

HELENA KWARTA

Bakteriofagi i ich zastosowanie w medycynie weterynaryjnej

Z Katedry Mikrobiologii Wydziału Weterynaryjnego UMCS *)
Kierownik: Prof. dr J. PARNAS

W 1896 roku Hankin zauważył, że wody rzek indyjskich wywierają działanie bakterio-bójcze na niektóre drobnoustroje, a szczególnie na przecinkowce cholery. Następnie Eliava, badając wody rzeki Kury pod Tyflisem dodawał do wody pewną ilość peptonu i otrzymał dość bujny wzrost przecinkowców, które w przeciągu kilkunastu godzin ginęły. W 1898 roku wybitny mikrobiolog radziecki Gama-leja otrzymał autolizę laseczek wąglika. Przez dodanie niewielkiej ilości tych autolizowanych bakterii do normalnej hodowli laseczek wąglika nastąpiło rozpuszczenie ich w ciągu 24 godz. Substancję rozpuszczającą bakterie Gama-leja nazwał bakteriolizyną. Dwa lata później to samo zjawisko zauważył Malfitano, pracując nad laseczką wąglika. W 1899 roku Emmerich i Löw stwierdzili, że filtry starych hodowli mogą w pewnych szczególnych warunkach, których nie określili, spowodować lizę bakteryjną. W 1905 roku Conradi, Kurpjuweit znajdowali w bulionowych hodowlach i w treści jelit pewne substancje, hamujące wzrost bakterii grupy okrężnicowo-durowej; substancje te nazwali zacy-nem.

W 1915 roku Twort wyhodował z krowianki posianej na agarze gronkowca białego, którego kolonie białe i mętne stawały się stopniowo przezroczyste, jak gdyby topniały, które to zmiany występowały w dalszych pasażach przy zakażeniu hodowli gronkowców bardzo silnie rozcieńczonym przesączem zmienionej hodowli. Zagadnienie to nie zostało jednak dostatecznie postawione i prawdopodobnie dlatego nie uzyskało właściwego rozgłosu.

Badania przed D'Herellem były raczej przypadkowe, nie oparte na szczegółowych doświadczeniach naukowych. D'Herelle odkrył niezależnie od Twort'a, czynnik lityczny w filtratach kału żołnierzy chorych na czerwonkę. Substancję tę posiadającą zdolność rozpuszczania młodych pałeczek czerwonkowych na płytkach agarowych lub bulionie nawet w bardzo wysokich rozcieńczeniach, nazwał bakteriofagiem. Zagadnienie czy bakteriofagi są tworamizywyymi czy nieżywą materią, stało się centralnym zagadnieniem mikrobiologii.

Salimbeni (1918—1919) twierdzi, że zjawisko D'Herelle'a wywołane jest przez drobnoustrój należący do tzw. grzybków śluzowatych o bardzo złożonym rozwoju. Morfologia tego drobnoustroju zmienia się w ścisłej zależności od okresu jego rozwoju, a zarodniki są prze-

sączalne; rozwój ich jest możliwy tylko w obecności bakterii.

Wg Kabeshima (1920), fag jest to katalizator aktywujący ferment lityczny, wytwarzany w samych bakteriach, zaś wg Bordeta i Ciucy (1920) jest to w zasadzie autoliza, spowodowana zacy-nem powstałym na skutek nierównowagi procesów przyswajania i rozkładu.

Wollman (1925) tłumaczy występowanie lizy istnieniem odpowiedniego genu, którego obecność warunkuje rozpuszczenie. Northrop (1939) przypisuje bakteriofagom charakter enzymatyczny, Bail uważa je za ułamki bakteryjne, które utraciły zdolność syntezy, zachowując zdolność niszczenia bakterii, a Hadley (1927) za wyraz dysocjacji drobnoustrojów, za pewne ogniwo w cyklu rozwojowym bakterii.

