

W sprawie standardu odczynu aglutynacyjnego z pałeczką Banga

On the standard method of agglutination test with br. abortus bovis.

Doniesienie II. Antygen — I. Eliminacja szczepów szorstkich.

Report II. Elimination of rough strains.

Jednym z podstawowych elementów odczynu aglutynacyjnego, który był zarazem przedmiotem bardzo licznych doświadczeń i niemałej licznych dyskusji, jest zawiesina, czyli antygen, wzgl. aglutynogen.

Do wstępnych czynności przy przygotowywaniu antygeny należał wybór szczepów, albowiem w skład zawiesin mogą wchodzić tylko szczepy S.

Istnieje wiele sposobów wycierania szczepów R. Nie wszystkie one jednak posiadają równą wartość i zaledwie kilka z nich znajduje zastosowanie w praktyce laboratoryjnej, a mianowicie:

1) Sprawdzanie kolonii na płycie makroskopowo i pod lupą, ew. pod mikroskopem przy małym powiększeniu.

Próba ta polega na oglądaniu kolonii w świetle odbitym wg cech podanych przez *Arkwrighta*. Metoda ta okazała się mało dokładną, to też w praktyce z reguły się jej nie stosuje.

2) Określenie swoistości szczepów przy pomocy wysoko-wartościowych surowic specjalnie do tego celu przygotowanych.

Reacja ta ogólnie biorąc, jest dosyć czuła, ale jednocześnie niezbyt prosta; wymagane są bowiem specjalne surowice o wysokim mianie i wybiórczym działaniu. Próba nie daje wyników całkowicie pewnych (*Zilberta i Soltysa*), ale bywa zalecana wspólnie z innymi metodami.

3) Próba na aglutynację samorzutną w roztworze fizjologicznym oraz w 3,5 % NaCl.

Jest to próba mało czuła, jak to między innymi wykazano w następującym doświadczeniu:

7% roztwór soli kuchennej rozlano po 1 ccm do próbek aglutynacyjnych i w równej ilości dodano żywej zawiesiny po szczególnych szczepów. Dla kontroli nastawiono podobnie próbę z roztworem fizjologicznym. Po wymieszaniu umieszczono szereg w ciepłarni (37° C), a wyniki odczytano na drugi dzień (po około 15 godz.), zaraz po wyjęciu do temperatury pokojowej.

Z spośród 14 użytych w doświadczeniu zawiesin różnych szczepów stwierdzono słabo zaznaczoną aglutynację (+) tylko z jedną zawiesiną (szczep 300). Pozostałe szczepy, w tym 3 szorstkie (365, 442, 517), nie dały nawet śladów aglutynacji.

Szorstkie więc odczyn ten jest z reguły pomijany w praktyce laboratoryjnej.

4) Aglutynacja kwaśna w płynach buforowych wg *Clarka i Lubs'a*.

Większość autorów wyraża się o tej próbie przychylnie, jeśli chodzi o czułość, natomiast ogólnie podkreśla się trudności przy jej wykonywaniu.

Do prób własnych płyny buforowe sporządzono od pH₂ = 2,4 — pH₂ = 5,6 wg skali *Sørensen'a* używając M/5 siarczynu, M/5 HCl i N/5 NaOH. pH każdego płynu ostatecznie było jeszcze sprawdzane, niezależnie od ilościowego mieszania poszczególnych komponentów przy pomocy kolorymetru *Walpole'a*.

Zawiesiny szczepów przygotowano z 48 godzinnej hodowli, splukanych wodą destylowaną o pH około 6,0 i rozcieńczonych do gęstości wzorca BaSO₄. Po zmyciu hodowli z pożytki zawiesina przemywana nie była.

Reakcję nastawiono w ten sposób, że najpierw rozlano do próbek po ¼ ccm odpowiedniego płynu buforowego, potem dodano po ½ ccm zawiesiny odpowiedniego szczepu, następnie całość wymieszano i wstawiono do ciepłarni do następnego dnia (około 15 godzin).

Wyraźna aglutynacja wystąpiła z 3 szczepami (300, 365 i 442), natomiast szczep R 517 wypadł zupełnie ujemnie.

Najsilniejsze wypadanie bakterii ujawniło się przy pH₂ = 2,4 — pH₂ = 2,6. W miarę wzrostu pH intensywność wypadania szczepów malała i to różnie, prawdopodobnie zależnie od stopnia dysocjacji, za czym przemawiałyby wyniki uzyskane innymi metodami, opisanymi poniżej. Różnice w wypadaniu szczepów w poszczególnych płynach buforowych zaznaczyły się dosyć wybitnie; i tak szczep 365 wypadł tylko przy pH₂ = 2,4, pH₂ = 2,6 i częściowo przy pH₂ = 2,8, szczep 300 aglutynował

jeszcze przy pH₂ = 4,6; wreszcie szczep 442 dał ślady osadu nawet przy pH₂ = 5,0.

5) Termoaglutynacja.

Jest to odczyn nadzwyczaj prosty i łatwy w wykonaniu. Jak wiadomo, polega on na wypadaniu szczepów szorstkich pod wpływem gotowania ich na łaźni wodnej w postaci gęstej zawiesiny. Reakcja została zapoczątkowana przez *Burneta*. Ze względu na walory techniczne oraz dzięki uzyskiwaniu zadawalających naogół wyników, jest do dziś termoaglutynacja powszechnie stosowana, bądź to jako jedyna metoda w laboratorium do eliminacji szczepów szorstkich, pałeczki brucelli (*Stableforth*), bądź też łącznie z innymi metodami.

Chociaż niektórzy autorzy (*Zilberta i Soltysa*) używają do termoaglutynacji już 48 godz. hodowli, brano do doświadczeń własnych tylko kultury 3-dniowe, a to dlatego, że zwykle do sporządzenia antygeny używa się właśnie wysiwów 3-dniowych brucelli, a powtóre, że tylko takie kultury dają dostateczny wzrost dla uzyskania odpowiednio gęstej zawiesiny, co ma duże znaczenie przy wykonywaniu omawianego odczynu. Okazało się mianowicie, że jeśli gotowane zawiesiny są zbyt rzadkie, niektóre szczepy szorstkie mogą nie wypaść wcale, lub też wypadają w takim stopniu, że przy odczytywaniu jest bardzo łatwo popełnić błąd. Natomiast te same szczepy wypadają wyraźnie dodatnio, o ile zawiesiny są dostatecznie gęste.

Obficie wyrosłą 3-dniową hodowlę odpowiedniego szczepu na agarze skośnym spłukiwano 5 ccm roztworu fizjologicznego i w ten sposób przygotowane zawiesiny wstawiano do łaźni wodnej tak, aby zawartość próbek znajdowała się poniżej poziomu wody. Wody nalewa się odpowiednią ilość, biorąc pod uwagę 2 godz. gotowanie na ciągłym ogniu. Aczkolwiek niektórzy zalecają gotować tylko 1 godz., w naszych doświadczeniach stosowaliśmy 2 godz. gotowanie, podobnie, jak to podaje *Stableforth*.

Wyniki odczytywano po gotowaniu i na drugi dzień, po pozostawieniu próbek w spokoju w temperaturze pokojowej.

Przy odczytywaniu stosowano następującą ocenę: +++ na dnie próbówki, ew. także na jej ściankach obfity osad, ponad osadem płyn prawie przezroczysty; albo od góry wyraźny pierścień przezroczystego płynu wysokości ponad 2 cm, poniżej zaś zawartość jednolicie mętna z osadem na dnie próbówki, lub bez.

++ na dnie próbówki, ew. także na jej ściankach dość obfity osad, ponad osadem mniej lub więcej opalizujący płyn; albo, od góry wyraźny, prawie przezroczysty pierścień około 1 — 2 cm, poniżej niego płyn jednolicie mętny z nitym osadem na dnie próbówki, lub bez.

+ skąpy, ale wyraźny osad na dnie, ew. na ściankach próbówki ze słabym wyjaśnieniem płynu; albo, od góry wyraźny pierścień wyjaśnienia około 1 ccm z nitym osadem na dnie próbówki, lub bez.

± lub — osadu brak i pierścień wyjaśnienia niewyraźny, brak zarówno osadu jak i pierścienia wyjaśnienia. Należy nadmienić, że wygląd osadu aglutynacyjnego jest odmienny, aniżeli uzyskiwany przy termoaglutynacji. W normalnych warunkach osad aglutynacyjny pał. Banga uformowany pod wpływem zadziałania nań surowicy odpornościowej, jak wiadomo, jest „suchy”, drobnoziarnisty i wyrazisty, podczas gdy osad termoaglutynacyjny jest raczej kłaczkowaty, o zatartych konturach i bardziej puszysty, zwłaszcza przy pierścieniowatym opadaniu od góry.

Zaraz po wyjęciu z łaźni okazało się że dodatni wynik dały tylko 2 szczepy (300 i 365), wynik wątpliwy 1 szczep (442), pozatym wszystkie szczepy, wóród nich i 1 szczep szorstki (517) — wypadły ujemnie, nie dając nawet śladów osadu. Natomiast na drugi dzień te same 2 szczepy szorstkie (300 i 365) zachowywały się podobnie jak bezpośrednio po wyjęciu ich z łaźni, zato szczep z wynikiem wątpliwym (442) wypadł na (+ +), a ponadto zupełnie niespodziewanie jaszkrawo dodatni odczyn (+ + +) otrzymano ze szczepem 517 — na dnie próbówki i częściowo na jej ściankach obfity kłaczkowaty osad, ponad osadem płyn całkowicie przezroczysty.

6) Aglutynacja w 0,2% roztworze trypaflawiny wg **Alessandrini i Pampana**.

Wymienieni autorzy zauważyli, że w 0,2% roztworze tego barwnego związku szczepa R brucedla zlepiają się i wypadają podczas gdy szczep S zachowują się niezmienianie. Między innymi badania Zylberfala i Soltysa wykazały, że odczyn z trypaflawiną jest dostatecznie czuły i może być używany w praktyce laboratoryjnej przy równoczesnym stosowaniu termoaglutynacji i aglutynacji z surowicami anti R.

Już we wstępnych doświadczeniach zauważono, że roztwór trypaflawiny powinien być przygotowywany jedynie na wodzie destylowanej, a nie na płynie fizjologicznym, ponieważ w roztworze fizjologicznym sama trypaflawina wypada w postaci drobnych grudek, przypominających z grubszą osadą aglutynacyjny z pał. Banga. Dokładnej analizy chemicznej osadu trypaflawinowego nie przeprowadzono.

Sporządzono więc 0,4% roztwór trypaflawiny (Bayer) na jałowej wodzie destyl. i rozlano po 1ccm do pierwszych próbek 14 nastawionych rzędów. Do następnych zaś próbek rozlano po 1/2 ccm wody destylowanej, poczym rozcieńczano roztwór barwnika z pierwszych próbek do następnych w zwykły sposób, podobnie, jak surowice przy nastawianiu odczynu aglutynacyjnego. Chodziło mi między innymi o to, czy istotnie podane stężenie barwnika 0,2% jest najodpowiedniejsze. Potym do każdej próbki dodano po 1/2 ccm zawiesiny, którą przyrządzono, jak następuje:

Hodowlę w butelce Roux zmyto, ile się dało, 20 ccm wody destylowanej i tak uzyskaną gęstą zawiesinę ziano do jałowej kolby, a następnie ustalono jej gęstość wg wzorca BaSO₄ również przy pomocy wody destylowanej.

Po dodaniu zawiesiny do wszystkich próbek, wymieszano całość i wstawiono do ciepłarki do następnego dnia (około 15 godzin).

Wyraźnie dodatni odczyn aglutynacji szorstkiej stwierdzono tylko z 3 szczepami (300, 365 i 517). Pozostały szczep 442 wypadł wątpliwie.

Trzeba przyznać, że wyniki reakcji z trypaflawiną ujawniają się niezwykle przejrzysto. Najjaskrawiej odczyn wypadł przy stężeniu trypaflawiny 0,2%.

7) Aglutynacja w roztworze rivanolu wg **Zagrodzkiego**.

Próba ta stanowi pewną modyfikację odczynu z trypaflawiną i wg wskazań autora wykonywane jest w ten sposób, że do zawiesiny rozlanej po 2 ccm dodajemy po 1/2 roztworu rivanolu. Optymalne stężenie w nastawionej próbce powinno wynosić 0,2%. Nastawiony odczyn pozostawia się w ciepłarce do następnego dnia, a wyniki odczytuje zaraz po wyjęciu.

Doświadczenia własne wykonano z 25 szczepami br. abortus, a wyniki zestawiono w tabelcy porównawczej nr 5.

Stwierdzono przede wszystkim, że po dodaniu barwnika do zawiesin powstaje natychmiast zmętnienie w zawiesinach wszystkich szczepów, widoczne, pomimo opalescencji pochodzącej od zawieszonych drobnoustrojów. Zmętnienie to jest intensywniejsze ze szczepami szorstkimi, słabsze zaś ze szczepami, która na zasadzie zachowania się w innych wykonanych próbach określono jako szczep gładkie. Spowodowany przez dodanie barwnika strąk opada na dno próbek w czasie przetrzymywania ich przez noc w ciepłarce, tworząc mniej lub bardziej zwarty uformowany osad, co szczególnie daje się zaobserwować przy kontroli wyników na drugi dzień. Wypadanie drobnoustrojów udaje się zauważyć u szczepów silnie zdysocjowanych; w tych przypadkach płyn nad osadem pozostaje lekko mętny. Natomiast zachowanie się szczepów zmienionych częściowo (R. S, wzgl. S R) jest trudne do wyceny z powodu obecności wspomnianych osadów we wszystkich próbkach.

Na skutek tego wydanie właściwego sądu o wyniku jest rzeczą prawie niemożliwą.

W doświadczeniu dodatkowym okazało się, że owe niespecyficzne zmętnienie i formowanie się osadów pod wpływem rivanolu pochodzi stąd, iż pewne substancje pożywkowe, rozpuszczone w spłóczyźnie bakteryjnej ulegają po zadziadaniu rivanolem denaturacji. Mianowicie użyto zamiast zawiesziny bakteryjnej z jednej strony zwykłego bullonu, z drugiej strony spłóczyzny jałowego agaru skośnego. W obu przypadkach występuje zmętnienie zaraz po dodaniu roztworu rivanolu. Na drugi dzień po wyjęciu z ciepłarki zawartość próbki z bullonem pozostaje nadal mętna z obfitym, puszystym osadem na dnie, a w próbce ze spłóczyzną agarową udaje się stwierdzić również dość obfity, zbity, kłaczkowaty osad, który przy skłóceniu z trudem daje się rozbić. Ponad osadem płyn jest lekko opalizujący. W próbce z roztworem fizjologicznym zmętnienia ani osadu nie stwierdzono. Dokładniejszej analizy chemicznej co do natury powstającego strątu w opisanych próbach nie przeprowadzono.

Z otrzymanych wyników napewno tylko 4 szczepów można było za szorstkie, przyczym intensywność wypadania, wzgl. wyjaśnienia płynu wyceniono na + +; pozatem 2 szczepów ragowały ze słabo dodatnim wynikiem (+) i jeszcze 2 następnie szczepów zachowywały się niezdecydowanie (+-), pozostałe za 17 szczepów, w tym 6 szorstkich, należało uznać jako wątpliwe, wzgl. jako R i gdyby nie uzyskane wyniki z równocześnie nastawioną termoaglutynacją i z próbą z odczynnikiem Millona, trafna ocena byłaby nie możliwa.

Tablica Nr 5.

Lp.	Szczep	RODZAJ ODCZYNU		
		Termoaglutynacja	0,2% rivanolu	Odczynnik Millona
1	50	+++	++	+++
2	52	+++	++	+++
3	54	+++	+	+++
4	74	+++	++	+++
5	48	+	++	+++
6	57	+++		+
7	79	+++		+
8	87	++		++
9	72	+	+	+
10	56	+	+	+
11	78	-	+	++
12	60	+		+
13	63	+		+
14	71	+		+
15	49			
16	51			
17	55			
18	62			
19	64			
20	67			
21	75			
22	76			
23	86			
24	88			
25	169			

8) Aglutynacja szczepów szorstkich z odczynnikiem **Millona**.¹⁾

W chemii odczynnik Millona służy do wykrywania pochodnych białka o budowie pierścieniowej (tyrozyna). Dodatni odczyn charakteryzuje się czerwonym, wzgl. brunatnoczerwonym zabarwieniem. W bakteriologii zaś odczynnik Millona znalazł zastosowanie do wykrywania szczepów szorstkich. Dokładnych danych źródłowych odnośnie do tej sprawy nie jestem w stanie podać z powodu braku odpowiedniego piśmiennictwa.

W postępowaniu własnym odczyn nastawiano w ten sposób, że najpierw rozlano wspomniany odczynnik do próbek po 1/2 ccm a następnie w te same ilości dodano gęstą zawiesinę uzyskaną przez spłókanie 10 ccm roztworu fizjologicznego 3-dniowej hodowli na agarze skośnym. Nastawioną próbę przetrzymywano przez całą noc w ciepłarce (37° C) i niebawem po wyjęciu odczytywano wyniki, które zestawiono w tabl. nr 5.

Wszystkie szczepów reagujące w odczynie termoaglutynacyjnym dodatnio dały z odczynnikiem Millona wyraźny osad. Uformowanie grudki są wyraźnie widoczne, z wyglądu raczej „suche” i łatwe do kontroli.

¹⁾ Odczynnik Millona: 30 ccm rtęci rozpuścić w 570 ccm stężonego kwasu azotowego i rozcieńczyć otrzymany roztwór podwójną objętością wody.

L. p.	Surowice	Szczepy	A G L U T Y N A C J A											Kontrola		
			1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240	1:20480		1:40960	
1	Ten 1	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	28		++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2	Ten 1	M	+	+	+	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++
	28		+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3	Ten 1	Ter	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	28		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4	Ten 1	Bydgoszcz	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
	28		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5	Ten 1	Agril	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
	28		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
6	Ten 1	Sz	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
	28		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
7	Ten 1	Hellenów	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	28		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8	Ten 1	331	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	28		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9	Ten 1	343	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	28		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10	Ten 1	346	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	28		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Niewiadomo dlaczego niektóre szczepy (57, 79) wypadają w próbie z odczynnikiem Millona mniej intensywnie, aniżeli w termoaglutynacji, i odwrotnie, niektóre szczepy szorstkie (48, 78) dają słabszy odczyn w termoaglutynacji, aniżeli z odczynnikiem Millona.

9) Zachowanie się szczepów R w zjawisku elektrowłokowości.

Zybertal (1939) zaobserwował, że szczepy brucella S i R zachowują się odmiennie w zjawisku elektrowłokowości. Mianowicie faza S zachowywała się tak, jak gdyby była naładowana ujemnie (anion), zaś faza R — dodatnio (kation). Prace o zastosowaniu tej metody do rozpoznawania szczepów szorstkich w zakresie laboratoryjnym nie są mi znane. To też szczegółowy jej opis pozwolę sobie pominąć, odwołując się do interesujących do pracy oryginalnej (Zybertal — pamiętnik Państw. Inst. Nauk Gosp. Wiejsk. w Puławach, zes. 2, str. 33, 1938).

Omówienie.

Z powyższego wynika że z spośród dotychczas znanych metod, służących do określenia szczepów szorstkich brucella, praktycznie nie wchodzi w rachubę: kontrola wzrostu gołym okiem lub pod mikroskopem w świetle odbitym, wypadanie w roztworze fizjologicznym i w 3,5% roztworze NaCl, wypadanie w 0,2% roztworze rivanolu, jak również ew. zachowanie się szczepów R w zjawisku elektrowłokowości.

Względna wartość zdają się posiadać: aglutynacja kwaśna wg Clarka i Lubs'a, odczyn w 0,2% roztworze trypaflawiny oraz aglutynacja ze specyficznymi surowicami. Aglutynacja kwaśna jest bądź co bądź związana z dosyć komplikowanymi zabiegami, co nieomal jednogłośnie jest podkreślane w piśmiennictwie; trzeba sporządzać płyny buforowe i kontrolować ich wartość, ponieważ podane przez poszczególnych autorów recepty dają w zwykłych warunkach laboratoryjnych nie zawsze te same stężenie jonów wodorowych, co zaobserwowano między innymi przy sporządzaniu tych płynów buforowych do własnych prób. Następnie rozewi się poszczególne płyny buforowe do szeregu próbek. W obserwacji własnych wynika, że bynajmniej nie jest to konieczne; odczyn wypadania szczepu zaznacza się najwyraźniej przy pH 2,4 i w miarę wzrostu pH aglutynacja kwaśna słabnie. Ryzyko więc praktycznie celowym nastawianiem próby tylko z jednym płynem buforowym, z którym wspomniana aglutynacja szorstka ujawnia się najsilniej, t. j. z płynem o pH 2,4, ew. z dwoma płynami buforowymi — o pH 2,4 i pH 2,5. Postępowanie zostałoby rzecz zrozumiała znacznie uproszczone. Omawiana próba posiada jeszcze inną ujemną stro-

nę; mianowicie nie daje ona zupełnie pewnych wyników; szczep 517 zachowywał się w tym odczynie zupełnie ujemnie, chociaż w próbie termoaglutynacji i w roztworze 0,2 trypaflawiny zachowywał się zdecydowanie jako szczep R.

Odczyn z trypaflawiną wg Alessandrini i Pampana nie jest również całkowicie pewny, chociaż posiada duże techniczne walory; jest stosunkowo prosty w wykonaniu wyniki wypadają jaszkrawo, tak że odczytywanie odbywa się z łatwością. Wyraźnie dodatni odczyn aglutynacji szorstkiej otrzymano tylko z 3 szczepami. Czwarty szczep R (442) wypadł jednak wątpliwie. Powyższa opinia pokrywa się z obserwacjami Zybertala i Soltysa; wymienieni autorzy zalecają tę metodę jednocześnie wspólnie z innymi próbami.

Ci sami autorzy stwierdzili, że aglutynacja ze specyficznymi surowicami w poszczególnych przypadkach także zawodzi; niektóre szczepy R reagowały serologicznie jako szczepy S, a w 0,2% roztworze trypaflawiny zachowywały się wyraźnie dodatnio. Próba jest żmudna, bo wymaga przygotowania wysokowartościowych, specyficznymi surowic.

Termoaglutynacja i aglutynacja z odczynnikiem Millona zdają się mieć największe szanse powodzenia i, jak to wynika z naszych doświadczeń, szanse jednakowe. Nie potrzeba omawiać walorów technicznych obu prób. Poza tym z spośród wszystkich omawianych metod okazały się one najzupełniej silniejsze wypadanie niektórych szczepów R w termoaglutynacji, aniżeli z odczynnikiem Millona, jak również odwrotnie, przemawiałyby za stosowaniem obu metod jednocześnie, chociaż na 15 szczepów szorstkich ani w jednym przypadku nie stwierdzono zasadniczej niezgodności.

Termoaglutynacja w dotychczasowym wykonaniu stawianym wymogom nie sprostą. Wyniki należy odczytywać dopiero na następny dzień, przyczem decyduje tu nie tylko obecność osadu na dnie próbek, lecz także stopniowe opadanie całego ślupa zmętnienia kłębiasto z całkowitym lub częściowym wyjaśnieniem płynu w tworzącym się od góry pierścieniu o różnej szerokości.

Jeśli uprzednio już niektóre laboratoria (Stableforth) stosowały termoaglutynację jako jedyną i wystarczającą próbę w czynnościach związanych z przygotowaniem antygeny aglutynacyjnego, należy się liczyć, że z chwilą podniesienia jej czułości przez wprowadzenie opisanych wyżej modyfikacji, odczyn ten stanie się powszechny i, jak się wydaje, wystarczający w rozpoznawaniu zlysozowanych szczepów brucella.

PAŃSTWOWY INSTYTUT
WETERYNARYJNY
W PUŁAWACH

WYDZIAŁ PRODUKCJI

PUŁAWY Tel. 17

POLECA

Surowice

dla szczepień leczniczych i zapobiegawczych

Szczepionki

żywe i zabite

PREPARATY DIAGNOSTYCZNE

* *
*

SZCZEGÓŁOWE PROSPEKTY NA ŻADANIE

PAŃSTWOWE ZAKŁADY
B I O L O G I C Z N O -
F A R M A C E U T Y C Z N E
DRWALEW

pow. Grójec

Telefon — Grójec 52

Biuro Dyrekcji w Warszawie, Kazimierzowska 49

PRODUKUJA:

W S Z E L K I E
SZCZEPIONKI I SUROWICE

do zapobiegania i zwalczania chorób
zakaźnych zwierząt domowych

PREPARATY BODŹCOWE:

Chinotropina, Delbekcyna, Panodyna

P R E P A R A T Y

CHEMICZNO - FARMACEUTYCZNE:

Colfin, Ventraza, Chromotinktura
Carbostil i Intrakty.

Wnioski.

- 1) Do sporządzania antygeny aglutynacyjnego mogą być używane tylko szczepy S.
- 2) Do wykrywania szczepów R. br. abortus najbardziej czuły i zarazem technicznie najłatwiejszym okazały się termoaglutynacja w zmodyfikowanym wykonaniu i aglutynacja odczynnikiem Millona.
- 3) Znacznie mniejszą wartość praktyczną posiadają: aglutynacja kwaśna wg Clarka i Lubsa, odczyn w 0,2 % roztworze trypaflawiny, oraz aglutynacja ze specyficznymi surowicami.
- 4) Dla celów praktyczno-laboratoryjnych nie nadają się: kontrola wzrostu gołym okiem lub pod mikroskopem w świetle odbitym, wypadanie zmienionych szczepów w roztworze fizjologicznym i w 3,5 % roztworze NaCl, wypadanie w 0,2 % roztworze rivanolu wg Zagrodzkiego oraz ew. zachowanie się szczepów R w zjawisku elektrokapilarności*).

Summary

On the basis of literature and his own results the author states that thermoagglutination and rough agglutination with Millon's reagent show to be the best for determining R strains of br. abortus bovis. It should be emphasized that thermoagglutination should be carried out differently than it has been up to now, i. e. the results should be read the day after boiling. The sediment at the bottom of the tube or the lowering of liquid at the top, proves the positive test.

Clark's and Lubs's acid agglutination - test with 0,2% tripaflavin, as well as agglutination with specific sera, are of less value.

The control of cultures with the eye and microscopically the falling out in physiological solution and in 3,5% NaCl Zagrodzki's - test with 0,2% rivanol, eventually the reaction of strains in the phenomenon of electro-capillarity, seem to be without any practical value.

3. Dział lecznictwa i notat z praktyki

STANISŁAW ŚPIEWAK

Piotrków

NARKOZA I JEJ ZASTOSOWANIE W PRAKTYCE LEKARSKO - WETERYNARYJNEJ

(Referat wygłoszony na Zjeździe lekarzy wet-
województwa łódzkiego).

(Dokończenie)

WODNIK CHLORALU

Wynaleziony w 1905 roku przez Liebreicha, środek ten nie znalazł szerszego zastosowania u ludzi, za to okazał *wybitnie korzystne cechy przy narkozie u zwierząt*. Wszyscy autorzy podkreślają zgodnie dodatnie strony tego narkotyku, a mianowicie:

- 1) w stosunkowo małej dawce daje narkozę bez stadium podniecenia,
- 2) granica między dawką narkotyczną, a śmiertelną, b. szeroka,
- 3) jeśli pod działaniem środka tego nie wystąpiła pełna narkoza, wodnik chloralu pozwala na pogłębienie jej innymi narkotykami jak eter, chloroform, awertyna itp. względnie środkami miejscowo znieczulającymi,
- 4) ułatwia położenie zwierzęcia, czyniąc go spokojnym,
- 5) nie wymaga specjalisty narkotyzera,
- 6) działa swoiście (Esclauze i Edmond) i działanie to na ustrój, a zwłaszcza u koni, okazało się wybitnie korzystnym w stosunku do innych środków narkotycznych,
- 7) nie wywiera szkodliwego wpływu na serce,
- 8) rozszerza naczynia obwodowe, zmniejszając ciśnienie krwi,
- 9) ujemne cechy podkreślane w literaturze to:

niepewność działania, trudność dawkowania, drażniące działanie na tkanki ustroju, z którymi się styka.

Co do wartości wodnika chloralu zdania są uzgodnione, istnieją natomiast wielkie rozbieżności co do metod stosowania tego środka, oraz co do dawek.

Jeśli chodzi o metody, to zdania autorów są bardzo różne.

a) Conil (Fr.), Brumberg (Amer.) i Sondrail (Niemcy) są zwolennikami podawania chloralhydratu dootrzewnowo, uważając podawanie dożylnie za niebezpieczne, doprostnicowe zaś za niepewne. W dawkach u koni 1 g na 10 kg wagi w płynie fizjologicznym, u psa 1 g na 3 kg wagi, Hermann G. podaje, iż u psów i małych przeżuwaczy wodnik chloralu dootrzewnowo w ilości 1 g na 3 kg w 10% roztworze daje 1—1,5 godz. narkozy.

b) Sauvan, Fröhner, Rehse, Bock, Usolzew, Gajewski są zwolennikami narkozy doprostnicowej i stosują dawki u koni: Usolzew 20—30 g, Bock 100 g, Gajewski 80—100 g w 750 cm³ czystej wody, Fröhner 150 w 3 litrach wody z dodatkiem 75 g gumy arabskiej na 1 godz. przed operacją. Welscher i Menzel dochodzą do wniosku, że ta metoda jest niepewna i że nawet dawka 180 g nie usypia konia.

c) Rehse, Rberlein, Fria, Winter, Usolzew, Möller, Sörensen, Gajewski są zwolennikami metody dożylkowej z wodą do picia lub przez sondę nosowo-przelykową (Welscher),

przyczem radzą dawki w wysokości 3 do 5 g na 100 kg żywej wagi. Freese W. otrzymuje dobrą narkozę u psów dawką 0,5—0,6 na 1 kg wagi w 10% roztw. dożylkowo.

d) Najwięcej autorów ostatnich czasów wypowiada się za stosowaniem metody dożylnej i tak:

Platten daje 50 g w 250 cm³ wody o ciepocie krwi. Cnemmerer stosuje dla odurzenia 23,1 g lekkiej narkozy 33,5 g średniej 45,8 g, głębokiej 51,4 g u konia.

Tapp i Steiber przy trzebieniu ogierów 25—55 g w 200 g wody.

Marcenac z Lemotayer stosują 20% roztw. wodnika chloralu z dodatkiem cytrynianu sodu w ilości 25—50 g.

Golański¹⁾ radzi 7,5% roztwór — dla lekkiej narkozy 7—8 g, do b. głęb. 16—20 g 100 kg wagi.

Caemmerer, Hahn, Welscher podają technikę narkozy dożylnej. Ci i Linde, Pfeiffer, Jansa, Jacob, Golański radzą 3—12,5% roztworu, przy czym Jansa i Hennig twierdzą, że nawet 75% roztwór wodnika chloralu nie zawsze wprowadzony do tkanki łącznej podskórnej daje lewisto surowicze nacieczenia.

Klinika berlińska (Möller — Sörensen) stosuje 20% roztwór.

Vennerholm radzi 50—60 g dla konia. Pfeiffer, Röder, Henkels, Bolz, Borscher 4 g na 100 kg. Schweißkert²⁾ 40—50 g dla konia.

Prace Lindégo, Eberhard'a, Jöhnska i Welschera — w ostatnich czasach uważają narkozę dożylną za właściwą. Jöhnska zwraca uwagę, aby roztwór był świeżo przygotowany i aby igła iniekcyjna miała otwór z boku, a nie na końcu. Berger i Völker ustalają dawkę na 15 g na 100 kg.

Hahn ustala dawkę na 20—60 g. Müller, Fröhner dawkę 50—70 g uważają za śmiertelną u koni.

Negotin aplikował 90—160 g bez szkody dla zwiercia. Glück stosował 2,5 g na 100 kg wagi w 50% roztworze.

Möller, Frick, Eberlein, Winter, Sörensen, Fröhner zupełnie zarzucili stosowanie metody dożylnej zrażeni nieprzyjemnymi komplikacjami. M. Wislocki³⁾ stosuje 1 g na 10 kg żywej wagi w 40% roztworze u świń.

Darron określa dawkę śmiertelną dla konia 400 kg wagi na 150—200 g wodnika chloralu.

Kleine P. twierdzi, że u psów 0,3 g na 1 kg wagi dożylnie jest śmiertelny w 20% przypadków.

Jak z tego wynika w ostatnich latach toczy się spór o ustalenie dawki narkotycznej wodnika chloralu przy dożylnym podawaniu, oraz spór o ustalenie stężenia roztworu stosowanego do narkozy.

Prace wymienionych autorów w ostatnich czasach potwierdzają doniosłość metody, a głosy autorów przeciwnego zdania należy złożyć na karb niewyrobionej techniki w przeprowadzaniu zabiegu. *Dożylna narkoza wodnikowa u zwierząt, a zwłaszcza u koni zdała egzamin i winna być jaknajszersze stosowana.*

Od środka narkotycznego wymagamy, aby kosztem jaknajmniejszych szkód dla ustroju doprowadził do zupełnego bezwładu, znieczulenia i snu.

¹⁾ B. T. W. 1931.

²⁾ Beiträge zur intravenösen Injection von Chloral - Hydrat beim Pferde — Dissert. Glessen 1906.

³⁾ Med. Wet. 1945 str. 161.

*) Wykaz piśmiennictwa zostanie podany w doniesieniu IX