każdego powiatu woj. gdańskiego. Na 10 596 sztuk przebadanego bydła autor ten stwierdził za pomocą odczynu zlepnego miano niższe od 1 : 25 u 9 627 sztuk. *Rydzak* przebadiał 100 krów z powiatu lubelskiego przeznaczonych na rzeź, stwierdzając zakażenie u 2 krów. Badania Grycza według doniesienia *Domańskiego*, dotyczące 194 buhajów z obrębu Pomorza wykazały 13% buhajów zakażonych bru-

cellozą. *Domański* przebadał 43 buhaje z tegoż terenu, stwierdzając zakażenie w wyższym procencie. Nie notowano zakażeń brucellozą u innych gatunków, poza jednym przypadkiem zakażenia 12 koni pochodzących z jednej stajni, przytoczonym przez *Szaflarskiego*. Autor ten stwierdził kilka poronień klaczy. Przypadek ten ilustruje dosadnie groźbą brucellozy dla naszego inwentarza użytkowego i znaczenie walki z nią. Poza zagrożeniem zdrowia ludzkiego brucelloza powoduje duże straty w cennym przychówku i poważny ubytek w produkcji mleka. Jak wynika z liczb podanych przez *Jakubowskiego*, 1 938 krów, według norm polskich powinno dawać rocznie 1 664 cieląt, w rzeczywistości dały 1 265; liczba ta obniżyła się jeszcze do liczby 1 121, przy uwzględnieniu liczby cieląt padłych krótko po urodzeniu. Strata cieląt wyniosła więc 543, co oznacza stratę 543 okresów laktacyjnych po 2 000 litrów mleka na krowę, czyli 1 066 000 litrów, albo 754 000 zł, licząc litr mleka po 0,75.

Walka z brucellozą była prowadzona przez służbę weterynaryjną wydaje pewne rezultaty, czego dowodem dane *Lipnickiego*, który zanotował spadek nasilenia zakażeń w roku 1949 w porównaniu z 1948, przy czym ilość zbadanego pogłowia bydłowego w 1949 wzrosła w porównaniu z 1948 o 125,76%.

Nasilenie zarazy szybko wzrasta w dużych stadach, gdzie zarazek szybko się uzjadliwia drogą licznych pasaży i gdzie następuje szybka propagacja. *Domański* zanotował to w pewnej dużej oborze, prowadząc swoje obserwacje, przy zachowaniu jednakowych warunków żywienia i higieny. Autor zaobserwował również raptowny wzrost poronień przy zagęszczaniu sztuk chorych w jednej oborze.

ROZPOZNANIE

Wielopostaciowość przebiegu klinicznego brucellozy u ludzi poważnie utrudnia rozpoznanie. *Goldschmied*, *Kodejszko* i *Parnas* zgodnie to podkreślają. Do klasycznych objawów należy falisty tor gorączkowy lub falistozwalniający o długim trwaniu, bóle stawów, ziębienie i dreszcze, poty, powiększenie śledziony i wątroby, mierna niedokrwistość z leukopenią i względną limfocytozą. Przy brucellozie przewlekłej brak objawów charakterystycznych i bardzo często brak objawów przedmiotowych. Tylko zespół badań klinicznych, bakteriologicznych i serologicznych umożliwia rozpoznanie. U zwierząt brucelloza przebiega najczęściej bezobjawowo, jedynym objawem chorobowym jest ronienie.

Dla rozpoznania laboratoryjnego duże usługi oddaje odczyn zlepty Wrighta. *Parnas* i *Stępkowski* sprawdzali jego wartość na zwierzętach doświadczalnych i krowach porównawczo z innymi od-

czynami. Prawdopodobieństwo wykrycia brucellozy dla odczynu aglutynacyjnego wynosi według tych autorów 95,5%, dla odczynu wiązania dopełniacza 86,4%, dla odczynu precypitacyjnego 65,6%. W pewnej ilości przypadków poszczególne odczyny serologiczne występowały samodzielnie przy ujemnych wynikach innych odczynów. Autorzy podkreślają, że z tych względów nie można opierać się na jednym odczynie, szczególnie w rozpoznaniu brucellozy u ludzi. *Czarnowski* porównywał czułość odczynu aglutynacyjnego w stosunku do odczynu wiązania dopełniacza na dużym materiale. Na 10 596 krów 9 627 krów wykazało miano niższe od 1 : 25; tylko 5 próbek krwi, które wypadły ujemnie w odczynie zlepnym, okazały się dodatnie w reakcji wiązania dopełniacza.

W badaniach *Parnasa* i *Stępkowskiego* wiązanie dopełniacza występowało równocześnie z aglutynacją w 74,3%, a odczyn wiązania dopełniacza występował dodatnio przy ujemnym lub wątpliwym odczynie aglutynacyjnym w 17,2% przypadków i odczyn wiązania dopełniacza wypadł ujemnie przy dodatnim odczynie aglutynacyjnym w 8,5% przypadków. *Parnas* i *Stępkowski* obserwowali występowanie odczynów rozpoznawczych w różnych okresach zakażenia. Zdaniem autorów w okresie pierwszym choroby do 5 tygodni występują odczyny aglutynacji, wiązania dopełniacza i precypitacyjny. W okresie późniejszym (do 16 tyg.) najczęściej występował odczyn aglutynacyjny i wiązania dopełniacza, mniej często występowały odczyn precypitacji i fagocytozy. W okresie późnym (powyżej 4 miesięcy) najsilniej i najczęściej występował alergiczny Burneta. Odczyn leukergiczny Flecka występował najwcześniej, ale i najszybciej zniknął.

Przy masowym rozpoznawaniu brucellozy jest rzeczą ważną określenie miana fizjologicznego surowic.

Już w 1939 roku *Stryszak* i *Karnicki* wykazali, że surowice krów nie zakażonych mogą aglutynować brucelle do miana 1 : 20, a w niektórych przypadkach nawet do miana 1 : 40. *Jakubowski* badając w kierunku brucellozy surowicę 245 krów, u których miał być zastosowany szczep 19, znalazł miano lepne surowicy krwi 1 : 20 u 206 sztuk. Wyżej wspomniany *Czarnowski* znalazł na 10 596 krów, miano niższe od 1 : 25 u 9 627 krów. Niestety autor ten nie przeprowadzał niższej aglutynacji. Inaktywowanie aglutynin fizjologicznych nie ma zdaniem *Anczykowskiego* większego znaczenia. Dotychczas obowiązuje miano lepne surowicy krwi 1 : 50 jako wątpliwe i 1 : 100 jako dodatnie, chociaż istnieje tendencja do obniżenia miana granicznego do 1 : 20. Według *Anczykowskiego* szereg czynników fizycznych może wpłynąć na mylną ocenę miana surowi-

cy krwi, co pokrywa się z powszechną opinią. Surowice trzęsione dają z reguły miano wyższe od rzeczywistego, surowice zanieczyszczone wykazują miano niższe lub tracą je zupełnie. Surowice ujemne zhemolizowane mogą dawać miano dodatnie. Dla uniknięcia strefy zahamowania w odczynie aglutynującym *Anczykowski* radzi stosować rozcieńczenia ramowe do 1:800 lub 1:1000. W rozpoznaniu brucellozy u buhajów według wielu badaczy badanie odczynu zlepnego z osoczem nasienia jest dużo czulsze, niż badanie surowicy krwi.

Bielanski, Szaflarski i *Wiśniowski* stwierdzili u pewnych buhajów miano zlepne spermy do 1 : 40 i 1 : 50, gdy równoczesne badanie surowicy krwi wykazało miano 1:12,5. *Domański* opierając się na badaniach *Bendixena* i *Bloma* stwierdził, na szczupłym zresztą materiale, u buhajów, wykazujących wyższe miana z surowicą krwi, zmiany w narządach płciowych, które jak wykazały badania *Bendixena* i *Bloma* w 58% takich przypadków świadczą o wydzielaniu zarazków ze spermą. W praktyce unasienienia sztucznego buhaje siewcy mają duże znaczenie epizootyczne i hodowlane. Wartość rozpoznawczą przedstawia również badanie odczynu zlepnego z serwatką mleka. *Kocowicz* i *Wiśniowski* stwierdzili u 15 krów, pochodzących z jednej obory miano 1:20 i 1:60, u których badanie krwi i reakcja wiązania dopełniacza wykazały zakażenie brucellą. 30% badanych próbek serwatki mleka dało jednakże wynik ujemny, mimo dodatniego wyniku z surowicą krwi.

Dla należytej oceny niskich mian w odczynie aglutynacyjnym potrzeba antygeny o wysokiej czułości i standaryzowanego. *Anczykowski* w przygotowaniu wzorcowego antygeny oparł się o wzorek z chlorkiem baru. Według tego autora do eliminacji szczepów R najlepiej się nadaje termoaglutynacja i próba z odczynnikiem *Millona*. Temperatura 60° stosowana w ciągu jednej godziny nie wpływa na aglutynatywność antygeny. Również ujemnego wpływu nie wywiera chinazol w rozcieńczeniu 1:2000, chloroform 1:1000, gonakryna 1:50000, fluorek sodu 1:2000. Do barwienia antygeny najlepiej nadaje się fuksyna zasadowa 1:25000, czerwień kongo 1 : 25000, purpura bromo-krezolowa 1 : 50000 i metachromgelb 1:25000.

Sprawą znalezienia odpowiednio czułego alergenu do odczynu *Burneta* zajmowali się *Parnas* i *Stępkowski*. Drogą gwałtownego i wielokrotnego zamrażania i odtajania, rozcierania i wirowania uzyskali antygen pochodzący z osadu i zawierający ślady komórek bakteryjnych, który, zdaniem tych autorów, daje odczyn znacznie czulszy, niż zwykła abortyna. *Parnas* i *Żebracki* opierając się na

metodzie Węgierki wywoływali stany hipoglikemiczne u królików zakażonych brucellozą, a następnie badali nasilenie odczynu Wrighta i Burneta u tak przygotowanych zwierząt. W wyniku badań stwierdzili nieznaczne odchylenie od normy w odczynie Wrighta lub jego kilkodniowy zanik. Odczyn Burneta występował u tych zwierząt z pewnym opóźnieniem i w słabszej formie, niekiedy zanikał zupełnie, by pojawić się na nowo po kilku dniach.

W rozpoznaniu serologicznym uwzględnia się zjawisko współaglutynacji brucelli z *b. tularensis*, *proteus X₁₉*, grupą rickettsji i pasteurilli. Rydzak przebadał 37 surowic ludzkich dających dodatni odczyn Weil-Felixa, stwierdzając u około 10% aglutynację brucelli do miana 1/40. Również surowice krów chorych na brucellozę aglutynowały *proteus X₁₉* do miana 1/40 w około 50% przypadków. Autor ten stwierdził również wspólny dodatni odczyn skórnny na antygen *proteus X₁₉*: antygen brucelli u królików zakażonych brucellą, albo *proteus X₁₉*. U osób wykazujących dodatni odczyn Weil Felixa, może wyjść dodatnio odczyn Burneta, mimo braku zakażenia brucellozą.

W Polsce zwalczanie brucellozy opiera się na eliminacji sztuk zakażonych bydła, które u nas stanowi rezerwuwar zarazka i stosowaniu szczepionki żywej, niezdadliwej pochodzenia amerykańskiego tzw. szczepu nr 19 (S. 19). Miarą efektu odpornościowego tej szczepionki jest aglutynacja dodatnia, dochodząca w 2 miesiące po szczepieniu do miana 1:100, nie jest jednak wykluczona możliwość wytworzenia się odporności u niektórych sztuk, wykazujących reakcję ujemną. Jakubowski stwierdził jeszcze w 3 miesiące po szczepieniu S₁₉ reakcję dodatnią u 84 krów, wątpliwą u 86 sztuk i ujemną u 39 krów na 209 krów badanych. Autor ten przyjął jako miano dodatnie 1:80; Parnas przygotował żywą awirulentną szczepionkę biliowaną, wzorowaną na szczepionce BCG o udowodnionej niezdolności do odzyskania zjadliwości. Szczepionka Parnasa nie była jednakże badana na bydło.

Leczenie. Goldschmied stwierdził za innymi badaczami, że skuteczność leczenia szczepionką brucelową dożylnie, polega na wywołanym wstrząsie, który ta szczepionka powoduje. Wywołanie więc u chorego wstrząsu nieswoistego i samoistnego może spowodować wyleczenie. Dlatego też wprowadził do terapii brucellozy u ludzi powodowanie stanów hipoglikemicznych według Węgierki. Autor uzyskał dobry efekt w przypadku rwy kulszowej na tle brucellozy. Swoją metodę leczenia Goldschmied stosował w niewielu przypadkach. Autor ten uzyskał również dobry wynik leczenia brucellozy u ludzi mieszkanką osarsolu (spirocydu), plasmochiny

(plasmocydu) i kofeiny. *Kodejszko* wyleczył przypadek brucellozy z objawami żółtaczkii uderzeniowymi dawkami cibazolu.

Uderza na ogół, że poza częstymi zakażeniami ludzi zawodowo narażonymi na zakażenie brucellozą, przede wszystkim lekarzami weterynaryjnymi, brak nam danych co do zasięgu brucellozy u ludności wiejskiej. Niewątpliwie wniknięcie w przyszłości medycyny do środowisk wiejskich bliżej wyjaśni tę kwestję.

PISMIENNICTWO

1. *Ancykowski F.*: W sprawie standardu odczynu aglutynacyjnego. *Medycyna Weterynaryjna*, 1949, doniesienie I, II, III, IV, V i VI nr nr 4 str. 146, 6 str. 258. 7 str. 304, 9 str. 411, 11 str. 516, 12 str. 575, 1947, doniesienie VII, VIII, IX nr nr 1, str. 15, 2 str. 82, 3 str. 158.
2. *Bieleński W., Szaflarski J. i Wiśniowski J.*: Badanie serologiczne nasienia buhajów na zakażenie pał. ronienia zakaźnego. *Med. Wet.* 1948 Nr 4 str. 248.
3. *Czarnowski A.*: Znaczenie oraz wartość aglutynacji i odczynu wiązania dopełniacza w diagnostyce brucellozy bydła rogatego. *Med. Wet.* 1950, Nr 2 str. 85.
4. *Domański E.*: Wpływ środowiska oraz wirulencji zarazka na występowanie poronień u bydła na tle choroby Banga. *Med. Wet.* 1949 Nr 7 str. 505.
5. *Domański E., Jąskowski L.*: Buhaje i brucelloza. *Med. Wet.* 1948 Nr 6. str. 374.
6. *Goldschmied A.*: Ważniejsze dane dotyczące przebiegu klinicznego i leczenia brucellozy. *Nowiny Lekarskie* 1945, rok 52 Nr 7-8, str. 1.
7. *Jakubowski St.*: Straty gospodarcze powodowane przez brucellozę u bydła rogatego. *Med. Wet.* 1949 Nr 1, str. 10.
8. *Jakubowski St.*: Przyczynek do wpływu szczepień X19 na miano aglutynacyjne u bydła w Polsce. *Med. Wet.* 1949 Nr 7, str. 498.
9. *Jąskowski L., Walkowski L.*, Obserwacje nad rozprzestrzenianiem gruźlicy i ronienia zakaźnego wśród bydła chłopskiego. *Med. Wet.* 1948 Nr 3, str. 162.
10. *Kamińska A., Szaflarski J.*: Brucelloza — choroba zawodowa lekarzy weterynaryjnych na terenie województwa śląskiego. *Ann. Un. M. C. S. Sectio DD* 1950, Vol. V. 12 str.
11. *Kamińska A., Szaflarski J.*: Badania serologiczne obsługi oborowej w kierunku brucellozy. *Med. Wet.* 1949 Nr 7, str. 511.
12. *Kodejszko E.*: O zbyt rzadkim rozpoznawaniu *brucellosis* u ludzi w Polsce i o jej obrazie klinicznym. *Nowiny Lekarskie* 1947, Rok 54, Nr 9, str. 155.
13. *Kocowicz J., Wiśniowski J.*, Serologiczne badania mleka rynkowego w Krakowie na brucellozę. *Med. Wet.* 1950, Nr 10, str. 589.
14. *Lipnicki J.*: Zwalczenie brucellozy, leczenie i zapobieganie. *Med. Wet.* 1948, Nr 9, str. 533.
15. *Lipnicki J.*: Zagadnienie zwalczania brucellozy, gruźlicy i jakości bydła w Polsce. *Med. Wet.* 1949, Nr 5, str. 330.
16. *Lipnicki J.*: Problem zwalczania chorób hodowlanych bydła w Polsce. *Med. Wet.* 1950. Nr 5, str. 274.
17. *Lipnicki J.*: Organizacja walki z gruźlicą i brucellozą bydła w Polsce. Warszawa 1949. Lekarski Instytut Naukowo-Wydawniczy.

18. Parnas J.: Szczepionka biliowana przeciw brucellozie. *Med. Wet.* 1945, Nr 7, str. 193.
19. Parnas J., Stępowski S.: Badania rozpoznawcze przebiegu brucellozy, *Ann. Un. M. C. S.* 1949 Sectio DD Vol. IV, str. 315.
20. Parnas J., Stępowski S.: Brucellina P. S. i Malleina P. S. *Polski Tyg. Lek.* Nr 46—47, str. 1332.
21. Parnas J., Zebracki A.: Ze studiów nad brucellozą. Wpływ wstrząsu insulinowego na odczyn Wrihgt i Burneta. *Polski Tyg. Lek.* 1946, Nr 19, str. 589.
22. Rydzak J.: Studia nad paraaglutynacją i paraalgerią doświadczalną przy zakażeniu *brucella abortus bovis* i *Proteus* X19. *Ann. Un. M. C. S. Sectio DD* Vol. IV, 10 str. 186.
23. Szaflarski J.: Dwa rzadkie wypadki wyosobnienia *Br. abortus* z poronionych płodów kłaczy. *Med. Wet.* 1948, Nr 6, str. 368.

J. Lachmajerowa

PROBLEM ENTOMOLOGII LEKARSKIEJ W PISMIENNICTWIE POLSKIM W LATACH 1945-1950

Doceniając ważność roli stawonogów w epidemiologii chorób zarówno inwazyjnych jak i infekcyjnych, badacze całego świata zwrócili uwagę na staranne opracowanie tej grupy zwierząt.

Zarówno wśród owadów jak i pajęczaków spotyka się gatunki, które w większości wypadków są pasożytami zewnętrznymi, atakującymi zwierzęta lub ludzi od czasu do czasu celem pobrania pokarmu, natomiast rzadziej są stałymi mieszkańcami ciała swoich gospodarzy.

Szkodliwy ich wpływ na organizm gospodarza polega na ciągłym nękananiu oraz na oddziaływaniu ich śliny, która zawiera składniki drażniące i jadowe, wywołujące patologiczne objawy, a w rzadszych wypadkach porażenia śmiertelne. Stawonogi przenoszą jaja oraz larwy robaków, które biernie lub czynnie mogą przedostawać się do organizmów zwierząt i ludzi. Najważniejszą jednak rolę odgrywają owady i pajęczaki w przenoszeniu chorób spowodowanych przez wirusy, bakterie, pierwotniaki i grzybki, zwłaszcza, że często są specjalnie przystosowane do rozprzestrzeniania tych zarazków.

Jak wykazały ostatnie badania, podtrzymują one w przyrodzie ogniska chorobowe, które na skutek często nieznanych przyczyn, mogą być rozniecone, grożąc rozszerzeniem się zarazka na większe obszary. Naturalnymi zbiornikami, z których stawonogi czerpią zarazki, są nosiciele ludzie, zwierzęta domowe a często nawet dzikie zwierzęta kopytne, gryzonie, ptaki itp.

W wielu państwach, indywidualne wzgl. zespołowe prace zoologów, mikrobiologów i klinicyistów doprowadziły do wyjaśnienia szeregu zagadnień lekarskich, a poważny wkład do osiągnięć nauki w tej dziedzinie dały zespoły badaczy radzieckich, które pod kierunkiem *Pawłowskiego*, *Bieklebieszewa*, *Pomerancewa* i in. opracowały i rozwiązały najbardziej żywotne problemy epidemiologiczne.

Badania przeprowadzone w Polsce nie wniosły większego dorobku do osiągnięć entomologii lekarskiej, a nieliczne prace, jakie

ukazały się w latach 1945—1950 świadczą o stosunkowo słabym zainteresowaniu zwłaszcza ze strony przyrodników, zagadnieniami tak ważnymi dla zdrowotności społeczeństwa.

KLESZCZE (IXODIDAE)

Morfologia

A. Namysłowska opracowała kleszcze zebrane w dziewięciu biotopach Białowieskiego Parku Narodowego. Z ogólnej liczby 1166 egzemplarzy zebranych na drobnych gryzoniach, przeważały nimfy i larwy. Dorosłych znaleziono zaledwie cztery sztuki.

W materiale tym autorka stwierdziła trzy gatunki: *Ixodes ricinus* L., *I. trianguliceps* Birula i *I. persulcatus* Schulze.

Odnosnie *I. persulcatus*, posiada ona wątpliwości, gdyż budowa znalezionej okazy odbiega od opisów podanych przez różnych autorów. Gatunek ten został znaleziony w ilości jednego egzemplarza dorosłego na norniku *Microtus* sp. w biotopie *Pinetum turfosum*. Długość capitulum 0,63 mm, szerokość 0,405 mm. Forma scutum podłużnie owalna, tj. różna od opisanej przez Pawłowskiego okrągło owalnej. Scutum zajmuje 2/3 grzbietowej części ciała. *Basis capituli* długa z widocznymi rogami, podczas gdy u *Pawłowskiego opisana* jest jako krótka i szeroka z wyraźnymi rogami. *Hypostom* kleszcza opisanego przez Namysłowską zwięża się ku górze i nie jest zaostroszony jak podają radzieccy autorzy. Formuła zębowa 4/4, tzn. również różniąca się od formuły cechującej *I. persulcatus*. Bruzda analna nietypowa. Wszystkie *coxae* zaopatrzone w małe wzgórki.

Autorka wysuwa dwie możliwości, które zadecydowały o różnicy pomiędzy *I. persulcatus* opisywanym dotychczas, a okazem badanym przez nią:

1. Zmienność została spowodowana odrębnymi warunkami życia.

2. Badany okaz może być odmianą *I. ricinus*. Dorosłych, należących do tego gatunku nie znajdowano na małych ssakach. Budowa tego kleszcza mogła ulec odchyleniom od normy na skutek żywienia się na tym samym zwierzęciu co larwa i nimfa. W wypadku, gdyby okaz ten był gatunkiem *I. persulcatus*, należałoby powątpiewać, że jest to odrębny gatunek. Sprecyzowanie tego zagadnienia jest ważne, ze względu na przenoszenie przez ten gatunek choroby wirusowej, encefalitu.

I. ricinus pochodzący z B. P. N. posiada formułę zębową 4/4, a nie jak niektórzy autorzy podają 3/3. Między *I. ricinus* i *I. persulcatus* istnieje biologiczne podobieństwo.

I. trianguliceps syn. *tenuirostris* Neuman. znaleziono w ilości 3 egzemplarzy dorosłych na darniówce, *Pitymys subterraneus* S. L. i na nornicy rudej *Clethrionomys glareolus* S. Chr. Wygląd okazów zgadza się ściśle z opisem Biruli, natomiast są różnice pomiędzy opisami innych autorów.

Ekologia

A. Namysłowska jest pewna jedynie dwóch gatunków *I. ricinus* i *I. trianguliceps*, a nie miała możliwości sprawdzenia czy badane przez nią imago oraz inne stadia rozwojowe należały do *I. persulcatus*.

Dorosła samica *I. persulcatus* została znaleziona na norniku *Microtus* sp. w biotopie *Pineto turfosum*.

Dorosłego *I. ricinus* nie znaleziono na żadnym małym ssaku nawet w biotopach, w których koszeniem zebrano wiele okazów.

Larwy i nimfy tego gatunku występowały na następujących ssakach: *Sorex minutus* L. *Microtus agrestis* L. *Microtus raticeps* Kay et. Bl. *Sorex macropygmeus* Karpiński Dhn. *Sorex araneus araneus*. *Micromys minutus* L., *Pitymys subterraneus* de Sol. Lone, *Neomys fodiens* Schr., *Apodemys flavicollis* Melch., *Sicista betulina* Pall. i *Avricula terrestris* L. Najwięcej osobników zebrano z *Sorex araneus*, który został znaleziony we wszystkich badanych biotopach. Z jednego gospodarza zebrano średnio 2—9,5 kleszczy. Najwięcej znaleziono ich w biotopie *Quercetum* i *Caricetum*, najmniej w *Pinetum turfosum* i *Fraxeto-Alnetum*. Kleszcze najliczniej występowały w czerwcu.

Najwięcej osobników gat. *I. trianguliceps* zebrano w czerwcu na *Sorex araneus* w *Piceto pinetum*, a larwy *I. ricinus* znajdowano na tym samym gryzoniu przeważnie w pseudo *Quercetum* i *Caricetum*. Biotop *Pinetum* był najuboższy w kleszcze.

MESZKI (SIMULIDAE)

Ekologia

T. Chrostowski podaje, że w r. 1947 w poznańskim masowo pojawiły się meszki *Danubio simulum macalatum*, wyrządzając wśród inwentarza żywego dotkliwe straty. Jeszcze w czasie okupacji zauważono je w tych okolicach, jednak ilość ich była stosunkowo nieznaczna.

Meszki spotyka się na ogół w klimacie kontynentalnym lub

przejęciowym. Bardzo pospolite są one w Bulgarii, Jugosławii, Rumunii i Niemczech.

Według *Wilhelmięgo* (1927 śmiertelne wypadki spowodowane pokłuciem przez meszki zdarzały się w Bydgoszczy i w okolicy Słubia, na wsch. brzegu Odry. W r. 1947 meszki spowodowały w Międzyrzeczu padnięcie 36 szt. w Obornikach natomiast kilkunastu szt. bydła.

Rozwój tych owadów trwa około 9 tygodni. Larwy żyją w wodzie o prądzie nie mniejszym jak 0,3 m/sek. Owad dorosły atakuje rano lub wieczorem, przy powstającym niżu barometrycznym, a lata tylko w czasie pogody bezwietrznej.

Patologia

Organizm zarówno zwierzęcy jak i ludzki uodparnia się pod wpływem nielicznych ukłuc. Zwierzęta, szczególnie nieuodpornione ulegają często zatruciu, dlatego w wyżej wspomnianych okolicach wypadki śmierci zdarzały się przeważnie wśród zwierząt importowanych. Ogólna śmiertelność bydła i koni na całym terenie zaatakowanym przez meszki, wyniosła 16%, w samym Międzyrzeczu natomiast 39%.

Po ukłuciu, u zwierząt powstają obrzęki, a zatrucie następuje w przeciągu 1—2 godzin. Objawia się ono zwiększeniem tętna, dudniącym biciem serca, osłabieniem, chód staje się chwiejny i zwierzę pada. W wypadku łagodnego zatrucia powstają obrzęki, zwiększa się ilość wydzielin. Mleczność u krów poklutek obniża się bardzo wydatnie.

Meszki atakowały również ludzi, wśród których nie było jednak wypadków śmiertelnych. Na skutek ukłuc, u ludzi powstają podskórne, galaretowate nacieki, następuje obrzęk śledziony, oraz zwiększa się ilość płynu mózgo rdzeniowego. Jak wykazały badania, pod wpływem jadu zawartego w ślinie tych owadów, reaktywowały się różne choroby, między innymi bóle urazowe, rwa kulszowa i in.

Zwalczanie

Człowiek może łatwo uchronić się przed napaścią, natomiast zwierzęta smaruje się środkami silnie woniącymi jak: tytoń, naftalina, nafta, smoła drzewna, D. D. T., tran itp. Dorosłe owady można niszczyć środkami owadobójczymi. Larwy są biologicznie niszczone przez ryby, ważki, kaczki oraz owady wodne.

KOMARY (*CULICIDAE*)Histofizjologia *Anopheles maculipennis*

B. Konopacka badała obecność tłuszczu, białek i glikogenu u wszystkich stadiów rozwojowych komarów. Autorka stwierdziła, że jaja zawierają płytki żółtka zawieszony w substancji tłuszczowej, który to materiał jest potrzebny dla rozwoju zarodka.

Świeżo wyklute larwy nie posiadają substancji tłuszczowej i glikogenowej, która została zużyta w czasie rozwoju, natomiast starsze larwy po trzeciej wylince posiadają silnie rozwinięte dwa płaty tłuszczowe, zbudowane z komórek, w których znajdują się krople tłuszczu, kulki białka i rozlany glikogen, a protoplazma tworzy tylko pasma wśród wyżej wymienionych substancji. U starszych larw tkanka tłuszczowa występuje również w ściankach żołądka i w rurkach Malpighie'go. U poczwaraki tłuszcz i glikogen wnikają między wiązki mięśniowe, stanowiąc materiał budulcowy dla formujących się tkanek. Glikogen znajduje się także w komórkach wzrokowych i pod chityną. Ciało tłuszczowe zanika w miarę powstawania organów owada dorosłego.

U komara dorosłego substancje tłuszczowe znajdują się w ciele tłuszczowym, brak ich w żołądku i w jelicie. Glikogen stwierdzono w nabłonku przewodu pokarmowego i w oczach. W ciele tłuszczowym owada dorosłego wykryto również glikogen i białka. Wielkość ciała tłuszczowego bywa bardzo rozmaita, nawet u komarów pochodzących z jednego okresu.

Między rozwojem jajników a wielkością ciała tłuszczowego istnieje zależność. Im więcej rozwinięte są jajniki, tym bardziej bywa zredukowane ciało tłuszczowe. Ciało tłuszczowe u samic jest zapasem służącym jako źródło energii życiowej i źródło, z którego czerpią materiał rozwijające się jajniki. Samce również czerpią swoją energię życiową z ciała tłuszczowych.

Według wyników badań przeprowadzonych przez *Konopacką*, zimujące samice nie zużywały ciała tłuszczowych, zatrzymując je do wiosny, na pierwsze czynności życiowe.

Morfologia

J. Lachmajerowa przeprowadziła badania na wybrzeżu Zatoki Gdańskiej, w Świnoujściu, Szczecinie, Elblągu i Inowrocławiu w latach 1947-1950. Na zbadanych obszarach autorka stwierdziła dwa gatunki komarów rodzaju *Anopheles*: *A. bifurcatus* Mg. i *A. maculipennis* Mg. Ten ostatni gatunek występuje w dwóch ekotypach tj.

messeae i *typicus* w Szczecinie, w pozostałych miejscowościach spotyka się jeszcze *atroparvus*.

Zewnętrznie *A. claviger* różni się bardzo wyraźnie od *A. maculipennis*, natomiast poszczególne ekotypy tego ostatniego, nie różnią się między sobą morfologicznie. Rozróżnić je można jedynie przy pomocy złożonych jaj. Wielkość i struktura jaj, nawet w obrębie jednego ekotypu, wykazują pewne odrębności. Autorka stwierdziła to na jajach *A. mac. messeae* i *A. mac. atroparvus*. Liczba fałdek na komorach powierzchniowych (splawkach) znajdujących się po bokach jej u *messeae*, pochodzącego z Wybrzeża Polskiego, waha się między 18—28, podczas gdy u tego samego ekotypu np. w Holandii stwierdzono 18—32, a w Szwecji od 14 do 21.

Wielkość jaj *A. mac. atroparvus* ulega wahaniom zależnie od pory roku i od warunków w miejscu lęgu komarów. Dużą zmienność wykazuje długość całego jaja i jego komór powietrznych, najmniejszą szerokość jaja.

W okolicy Gdańska stwierdzono 3 typy jaj. *A. mac. atroparvus*:

1. wzorem i rysunkiem zbliżone do jaj *A. mac. messeae*,
2. jaja typowe oraz
3. budową i rysunkiem zbliżone do jaj *A. labranchiae*.

Ekologia

Badając biotopy komarów rodzaju *Anopheles* koło Gdańska i w Szczecinie Lachmajerowa stwierdziła, że larwy ich lubią wody niezbyt głębokie, czyste, stojące lub bardzo wolno płynące, obfitujące w roślinność zanurzoną jak *Elodea canadensis*, *ceratophyllum submersum*, *Myriophyllum sp. itp.* Najdogodniejsze miejsca lęgu w obrębie zbiorników tworzy tzw. wata wodna. Są to kłęby nitki *Spirogyra*, *Zygnema* i in., wśród których larwy różnych stadiów znajdują pożywienie, schronienie przed wrogami, chłodem, oraz silniejszymi ruchami wody.

W wypadku, gdy roślinność pływająca *Nymphaea alba*, *Lemna minor*, *L. trisulca*, *Hydrocharis morsus ranae* itd. szczelnie przykrywa powierzchnię wody, dostęp powietrza jest utrudniony, co uniemożliwia rozwój larw. Niewielka ilość tych roślin stanowi doskonałe oparcie dla samic w czasie składania jaj i zabezpiecza je od nadmiernego nasłonecznienia.

Wśród roślin wysokich, gęsto rosnących i rzucających głęboki cień na powierzchnię wody, np. *Phragmites communis*, *Scirpus lacustris*, *Typha latifolia* i in. nie znaleziono larw należących do rodzaju *Anopheles*, natomiast znajdowano je najczęściej w zbiornikach częściowo zacienionych.

Ciepłota wody ma duży wpływ na rozcieńczenie larw. Gatunek *A. maculipennis* znajdowano w wodach, których ciepłota wahała się od 16—23° C., natomiast gatunek *A. Claviger* znajdowano w wodach o ciepłocie od 14—18°C. Częstymi towarzyszami tego ostatniego były *Theobaldia annulata* i *T. morsitans*.

Wydaje się, że tolerancja na zasolenie wody jest jednakowa u obydwu tj. u *A. mac. messeae*, i u *A. claviger*.

Jak stwierdzono w Szczecinie, do końca maja larwy komarów rozwijały się w wodach płytkich, dopiero z początkiem czerwca uważano larwy pierwszych stadiów w zbiornikach głębszych.

W obrębie biotopów występują najczęściej mikrobioty, w których warunki mniej albo więcej są zbliżone do optymalnych, w wyniku czego zagęszczenie larw jest różne, w różnych miejscach zbiornika.

A. maculipennis jest gatunkiem, stanowiącym przewagę na wszystkich badanych terenach. W niektórych południowych dzielnicach Szczecina, w maju i czerwcu stwierdzono większą ilość *A. Claviger*, co prawdopodobnie pozostawało w związku z większą ilością miejsc lęgu odpowiadających temu gatunkowi.

Najpospolitszym ekotypem w naszych warunkach jest *A. mac. messeae*, rzadszym *A. mac. typicus*. *A. mac. atroparvus* spotyka się tylko w pobliżu słonawych zbiorników wodnych.

Epidemiologia

W wodach rozległych bagien okolicy Szczecina, lęgną się komary należące do rodzajów *Aedes*, *Theobaldia*, *Culex* i *Anopheles*. *A. maculipennis*, którego zasadniczo nie spotyka się w miastach, a tylko na przedmieściach lub wsiach, do śródmieścia Szczecina dostał się dzięki zniszczeniom wojennym, oraz dzięki dużej ilości basenów przeciwpożarowych, z których część stanowi biotopy tego gatunku. Gatunki i ekotypy żyjące tam, odznaczają się zoofilnością. W okresie przeprowadzanych badań nie przebywały chętnie w mieszkaniach ludzkich.

W pierwszych latach powojennych, w okresie wzmożonego ruchu ludności, grasowały wśród ludności, przenosząc zarazki zimnicy, której nosicielami byli reemigranci. W miarę ustania ruchu ludności, oraz przyrostu ilości pogłowia zwierzęcego, ilość zachorowań wydatnie spadła.

ANOPHELES MACULIPENNIS ATROPARVUS

Ekologia

Larwy tego ekotypu odznaczają się euryhalizmem i jakkolwiek mogą żyć w wodach słodkich, najczęstszymi miejscami ich lęgu są wody słonawe.

Na wyspie Bąsak, położonej w delcie Wisły, *Lachmajerowa* zauważyła, że miejsca, w których przebywają dorosłe komary, zasilane są przez najbliższej położone zbiorniki-lęgowiska. We wschodniej części tej wyspy, tj. bliżej głównego ujścia Wisły, albo nie spotyka się wcale *A. mac. atroparvus*, albo występuje on w niewielkim stosunkowo odsetku. W Górkach Wsch., leżących w pd. zach. części wyspy, *atroparvus* występuje przeciętnie w 76,6%, w ciągu roku natomiast waha się od 61,2—95%.

Do drugiego stadium (wg *Christofersa*) rozwijają się jajniki przy wyższej ciepłocie, czerpiąc materiał z zapasów nagromadzonych w ciele samicy. Do dalszego rozwoju jaj konieczny jest pokarm z krwi.

Jajniki samic złowionych w grudniu 1949 r. znajdowały się w pierwszym stadium; w lutym 1950 r. stwierdzono, że u części samic rozwinęły się one do drugiego stadium. W tym czasie niektóre samice piły krew, którą zauważono w ich żołądkach. W ciągu marca u większości samic jajniki rozwinęły się do trzeciego, czwartego i piątego stadium.

Komary łowione w zimnym pomieszczeniu, dopiero po kilkudniowym pobycie w wyższej ciepłocie okazywały chęć picia krwi.

Wylot z zimowisk w r. 1949 rozpoczął się w końcu marca i trwał przez pierwszą dekadę kwietnia. Komary zimujące w chłodniejszym pomieszczeniu wyleciały później, aniżeli zimujące w ciepłych oborach.

W okolicy Gdańska, masowy wylot pierwszego pokolenia zaczął się w trzeciej dekadzie maja (25. V.). Wtedy w punktach badawczych stwierdzono przewagę młodych osobników. Przy końcu drugiej dekady lipca (20. VII.), pokolenie to było już fizjologicznie stare. Komary drugiego pokolenia zaczęły pojawiać się w ciągu trzeciej dekady lipca, a masowy wylęg wypadł na ostatnie dni lipca, oraz pierwsze dni sierpnia. Zmniejszenie się średniej wielkości ampul i pojawienie się dużej ilości samców w drugiej dekadzie września wskazywało na to, że nastąpił wylęg trzeciego pokolenia. Przyrost ilości młodych osobników trzeciego pokolenia był stosunkowo wolny i trwał do listopada.

W końcu drugiej dekady sierpnia, zaczęły pojawiać się samice nieaktywne płciowo, a ilość ich wzrastała w ciągu września tak, że w październiku już wszystkie były w diapauzie. Nawet samice początkowo aktywne, po jednym czy dwóch cyklach gonotroficznych, także przechodziły w diapauzę, a niektóre z nich nawet przeżywały zimę.

W ciągu okresu rozwojowego płodność samic ulegała wahaniom. W r. 1949 największa średnia produkcja jaj wypadła na czerwiec, najmniejsza na kwiecień i wrzesień, kiedy składały jaja te samice, które przezimowały, lub te, które miały udać się na zimowiska. Średnia jednokrotna produkcja jaj wynosiła: w kwietniu — 165,8 szt., w maju — 167,3 szt., w czerwcu — 238,4 szt., w lipcu — 217,9 szt., w sierpniu — 216,5 szt. i we wrześniu — 163,5 szt. W pierwszej dekadzie sierpnia samice składały największe ilości jaj, jednak w dalszych dekadach płodność ich gwałtownie spadała. Na produkcję jaj mają wpływ różne czynniki, między innymi ciepłota, rozmiar ciała oraz wiek samicy.

Epidemiologia

Wielkość ampul parzystych jajowodów samicy, wskazuje na jej wiek fizjologiczny. W ciągu okresu rozwojowego każde napicie się krwi prowadzi do dojrzewania jaj. Samica, która wielokrotnie składała jaja, musiała wielokrotnie pić krew, tym smym miała więcej okazji do zarażenia się *Plasmodium*. Populacja składająca się ze starszych samic przedstawia większe niebezpieczeństwo dla człowieka aniżeli populacja samic świeżo wylętych, lub samic po niewielu cyklach gonotroficznych. Zbadanie wieku populacji pozwala na ocenę możliwości przenoszenia przez nią zarazków zimnicy.

W naszych warunkach klimatycznych, komary nie dożywają do późnego wieku, najstarsze samice łowione na Wybrzeżu mogły mieć za sobą trzy lub cztery cykle gonotroficzne. Poza tymi, tylko nieliczne osobniki posiadały ampule o wielkości kwalifikującej je do grupy samic, które pięć lub sześć razy składały jaja. W r. 1949 najwięcej fizjologicznie starszych samic stwierdzono z początkiem maja, w drugiej dekadzie lipca i z początkiem września.

W okresie wiosennym, gdy zaczyna się wylot z zimowisk, zauważono u *A. mac. atroparvus* skłonność do odwiedzania mieszkań ludzkich. W ciągu lata, szczególnie w czasie bezwietrznej pogody, przebywa on chętnie na wolnym powietrzu. Szukając w jesieni zimowisk, wlatuje on często do mieszkań ludzkich, w których może pozostawać na zimę. Przebywający w mieszkaniach *atroparvus* za-

rażony *Plasmodium* może pobierać krew ludzi, narażając ich na niebezpieczeństwo zachorowania na zimnicę. Z powyższych obserwacji wynika, że na wolnym powietrzu zakażenie może mieć miejsce jedynie w ciągu letnich bezwietrznych miesięcy.

MUCHY (*MUSCIDA*E)

Zwalczanie much

W. Gliwic zbadala działanie preparatów owadobójczych polskiej produkcji na muchę domową i muchę plujkę. Do badań użyto: *Azotox*, *Tox* i *Insektol* w postaci proszków.

Działanie tych preparatów na różne stadia rozwojowe jest odmienne.

Larwy IV stadium tylko w niewielkiej ilości giną pod wpływem działania tych trucizn, poczwarki natomiast są na nie całkowicie odporne. Preparaty te nie mogą mieć praktycznego zastosowania w zwalczaniu pierwszych stadiów rozwojowych much, zwłaszcza tych, które żyją zagrzebane w ziemi lub piasku. Dorosłe owady giną po zastosowaniu tych preparatów.

Azotox, środek dosyć słabo działający, po starannym rozrzedzeniu w moździerz dziesięć a nawet dwudziestokrotnie zwiększa skuteczność swego działania.

PISMIENNICTWO

1. Chrostowski T. (1948): Simulidae. Med. Wet. r. IV, str. 706—709.
2. Gliwic W. (1949): Działanie kilku preparatów owadobójczych krajowej produkcji na muchę i jej stadia rozwojowe. Przegląd Epid., t. IV, z. 3—4, str. 269—301.
3. Konpacka B. (1946): Z histofizjologii komara *A. mac.* roznosiciela malarii w Polsce Med. Dośw. i Społ. Tom XXV, zeszyt 3—4, str. 252—263.
4. Lachmajer J. (1948): Rasy gatunku *A. maculipennis* Mg. występujące na Wybrzeżu. Przegląd Epid. Tom II, zeszyt 1—2, str. 133—136.
5. Lachmajer J. (1949): Species and races of Malaria mosquitoes occurring on the coast on the Gulf of Gdańsk. Bull. Inst. of Mar. & Trop. Med. Gdańsk, vol. 2, No. 1—2, str. 91—94.
6. (1949): Badania nad ekologią komarów rodzaju *Anopheles* w Szczecinie. (24. V. — 15. VI). Przegląd Epid. Tom III, Nr 1—2, str. 162—177.
7. (1949): Studies on the ecology of mosquitoes of the genus *Anopheles* in Szczecin. Bull. Inst. of Mar. Trop. Med. Gdańsk, vol. II, Nr 3—4 str. 235—242.
8. (1950): Biologia *A. mac. atroparvus* v. Thiel na Wybrzeżu w r. 1949—50. Przegląd Epid. T. nr 1—4, str. 13.
9. Namysłowska (1950): Wstępne badania nad ekologią kleszczy z rodziny *Ixodidae* B. P. N. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowskiej, vol. 3, sectio C, str. 89—134.

Zbigniew Kozar

PARAZYTOLOGIA LEKARSKA W CZECHOSŁOWACJI

Parazytologia w Polsce weszła na nową drogę rozwoju. Na ostatnim Zjeździe, który odbył się w Puławach, stwierdzono bardzo niski stan naszej parazytologii lekarskiej. Należy więc dążyć do jak najszybszego zorganizowania placówek parazytologicznych, szkolenia nowych kadr, oraz naukowego rozpracowania choć najważniejszych i najpilniejszych zagadnień. Zdając sobie sprawę, że czeka nas dość trudne zadanie, musimy szukać pomocy i oparcia w innych krajach zwłaszcza zaprzyjaźnionych z nami. Naturalnie nie prędko osiągniemy poziom państw dużych, państw w których różnorodny klimat sprzyja rozwojowi i częstemu występowaniu bardzo dużej ilości pasożytów.

Nasze problemy parazytologiczne nie są tak liczne i w skali ogólnej może mniej ważne. Nie można jednak o nich zupełnie zapominać, jak to dziś często bywa. Podobne warunki do naszych ma Czechosłowacja. Zarówno klimat jak i gatunki występujących pasożytów mniej więcej pokrywają się z naszymi. Spróbujemy więc porównać stan parazytologii czeskiej z naszym, omówić organizację oraz tematykę kolegów czeskich. Zaprzyjaźnione stosunki między naszymi państwami pozwalają nam na nawiązanie bliskich kontaktów, z których mogą płynąć korzyści obustronne. Nasz oddział parazytologii w Państwowym Instytucie Medycyny Morskiej i Tropicznej w Gdańsku, już od 3 lat pozostaje w bliskim kontakcie z Czechosłowacją, który przejawia się w stałej wymianie prac naukowych, korespondencji itp.

Ostatnio z okazji VI Zjazdu Mikrobiologów Czeskich miałem możliwość spędzenia paru dni w Pradze. Kontakty nasze dzięki osobistej znajomości jeszcze bardziej się zacieśniły. Spotkaliśmy się z bardzo życzliwym przyjęciem, a z pobytu choć bardzo krótkiego odnieśliśmy wiele korzyści. Koledzy czescy chętnie dostarczyli nam wszelkich materiałów, na których opiera się niniejszy referat. Poczuję się więc do miłego obowiązku złożenia im w tym miejscu podziękowania.

Parazytologia w Czechosłowacji, chociaż jest dobrze rozbudowana, nie została dotychczas wyodrębniona od mikrobiologii, jak to jest np. w Polsce, gdzie mamy samodzielne Polskie Towarzystwo Parazytologiczne. Znalazło to swój wyraz w licznym udziale parazytologów na Zjeździe Mikrobiologów, gdzie nawet w ramach odrębnej sekcji odbywały się ich obrady. Jedną z przyczyn tego stanu jest może fakt, że parazytologia w Czechosłowacji reprezentuje głównie kierunek protozoologiczny, a nawet ściśle zazębia się z mikrobiologią. U nas parazytologia podobnie zresztą jak i w Związku Radzieckim jest pod wpływem helmintologii. Sprawa ta łączy się naturalnie z historią rozwoju tej gałęzi wiedzy w danym kraju. Prace akademika *K. J. Skrjabina* i jego bardzo licznej szkoły górują nad parazytologią radziecką. Polska ma również najlepsze tradycje w dziedzinie helmintologii, które łączą się z takimi nazwiskami jak *Kowalewski*, *Konstanty Janicki* i inni.

Uczniowie tego ostatniego, obecnie żyjący, kontynuują dalej pracę w helmintologii. Najznakomitszy dziś parazytolog polski *W. Stefański*, jest również helmintologiem, a uczniowie jego idą przeważnie w tym samym kierunku. W naszym pojęciu parazytologia obejmuje wszystkie pasożyty zwierzęce, począwszy od pierwotniaków poprzez robaki łącznie ze stawonogami. Nieco inaczej wygląda ta sprawa w niektórych państwach jak np. w Czechosłowacji. Tam zupełnie normalnym i dość częstym tematem prac parazytologa są np. badania nad leptospirami. Krętki, rickettsje, bartonelle itp., również należą tam do parazytologii, podczas gdy u nas pozostają przeważnie domeną mikrobiologów. Nie mam zamiaru w tej chwili dyskutować, który z tych poglądów jest słuszny, choć osobiście wydaje mi się raczej nasz pogląd słuszniejszy.

Parazytologia w Czechosłowacji ma poza tym pewną tradycję w protozoologii. Już przed rokiem 1918, kiedy to właściwie parazytologia czeska nie była jeszcze jakąś odrębną dyscypliną, pojawiały się pojedyncze prace np. nad pierwotniakiem *Opalina* (*Sustr*), nad trypanosomami i trypanoplasmami ryb (*Breindl*), nad *Microsporidiami* (*Mrazek*) itp. Dopiero w latach po pierwszej wojnie światowej parazytologia czeska doszła do pewnego rozkwitu. Do U.S.A. na stypendium Rockefellera wyjechał *Drbohlav*. Tam udało mu się wspólnie z amerykańnikiem *Boeck'iem* rozwiązać zagadnienie hodowli pelzaka czerwonej *Entamoeba histolytica* na pożywcę sztucznej. Praca ta miała duże znaczenie, gdyż pozwoliła na opracowanie i lepsze poznanie biologii, diagnostyki i patologii czerwonej pelzakowej, dość częstej choroby krajów tropikalnych. *Drbohlav* po powrocie do Pragi do Państwowego Zakładu Higieny, ogłosił drukiem kilka dalszych

prac z dziedziny parazytologii, między innymi nad *Entamoeba gingivalis* nad epidemiologią zimnicy na Słowacji, a w ostatnich latach przed śmiercią zajmował się zagadnieniem leptospirozy, szczególnie jej diagnostyki serologicznej. Równocześnie na Uniwersytecie Karola parazytologią zajmował się V. Breindl. Jeszcze jako kierownik Stacji Przeciwnalarycznej w Albanii w latach pierwszej wojny światowej, zapoznał się on dobrze z zagadnieniem zimnicy, na który to temat ogłosił drukiem szereg prac, szczególnie nad cyklem rozwojowym zarodźców w ludzkim ciele. Breindl wspólnie z Jirovec'em, wykazali przy pomocy reakcji *Feulgena micronucleus* we wszystkich stadiach rozwojowych *Ichtyophthirius multifiliis*. W wyższej Szkole Weterynaryjnej w Brnie, nad robakami pasożytniczymi pracował Rasin (*Amphilina*, *Echinoparyphium* itp.). W tej samej uczelni J. Lukes wykazał, że przyczyną szttutgardzkiej choroby psów są krętki, które nazwał *Spirochaeta meleanogenes canum*. Ten sam zarazek został później opisany w Holandii przez Schüffnera i Klarrenbeck'a jako *Leptospira canicola*.

Dorobek parazytologii czeskiej w latach międzywojennych jest dość duży. Wyrazem tego jest kilkaset prac naukowych ogłaszanych w pismach czeskich i zagranicznych. Bibliografię parazytologii czeskiej opracował Jirovec w podręcznikach swoich „Parazytologia dla lekarzy“ i „Parazytologia dla lekarzy weterynaryjnych“. W latach ostatniej wojny ustała działalność naukowa parazytologów na Uniwersytecie. Zajmowano się nią jedynie w Państwowym Zakładzie Higieny. Pracował tam wówczas Jirovec. Okoliczności te wpłynęły dodatnio na rozwój parazytologii, szczególnie lekarskiej. Na plan pierwszy wysunęły się zagadnienia praktycznie ważne z punktu widzenia zdrowia ludności. Rozpracowano diagnostykę chorób inwazyjnych człowieka, podjęto badania nad epidemiologią leptospir, oraz rozpoczęto owocne prace nad zagadnieniem rzęsistków pochwowych.

Obecnie głównym ośrodkiem parazytologii czechosłowackiej jest Zakład Protozoologii i Parazytologii przy Wydziale Przyrodniczym Uniwersytetu Karola w Pradze (Praha II, Vinicna 7). Kierownikiem tego Zakładu i bodajże twórcą, oraz organizatorem współczesnej parazytologii czeskiej jest prof. Otto Jirovec. Sam biolog ściślej mówiąc protozoolog, potrafił rozszerzyć zakres swej pracy również na parazytologię lekarską i to nieraz ściśle lekarską, będącą już czystą medycyną. W kontakcie osobistym z prof. Jirovec'em uderza jego duża energia i aktywność. Własny Zakład Parazytologii stworzony został dopiero w r. 1945, a jest już bogato urządzony i robi wrażenie Zakładu z długą tradycją naukową. W kilku większych i mniejszych pracowniach znajduje się wiele cennych przyrządów jak np. aparat do badania przemiany oddechowej Warburga, mikroma-

nipulator, różne wirówki, trzęsawki, łaźnie itp., własna pracownia fotograficzna zaopatrzona między innymi: w duży mikrofotoaparat Leitz'a chlubi się naprawdę pięknymi zdjęciami. Biblioteka częściowo własna, częściowo wspólna z Zakładem Zoologii jest b. bogato wyposażona. Zbiór odbitek prac parazytologicznych, które prof. *Jirovec* zdobywa drogą wymiany z całego świata, liczy około 10 000 egzemplarzy. Zakład utrzymuje stale dla celów dydaktycznych i naukowych wiele szczepów patogennych i niepatogennych pasożytów na zwierzętach lub sztucznych podłożach (np. 5 gatunków *Trypanosoma*, 3 gat. *Leishmania*, 25 szczepów *Leptospira* itp.).

Prof. *Jirovec* prowadzi wykłady z parazytologii przez 2 semestry po 4 godziny tygodniowo dla wydziału lekarskiego i przyrodniczego. Jest on autorem 3 dobrych, wydanych po wojnie podręczników: „Parazitologie pro lekare“, „Parazitologie pro zverolekare“, „Zoologicka Technika“.

W zakładzie prof. *Jiroveca* kładzie się duży nacisk na szkolenie kadr. Obszerne pomieszczenia pozwalają na zatrudnienie równocześnie kilku doktorantów, stypendystów itp. z różnych wydziałów. Po wojnie wykonano w tym Zakładzie 14 prac na stopień doktora. Ogółem działalność naukowa Zakładu w 5 ostatnich latach wyraża się w około 60 pracach naukowych, drukowanych w pismach czeskich i zagranicznych. Zarówno cyfra jak i wartość naukowa prac świadczy o dużym rozmachu i pięknym rozkwicie Zakładu. Główne zainteresowania naukowe idą w kilku kierunkach. Największą wagę i znaczenie mają prace samego kierownika nad rzęsistkiem pochwowym (*Trichomonas vaginalis*), które zdobyły mu sławę światową. Współpracując ściśle z ginekologami (*Peter*, *Sebek*) i wenerologami *Jirovec* zbadał dokładnie w szeregu prac epidemiologię, patologię i przebieg *trichomoniasis*. Wykazał drogi szerzenia się choroby, oraz sposoby zakażenia. Stwierdzając olbrzymi procent zakażenia rzęsistkiem u kobiet, zwraca uwagę na pewne znaczenie socjalne tej choroby, wyrażające się w pewnym odsetku nieplodności i innych zaburzeń. Na dużym materiale klinicznym określono różne stopnie zakażenia i w zależności od tego, patogenny wpływ rzęsistków na organizm ludzki.

Od r. 1943 próbowano działanie różnych środków chemoterapeutycznych na rzęsistki. Wynikiem tych żmudnych badań są stosowane dziś powszechnie z dobrym skutkiem, preparaty pod nazwą Triflocid i Fluucid. W skład ich wchodzi: sulfonamidy 60%, carbarsan 10%, laktoza 10%, kwas borny 5% oraz pewne substancje wiążące. Preparaty te cechują się równoczesnym działaniem rzęsistko-, grzybko- i bakterio-bójczym. W dalszych pracach wprowadzono 6-stopniową

klasyfikację posiewów z pochwy, co zostało powszechnie przyjęte i stosowane na terenie całego C.S.R. Na przykładzie powyższego zagadnienia widzimy jak dobre rezultaty można uzyskać przy bliskiej współpracy parazytologów z bakteriologami i klinicystami.

Drugim zagadnieniem szeroko rozpracowanym w Zakładzie Parazytologii są leptospiry. Pierwsze przypadki w C.S.R. opisał *Bartak* w r. 1940, a *Drbohlav* zróżnicował je serologicznie.

Jak się okazuje zagadnienie leptospirozy jest dość ważne dla Czechosłowacji. Choroba Weila występuje sporadycznie na terenie całego kraju. W latach 1941 — 1948 stwierdzono serologicznie 724 przypadki gorączki błotnej wywołanej szczepem *Leptospira grippotyphosa* i 22 przypadki innym szczepem *L. serjō*, który cechuje się objawami mózgowymi. Dr Pokorny, współpracownik Zakładu Parazytologii zajmuje się zjawiskami serologicznymi, występującymi przy schorzeniu koni, zwanym „Ždarska choroba“. Wprawdzie nie udało mu się dotychczas wykazać leptospir u tych koni ani mikroskopowo, ani drogą hodowli, istnieje jednak jakaś zależność tej choroby od leptospir. U koni chorych znajduje on bowiem wysokie miana aglutynacyjne.

Zimnica i jej zwalczanie jest przedmiotem badań asystenta dr *J. Weiser'a* przy współpracy Państwowego Zakładu Higieny (dr *Havlík*) i Laboratorium Entomologicznego przy zakładzie Chemii (dr *Rosický*). Problem zimnicy dotyczy głównie Słowacji, gdzie schorzenie to panuje w pewnych okolicach endemicznie. W Czechach występują jedynie sporadyczne wypadki. W okolicy Hodonisk prowadzi się walkę z komarami przy pomocy emulsji DDT. Pasożyty przewodu pokarmowego zarówno pierwotniaki, jak i robaki, są również tematem badań Zakładu prof. *Jiroveca*. Pierwotniaki jamy ustnej *Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas elongata* spotykano w Pradze w 41% i 20%. U starszych osób odsetki te wzrastają do 45,5% i 40,0%.

Największym problemem helmintologicznym w Czechach podobnie zresztą jak w Polsce są owsiki (*Enterobius vermicularis*).

Wśród zbadanych 2 500 dzieci przy pomocy dwukrotnych wycierów pałeczką Schüffnera, wykryto 50 — 80% zakażonych.

Najwyższe odsetki stwierdzono na peryferiach miasta. Dla celów leczniczych stosują w Czechach połączenie fenotiazyny, hexylresorcinolu i zasadowej fuksyny, co dobrze jest znoszone przez pacjentów i daje niezłe wyniki.

U osób dorosłych owsiki występują w Czechosłowacji w 30%. Glisty (*Ascaris lumbricoides*) i włosogłówki (*Trichuris trichiura*) są w Czechosłowacji rzadsze. W Zlinie znajdowano glisty w 4%,

a w Pradze jeszcze rzadziej. Nieco częściej występują włosogłówki (8—10%). Tasiemiec *T. solium* spotykany jest w Czechosłowacji b. rzadko, nieco częściej występuje *T. saginata*, *pirovec* wspólnie z *Doc. Maratkou* stosują z dobrymi wynikami leczenie tasiemców atebryną. Robaki jelitowe odgrywają większą rolę na Słowacji, gdzie zajmuje się tym zagadnieniem dr *Dziuban*.

Zakład Parazytologii prowadzi prace diagnostyczne dla szpitali i klinik. W badaniach tych spotkano w ostatnich latach przywrę Dalekiego Wschodu (*Clonorchis sinensi*) u 2 rodzin, które powróciły z Szanghaju, tasiemca bruzdogłowca szerokiego (*Diphyllobothrium latum*) — u jednej Estonki i Rumuna, tęgoryjca (*Ancylostoma duodenale*) u rodziny pochodzącej z Tahiti, oraz *Microfilaria nocturna*. Ilość prób badanych przez Zakład zwiększa się z każdym rokiem (1946 — 1 802, 1947 — 4 380, 1948 — 4 090, 1949 — 6 638). W omawianym Zakładzie pracuje 2 asystentów, uczni profesora *Jiroveca*, dr *Jaroslav Weiser* i dr *Bohumir Rosicky*. Obaj wprawdzie również są przyrodnikami, interesują się parazytologią lekarską i nie obce im są te zagadnienia. Dr *Weiser* wykonał szereg prac z dziedziny *Microsporidia*, *Haplosporidia*, wirusów w owadach itp. Obecnie bada wpływ DDT i jego preparatów na komary, muchy, świerzbowce i inne stawonogi. W latach 1946 i 47 był on delegowany do Jugosławii, gdzie prowadził dużą akcję zwalczania pasożytów człowieka i zwierząt. Zapoznał się tam dokładnie z pasożytami kraju podtropikalnego. Dr *B. Rosicky* ogłosił drukiem kilka prac nad gryzoniami, oraz ich ektopasożytami jak pchły, kleszcze itp. Obecnie bada on w swojej pracowni skuteczność preparatów DDT produkcji czeskiej na muchę domową, oraz wykonuje bardzo ciekawe doświadczenia nad wpływem DDT na świerzbowce. Okazało się, że lek ten zadawany w małych dawkach *per os*, działa doskonale na pasożyty skóry. Tematyka prac w Zakładzie prof. *Jiroveca*, jest bardzo bogata i różnorodna. Opracowuje się pasożyty zwierząt łownych, gęsi, dzikiego ptactwa itp. Dość dużo miejsca zajmują prace chemoterapeutyczne. Prócz wspomnianych już wyżej, rozpracowano wpływ różnych chemoterapeutyków *in vitro* na rzęsistki *Trichomonas foetus* i *T. columbae* (*Heyberger*). Dr *Jira* badał wpływ sulfonamidów na niektóre pierwotniaki, na ich żywotność, przemianę oddechową, rozmnażanie się i układ enzymatyczny. *Jirovec* działając streptomycyną pozbawił trwale chlorofilu pierwotniaki *Euglena*. W czasie kilkakrotnej bytności w Zakładzie zauważyłem duży zapał do pracy całego zespołu. Zarówno w godzinach rannych jak i późnych, popołudniowych praca wre w całej pełni.

Drugim ośrodkiem parazytologii w Pradze jest Państwowy Zakład Higieny (Stadni Zdravotnicki Ustaw. Praha XII. Srobárova 48). Zakładem tym kierował w latach wojennych prof. *Jirovec*, a obecnie jego uczeń dr *Otto Havlík*. Mamy tu pracownię parazytologiczną diagnostyczną, oraz w oddzielnym budynku pracownię naukową. Dr *O. Havlík* prowadzi ostatnio badania głównie nad toksoplazmą. To ciekawe, do dziś w wielu kwestiach niezbadane, schorzenie człowieka i zwierząt staje się problemem coraz aktualniejszym. W wielu krajach zaczynają się pojawiać coraz to liczniejsze prace donoszące o nowych stwierdzonych przypadkach. Dr *Havlík*, stosując serologiczne metody rozpoznawcze, wykrył już w Czechosłowacji kilkadziesiąt przypadków toksoplazmy u ludzi. Czechosłowacja może się w tej dziedzinie szczycić sukcesem, bo pierwszy przypadek toksoplazmozy u człowieka został opisany właśnie w tym kraju w r. 1923 przez dr *Janku*. Dr *Havlík* prowadzi poza tym szereg prac doświadczalnych, zdążających do rozwiązania zagadki sposobu naturalnego zakażenia się toksoplazmą. Prawdopodobnie i w Polsce toksoplazmoza nie jest taką rzadkością, choć dotychczas opisane mamy jedynie 2 przypadki.

Diagnostyką inwazyjnych chorób człowieka zajmują się oba wyżej omówione Zakłady, dopóki zagadnienie to nie zostanie rozwiązane w klinikach, szpitalach i innych pracowniach. Oba te Zakłady ściśle ze sobą współpracują. Badanie kałów, treści dwunastnicy, pasażów krwi itp. wykonuje się w jednej i drugiej pracowni.

Praca zespołowa daje w Czechosłowacji dobre wyniki.

Z parazytologami innych ośrodków poza Pragą bliżej nie zetknąłem się, z którego to powodu nie mogę obszerniej omówić ich działalności. Na Morawach, kierownikiem laboratorium parazytologicznego w Państwowym Zakładzie Weterynaryjnym jest dr *K. Rasín*. Wykrył on toksoplazmozę u zwierząt, a mianowicie u zajęcy.

Na Słowacji pracuje dr *Nižnianski* w Zakładzie Weterynaryjnym i dr *Dziuban* w Państwowym Zakładzie Higieny w Bratysławie. Dr *Dziuban* dawniej pracował nad robakami, a ostatnio nad zimnicą.

Parazytology czescy wprawdzie wiekiem stosunkowo młodzi, wykazują bardzo wiele energii i rokują duże nadzieje.

Możemy u nich nauczyć się wielu rzeczy, oraz omawiać wspólnie różne bolączki i kłopoty, gdyż cel mamy wspólny, a warunki mniej więcej podobne. Przyjaźń czesko-polska powinna również na odcinku parazytologii znaleźć szerszy oddźwięk.

Myśl ta przyświecała mi przy pisaniu tego referatu.

SPRAWOZDANIA

SEKCJA PARAZYTOLOGICZNA NA VI ZJEŹDZIE MIKROBIOLOGÓW CZECHOSŁOWACKICH.

W dniach 24—28 września 1950 r. odbył się w Pradze VI Zjazd Mikrobiologów Czechosłowackich. Miał on charakter częściowo międzynarodowy, gdyż reprezentowane na nim były wszystkie niemal państwa Demokracji Ludowej. Polska nie urządzając w tym roku własnego zjazdu mikrobiologów wysłała do Pragi liczną delegację zarówno z ramienia Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, jak też poszczególnych zainteresowanych ministerstw. Oprócz tego za pośrednictwem Polskiego Biura Podróży „Orbis” wyjechała do Pragi wycieczka składająca się z 42 mikrobiologów różnych specjalności i ośrodków. Nasze Ministerstwo Zdrowia reprezentowane było przez wiceministra dr *B. Kozusznika* i dr *L. Rattnera*. Oprócz polskiej w zjeździe wzięły udział delegacje ZSRR, Chin Ludowych, Węgier, Rumunii, Bułgarii i Demokratycznych Niemiec.

W czasie zjazdu ogłoszono na posiedzeniach plenarnych szereg referatów głównych, oraz na posiedzeniach sekcyjnych bardzo wiele krótkich doniesień z bieżących prac naukowych. Równocześnie obradowano w 7 następujących sekcjach:

- I. Mikrobiologii ogólnej i antybiotyków,
- II. Immunologii,
- III. Bakteriologii lekarskiej i weterynaryjnej,
- IV. Parazytologii,
- V. Wirusologii,
- VI. Mikrobiologii rolniczej,
- VII. Mikrobiologii środków spożywczych i przemysłowej.

Ponieważ niesposób było jednemu z uczestników wziąć udział w posiedzeniach wszystkich sekcji, postaram się streścić przebieg obrad sekcji IV parazytologicznej.

Parazytologzy czechosłowaccy nie mając własnego odrębnego towarzystwa należą w większości do Towarzystwa Mikrobiologów i uczestniczą w jego zjazdach. W obecnym roku prócz parazytologów czechosłowackich w skład delegacji zagranicznych wchodził również parazytolog lub osoby interesujące się równocześnie parazytologią. Związek Radziecki reprezentował w tej dziedzinie prof. *P. A. Petriszczewa*, członek korespondent Akademii Nauk Lekarskich ZSRR z Moskwy z Instytutu Mikrobiologii i Epidemiologii. Jest ona entomologiem lekarskim, współpracownikiem znanego powszechnie akademika *E. N. Pawłowskiego*, twórcy entomologii lekarskiej w ZSRR.

W skład dwuosobowej delegacji Chin Ludowych wchodził dr *S. L. Hung*, profesor parazytologii oraz dyrektor Czekiangskiego Instytutu Zdrowia w Hang-

chow. Rumunię w dziedzinie parazytologii reprezentował prof. *M. Ciuca* z Instytutu Cantacuzene w Bukareszcie.

Wśród referatów głównych niektóre dotyczyły w większym lub mniejszym stopniu parazytologii.

P. A. Petriszczewa (Moskwa): „O naturalnych ogniskach schorzeń człowieka przenoszonych przez stawonogi”.

W Związku Radzieckim człowiek wydiera przyrodzie coraz to nowe i większe połacie ziemi do niedawna prawie jeszcze nietknięte stopą ludzką. Duże zespoły pracowników udają się w gęszcze tajgi, na bezwodne pustynie i stepy oraz tereny góryste, gdzie poszukują ukrytych we wnętrzu ziemi skarbów. Wobec tego medycyna radziecka stanęła przed zupełnie nowymi problemami. Pojawiać się zaczęły spontaniczne wypadki lub nawet całe epidemie nieznanych zupełnie lub mało zbadanych jednostek chorobowych. Na każdym niemal kroku w dzikiej przyrodzie czyhało na człowieka niebezpieczeństwo tym groźniejsze, że nieznanne i niewidziane gołym okiem, a często nawet niewidoczne pod mikroskopem. Należy stwierdzić, że medycyna radziecka wywiązała się w tym wypadku ze swego zadania. Uczni różnych specjalności wyszli z kłtnik i wielkomijskich laboratoriów, udając się w dzikie, niezbadane tereny. Zespołowy wysiłek różnych specjalistów zarówno klinicyistów, jak i bakteriologów, wirusologów, parazytologów, zoologów, biologów itp. dał doskonałe rezultaty. Zbadane zostały nowe choroby i dokładnie poznana ich epidemiologia, co pozwoliło na opracowanie zabiegów profilaktycznych oraz zwalczanie zarazków, ich przenosicieli i rezerwuarów. W ten sposób odkryte zostały i zbadane zapalenia mózgu przenoszone przez kleszcze i komary, kleszczowe gorączki typu osutkowego, a na nowo dokładnie rozpracowane znane już nieco dawniej dur powrotny kleszczowego pochodzenia, leishmaniazy, gorączka wywołana przez *Phlebotomus*, turalemia itp. Dla badania tych schorzeń opracowano i przyjęto zupełnie nowe metody ekologiczno - parazytologiczne. Wykrycie przenosicieli, ich naturalnych żywicieli (gryzoni, dzikich drapieżnych i ptaków), badanie ich nor, gniazd i kryjówek, badanie biologii, systematyki, a jednocześnie wszelkich związków w przyrodzie między zarazkami chorobotwórczymi, przenosicielami i żywicielami tych ostatnich: dzikimi zwierzętami, a także badanie wpływu różnych warunków fizycznych środowiska zewnętrznego na podtrzymywanie ognisk itp. możliwe było jedynie tylko przy dłuższym przebywaniu specjalistów w warunkach polowych.

Zebrane bardzo bogate materiały pozwoliły akademikowi *E. N. Pawłowskiemu* (1946) na opracowanie i rozwinięcie teorii o naturalnych ogniskach schorzeń człowieka, która jest jednym z większych osiągnięć medycyny radzieckiej. „Jest to zjawisko, gdzie zarazek, specyficzny jego przenosiciel i zwierzęta (rezerwuary zarazka) w ciągu zmiany swoich pokoleń nieograniczenie długi czas przebywają w dzikich naturalnych warunkach, w składzie licznych biocenozy niezależnie od człowieka, zarówno na drodze swojej już minionej ewolucji jak i również i w obecnym jej okresie”. Schorzenia te mają następujące cechy charakterystyczne.

1) Każde z nich utrzymuje się wśród dzikiej przyrody bez jakiegokolwiek związku z człowiekiem.

2) Krążenie zarazka w każdym poszczególnym wypadku odbywa się między poszczególnymi elementami biocenozy: schorzenie przechodzi z organizmu odżywającego się krwią ektopasożyta do organizmu zwierzęcia, którego krew jest źródłem pokarmu dla przenosiela kleszcza, lub owada i na odwrót.

3) Im większą ilość żywicieli ma każdy stawonóg i im większa ilość poszczególnych gatunków ektopasożytów może przejmować i przekazywać zarazki cho-

robotwórcze, tym bardziej różnorodnie i skomplikowane są drogi krążenia tego ostatniego w jego naturalnej biocenozie.

4) Ektopasożyty ssące krew, gdy są zakażone, przekazują zarazki chorobotwórcze do organizmu człowieka, a tym samym włączają go jako ogniwo w łańcuch epidemiologiczny.

5) Liczne takie schorzenia mogą w sprzyjających warunkach stać się chorobami ludzkiej społeczności i szeroko rozprzestrzeniać się w miastach i wsiach.

Radzieckie ekspedycje naukowe wykazały, że nawet w pustyniach, gdzie temperatura dniem dochodzi do 70° C i przez osiem miesięcy nie pada deszcz, w norach małego zwierzątka *Rhombomys opimus* żyją całe roje ektopasożytów (15 gat. z rodzaju *Phlebotomus*, 20 gat. kleszczy i ponad 10 gat. pcheł). W pieczarach niedostępnych gór spotykano czasem 5 000 ektopasożytów z 38 różnych gatunków. W zarosłych bujną roślinnością deltach wielkich rzek kryją się przed żarem słońca miliony komarów. Znajdowano czasem na przestrzeni 1 m² 1200—5000 samców i samic komarów z różnych gatunków. W tym różnorodnym i bardzo bogatym świecie stawonogów niejednokrotnie znajdują się osobniki, w których wnętrzu kryją się groźne zarazki chorobotwórcze. Szczególnie w terenach endemicznych pewnych chorób znajduje się duży odsetek zakażenia. Kleszcze i komary bywają niejednokrotnie żywicielami śmiertelnych dla człowieka dawek zarazków chorobotwórczych, choć same nigdy jeszcze nie piły krwi ludzkiej. Odżywiają się one jedynie krwią dzikich zwierząt zamieszkujących te bezлюдne pustynie. Liczne gryzoni i ptaki jak się okazało są nosicielami wirusów kleszczowego zapalenia mózgu. Czasem na jednym takim zwierzęciu spotyka się aż 352 kleszczy pijących jego krew. Równie licznych nosicieli mają rickettsie, wywołujące kleszczową plamistą gorączkę, krętki kleszczowego duru powrotnego, wirusy japońskiego zapalenia mózgu, leishmanie itd. Dokładne badania wykazały, że zwierzęta nie zawsze są rezerwuarami zarazków. Często już 5—7 dni po zakażeniu nie spotykamy zarazków w krwi obwodowej tych zwierząt, a na ich miejsce pojawiają się przeciwciała znajdowane w 50—80% dzikich i domowych zwierząt znajdujących się w ogniskach np. kleszczowego *encephalitis*. W takich wypadkach rezerwuarami bywają kleszcze i owady. W ich organizmie zarazki przebywać mogą latami w ciągu życia poszczególnych osobników, przechodzić w następne ich stadia rozwojowe, a nawet poprzez komórki jajowe przekazywać się następnym pokoleniom. Zakażone stawonogi dostają się czasem do osiedli ludzkich, stając się punktem wyjścia nowego schorzenia.

S. L. Hung (Chiny): „Stan epidemiologiczny schorzeń inwazyjnych w Chinach”.

Autor omówił dokładnie częstość występowania oraz rozprzestrzenienie zimnicy na terenie Chin, uwzględniając różne gatunki zarodźców. Wyliczone zostały i pokrótce omówione inne schorzenia wywołane przez pierwotniaki jak i robaki, które w Chinach spotykamy w tak dużej ilości i różnorodności.

W dniu 27. IX. 1950 r. odbyło się specjalne posiedzenie sekcji parazytologicznej pod przewodnictwem prof. Jiroveca. Wygłoszone zostały następujące krótkie referaty, streszczające wyniki bieżących prac.

S. L. Hung (Chiny): „Nowa metoda przyrządzania trwałych preparatów z jaj pasożytów”.

Przyrządzanie trwałych preparatów mikroskopowych z jaj pasożytów natrafiało dotychczas na dość duże trudności. Stosowana powszechnie glicero-żelatyna nie daje zadawalających wyników i nie gwarantuje trwałości preparatu. Autor

zapropował nowe środowisko, które może zastąpić z lepszym wynikiem dotychczas stosowane. Skład środowiska jest następujący:

białko jaja 50 ml.
formalina 40 ml.
gliceryna 10 ml.

Powyższe składniki dodaje się po kolei, wstrząsa 10 min., wylewa na płytkę Petriego, wstawia do eksykatora, aż do odparowania połowy objętości, następnie rozlewa do czystych probówek i zatapia parafiną. Krople tej mieszaniny dajemy na szkło podstawowe, wpuszczamy do niej materiał (jaja pasożytów itp.), mieszamy i przykrywamy szkiełkiem nakrywkowym. Po pewnym czasie preparat zasycha. Środowisko to jest dobre dla wszystkich jaj robaków, drobnych nicieni barwionych lub nie oraz tkanek roślinnych, które w nim nie tracą naturalnej barwy.

P. A. Petriszczewa (Moskwa): Rola kleszczy w epidemiologii chorób zakaźnych.

Autorka na podstawie dużego doświadczenia zreferowała metody badań nad kleszczami i ich organizację. Dzięki rozpracowaniu dokładnej mapy rozmieszczenia poszczególnych gatunków kleszczy można przewidywać dla każdej okolicy przenoszone przez kleszcze schorzenia, które mogą tam wystąpić. Można nawet przewidzieć porę roku oraz sezonowość choroby. Stosowane w porę właściwe zabiegi profilaktyczne mogą zapobiec chorobie.

Z. Alföldy (Budapeszt): Schorzenia wywołane przez leptospiry na Węgrzech.

Prowadzone dawniej na Węgrzech badania wskazywały tylko w pojedynczych przypadkach na możliwość istnienia zakażeń leptospirowych w tym kraju. Dane te opierały się na dodatnich wynikach odczynu aglutynacji, a nie udawało się wyizolować szczepów leptospirowych od chorych. Od r. 1946 na zachodnich terenach Węgier występowały niekiedy nawet epidemiczne zachorowania z objawami *meningitis serosa*. Zarówno same objawy, łagodny przebieg choroby i pewne względy epidemiologiczne przemawiały w tych wypadkach za leptospirozą. Jesienią roku 1949 doniesiono o ponad 200 przypadkach zachorowań z tych terenów. Chorzy leżący w szpitalu poddani zostali dokładnym badaniom klinicznym oraz bakteriologicznym. Na 12 chorych w 6 przypadkach udało się wyhodować z krwi leptospiry. Wszyscy pacjenci byli robotnikami rolnymi, a ich miejsca zamieszkania były od siebie dość odległe. Równocześnie z terenów tych złowiono i przebadano 132 myszy, w których w 16% stwierdzono zakażenie leptospirami. Wśród szczepów wyizolowanych od ludzi i zwierząt najczęściej występował szczep *L. grippo-typhosa*.

L. Cerny (Brno, CSR): Przyczynek do występowania *Leptospira pomona* u świń w Czechosłowacji.

Autor podaje przegląd piśmiennictwa o historycznym rozwoju poglądów na nosologiczną jednostkę zwaną schorzeniem świniopasów. Omawia on tę chorobę z etiologicznego, patologicznego, klinicznego i epidemiologicznego punktu widzenia oraz podaje diagnostykę różniczkową choroby świniopasów, w stosunku do wszystkich innych wirusowych schorzeń świń, zwracając szczególną uwagę na odróżnianie schorzeń ośrodkowego systemu nerwowego świń (*encephalomyelitis disseminata*, *paralysis bulbaris*, *meningoencephalitis listerellosa* i zakaźny *serositis*) od podobnych objawów spotykanych przy *leptosprosis pomona*. Wynik

serologicznych hodowlanych i doświadczalnych prac wskazuje na dość duże rozprzestrzenienie leptospirozy w czeskich gospodarstwach hodowli świń.

F. Barták i B. Pokorný (Budejovice, CSR): Leptospiry u gryzoni w okolicy Czernskich Budejovic w r. 1949.

Autorzy w r. 1949 przebadali serologicznie, mikroskopowo i metodą hodowania 209 myszy i wiele innych gryzoni (201), wśród których prawie 50% reagowało dodatnio na leptospiry. Ta stosunkowo duża ilość zakażeń w ubiegłym roku zwłaszcza szczepem *L. grippo-typhosa*. A nie wpłynęła wyraźnie na zachorowalność z powodu niesprzyjających klimatycznych i meteorologicznych warunków (susza).

M. Dziuban (Bratysława): Problem zimnicy na Słowacji.

Na podstawie konkretnie stwierdzonych danych autor po raz pierwszy wydziela na Słowacji trzy obszary, na których zimnica występuje endemicznie, podendemicznie i sporadycznie. Tereny endemicznej zimnicy obejmują 1/7 14,1% obszaru całej Słowacji o zaludnieniu stanowiącym 1/6 (15,3%) ogółu ludności Słowacji. W terenach tych na 1000 mieszkańców spotyka się w roku średnio 4 zachorowania na zimnicę. Tereny podendemicznej zimnicy obejmują 1/10 (11,8%) obszaru Słowacji z 1/10 (10,7%) ogółu ludności. Na 1000 mieszkańców obszarów podendemicznych spotyka się przeciętnie 0,5 zachorowań. Autor przypuszcza, że tereny te są obszarem nowej ekspansji zarazków zimnicy. Tereny endemiczne i podendemiczne razem stanowią 1/4 (25,8%) całości Słowacji zamieszkałe przez 1/4 (26,1%) ludności tego kraju. Na obszarach gdzie zimnica występuje sporadycznie na 10 000 mieszkańców przypada średnio w roku 0,7 zachorowań.

M. Halasa (Praga): *Trichomonas foetus*, jego izolacja i hodowla in vitro.

Autorowi udało się w wielu wypadkach wyizolować rzęsićka bydłęcego z ropnej wydzieliny macicy i pochwy krów poddanych ubojowi w rzeźni w Brnie. Ropa z macicy zawierała prócz rzęsićków również liczne bakterie, ziarniaki i paciorkowce oraz nabłonki, leukocyty i rozpadające się tkanki. Stosunkowo łatwo udawało się oczyścić kulturę przy pomocy penicyliny i innych środków. Dla oczyszczania kultur najlepszym okazał się agar z surowicą według Westphala, podczas gdy bulion wątrobiany był tu niewygodny. Również i dla hodowania pasożyta na sztucznych podłożach najlepszy był agar z surowicą Westphala, przy czym przesiewy trzeba było robić co 7—8 dni. Stosunkowo niezłym podłożem okazała się pożywka płynna wg Westphala oraz bulion wątrobiany. Pokrycie powierzchni pożywki jałową płynną parafiną wpływało dodatnio na żywotność pasożyta, ale nie na jego intensywność wzrostu.

O. Havlík (Praga): Nowe badania nad toksoplazmą.

W latach 1949 i 1950 stwierdzono na terenie Czechosłowacji metodą serologiczną (wg Sabina — Feldmanna) 24 przypadki zakażenia toksoplazmą. W 3 przypadkach było zapalenie mózgu u dzieci, w pozostałych zakażenie było wrodzone. Wśród tych ostatnich 8 razy dodatnia reakcja serologiczna występowała równocześnie u matki i dziecka, u pozostałych była ona tylko u matki. W jednym przypadku zapalenia mózgu udało się stwierdzić toksoplazmy metodą hodowania.

Równocześnie prowadzone próby laboratoryjne na kleszczach *Ornithodoros moubala* wykazały, że toksoplazmy żyją w organizmie tych kleszczy dłużej jak

20 dni i wydzielają się z ich kałem. Nie udało się natomiast przenieść zakażenia przez ssanie krwi zakażonych kleszczy na zdrowe myszy.

F. Niznánsky (Bratysława): Zaraza stadnicza koni w Czechosłowacji.

W związku z przemaszaniem wojsk pod koniec ubiegłej wojny przez terytorium Czechosłowacji zaraza stadnicza rozprzestrzeniła się wśród koni krajowych. Śledząc to zagadnienie w latach 1945—1949 stwierdzono, że zakażonych było 672 gospodarstw. 675 miało charakterystyczne objawy kliniczne, a 409 koni przy równoczesnych objawach klinicznych reagowało dodatkowo serologicznie. 3301 koni było podejrzanych o zakażenie, a 138 koni tylko reagowało dodatkowo serologicznie. 786 należy uważać za stracone, za co Państwo wypłaciło 8.228.577 koron odszkodowań. Chore ogiery zakażały przy kopulacji 26,4% pokrytych klaczy. Okres inkubacyjny choroby był dość krótki (6—21 dni), przebieg schorzenia łagodny i chroniczny. U zakażonych zwierząt objawy występowały w różnym stopniu. Służba weterynaryjna skupiała i unieszkodliwiała wszystkie klacze reagujące dodatkowo serologicznie i klinicznie. Izolowanie świdrowców udawało się jedynie po dojazdowym wstrzyknięciu królikom krwi od zakażonych koni, a wyosobnione szczepy odznaczały się niejednakową wirulencją. Z metod sero-diagnostycznych dobra okazała się reakcja wiązania dopęcnacza, jako wygodna metoda przy masowym badaniu, gdyż przy powtórnych próbach wykryto wszystkie prawie przypadki zakażenia. Pewne nieścisłości wyników serologicznych kładziemy na karb niewłaściwej metody z neodpowiednim antygenem. Lepsze wyniki uzyskiwane ze świeżym wodnym antygenem przyrządzonym dożylną iniekcją psów według dokładnie wypracowanej techniki. Zaraza stadnicza w krajach kulturalnych i rozwiniętych ekonomicznie jest typową wojenną chorobą. Tak jak pojawia się i rozprzestrzenia w warunkach wojennych, tak lekko i szybko daje się zlikwidować w warunkach normalnych.

J. Jira (Praga): Chemoterapeutyczne i farmakologiczne próby na pierwotniaki.

Autor zreferował warunki hodowli pierwotniaków w czystych, niezawierających bakterii kulturach, ich zastosowanie jako organizmów testowych w badaniu biologicznych właściwości różnych leków i antybiotyków oraz wykazywania antypierwotniaczych właściwości preparatów chemoterapeutycznych. W szeregu prób można określić normalne działanie toksyczne, hamujący wpływ na wzrost, wpływ na oddychanie oraz na izolowany system enzymatyczny. Przy pomocy pierwotniaków można również badać wpływ preparatów chemoterapeutycznych na niektóre katalizatory.



Zbigniew Kozar