

MEDYCYNA WETERYNARYJNA

D A W N I E J :

PRZEGLĄD WETERYNARYJNY 1886 I WIADOMOŚCI WETERYNARYJNE 1919

JERZY SZAFLARSKI, JAN ZIELIŃSKI

Rys historyczny czynnego i biernego uodpornienia zwierząt przeciwko chorobom pasożytniczym *)

Państwowy Instytut Weterynaryjny — Z Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Katowicach
Kierownik: Dr Inż. JERZY SZAFLARSKI

Dotychczas stosowana u nas powszechnie diagnostyka chorób pasożytniczych u zwierząt przy pomocy badań kału, jest wprawdzie metodą klasyczną, ale niewygodną i niedokładną, zwłaszcza przy masowej akcji zwalczania pasożytów, w porównaniu z metodami serologicznymi i alergicznymi. Trudności pobierania świeżego kału, zwłaszcza u koni, różnicowość wydzielania jaj pasożytów z kałem, niemożność stwierdzenia okresowej wędrówki larw oraz pasożytów przed uzyskaniem dojrzałości płciowej, dowóz kału do zakładu badawczego, zwłaszcza w porze letniej, podczas której w parę godzin po wydaleniu kału wykluwają się z jajek larwy, to niewątpliwie między innymi ujemne strony tej metody.

Opracowanie jednolitej metody rozpoznawczej alergicznej przy poszczególnych inwazjach pasożytniczych, jest już tylko sprawą najbliższych lat. Stanie się ona prawdopodobnie najnowocześniejszą metodą diagnostyczną chorób pasożytniczych u zwierząt. Będzie to rezultat badań naukowych nad metodami serologicznymi i alergicznymi licznej rzeszy badaczy zagranicznych na przestrzeni ostatnich pięćdziesięciu lat. Z Polaków zajmowali się tym zagadnieniem Trawiński i jego szkoła, oraz Sobiech i Patyk uczniowie Poluszyńskiego a ostatnio Szaflarski i współpracownicy.

Wobec wielkiego postępu badań w tej dziedzinie, oraz wyjątkowo dodatnich wyników w pracach masowej diagnostyki alergicznej, czy nie byłoby słusznym, aby te zagadnienia znalazły należne miejsce w zespołowych pracach parazytologii polskiej. Aby ułatwić należyte naświetlenie tego zagadnienia, pokusiliśmy się o krótkie zreferowanie aktualnego stanu badań na tym polu (szczepień czynno biernych przeciwko pasożytom), dla chętnych zainteresowania się bliżej tym tak ciekawym z punktu widzenia lekarskiego, zagadnieniem.

Celem niniejszego referatu jest przedstawienie najnowszych badań dotyczących metod sztucznego uod-

pornienia zwierząt przy chorobach pasożytniczych. Będzie to miało w przyszłości duże znaczenie, gdyż pozwoli na usunięcie z praktyki lekarsko weterynaryjnej nie zawsze skutecznych, a często bardzo kłopotliwych w użyciu środków przeciwoznaczających, działających niejednokrotnie toksycznie na ustrój zwierzęcia, zwłaszcza w stanach daleko posuniętego charłactwa na tle inwazji pasożytów. Jest to całkiem nowa gałąź nauki parazytologicznej, która wymaga zapoznania się teoretycznego z tym tak ciekawym, a nawszkroś nowoczesnym zagadnieniem.

Badania te, to niejako skutek i dalszy łańcuch rozwoju prac zapoczątkowanych jeszcze w r. 1902 przez Richeta, który przyjął jako podstawę badań nad alergią zjawiska nadczułości w stosunku do białek roślinnych (anafilaksja) i przez Smitha w stosunku do wstrzykiwanych surowic końskich. Odnosnie jadów bakteryjnych, powszechnie znane jest wykorzystanie alergii w odczynie Pirqueta u ludzi, a malleinizacji i tuberkulinizacji u zwierząt.

Historia serologicznej diagnostyki przy pasożytach jelitowych datuje się od roku 1904, w którym Issac doniósł o dodatnim odczynie precypitacyjnym w przypadku *Diphyllobothrium latum* u człowieka, a w 1907 roku Ghedini przeprowadził odczyn wiązania dopełniacza z surowicą ludzką przy *Ancylostomum duodenale* i *Ascaris lumbricoides*.

Doświadczenia nad zastosowaniem sztucznego uodpornienia przy pasożytach zwierzęcych, a zwłaszcza owiec wykonał pierwszy w roku 1931 Seddon uodparniając owce przeciw *Moniezia expansa*, a w roku 1936 Puchow, Wieliczkin i Kriwoszta osiągnęli prawie zupełne uodpornienie owiec przeciw tym pasożytom. Podobne rezultaty uzyskali Tourner, Berberian i Stoll w roku 1942 przeciw *Haemonchus contortus*, a niepublikowane jeszcze doświadczenia Dawtiena przeciw *Dictyocaulus filaria* u owiec, potwierdzają w pełni możliwość uzyskania sztucznej odporności przeciw pasożytom zwierzęcym.

Aby metoda ta znalazła szerokie i powszechne zastosowanie, wymaga ona jeszcze ulepszenia techniki uodparniania. Ta najnowsza gałąź parazytologii — immunologia parazytologiczna — przedstawia się w ogólnych zarysach następująco:

*) Opracowano na podstawie zbioru prac zakładów parazytologicznych, wydanych przez Ak. Nauk. ZSRR 1948/1950, pod red. akad. K. Skrzabina, z uwzględnieniem dostępnej literatury polskiej i zagranicznej.

Metody czynnego uodparniania.

Na przestrzeni lat 1921 do 1950 wykonano około 50 prac poświęconych zagadnieniu czynnego uodparniania zwierząt antygenem przygotowanym z ciał pasożytów.

Najwięcej prac poświęcono pasożytom wędrującym w stadium larwalnym (*Trichinella spiralis*, *Nippostrongylus muris*, *Ascaris suum* itp.), oraz pasożytem tkanekowym (*Cysticercus fasciolaris*, *Cysticercus pisiformis*, *Echinococcus granulosus*) a prace ostatniego dziesięciolecia wykazały również, że nawet przy pasożytach jelitowych niewędrujących można otrzymać uodpornienie (*Trichocephalus muris*, *Ascaridia lineata*, *Toxascaris leonina*).

W piśmiennictwie nie ma jednakowego poglądu jaki antygen jest lepszy względnie, który posiada lepsze własności antygenne dla wywołania odporności, czy przygotowany z larw, czy z dojrzałych pasożytów. Stumberg (1930) twierdzi, że antygeny z larw mają mniej zróżnicowanych białek i dlatego są mniej czynne, to samo potwierdza Ozawa (1931). Natomiast Oliver-Gonzalez (1945) sądzi, że dorosłe pasożyty (włosnie), znajdujące się w jelitach, różnią się swoimi własnościami antygenowymi od larw znajdujących się w mięśniach. Twierdzi on, że swoistość odżywienia w rozmaitych stadiach rozwojowych pasożytów ma na to niewątpliwie wpływ. Oliver-Gonzalez (1944) stwierdził, że antygen sporządzony z narządów płciowych pasożyta daje najlepsze uodpornienie. Zieliński (1950) natomiast w swoich badaniach nie stwierdził żadnej różnicy przy przygotowaniu antygenów z narządów płciowych i mięśniówki pasożyta (*Parascaris equorum*). Większość jednak autorów jak Chandler, Stumberg, Miller (1932) i inni uważa antygeny przygotowane z larw i dojrzałych pasożytów za antygenie jednakowe. Bachman i Molina, Kerr, McCoy, Sheldon, Trawiński i inni używali do prac nad odpornością antygenów z larw, inni natomiast jak Arnold i Duggan, Coventry, Eisenbradt i Ackert, Leikina, Martin, Oliver-Gonzalez, Rebrassier i McCrory, Wagner dojrzałych form pasożytów.

Przygotowanie techniczne samych larw i dojrzałych pasożytów do produkcji antygenów jest rozmaite. W tym celu Kerr (1938) poddawał larwy kolejno zamrożeniu i odmrażaniu, Chandler (1932), McCoy (1935), Kerr (1938), Sheldon (1937, 1939) ogrzewali je w wodzie w ciepłocie + 56 do + 60°C. Chandler jednak stwierdziła, że ogrzewanie wpływa na specyficzność antygeny i dlatego w dalszych swoich badaniach zarzuciła tę metodę. Martin (1926), Coventry (1929), Kerr (1938) nie poddawali dojrzałych pasożytów tak skomplikowanej przeróbce, lecz po dokładnym przemyciu w ciepłej wodzie destylowanej lub w fizjologicznym roztworze soli kuchennej rozcierali w moździerzyku porcelanowym z piaskiem sterylizowanym lub tłuczonym szkłem na masę. Natomiast Coventry (1929), Stumberg (1930, 1932), Bachman i Molina (1933), Chandler (1936), Kerr (1938) i inni suszyli dojrzałe pasożyty, po przemyciu w fizjologicz-

nym roztworze soli kuchennej, a następnie rozcierali je w moździerzyku porcelanowym na proszek i ten materiał traktowali jako wyjściowy do produkcji antygeny.

Suszenie ciała pasożytów odbywało się w cieplarkach w ciepłocie + 24 do + 37°C., względnie w eksykatorach, które umieszczano albo w cieplarkach w + 37°C., albo w ciepłocie pokojowej. Czas suszenia był różny i trwał od kilku godzin do kilku dni. Jednak według Campbella suszenie ciała pasożytów wpływa obniżająco na specyficzność antygenów, względnie na wypadanie frakcji polisacharydowej. Jak więc widzimy i w tej dziedzinie nie ma jednolitego poglądu, które antygeny są lepsze, czy ze świeżych, czy z suszonych pasożytów.

W czasie początkowych badań część badaczy przypisywała specyficzne własności antygenne frakcji lipinowej; do nich należeli Mayer (1911), Kolmer, Frist i Heist (1916), Fairley (1931), Lloyd i Chandra (1939). Badacze ci opierali swoje twierdzenie na własnościach precypitacyjnych lipidów. Taliaferro, Hofmani i Cook (1928), Wharton (1931), Wilhelmi (1939) pracując nad zagadnieniem stwierdzili, że lipoidy nie są dobrym antygenem, gdyż nie wywołują w organizmie powstawania przeciwciał. Wharton uważa, że frakcja lipinowa wzmacnia tylko własności antygenne białek, z czym jednak zupełnie nie zgadzają się Hoffman i Cook, Taliaferro, Wilhelmi i inni twierdząc, że usunięcie frakcji lipinowej wzmacnia specyficzność innych frakcji zawartych w ciele pasożyta. Dalsze badania celem stwierdzenia, która frakcja ciała pasożyta jest najwięcej czynnym antygenem dowiodły, że jest nią prawdopodobnie frakcja białkowa. Tego zdania są Taliaferro, Hoffman i Cook (1928), Wilhelmi (1939), Taliaferro (1940), Mauss (1940), Melder (1942, 1943), Cambell (1936, 1937) przeprowadzając bardzo wnikliwe badania stwierdził, że nie wszystkie frakcje białkowe są jednakowo czynnymi antygenami. Frakcja globulinowa jest najbardziej czynna, natomiast bardzo słabe własności antygenowe wykazują frakcja albuminowa i pseudoglobulinowa. Badania Campbella potwierdził Mauss w roku 1941. W ostatnich latach zwrócono większą uwagę na wielocukry, którym do roku 1923 nie przypisywano większej roli. Badania Campbella (1936), Olivera-Gonzaleza (1943, 1944), Olivera-Gonzaleza i Taliaferro, Babazanowa (1947), Szaflarskiego i Nawrockiego (1950) wykazują, że wielocukry są bardzo czynnym antygenem. Campbell przeprowadził krzyżowe odczyny precypitacyjne z antygenami wielocukrowymi przygotowanymi z *Ascaris lumbricoides*, *Moniezia expansa*, *Taenia taeniaeformis*, *Taenia hydatigena* i wykazał, że wielocukry są bardziej czynne, niż antygeny z całych ciał pasożytów. Prace Gonzaleza i Terregrosa, oraz prace Seneki (1941) potwierdziły badania poprzednich badaczy. Według Mikulaszka (1948) frakcja wielocukrowa, prawdopodobnie glikogen, jest antygenem czułym, swoistości gatunkowej. Obok serologicznie czynnej frakcji

wielocukrowej występuje w tkankach pasożyta dalszy, natury wielocukrowej, materiał serologicznie nieczuły. Inne natomiast dane uzyskał Melcher (1942, 1943), gdyż z otrzymaną z włośni frakcją wielocukrową miał wyniki zgodne w odczynie precypitacyjnym, ale szczepione zwierzęta doświadczalne nie wykazywały produkcji przeciwciał. Na podstawie tych doświadczeń stwierdził on, że wielocukry nie są pełnowartościowymi antygenami, a w odczynach serologicznych grają rolę chwytników.

Z tych wszystkich danych wynika, że nie ma zgodnego zdania, która z frakcji ma najlepsze własności antygenowe i dlatego większość badaczy zaleca przygotowywanie antygenów z całego ciała pasożyta.

Otrzymywanie frakcji wykonuje się dowolnymi sposobami chemicznymi w zależności od tego z jaką frakcją chcemy mieć do czynienia. Dla otrzymania frakcji wielocukrowej ciało pasożyta zalewa się na kilka do kilkunastu dni fizjologicznym roztworem soli kuchennej i z wyciągu wytrąca się alkoholem wielocukry, które następnie oczyszcza się od różnych domieszek (kilkakrotne rozpuszczenie w fizjologicznym roztworze soli kuchennej i ponowne wytrącenie 95% alkoholem). Dla otrzymania frakcji białkowej pozostałość (osad) po uzyskaniu frakcji wielocukrowej, zalewa się różnymi roztworami jak fizjologicznym roztworem soli kuchennej zakwaszonym 0,1% HCl, buforowymi roztworami, roztworem Koka, destylowaną wodą z dodatkiem 0,7% NaCl, 0,05% NaHCO₃ i 0,49% fenolu i wyciąg zalewa się celem wytrącenia białek lodowatym kwasem octowym. Dla uzyskania frakcji lipinowej osad po uzyskaniu frakcji wielocukrowej i białkowej zalewa się eterem lub chloroformem, w których rozpuszczają się lipidy i po odparowaniu uzyskuje się daną frakcję. Jest to tylko ogólna zasada, gdyż technikę można przyjąć dowolną, a tylko uzyskany produkt powinien być bardzo szczegółowo chemicznie sprawdzony. Bozicevich (1938) twierdzi, że najlepszymi antygenami są wyciągi przygotowane na jałowym fizjologicznym roztworze soli kuchennej, gdyż dodawanie jakiegokolwiek zasad, czy kwasów powoduje powstawanie ubocznych produktów działających drażniąco na tkanki zwierzęcia doświadczalnego. Tego samego zdania jest i Trawiński.

Czasokres i sposób przygotowania wyciągów z ciała pasożyta jest różny. Bachman i Gonzalez (1935), oraz Sheldon (1937, 1939) zalecają długotrwałe ekstrahowanie ciała pasożyta przez kilka, a nawet kilkanaście dni. Jednak Coventry (1929), Kerr (1938) i inni przygotowali wyciągi z suszonego ciała pasożyta bezpośrednio przed jego użyciem. Przygotowywali oni wyciągi albo w ciepłocie pokojowej, albo w cieplarni przy + 37°C., albo wreszcie w lodówce. Trawiński zaleca przygotowywanie wyciągów w lodówce przy + 4°C. przez 7 dni; w ciągu tego czasu należy naczynie z zawartością wstrząsać kilka razy na dobę. Po uzyskaniu wyciągu poddaje się go wyjałowieniu. Chandler, Sheldon, Trawiński i inni stosują podgrzewanie na łaźni wodnej od + 55° do + 60°C, od 15 minut do 1 godziny, natomiast Eisenbrandt, Kerr i inni stosują sącze-

nie przez świece. Wg Bozicevicha nagrzewanie jest lepsze, gdyż cząstki czynne antygeny mogą przy sączeniu pozostać na świecach. Stosowanie środków konserwujących np. fenolu jest niewskazane, gdyż może działać drażniąco na tkanki szczepionego zwierzęcia. Sądźmy, że zastosowanie penicyliny lub innych antybiotyków, względnie zastosowanie lyofilizacji, mogłoby dać przypuszczalnie dobre wyniki w konserwowaniu antygenów.

Antygeny można wprowadzać zwierzętom podskórnemu, domięśniowo, dożylnie i doustnie. Najczęściej jest stosowane szczepienie podskórne. W jednym przypadku Eisenbrandt i Ackert (1940) zastosowali wprowadzenie antygeny wprost do serca. W doświadczeniach Turnera, Berberiana, Dennisa (1936), Puchowa, Wieliczki, Kriwoszyty (1936), Lejkiny (1945) stwierdzono, że wywołano uodpornienie przeciw pasożytom jelitowym niewędrzącym tak przy podawaniu antygeny doustnym jak i podskórnym. Przy pasożytach tkankowych i jelitowych uzyskano dodatnie wyniki szczepień przy zastrzykach podskórnych i dożylnych. Wagner (1932) wywołał przez podanie doustne antygeny, wydalanie larw *Ascaris suum* z organizmu doświadczalnych myszy. Doświadczenia McCoya (1935), Kerr (1938), Lejkiny (1944) i innych dowiodły, że tylko u tych zwierząt uzyskano uodpornienie, które otrzymały największe dawki antygeny. Ważne jest też, w jakim okresie czasu po uodpornieniu nastąpiło zakażenie zwierzęcia danym pasożytem. Im dłuższy upłynął czas od szczepienia do zakażenia, tym działanie uodporniające było słabsze. Zarządzając zwierzęta po upływie dłuższego czasu po szczepieniu *Cysticercus fasciolaris*, *Cysticercus pisiformis* i *Echinococcus granulosus* uzyskano bardzo zadawalające wyniki. Nie jest wykluczonym, że lokalizacja pasożytów w tkankach zapewnia ściślejszy i bardziej długotrwały kontakt pasożyta z ciałami odpornościowymi, niż w przypadku przebywania ich w jelitach.

Dowodem uodpornienia organizmu zwierzęcia jest pojawienie się przeciwciał w surowicy szczepionych zwierząt doświadczalnych. Przeciwciała te możemy stwierdzić odczynem precypitacyjnym (Muyaja i Imai (1928), Coventry (1929), Arnold i Duggan (1937), oraz drogą tworzenia się precypitatów dokoła żywych larw umieszczonych w surowicy in vitro (Oliver-Gonzalez (1943), Roth (1943), Mauss (1947), Lejkina (1947).

Większość badaczy stwierdziło, że szczepione zwierzęta doświadczalne posiadają znaczną zdolność (poszczepienne uodpornienie) do zniesienia nawet śmiertelnej dawki chorobowej (Bachman i Gonzalez (1933), Bachman i Molina (1933). Doniesienia niektórych badaczy, że w surowicy zwierząt szczepionych nie pojawiły się ciała odpornościowe (Trawiński — 1935) lub, że zwierzęta doświadczalne nie potrafiły znieść dawki śmiertelnej pasożytów (Bachman i Gonzalez — 1935, Kerr — 1938), są raczej wynikami stosowania innych metod, niż tych badaczy, którzy otrzymali dodatnie wyniki doświadczeń.

Pojawienie się uodpornienia w następstwie szcze-

pienia jest podobne do uodpornienia po przebytej chorobie, a stopień uzyskanego uodpornienia wykazuje duże wahania, zależne od sposobu przeprowadzenia doświadczeń, przy czym wyniki wielu autorów okazują się czasem bardzo sprzeczne nawet w odniesieniu do tego samego gatunku pasożytów. Jak więc z tego wynika, dotychczas nie dysponujemy jeszcze ustalonymi metodami szczepień.

Przy wyborze metodyki szczepień należy uwzględnić właściwości gatunkowe i biologiczne pasożytów, przeciw którym zamierzamy przeprowadzać uodpornienie. Nie ma bowiem ustalonego poglądu co do większej skuteczności działania antygenowego form larwalnych, czy dorosłych pasożyta, o czym poprzednio wspominaliśmy. Przeważa jednak zdanie, że dla całkowitego uodpornienia lepsze są formy dorosłe pasożytów, lecz sprawa ta zostaje jeszcze zupełnie otwartą do dyskusji, podobnie jak niejednolitość sądu o skuteczności licznych frakcji antygenowych.

Efektywność szczepień w dużej mierze zależy od ilości wprowadzonego antygeny, który powinien być wprowadzony w odpowiednio dużych dawkach, gdyż tylko duże dawkowanie daje należyty efekt. Popołniając omyłki metodyczne jak szczepienie w niewłaściwym czasie, wprowadzanie niedostatecznej ilości antygeny i tym podobne, możemy otrzymać rezultaty chaotyczne i ujemne. Martin (1926), Bachman i Gonzalez (1935) szczepiąc szczury przeciwko włośnicy nie zaobserwowali uodpornienia dlatego, że zastosowali zbyt małe dawki antygeny, a kontrolne zakażenie włośnicami stosowali w zbyt dużej dawce. Dowodem tego mogą być szczepienia myszy przez Keppego przeciwko *Ancylostomum* w których uodpornienie powstało tylko u tych zwierząt, które otrzymały największą dawkę antygeny. Ponadto przy poszczególnych gatunkach pasożytów należy uwzględnić czas, to znaczy okres od szczepienia do zarażenia, tak aby w organizmie szczepionego zwierzęcia mogła nagromadzić się dostateczna ilość ciał odpornościowych.

Metody biernego uodpornienia.

W literaturze światowej istnieje około 45 prac poświęconych biernemu uodpornianiu przy oblicach (*Nippostrongylus muris*, *Strongyloides stercoralis*, *Strongyloides ratti*, *Ancylostoma caninum*, *Ascaris suum*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichinella spiralis*) i przy robakach płaskich (*Hymenolepis nana*, *Cysticercus pisiformis*).

Przeważnie ten sam gatunek zwierząt był używany jako dawca i obiekt uodporniający. Tylko nieliczni badacze jak Trawiński (1935), Culbertson i Kaplan używali surowicę otrzymaną od psów do uodporniania szczurów i myszy przeciwko włośnicy, Campbell (1938) surowicą królików uodporniał szczury przeciw *Cysticercus crassicolis*, a Kerr (1938) uodporniał myszy przeciwko *Ancylostoma* surowicą otrzymaną od zarażonych psów. Doświadczenia te wykazały, że wprowadzanie obcych gatunkowo surowic odpornościowych zupełnie nie odbija się na wynikach uodpornienia. Dla wywołania uodpornienia dawców stosowano albo metodę powtarzających się zakażeń doustnych (Chandler — 1934, 1935,

1938, Sarles i Taliaferro — 1938, Kerr — 1938, Otto — 1938, 1939, 1940), albo kilkakrotnych szczepień antygenami (Miller — 1932, Trawiński — 1935, Miller i Gardiner, Campbell, Chandler — 1938, Larsh — 1944, Bażanow — 1947). Która z tych metod jest lepsza, zdania są podzielone, na ogół jednak przeważa zdanie, że obie metody dają w przybliżeniu te same rezultaty (Chandler — 1934, 1938). W doświadczeniach Campbella surowica od szczepionych względnie przechorowanych po *Cysticercus crassicolis* szczurów, dawała jednakowy efekt nie tylko odnośnie objawów, lecz także co do stopnia nasilenia biernego uodpornienia. Nieco odmienne wyniki otrzymali Miller i Gardiner, ale to raczej z powodu zbyt małych dawek szczepiennych. W późniejszych swych pracach Miller (1934) jednak twierdzi, że znacznie większą efektywność wykazała surowica zwierząt, które przechorowały, niż szczepionych.

Obserwacje doświadczeń wykazują, że niezależnie od sposobów uodpornienia dawcy (zarażenie czy szczepienie), dawki odpornościowe muszą być dostatecznie silne. Miller i Gardiner — 1932, Campbell, Chandler — 1938 twierdzą, że surowica posiada tylko wtedy uodporniające własności, jeżeli dawców zarazi się wystarczająco dużą dawką (hyperimmunizacja). Sarles, Taliaferro — 1936, Kerr — 1938, Lawler — 1940 przeprowadzają zakażenie dwu, cztero a nawet i ośmiokrotne w przerwach od kilku dni do dwu tygodni. Znaczenie intensywności uodpornienia dawcy występuje wyraźnie w pracach Sandgrounda (1928), Millera i Gardinera (1932, 1934), Taliaferro (1936), Campbella (1938). Autorzy ci sprawdzali wynik uodpornienia drogą sekcji zwierząt bezpośrednio po skrwawieniu, w celu stwierdzenia liczby pasożytów, która z reguły u zwierząt szczepionych była mniejsza niż u kontrolnych. Kerr (1938) i Otto (1940) sprawdzali stan uodpornienia dawców po możliwościach znoszenia śmiertelnej dawki, a Trawiński (1935), Kerr (1945), Culbertson i Kaplan (1938) sprawdzali uodpornienie u dawcy metodami serologicznymi przez określenie przeciwciał w surowicy za życia. Pobieranie krwi od dawców, celem otrzymania surowicy odpornościowej, dokonywali autorzy w rozmaitych okresach, najczęściej po 7 dniach (Campbell), a najpóźniej po 2 miesiącach (Miller). Od dawców uodpornionych drogą szczepień pobierano surowicę wcześniej, niż od dawców, którzy przechorowali, jednak nie później jak po 24 dniach po szczepieniu.

Miller i Gardiner zaobserwowali u szczurów zarażonych *Cysticercus fasciolaris*, pojawienie się przeciwciał nie wcześniej niż po 10 dniach, Campbell zaś stwierdził, że surowica od szczurów, słabo zakażonych przez *Cysticercus fasciolaris*, wzięta po 7 do 10 dniach po zarażeniu, nie posiadała jeszcze swoistych przeciwciał i wprowadzenie takiej surowicy zwierzętom nie chroniło ich przed zakażeniem przez te pasożyty. Po 11 dniach pokazują się już przeciwciała, a dopiero w pełni rozwijają się po 28 dniach. Niewątpliwie jednak, czas otrzymywania surowicy odpor-

nościowej musi być indywidualizowany i możliwe, że dla pasożytów tkankowych będzie on krótszy niż dla jelitowych, ponieważ w pierwszym wypadku przeciwciała, co jest całkiem zrozumiałe, mogą szybciej trafić do obiegu krwi.

Chandler (1934, 1935) w doświadczeniach swoich nad uodpornieniem szczurów przeciw *Nippostrongylus muris* otrzymała ujemne wyniki, a w roku 1938 zmieniając metodę uodporniania dawców, stwierdziła wystąpienie odporności wyrażającej się w zmniejszeniu rozmiarów pasożytów i osłabieniu zdolności owulacyjnej samic. Sarles i Taliaferro metodą hyperimmunizacji dawców otrzymali surowicę, którą stosowali dootrzewnowo u szczurów i po 2 do 3 tygodniach biernego uodpornienia zaobserwowali znaczne zmniejszenie ilości pasożytów, osłabienie owulacji a nawet śmiertelność larw w płucach i skórce. Lawler (1940) przy *Strongyloides ratti* zaobserwował znaczne obniżenie inwazji pasożytów w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Otto (1938) uodporniając biernie psy przeciw *Ancylostomum caninum* stwierdził, że wielki procent kontrolnych psów padł na pneumonię robaczą wywołaną wędrownymi larwami pasożyta. Psy, które otrzymały surowicę uodporniającą doskonale przetrzymywały inwazję pasożytów. Bardzo wartościowe były jego doświadczenia w 1939 i 1940 roku, potwierdzające ochronne właściwości surowicy *in vitro*. W rezultacie zakażenia psów larwami *Ancylostoma* trzymanyh w ciągu pewnego okresu w surowicy odpornościowej, rozwinęło się znacznie mniej pasożytów, niż u psów zakażonych larwami otrzymanymi w surowicy normalnej (kontrolnej). Możliwości biernego uodpornienia przeciw *Trichinella spiralis* były potwierdzone pracami Bachmana i Gonzaleza (1935), Culbertsona i Kaplana (1938), Culbertsona (1942). Oliwer-Gonzalez zaobserwował, że nie wszystkie ciała odpornościowe wytworzone w organizmie zwierząt zakażonych włośnicą mogą się biernie udzielać drugiemu organizmowi. Odróżniają oni trzy rodzaje przeciwciał larwalnych:

- 1) nie udzielające się biernie i nie wykazujące *in vitro* precypitatów dookoła ustnego otworu larw;
- 2) udzielające się biernie i tworzące *in vitro* precypitaty na około ustnego i wydzielniczego otworu;
- 3) ochronne udzielające się biernie, ale nie wytwarzające precypitatów *in vitro*.

Należy zaznaczyć, że uodpornienie tak czynne jak i biernie skierowane jest wyłącznie przeciwko larwom jelitowym, a nie działa zupełnie przeciwko otorbionej mięśniowej fazie pasożytów.

Częściowo zadawalający rezultat otrzymał Kerr (1938) przy uodpornianiu świnek morskich przeciw *Ascaris suum*. W doświadczeniach tego autora część świnek morskich, otrzymawszy surowicę uodporniającą, wytrzymała śmiertelne dawki tego pasożyta, podczas gdy sztuki kontrolne zginęły wśród objawów pneumonii pasożytniczej. Zakażenie wytrzymały tylko te świnki morskie, które otrzymały największą dawkę surowicy uodporniającej. Dodatkowo wyniki otrzymał także Babadzianow (1947) uodporniając biernie świnki morskie przeciwko larwom *Ascaris*

lumbricoides surowicą otrzymaną od dawców szczepionych wielocukrową frakcją, otrzymaną z dorosłych oblic. Campbell (1938), Miller (1932), Miller i Gardiner (1932, 1934) w licznych doświadczeniach nad biernym uodpornieniem szczurów i królików przeciw larwom *Cysticercus fasciolaris* i *pisiformis* zaobserwowali, że zwierzęta, otrzymawszy odpowiednią surowicę odpornościową, wykazywały wyraźną odporność na następowe zarażenie tym gatunkiem pasożytów. Odporność ta przejawiała się w znacznym zmniejszeniu ilości sztuk, a także degeneracją dużej części pasożytów, którym udało się rozwinąć w organizmie uodpornionego zwierzęcia. W niektórych przypadkach odporność ta była nawet absolutna (Miller i Gardiner 1932, 1934), Larsh (1942) w swoich doświadczeniach sprawdzał możliwość przekazywania uodpornienia przez matkę na potomstwo. W tym celu uodporniał on samice na kilka dni przed ciążą i po pewnym okresie po ciąży. Młode myszy, karmione przez matkę, po osiągnięciu 24 do 30 dni życia zakażał onkosferami *Hymenolepis nana* w jednym czasie z kontrolnymi myszami zrodzonymi z nieuodpornionej matki. Na sekcji stwierdzono, że potomstwo uodpornionej matki miało znacznie mniej cysticercoidów niż potomstwo kontrolne.

Zazwyczaj surowicę odpornościową wprowadza się zwierzętom doświadczalnym dootrzewnowo, a tylko w rzadkich wypadkach podskórnice (Stumberg — 1932, Trawiński — 1935, Campbell — 1938, Lawler, Otto — 1940). Najważniejszą jednak rzeczą jest ustalenie czasu wprowadzania surowicy. Wg Chandler, Stumberga, Trawińskiego i szeregu innych autorów, surowica posiada tylko przez bardzo krótki okres czasu uodporniające działanie, nie dłuższe jak kilka dni, a według Stumberga nawet godzin. W związku z tym większość autorów uważa za najbardziej celowe wprowadzanie surowicy razem z zakażeniem lub najpóźniej do 10 dni po zakażeniu (Otto, Kerr, Sarles, Taliaferro, Campbell, Miller i Gardiner). Odnosnie dawki surowicy odpornościowej, to panuje zgodne przekonanie, że tylko duża dawka surowicy może skutecznie ochronić zwierzęta przed zakażeniem. Dawka 1 ml. na 800—1000 gr. ż.w. nie daje uodpornienia, dawka 1 ml. na 400—600 gr. jest dawką skuteczną, a dawka nie przekraczająca 1 ml. na 100 gr. ż.w. jest optymalną i w pełni działającą. W większości wypadków, badacze wprowadzają surowicę jednokrotnie, jednakże niektórzy proponują wprowadzanie jej 2, 3 i 4-krotnie z przerwami od jednego dnia do tygodnia. Tylko w doświadczeniach swoich Trawiński szczepił szczury 3 razy dziennie przez 5 dni pod rząd.

Działanie biernego uodpornienia, podobnie jak i czynnego, ma różny charakter. W jednym wypadku działanie przejawia się w kierunku przeciw robaczym (zmniejszenie ilości pasożytów, osłabienie owulacji samic), w drugim, w kierunku antytoksyycznym (zniesienie dawki śmiertelnej). Stopień nasilenia biernego uodpornienia w porównaniu z przebyłym procesem chorobowym lub uodpornieniem czynnym jest znacznie słabszy i krótkotrwały (Chandler, Lawler, Culbertson).

Negatywne wyniki doświadczeń przy biernym uodpornieniu miało wielu badaczy jak Sandground (1928) przy *Strongylus stercoralis*, Chandler (1935) przy *Nippostrongylus muris*, Trawiński (1935) przy *Trichinella spiralis*, Kerr (1938) przy *Ancylostoma caninum* i *Ascaris suum*, Campbell (1938) przy *Cysticercus fasciolaris*, przy wielocukrowym antygenie, oraz wielu innych. Powody tych wyników były różne np. krew dla otrzymywania surowicy odpornościowej brano była od owcy zaraz po uodpornieniu, to jest w tym czasie kiedy przeciwciała nie mogły jeszcze osiągnąć dostatecznej ilości we krwi. Chandler (1937) brała surowicę u szczurów po 8 dniach po ich zarażeniu *Nippostrongylus muris* i otrzymała ujemny wynik doświadczenia, podczas gdy Charles i Taliaferro przeprowadzając doświadczenia z tym samym gatunkiem pasożytów i pobierając krew od zwierząt w 3½ tygodni po zarażeniu otrzymali dodatni wynik uodpornienia. Także w doświadczeniach Culbertsona i Kaplana przy biernym uodpornieniu przeciw włośnicy stwierdzono, że największą efektywność posiada surowica uzyskana w 8 tygodni po zakażeniu, surowica zaś wzięta w 4 tygodnie nie wykazywała zupełnie uodporniających własności. Do błędów metodycznych można zaliczyć także niedostateczną intensywność w uodpornianiu dawców. Wyraźnie wykazuje to w swoich doświadczeniach Chandler (1935). W przypadku kiedy szczury uodporniano surowicą od dawców zakażonych jednorazową dawką 1000 larw, uodpornienia niezaobserwowano, kiedy zaś pobrano surowicę przy zakażeniu 4000 larw uodpornienie, chociaż słabo zaznaczone było już wyraźnie widoczne. Ujemny rezultat biernego uodpornienia może wypaść również przy stosowaniu zbyt małych dawek surowicy odpornościowej. Kerr, przy uodpornianiu szczurów przeciw *Ancylostoma caninum* i świnek morskich przeciw *Ascaris suum* zauważył, że uodpornione zostały tylko te zwierzęta, które otrzymały największą dawkę surowicy.

Reasumując powyższe uwagi na temat prac o biernym uodpornianiu zwierząt przy pasożytach, można wyciągnąć następujące wnioski ogólne: doświadczalnie stwierdzono, że bierne uodpornienie zwierząt jest możliwe z całym szeregiem tkankowych i jelitowych pasożytów. Bierne uodpornienie jest słabsze i krótsze w działaniu od uodpornienia czynnego. Skuteczność uodpornienia zależy często od zastosowanej metody. Surowica jest bardziej skuteczna jeżeli dawcę uodporniamy drogą zakażenia, a nie szczepienia i jeżeli krew pobiera się po czasie dostatecznym do wytworzenia się przeciwciał. Przy próbnym uodpornianiu surowicę powinno się wprowadzać równocześnie z kontrolnym zakażeniem, albo zaraz po nim, nie później jednak jak na 9 lub 10 dzień. Kontrolne zakażenie nie powinno być zbyt silne, by nie zniszczyć często słabo zaznaczonego, biernie nabytego uodpornienia.

Na zakończenie podajemy nazwiska tych badaczy, którzy badali antygenne właściwości u następujących gatunków pasożytów:

NEMATODY

1. *Nippostrongylus muris* — Chandler (1932, 1936, 1938).
2. *Strongyloides ratti* — Sheldon (1937, 1939).
3. *Haemonchus contortus* — Mayhew (1942), Stoll (1942).
4. *Ancylostoma caninum* — Stumberg (1930, 1932), Ohira (1931), Kerr (1938).
5. *Trichinella spiralis* — Bachman (1928, 1929), Bachman i Molina (1933), Luckner (1933), Bachman i Gonzalez (1935), McCoy (1935), Trawiński (1935), Spindler (1937), Culbertson (1942), Melcher (1942, 1943).
6. *Trichocephalus muris* — Lejkina (1944).
7. *Trichocephalus depressiuculus* — Fernan-Nunez (1927).
8. *Ascaris suum* — Martin (1926), Coventry (1929), Wagner (1932), Campbell (1936, 1937), Kerr (1938), Oliver-Gonzalez (1943).
9. *Ascaris lumbricoides* — Campbell (1936), Babadżanow (1947), Lejkina (1947).
10. *Toxocara mystax* — Ohira (1931).
11. *Ascaridia lineata* — Rebrassier i McCoy (1931), Eisenbrandt i Ackert (1940).
12. *Dirofilaria immitis* — Arnold i Duggan (1937).

CESTODY

1. *Cysticercus fasciolaris* — Miller (1930, 1931, 1932), Campbell (1937).
2. *Cysticercus pisiformis* — Miller i Kerr (1932), Kerr (1935), Campbell (1938).
3. *Echinococcus granulosus* — Petrow (1923), Deve (1927, 1934), van der Hoeden (1924), Turner, Berberian i Dennis (1933, 1936), Turner, Dennis i Berberian (1937), Płotnikow (1939).
4. *Hymenolepis diminuta* — Chandler (1940).
5. *Hymenolepis fraterna* — Larsh (1944).
6. *Moniezia expansa* — Seddon (1931), Puchow, Wieliczkin i Kriwoszta (1936).
7. *Sparganum mansonioides* — Mueller i Chapman (1937).

TREMATODY

1. *Schistosoma japonicum* — Miyaji — Imai (1928), Ozawa (1930).
2. *Nanophyotus salmincola* — Simms, Donham, Shaw i Mc. Capes (1931), Simms, Donham i Shaw (1926).
3. *Fasciola hepatica* — Kerr i Petkovich (1935).