Wollman (1925), Burnet (1925), Manning (1926), Bronfenbrenner (1927—1928), Bayne-Jones (1933), Merling-Eisenberg (1940—1941) obserwowali fagi w ultramikroskopie i wykonali fotografie na ciemnym tle (zdjęcia filmowe). Obserwacje ich potwierdziły dane D'Herelle'a o cząstkowej budowie bakteriofagów. Zastosowanie mikroskopu elektronowego przez Ruskę (1940) do badań nad bakteriofagami stanowiło dalszy postęp i rozszerzenie możliwości dokładniejszego poznania cząsteczek fagowych.

Na szczególną uwagę zasługują badania Wyckoffa i Hercika. Wyckoff (1948) oraz Hercik (1950) przy pomocy mikroskopu elektronowego wykazali cząsteczkową naturę bakteriofagów, zachowujących się tak jak gdyby były drobnymi mikroorganizmami; rozmnażają się one przez podział kosztem protoplazmy bakterii. Badając produkty lizy *E. coli* w mikroskopie elektronowym znaleźli włókna, wykazujące często segmenty wielkości cząsteczek bakteriofagowych, z których prawdopodobnie one powstają. Stadium takie w rozwoju bakteriofaga jest możliwe; wskazują na to, podobne pod względem morfologicznym, włókna obserwowane w hodowlach wirusa grypy, rozwijającego się na zarodkach kurzych.

Własności bakteriofagów

Bakteriofagi są bardzo rozpowszechnione w przyrodzie. Znajdują się niemal stale w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt chorych i zdrowych, w mleku, w glebie, w wodach ście-

*) Praca złożona do druku w roku 1953.

kowych, rzecznych i morskich, a nawet wodociagowych. Przechodzą przez sączki zatrzymujące bakterie oraz działają litycznie na młode, wrażliwe szczepy bakteryjne w bulionie lub na płytkach agarowych. Działanie to można zaobserwować, dodając kilka kropli faga do młodej, wrażliwej na niego hodowli bulionowej drobnoustrojów. Po pewnym czasie (4—24 godz.) następuje przejśnienie płynu i w miejscu zmętnienia występuje płyn klarowny. Wyraźniej widać to działanie na płycie agarowej, na której zależnie od siły działania faga następuje całkowite rozpuszczenie hodowli lub też w pewnych miejscach występują nadżerki zwane łyśinkami, których wielkość waha się od 0,1—10 mm. Pod względem kształtu wyróżniamy łyśinki okrągłe lub nieregularne o brzegach gładkich albo poszarpanych. Działanie lityczne bakteriofagów można potęgować i utrzymywać w nieskończonej ilości pasażu, dodając krople przesączu rozpuszczonej hodowli do niewielkiej ilości świeżo rozmnażających się drobnoustrojów; występuje ono tylko w obojętnym lub lekko zasadowym środowisku. Według Wahla i Blum-Emericque'a (1949) odpowiednie stężenie jonów wapnia i potasu ma duże znaczenie w działaniu fagów.

Anderson, Delbrück, Stent (1948) wykazali, że niektóre aminokwasy jak tryptofan, fenylalanina, tyrozyna, nawet w niewielkich stężeniach, wpływają na aktywność pewnych bakteriofagów. Obecność indolu wg Delbrücka hamuje tę zdolność tryptofanu i fenylalaniny. Günther, Stent i E. Wollman twierdzą, że aktywność i zdolność adsorbcyjna bakteriofaga zależy od trzech zasadniczych cech powierzchni faga, mianowicie grupy chemicznej, reagującej z komórką bakteryjną dla wytworzenia wiązań, struktury powierzchniowej, pozwalającej na specyficzne dopasowanie w wiązaniu grup reagujących oraz elektrycznego ładunku powierzchniowego.

Brak jednej z tych cech powoduje nie zdolność adsorbcji bakteriofaga na komórkach bakteryjnych. Aminokwasy wyżej wymienione jak również wapń lub fosfor, jako kofaktory, zdolne są uzupełnić brakujący czynnik. D'Herelle twierdził, że istnieje tylko jeden fag w przyrodzie — *Bacteriophageum intestinale*, który dzięki dostosowaniu się nabywa zdolność rozpuszczania różnych gatunków bakterii. Dalsze badania wskazują jednak raczej na to, że istnieje cały szereg fagów i że zróżnicowanie ich jest dużo większe, niż bakterii. Swoistość lityczna bakteriofagów może odnosić się zarówno do rodzaju bakterii jak i do poszczególnych szczepów i odmian tych szczepów. Fag działający na postać S może nie rozpuszczać form R. Istnieją jednak bakteriofagi, które mogą działać na pewną ilość różnych, lecz ze sobą spokrewnionych szczepów bakterii. Wg Burneta (1927) istnieje zależność między obecnością wspólnego

antygeny somatycznego, a wrażliwością bakterii na bakteriofaga.

Według koncepcji D'Herelle'a cząsteczka bakteriofaga wnika do komórki bakteryjnej, rozmnaża się w niej i powoduje jej rozpad. Bakteriofag rozwija się wewnątrzkomórkowo i mniej więcej co 20 do 30 minut pewna ilość bakteriofagów uwalnia się z rozpadniętych komórek. Proces bakteriolizy pod wpływem bakteriofaga można obserwować pod mikroskopem jako napęcznienie komórki z powstawaniem licznych ziarnistości, po czym komórka nagle pęka, a w jej miejscu widać jakby obłoczek ziarnistego materiału. Niekiedy komórka prosto znika z pola widzenia (rozpuszcza się). Przy silnych stężeniach bakteriofaga może przyjść jedynie do zabicia bakterii bez następującej bakteriolizy. Zabite bakterie pochodzące ze szczepu wrażliwego na działanie bakteriofaga adsorbują swoiście homologicznego bakteriofaga z zawiesiny.

Wg Słopka bakteriofagi mogą pozostawać w symbiozie z niektórymi szczepami bakteryjnymi nie wywołując u nich zmian litycznych. Zjawisko takie można obserwować w starych hodowlach bakteryjnych. Szczepy takie nazywamy lizogennymi. Podczas rozmnażania się bakterii lizogennych, fagi przechodzą do komórek potomnych, a u bakterii zarodnikujących do zarodników.

W badaniach nad budową bakteriofagów stwierdzono, że przy kataforezie i zmianach pH cząsteczki bakteriofaga zmieniają swój ładunek w tych samych granicach kwasowości środowiska co i białka. Badania składu chemicznego oczyszczonych zawiesin bakteriofagów wykazały, że są one zbudowane podobnie jak bakterie lub duże wirusy; zawierają proteiny, lipiny, węglowodany i kwasy nukleinowe. Bakteriofag jest potężnym czynnikiem zmienności bakteryjnej. Pod jego wpływem hodowla bakteryjna może dawać nowe warianty biologiczne. Jest on najprawdopodobniej formą żywej materii — żywym białkiem.

Otrzymywanie bakteriofagów

a) Źródła otrzymywania bakteriofagów.

Bakteriofagi można otrzymać z różnych źródeł. D'Herelle otrzymał je z kału ozdrowieńców i z wód ściekowych. W 1922 roku D'Herelle, Bail, Otto, Munter, Winkler, Doerr, Flu, Fejgin i Supniewski otrzymali czynnik lityczny ze starych hodowli bulionowych. Joetten (1922) uważa, że w bardzo gęstych zawiesinach wytwarza się czynnik lityczny już po upływie 6 dni w temperaturze +37°C. Fejgin (1923) badała wodę morską koło Monaco i wykryła bakteriofagi przeciw pałeczkom *Shiga*, *Flexner* i *E. Coli*, a w Hawanie przeciw durowi brzuszemu.

Dane odnośnie badania wody na obecność bakteriofagów w Polsce podali Goldbe-

rżanka i Sierakowski (1929—1931), mianowicie nawet w wodzie wodociągowej, w wodzie ze ścieków miejskich, w wodzie rzecznej Wisły i osadników stwierdzono prawie zawsze czynnik lityczny, działający na bakterie jelitowe. Kilkakrotnie stwierdzono w pewnych okresach czasu brak czynnika litycznego w wodzie, mianowicie w lutym i marcu, a więc w okresie przyboru wód, co jest zgodne ze spostrzeżeniami innych autorów.

Cały szereg autorów francuskich (Arloing, Sempe, Langeron, Chavanne) przyjmuje, że własności lityczne są właściwe wodom zanieczyszczonym lub o powolnym biegu.

Liczne badania w Polsce nad otrzymaniem bakteriofagów wykonała Lipska. W roku 1933—1934 otrzymała bakteriofagi z kału osesków. W 1944 przeprowadziła pierwsze badania w Polsce nad wyosobnieniem z przypadków zapalenia pęcherza i miedniczek nerkowych bakteriofagów, działających na pałeczki okrężnicy wyhodowane z tychże przypadków. Stwierdziła, że w przypadku zapalenia nerek, wywołanego szczepem zjadliwym, może występować w moczu bakteriofag działający na inne pokrewne szczepy pochodzące z tego samego moczu. Wyodrębniła też bakteriofagi okrężnicowe z masła. W 1942 roku przeprowadziła badania bakteriofagowe siary w celu sprawdzenia, czy noworodek otrzymuje bakteriofagi z pokarmem matki. Zbadała 60 próbek siary pobranych jałowo. W wyniku dwukrotnego badania nie stwierdziła bakteriofagów działających na pałeczki gram ujemne i drobnoustroje gram dodatnie. Doświadczenie to jest ważne ze względu na stosowanie z dobrym wynikiem wielu ważnych bakteriofagów zapobiegawczo noworodkom dla ochrony ich od biegunek letnich.

b) Technika otrzymywania bakteriofagów.

Bakteriofagi można oddzielać od zawiesiny bakteryjnej różnymi sposobami.

Najprostsze i najbardziej znane są metody wyosobnienia bakteriofagów za pomocą sączenia przez filtry bakteryjne lub odwirowywania na wirówkach (D'Herelle 1917—1919). Bakteriofagi jako postaci przesączalne znajdują się w filtracie, a po odwirowaniu w płynie nad osadem. D'Herelle rozpuszczał kilka kropli kału ozdrowieńca w 20 ml bulionu i przepuszczał przez filtr. Przesączem działał na młode hodowle bakteryjne. Do otrzymania bakteriofagów z wód ściekowych używał specjalnego bulionu skoncentrowanego, o 10 krotnie większej zawartości składników odżywczych. Polecał też stosowanie wyciągu drożdżowego lub mięsnego. Do 2 litrowego naczynia dawał 100 ml pożywki skoncentrowanej i 900 ml wody ściekowej, świeżo pobranej, po czym posiał 10 ml 18—24 godzinnej hodowli bulionowej tych bakterii, przeciwko którym szukał faga. Hodowlę umieszczał w temperaturze $+36^{\circ}\text{C}$. Następnego dnia filtrował roztwór przez papier

impregnowany ziemią okrzemkową i filtrat ten przepuszczał przez świecę Chamberlanda L₅. Według Buczowskiego można uprościć metodykę otrzymywania bakteriofagów, zastępując sączenie jednogodzinnym ogrzewaniem w temperaturze $+58$ do $+60^{\circ}\text{C}$, podczas którego ginie flora bakterii niezarodnikujących, nie uszkadzając bakteriofagów. Zamiast metod wyżej podanych można użyć do oddzielenia bakteriofagów od zanieczyszczeń środków chemicznych. Klein w 1945 roku wspomina o oddziaływaniu syntetycznych środków dezynfekujących na drobnoustroje i twierdzi, że jest ono różne i zależne od gatunku oraz szczepu bakteryjnego.

Seymour, Kalter, Dayman, Mordant i Chapman (1946) wyodrębnili faga *E. coli* z gnojówki za pomocą kationowych środków oczyszczających (środki emulgujące, zmniejszające napięcie powierzchniowe). Autorzy ci użyli kationowych środków oczyszczających, ponieważ okazało się, że anionowe działają tylko na gram dodatnie drobnoustroje. Do badań użyto zefiranu, femerolu, chlorku cetylpirydyny i emulsolu 607 i stosowano je w stężeniu 1/5000. Wyniki powyższych badań wykazały, że niektóre związki kationowe mogą być używane do wyosobnienia bakteriofagów. Emulsol 607, zefiran, chlorek cetylpirydyny nadają się specjalnie do tego celu. Autorzy powyżsi nie polecają stosować femerolu ponieważ nie daje pewnych wyników. Metoda filtrowania jest mniej wydajna, ponieważ duża ilość cząsteczek fagowych jest adsorbowana na sączku.

Pogorzelska (1951 r.) podała wyniki badań nad wydajnością różnych metod oddzielania bakteriofagów od zawiesiny bakteryjnej. Stosowała bakteriofag swoisty anty Vi i doszła do następujących wniosków: 1. Najwydatniejszą okazała się metoda polegająca na odwirowaniu bakterii przez 60 minut przy 3500 obrotach na minutę i dodaniu do płynu kryształku tymolu; przy użyciu tej metody nie stwierdzono strat w ilości bakteriofaga. 2. Przy stosowaniu ultrafiltracji przez błony gradokolowe o porach ponad 100 milimikronów stwierdzono stratę 20% ilości bakteriofaga. 3. Metoda polegająca na odwirowaniu bakterii i ogrzewaniu płynu litycznego przez 60 minut w $+52^{\circ}\text{C}$ daje około 60% strat w ilości cząsteczek bakteriofagowych. 4. Filtrowanie przez świecę Chamberlanda L₂—L₅ daje 65—75% strat bakteriofagów. 5. Filtrowanie przez azbestowe filtry Seitza daje 95% strat w ilości bakteriofaga.

Skórska zaleca działanie 0,5% fenolem w celu oddzielenia bakteriofagów od drobnoustrojów.

Sierakowski badając rozwój bakteriofagów w zależności od początkowej ilości bakterii i bakteriofagów stwierdził, że przy izolowaniu bakteriofagów nie należy dodawać du-

zych ilości bakterii w celu uzyskania wysokiego miana, co pozostaje prawdopodobnie w związku z rozmnażaniem się bakterii w obecności bakteriofaga.

Morzycki, Morzycka i Pogorzelska (1949) podali następujące wyniki badań nad optymalnymi warunkami wzrostu przy otrzymywaniu bakteriofaga anty *Vi* pałeczki duru brzuszno: 1. Ośmiogodzinna hodowla daje najwyższy wzrost bakteriofaga. 2. Przy gęstości zawiesiny 2500 mil. w ml następowało największe namnożenie bakteriofagów. 3. Rozwój bakteriofagów jest silniejszy w niższej temperaturze przy wolniejszym rozmnażaniu się drobnoustrojów. 4. Koncentracja bakteriofaga jest najwyższa po 12 godz. wzrostu, następnie szybko opada, co tłumaczy się adsorbowaniem się bakteriofagów na drobnoustrojach martwych lub nie zdolnych do dalszego rozwoju. 5. W zawiesinach wyjściowych należy używać niewielkiej ilości bakteriofaga. 6. Produkty metabolizmu obcych bakterii szkodzą wybitnie bakteriofagom, podczas gdy produkty metabolizmu własnej bakterii nie szkodzą im. 7. Optymalne pH wynosi 7,5—8,5.

Przy zastosowaniu tych zasad racjonalnej hodowli bakteriofaga, można otrzymać z łatwością zawiesiny zawierające po kilkanaście miliardów cząsteczek w jednym mililitrze; otrzymano nawet 35 miliardów w ml.

Bakteriofagi znalazły szerokie zastosowanie w praktyce weterynaryjnej jako środek leczniczy i profilaktyczny. Mechanizm lizy fagowej w ustroju żywym jest według D'Herelle'a, Muromcewa i wielu innych taki sam, jak w próbce. Działanie bakteriofagów w organizmie zachodzi jednak w innych warunkach, niż *in vitro*. W próbce dostosowujemy odpowiednie podłoża (wymagane pH) i hodowle (młode komórki bakteryjne). W organizmie zwierzęcym może występować cały szereg czynników hamujących bakteriofagię, na przykład niedopowiednie pH przewodnictwa pokarmowego przy schorzeniach chronicznych, stare szczepy bakteryjne, krew, surowica, żółć i białe ciała mogą ujemnie wpływać na proces rozpuszczania fagowego. Istota leczenia bakteriofagami nie polega tylko na rozpuszczeniu komórek bakteryjnych, lecz równolegle do tego zjawiska odbywa się cały szereg przemian w chorym organizmie, bakteriofagach i bakteriach. Liczba bakteriofagów może wzrastać lub zmniejszać się. Muromcew podaje, że bakteriofagi utrzymują się w organizmie zdrowym do dziewięciu dni, następnie ilość ich stopniowo się obniża. W chorym ustroju liczba cząsteczek zwiększa się, czego dowiedli Rakieten T. i Rakieten M. w doświadczeniach na zarodkach kurzych (1943) oraz Dubos (1943), Morton, Perez-Otero (1945 r.) na myszkach. Zmienia się także budowa antygenowa drobnoustroju i jego zachowanie

w w odczynach serologicznych. Komórka bakteryjna pod wpływem bakteriofagów zmienia swój stosunek do otoczenia przez nabycie nowych własności fermentacyjnych i przez większą podatność na fagocytozę. Wykazano, że przy podaniu bakteriofagów może wytworzyć się stan odpornościowy w organizmie oraz powiększyć indeks Wrighta. Zwiększenie fagocytozy jest prawdopodobnie ważnym czynnikiem w zwalczaniu drobnoustrojów chorobotwórczych podczas fagoterapii.

W ustroju zwierzęcym wytwarzają się przeciwciała przeciwko bakteriom i bakteriofagom. Przy pomocy reakcji wysycania udało się odzielić dwojakiego rodzaju przeciwciała. Zjawisko bakteriofagii w organizmie jest więc skomplikowanym szeregiem procesów wywołanych przez fagi, bakterie i organizm zwierzęcy oraz uwarunkowanych przez oddziaływanie środowiska, które dla bakteriofaga stanowi wrażliwy, młody drobnoustrój, odczynowość otoczenia oraz temperatura. Bakteriofagi podaje się do organizmu różnymi drogami; podskórnie, dożylnie, domięśniowo, doustnie, w postaci lewatyw i powierzchownie na rany. Przy procesach posocznicy stosuje się je parenteralnie, natomiast przy lokalizacji w przewodzie pokarmowym podaje się do picia. Działają one najlepiej w środowisku o pH 7,2—7,6. W odczynie kwaśnym działanie fagów jest zahamowane. Doustnie podaje się bakteriofagi naczczo, neutralizując uprzednio przewod pokarmowy 3—5% roztworem wodnym sodu. Przy podawaniu preparatów fagowych w postaci lewatyw, usuwa się najpierw masy kałowe z przewodu pokarmowego za pomocą lewatywy wypróżniającej, a po trzydziestu minutach podaje się bakteriofagi. Podczas leczenia fagami należy wykluczyć pokarmy kwaśne. Nie należy stosować równocześnie z fagami środków leczniczych hamujących ich działanie lityczne, na przykład chininy, akryflawiny, riwanolu itp. