

1. Prace naukowe i referaty zbiorowe

Z Państwowego Instytutu Gospodarstwa Wiejskiego w Paławach — Wydział Weterynaryjny,

Kierownik: dr K. ZAGRODZKI

Z Zakładu Mikrobiologii Akademii Medycyny Weterynaryjnej we Lwowie.

Kierownik Prof. dr E. MIKULASZEK.

A. JEZIERSKI

Próby oznaczania miana surowicy przeciwróżycowej za pomocą precypitacji wielocukrowej

Essais de détermination du taux du sérum anti-rouget du porc, par la précipitation polysaccharique.

(Pracę wykonano w 1939 roku).

Jak wykazały badania lat ostatnich, nadaje się odczyn precypitacyjny z wielocukrem bakteryjnym do miareczkowania surowic leczniczych.

I tak odczyn ten zastosowali Zozaya — Boyer — Clark, przy oznaczaniu wartości surowic przeciwpneumokokowych, porównując próbę oznaczania dawki ochronnej dla myszy czyli tak zw. „mouse protection test“ z mianem precypitacji, jaką dają dane surowice z wielocukrem, otrzymanym z otoczkowego pneumokoka. Badania te wykazały dużą zgodność obu odczynów. Metodę tą, jako bardziej dokładną i łatwą wykonać, polecają także do miareczkowania surowic przeciwwąglikowych.

Jak wielka może być zgodność obu odczynów, wykazuje praca R. Brown, w której miareczkując 46 przeciwpneumokokowych surowic typu I, uzyskała w 91,3% zupełnie zgodne wyniki przy próbie z myszką i odczynie precypitacyjnym.

Jako dokładniejszą metodę od oznaczania miana precypitacyjnego w surowicach leczniczych polecają Heideleberger — Sia — Kendall mikrometodę Pregla, zapomożą której, oznacza się ilość azotu w strądle powstałym w 0,5 ml. surowicy badanej po zmieszaniu jej z 0,5 ml. fizjol. roztworu, zawierającego 1 mg. wielocukru pneumokokowego. Mnożąc obliczoną ilość azotu przez 6,25 otrzymuje się ilość strąconego białka, która jest wprost proporcjonalna do wartości leczniczej surowicy; zaletami tej metody są dokładność, szybkość i prostota.

Pracując przy produkcji surowicy przeciwróżycowej postanowiłem przebadać większą ilość surowic leczniczych w odczynie precypitacyjnym z wielocukrem włoskowca różycy i przełonać się, czy zawartość precypitacji przeciwwielocukrowych idzie w parze z mianem surowicy, chroniącym gołębie przed zakażeniem.

Badania własne.

Do otrzymania wielocukru użyłem kilkunastu szczepów włoskowca różycy, stosując zmodyfikowaną metodę Zinserra i Parkera, polegającą na odbiżeniu kwaśnym. Hodowlę 48-godzinną wysianą na agarze zwykłym we fiaskach Roux zalewałem wodą przefiltrowaną w ilości 20 ml na fiaskę. Po sprawdzeniu czystości hodowli zlewano zawiesinę bakteryjną do kolbki i wstawiano do autoklawu na 20 minut w temperaturze 115°. Bezpośrednio po wyjściu z autoklawu kolbki dodaje się lewam oetowego lodowatego w takiej ilości, by jego stężenie wynosiło 1%. Następuje niemal natychmiast strącenie białka bakteryjnego. Po kilkakrotnym przesączeniu przez bibułę otrzymuje się zupełnie klarowny przesącz, który zadaje się podwójną objętością alkoholu etylowego 96%. Po chwili opada w płynie obfity osad kłaczkowaty, zawierający wielocukier włoskowca różycy w stanie jeszcze zanieczyszczonej. W celu oczyszczenia rozpuszcza się odwirowany osad w małej objętości wody przefiltrowanej i powtórnie wytrąca alkoholem; także wytrącanie alkoholem powtarza się kilkakrotnie. Osad odwirowany suszy się

ostatecznie na płytce w ciepłarni w temperaturze 37°. Celem oczyszczenia wielocukru ze składników nieorganicznych można poddać wielocukier działaniu dializy przez błony zwierzęce. W swojej pracy zastosowałem wielocukier otrzymany w opisany sposób. Z hodowli 30 fiasek płaskich otrzymałem średnio do 1 g. wielocukru. Ilość ta jest zbyt wielka w porównaniu z małą ilością masy bakteryjnej wyrosłej na pożywce; dlatego też należy przyjąć, że oprócz właściwego czynnego wielocukru różycowego znajdują się w otrzymanym preparacie jeszcze inne składniki pochodzące z użytych pożywek. Do przygotowania rozcieńczenia odważa się dokładnie pewną ilość wielocukru na wadze analitycznej, następnie dodaje się na każdy miligram wielocukru 1 ml. płynu fizjologicznego, uzyskując w ten sposób rozcieńczenie 1:1000. W tym stężeniu wielocukier z włoskowca różycy dawał dodatni odczyn alfa-naftolowy Molischa, nie wykazał wprost żadnych własności redukcyjnych a dopiero po hydrolizie kwaśnej występowała silna redukcja z płynem Fehlinga. Przy zastosowaniu tej techniki otrzymujemy t. zw. pierwszą frakcję wielocukru. Możemy oznaczyć również drugą frakcję wielocukru w ten sposób, że do przesączonego płynu, z którego poprzednio otrzymano I frakcję dodaje się powtórnie podwójną ilość alkoholu 96% przy czym wytrąca się druga frakcja wielocukru. Pierwsza frakcja po wysuszeniu wygląda jak zbita masa biaława, podobna do kredy, zaś druga przedstawia się w postaci luźnego, grudkowego, brunatnego proszku. Obie frakcje wielocukru różycowego zachowały się jednako czynne jako antygen w odczynie precypitacyjnym; wielocukry uzyskane z innych gatunków drobnoustrojów przy pomocy frakcjonowanego wytrącania alkoholem wykazują niekiedy różnice w swych własnościach serologicznych; wobec tego, że w kilku próbach kontrolnych uzyskałem identyczne wyniki precypitacji zarówno z frakcją I jak i II, wykonałem dalsze badania jedynie z frakcją I wielocukru różycowego.

Badania swoje mogę podzielić na kilka części:

1) Próba precypitacji z surowicami koni normalnych (roboczych);

Celem przekonania się czy surowica koni zdrowych i nieuodpornionych nie daje dodatniego odczynu precypitacji z wielocukrem różycowym nastawiłem precypitację z surowicami 122 koni normalnych. W żadnym wypadku nie otrzymałem dodatniego odczynu. 14 koni zbadałem po całonocnym odpoczynku, następnie po wykonaniu ciężkiej pracy, przed karmieniem ranym, przed karmieniem pokudnowym, i po karmieniu pokudnowym. Wynik precypitacji był zawsze ujemny.

2. a) Próba precypitacji z surowicami świń normalnych (zakupionych do produkcji surowicy przeciwpomorskiej).

Przebadalem w ten sposób jak surowicę koni, 160 surowic świń. Wynik precypitacji z wielocukrem różycowym ujemny;

b) Próba precypitacji z surowicami świń hiperimmunizowanych zarazkiem pomorowym (85 świń) dała wynik ujemny.

c) Próba precypitacji z surowicami świń wysoko - uodpornionych przeciw pomorowi (120) dała wynik ujemny. Wśród tych świń grupa 75 i 45 (razem 14 świń) otrzymały podskórnie dnia 8 marca 1939 każda po 30 ml surowicy przeciwrózycowej, dwie zaś z nich otrzymały po 50 ml surowicy przeciwrózycowej dożylnie i po 70 ml podskórnie. Ostatnie dwie świny były podejrzane o zachorowanie na różycę. Pomimo badania całych dwu grup 3 razy dziennie przez 3 dni nie otrzymałem w żadnym wypadku z surowicami tych świń dodatniego odczynu precypitacji.

Celem przekonania się czy:

d) świny chore na różycę przy tak krótkim okresie wyłęgania się choroby (2 do 3 dni) produkują już precypityny wybrałem 3 świny świeżo zakupione. Nastawiłem precypitację na dzień przed zakażeniem włoskowcem różycy z wynikiem ujemnym. Świny te w następnym dniu otrzymały podskórnie po 1 ml 24-godzinnej hodowli różycowej bulionowej. Krew pobierano od nich 3 razy dziennie. Dwie świny zachorowały na różycę, jedna nie. Precypitacja wykonana z surowicą świń na 24 godziny po zakażeniu (temp. u tych świń 40,7°) dała dodatni wynik precypitacji z wielocukrem włoskowca różycy w rozc. 1:1000 i 1:2000. Ponieważ temperatura u tych świń na 3-ci dzień po zakażeniu wynosiła 41,5°, zastosowałem surowicę przeciwrózycową w dawkach leczniczych.

Aby się przekonać czy wysoka temperatura sama jako taka nie wpływa na dodatni odczyn precypitacji, pobrałem krew od świń zakażonych pomorsem wówczas, gdy temperatura wynosiła 41° i więcej. Tak przebadalem 28 krwawików i przekonałem się, że w żadnym wypadku z surowicami tych świń precypitacja z wielocukrem różycowym nie dała dodatniego wyniku.

Prócz tego pobrałem krew od 8 świń chorych na różycę w terenie. Temperatura u nich wynosiła ponad 41°. U 8 świń otrzymałem dodatni wynik precypitacji w rozcieńczeniu wielocukru 1:2000. Wszystkie świny po zastosowaniu surowicy przeciwrózycowej wyzdrowiały. Ze względu na małą ilość przebadanych świń chorych na różycę wyciąganie dalej idących wniosków, byłoby narazie przedwczesne. Wszystkie wyżej przeprowadzone doświadczenia dążyły do stwierdzenia swoistości odczynu precypitacyjnego, wykonanego z wielocukrem różycowym. W tym celu przeprowadziłem jeszcze następujące doświadczenia. Pobrałem krew od 10 koni produkujących surowicę przeciwwąglikową, 18 wołów, 12 koni dających surowicę przeciw pomocznicy wielorakiej, 5 osłów dających surowicę Ascollego oraz 1 osła normalnego. Precypitacja z tymi surowicami przy użyciu wielocukru różycowego dała wynik ujemny, natomiast zastosowany u tych zwierząt jako precypitynogen wielocukier wąglikowy dał wynik dodatni z surowicami koni wąglikowych Nr 14, 11 (w rozcieńczeniu wielocukru 1:1000) oraz (w rozcieńczeniu 1:5000) z surowicami osłów, dawców surowicy Ascollego.

Dopiero po tych wstępnych doświadczeniach przystąpiłem do właściwych prób oznaczania miana surowicy przeciwrózycowej za pomocą precypitacji, używając jako antygeny wielocukru otrzymanego z włoskowców różycy świń. Wszystkie precypitacje wykonywałem z surowicami świeżymi (24 godzin po pobraniu) oraz bez dodatku fenolu, ponieważ surowice kilkudniowe dają często niewyraźny pierścień, zaś w surowicach z fenolem występują nieswoiste strąty. Do precypitacji używałem rozcieńczeń wielocukrów w płynie fizjologicznym w stosunku 1:1000, 1:2000, 1:5000, 1:8000, 1:10000, a tylko wyjątkowo niektóre surowice dawały precypitację dodatnią przy rozcieńczeniu wielocukru 1:20000. Do rozcieńczenia wielocukrów należy zawsze używać płynu fizjologicznego a nie wody przekroplonej, ponieważ sama wo-

da destylowana daje nieswoiste strąty przy zetknięciu się z powierzchnią surowicy. W swoich badaniach zastosowałem precypitację pierścieniową przez podwarstwienie surowicy a następnie po odczytaniu wyniku do 15 minut od chwili nastawienia próbę wstrząsałem i pozostawiałem w temperaturze pokojowej na 24 godzin po czym odczytywałem wynik jako precypitację osadową.

Pracę właściwą zacząłem od badania surowic koni, przeznaczonych do produkcji surowicy przeciwrózycowej, w ten sposób, że przez cały okres hiperimmunizacji po każdym zastrzyku pobierałem krew i nastawiałem precypitację z wielocukrem różycowym. Do tych badań użyłem 13 koni, które badałem stale przez 3 miesiące aż do chwili upustu krwi. Nawet dawka 200 ml 24-godzinnej żywej hodowli bulionowej włoskowca różycy, wprowadzona podskórnie, nie wywoływała w surowicy konia powstania precypityny. Wykonałem również próbę z surowicą tych koni, w celu przekonania się czy obecność wzgl. brak precypityny wielocukrowych stoi w związku z własnościami surowicy, zabezpieczającymi gołębę przed zakażeniem. Surowicę nierozcieńczoną wprowadzono gołębiami w dawkach 0,1, 0,25 i 0,5 ml, zaś po dwóch godzinach zakażano ptaki hodowlą bulionową włoskowca różycy w ilości 0,5 ml. Na ogólną ilość 78 gołębi zaszczerpionych surowicą koni, które jednorazowo otrzymały podskórnie 200 ml hodowli włoskowca tylko 3 gołębie pozostały przy życiu po zakażeniu żywą hodowlą. Dalsze zastrzyki hodowli różycowej u tych koni hiperimmunizowanych dożylnie i podskórnie (100 ml dożylnie i 100 ml podskórnie) nie wywołały również powstania precypityny a próba oznaczania siły chroniącej surowicy na gołębich wypadła także ujemnie. (Wszystkie gołębie padły). Dopiero dawka 150 ml dożylnie żywej hodowli bulionowej i 50 ml podskórnie spowodowała u koni Nr 175 i 173 pojawienie się precypityny. Dawka 200 ml dożylnie hodowli bulionowej wpłynęła na powstanie u kilku koni precypityny, jednak w niewielkiej ilości, gdyż wykonana precypitacja z surowicami tych koni dała dodatni wynik z wielocukrem różycowym tylko w rozcieńczeniu 1:1000 i 1:2000. Kontrola surowicy na gołębich wykazała tylko słabe chroniące działanie surowicy. Powtórzony zastrzyk dożylny 200 ml hodowli bulionowej nie wpłynął wydatnie na obfite wystąpienie precypityny, jak również nie wzmożnił miana surowicy w doświadczeniu na gołębich, które niemal wszystkie padły. Pozostały przy życiu niektóre, po dawce 0,5 ml surowicy. Wobec tego wprowadzono koniom poraż trzeci 200 ml hodowli dożylnie i dopiero wówczas powstały precypityny w większej ilości, równocześnie zaś surowica uzyskała wyższe miano chroniące. Zachęcony tym doświadczeniem zacząłem badać surowicę wszystkich koni produkujących surowicę przeciwrózycową od kilku miesięcy, względnie kilku lat; i tak pobrałem krew 5 dni po upuście krwi czyli przed pierwszym zastrzykiem; 5 dni po pierwszym zastrzyku, czyli przed drugim zastrzykiem; 5 dni po drugim zastrzyku oraz w dniu upustu krwi, czyli na 11 dzień po 2-gim zastrzyku. Tak przebadalem 136 koni upustowych. Przyjąłem następujący sposób odczytywania precypitacji pierścieniowej: +++ gdy pierścień był gąbki i po kilku minutach strzępił się i opadał częściowo na dno; ++ pierścień bardzo wyraźny; + pierścień wyraźny; +- pierścień słabo zaznaczony. Wszystkie surowice, które dawały wyraźną precypitację w rozcieńczeniu wielocukru 1:5000 a w rozcieńczeniu 1:1000 wzgl. 1:2000 bardzo silną, miały także wysokie miano chroniące gołębie przed padnięciem.

Tablica 1 podaje wyniki odczynu precypitacyjnego z wielocukrem i kontrolę badanych surowic na gołębich. Czas obserwacji gołębi od chwili zakażenia trwa 14 dni. Każdą dawką surowicy zaszczerpieno dwa gołębie. Gołębie pozostałe przy życiu oznaczono znakiem —, gołębie padłe znakiem ++; liczbą w nawiasie oznacza ilość padłych gołębi.

TABLICA 1.

surowica konia Nr	precypitacja w rozcieńczeniu wielocukru					kontrola na gołębiach dawka surowicy w ml		
	1/1000	1/2000	1/5000	1/8000	1/10000	0,1	0,25	0,5
164	+++	++	+	+	-	-	-	-
161	++	+	-	-	-	+(2)	+(1)	-
168	++	+	+	-	+	+(2)	+(1)	-
160	+	+	-	-	-	+(2)	+(2)	+(2)
169	+	+	-	-	-	+(1)	+(2)	+(2)
158	++	+	+	+	-	+(2)	+(2)	+(1)
163	++	+	+	-	-	+(2)	-	+(2)
170	-	-	-	-	-	+(2)	+(2)	+(2)
159	+	+	+	-	-	+(2)	+(2)	+(1)
166	+++	+++	+	-	-	+(2)	+(1)	+(1)
165	+	-	-	-	-	+(2)	-(1)	+(1)
162	+	-	-	-	-	+(2)	+(2)	+(1)
79	-	-	-	-	-	+(2)	+(2)	-
167	+	-	-	-	-	+(2)	+(2)	+(2)
119	+	+	+	-	-	+(2)	+(2)	+(2)
69	+++	+	+	+	-	+(2)	-	-
23	+++	+++	+++	++	+	+(1)	-	-
164	+++	++	+	+	-	+(2)	-	-
361	+++	+++	++	+	+	-	+(1)	-
270	++	++	+	+	-	+(2)	-	+(1)
148	+++	++	+	-	-	+(2)	+(2)	-
14	+++	++	++	++	+	+(2)	-	-
74	+++	+++	+++	++	+	+(1)	-	-
110	+	+	+	-	-	+(2)	+(2)	+(1)
95	++	+	+	+	-	+(1)	+(1)	-
146	++	+	+	-	-	+(2)	+(2)	+(1)
152	-	-	-	-	-	+(2)	+(2)	+(2)
145	-	-	-	-	-	+(2)	+(2)	+(2)
39	+++	+++	++	+	+	+(2)	+(1)	-
128	++	+	+	+	-	+(2)	+(2)	+(2)

Jak z powyższej tablicy wynika, istnieje związek pomiędzy zawartością precypitatu a mianem surowicy w kontroli na gołębiach.

W miarę wprowadzania dożylnie koniom upustowym antygeny różycowego podnosiło się miano precypitacji. Po upustach krwi miano precypitacji spadało u większości koni, a po dwu dalszych zastrzykach ilość precypitatu znowu wzrastała. Wśród 136 koni upustowych 5 koni pomimo zastrzyków dożylnych nie dawało odczynu precypitacji a surowica ich również nie zabezpieczała gołębi przed zakażeniem różycą.

W dalszym ciągu doświadczenia chciałem przekonać się, czy surowica przeciwróżycowa wysyciona za pomocą wielocukru różycowego posiada nadal zdolność chronienia gołębi przed zakażeniem. Badanie to przeprowadziłem w następujący sposób: wybrałem surowicę 9 koni o rozmaitym mianie precypitacyjnym. Na każde 2 ml surowicy dodałem 20 mg wielocukru rozpuszczonego w 4 ml płynu fizjologicznego, wstrząsnąłem, pozostawiłem 30 minut w ciepłarni, następnie po odwirowaniu (15 minut przy 5000 obrotów na minutę), ściągałem klarowny płyn z nad precypitatu. Jako kontrole służyły te same surowice, rozcieńczone płynem fizjologicz-

nym w stosunku 1:3 i odwirowane. W sposób wyżej opisany wykonaliśmy próbe na gołębiach z surowicami absorbowanymi wielocukrem i z surowicami nieabsorbowanymi. Gołębie obserwowaliśmy 14 dni. Wyniki tego doświadczenia zebrane są w tablicy 2.

TABLICA 2.

surowica konia Nr	precypitacja z rozcieńczeniem					kontrola na gołębiach					
	1/1000	1/2000	1/5000	1/8000	1/10000	dawka surowicy absorbowanej			dawka surowicy nieabsorbowanej		
						0,3	0,75	1,5	0,3	0,75	1,5
41	+++	++	++	+	-	+(2)	+(1)	-	+(2)	+(1)	-
361	+++	+++	++	+	+	+(2)	-	-	+(1)	-	-
366	+++	+++	++	+	+	+(2)	+(2)	+(1)	+(1)	-	+(1)
104	+++	+	+	-	-	+(1)	+(1)	-	+(2)	-	-
17	++	+	+	+	+	+(2)	+(1)	+(1)	+(2)	+(2)	+(2)
112	+	+	+	-	-	+(1)	+(2)	+(1)	+(1)	-	+(2)
119	++	+	-	-	-	+(1)	+(1)	-	+(2)	+(2)	+(2)
108	+	-	-	-	-	+(2)	+(1)	+(1)	+(2)	+(2)	+(2)
79	-	-	-	-	-	+(2)	+(1)	-	+(2)	+(2)	+(1)

Jak widać z tablicy 2 wysycenie surowicy nie wpływa w wydatniejszym stopniu na jej siłę chroniącą. Jedynie surowica konia nr. 119 o mianie precypitacji 1:2000 chroniła bez wysycenia oba gołębie w dawce 1,5 ml a po jednym w dawkach 0,75 ml i 0,3 ml, natomiast ta sama surowica, wysyciona wielocukrem nie ochroniła żadnego gołębia przed zakażeniem. Ponieważ przypuszczałem, że ilość 20 mg wielocukru nie wystarczy do wysycenia wszystkich precypitatu zawartych w 2 ml surowicy różycowej, przeto zbadałem ponownie surowice 11 koni i każdą z nich wysyciłem dając na każde 2 ml surowicy 40 mg wielocukru. Technika odczynu odpowiadała poprzednim doświadczeniom a wyniki zebrane są w tabeli 3:

TABLICA 3.

surowica konia Nr	precypitacja z rozcieńczeniem wielocukrem					kontrola na gołębiach					
	1/1000	1/2000	1/5000	1/8000	1/10000	dawka surowicy nieabsorbowanej			dawka surowicy absorbowanej		
						0,3	0,75	1,5	0,3	0,75	1,5
69	+++	++	++	+	+	+(2)	-(2)	-	+(2)	+(2)	+(2)
293	+++	+++	++	+	+	+(1)	-	+(2)	+(2)	+(2)	+(1)
356	+++	++	++	+	+	+(2)	+(2)	+(1)	+(2)	+(1)	+(1)
23	+++	++	++	+	+	+(2)	+(2)	-	+(2)	+(2)	+(1)
244	+++	++	++	+	+	+(1)	-	-	+(2)	+(2)	-
6	+++	+++	++	+	+	+(1)	+(1)	-	+(2)	+(2)	+(2)
78	++	++	++	+	+	+(2)	+(2)	+(2)	+(2)	+(2)	+(1)
380	+++	++	++	+	+	+(2)	+(2)	+(1)	+(2)	+(1)	-
62	+	+	+	-	-	+(2)	+(1)	-	+(2)	+(1)	+(1)
16	+	+	+	-	-	+(2)	+(2)	+(2)	+(2)	+(2)	+(1)

Jak z interpretacji tablicy 3 wynika, silniejsze wysycenie surowicy (na 2 ml surowicy 40 mg wielocukru) spowodowało w 2 wypadkach (surowice 69 i 6) zupełnie nieczynienie surowicy w próbie na gołębiu, w 5 wypadkach wyraźne obniżenie chroniącego miana, zaś w 4 wypadkach wysycenie

pełnie nie wpłynęło na własności ochronne danych surowic. Wyniki te można byłoby wytlómaczyć w ten sposób, że precypityny nie są ciałami obronnymi a tylko są wyrazem wartości surowicy, którą możemy za pomocą precypitacji w przybliżeniu oznaczyć.

Powyższe wyniki skłoniły mnie do zbadania własności ochronnych samych precypityn przeciw wielocukrowym, wyodrębnionych z surowicy w postaci precypitatu swoistego. Do tego doświadczenia wybrałem surowicę konia Nr 45, która z wielocukrem różycowym dała następujący wynik precypitacji:

$\frac{1}{1000}$ $\frac{1}{2000}$ $\frac{1}{5000}$ $\frac{1}{8000}$ $\frac{1}{10000}$ $\frac{1}{20000}$
 +++ +++ ++ + + +

Z tą surowicą niewysyconą i wysyconą wielocukrem różycowym wykonałem następnie próbę ochronną na gołębiach. Wynik tego doświadczenia przedstawia się następująco:

dawka surowicy niewysycionej	Nr gołębia	dawka surowicy wysycionej	Nr gołębia
0,3 ml	38	0,3 ml	2
0,3 ml	3 + 19/5	0,3 ml	64
0,75 ml	83	0,75 ml	730
0,75 ml	713	0,75 ml	15
1,5 ml	50	1,5 ml	100 + 19/5
1,5 ml	7	1,5 ml	56

Wysycenie więc wielocukrem w tej surowicy nie spowodowało obniżenia miana ochronnego. Z tą samą surowicą wykonałem dalsze doświadczenie: do 100 ml surowicy konia nr 45 dodałem 100 ml rozcieńzonego wielocukru (w 1 ml 2 mg wielocukru). Po wstrząśnięciu płyn odwirowano i osad czyli precypitat wyuszono na szkiełku zegarkowym w cieplarni. Osad wysuszony, ważący 500 mg załóżem 50 ml płynu fizjologicznego we flasce z perełkami szklanymi i poddałem 2-godzinemu wytrząsaniu. Z tą zawiesiną precypitatu nastawiłem następnie kontrolę na gołębiach, przy czym 1 ml zawiesiny zawierał 10 mg precypitatu. Wynik tej próby przedstawia tabela 4.

TABLICA 4.

dawki precypitatu w ml.	Nr. gołębia	padł
0,1	28	+ 18/5
0,1	637	+ 19/5
0,25	55	+ 19/5
0,25	47	+ 19/5
0,5	435	+ 19/5
0,5	72	+ 20/5
1,0	582	+ 19/5
1,0	629	+ 19/5
1,5	583	+ 19/5
1,5	1	+ 18/5
2,0	0091	+ 18/5
3,0	94	+ 20/5
3,0	642	+ 22/5
4,0	4	+ 19/5
Kontrola		
0,0	42	+ 21/5
0,0	78	+ 18/5

W tym więc doświadczeniu precypitat, uzyskany po strąceniu surowicy przeciw różycowej wielocukru z włoskowca, nie wykazał u gołębia żadnego działania chroniącego.

Jak widać z wykonanych doświadczeń, może precypitacja, wykonana z surowicami koni produkujących surowicę przeciw różycową służyć do określenia wartości surowicy danego konia; natomiast precypityny przeciw wielocukrowe zawarte w tych surowicach nie są ciałami obronnymi a są jedynie tylko wskaźnikiem dla nas, że surowica danego konia ma dostatecznie wysokie miano. Precypitat nie uodparnia biernie a tym samym nie zabezpiecza gołębi przed zakażeniem różycą.

Wnio ski:

1) Surowice koni normalnych, świń normalnych, koni wagiłkowych, wołów wagiłkowych, koni posocznicowych, wołów posocznicowych, osłów dających surowicę Ascolięgo i osłów normalnych nie dają z wielocukrem włoskowca różycy odczynu precypitacji.

2) Precypitacja z surowicami koni produkujących surowicę przeciw różycową przy użyciu jako antyganu wielocukru włoskowca różycy jest swoista.

3) Precypityny u koni hyperimmunizowanych hodowiami żywymi różycy powstają po zastrzykach dożylnych. (Po zastrzykach podskórnych precypityn w surowicy koni wykazać nie można).

4) Do powstania większej ilości precypityn we łwii koni nie wystarcza jednorazowy zastrzyk 200 ml hodowli bulionowej różycowej, lecz po zakończeniu zastrzyków podskórnych i po przejściu na dożylne należy dawkę 200 ml hodowli bulionowej powtórzyć kilkakrotnie.

5) Na podstawie precypitacji możemy w przybliżeniu oznaczyć wartość surowicy przeciw różycowej danego konia i zdecydować o czasie zakończenia hyperimmunizacji i przejścia do właściwych upustów krwi.

6) Próba precypitacji jest szybka, tania, łatwa do wykonania i mało kosztowna w porównaniu z kontrolą na gołębiach.

7) Surowice przeciw różycowe, w których precypityny zostały wysyczone za pomocą wielocukru różycowego, w niektórych wypadkach wykazały obniżenie własności obronnych.

8) Precypitat otrzymany przez wytrącenie surowicy przeciw różycowej i użyty do kontroli na gołębiach nie wykazał żadnej wartości zabezpieczającej gołębie przed zakażeniem.

9) Precypityny zawarte w surowicach koni produkujących surowicę przeciw różycową nie mają własności ciał obronnych, lecz wystąpienie ich w większej ilości w surowicach świadczy o wysokim mianie chroniącym surowicy.

A. JEZERSKI

ESSAIS DE DETERMINATION DU TAUX DU SERUM ANTI-ROUGET DU PORC, PAR LA PRECIPITATION POLYSACCHARIQUE:

L'auteur essaye dans le présent travail de résoudre le problème de la détermination du taux du serum anti-rouget du porc par la précipitation polysaccharique. Il résulte des expériences que la précipitation exécutée avec les serum des chevaux produisant le serum anti-rouget peut servir à déterminer la valeur du serum d'un cheval donné, les précipitines polysacchariques n'étant cependant pas des corps de défense, mais de simples réactifs de la valeur du taux du serum. Le précipité n'immunise pas passivement les pigeons contre une infection par le rouget.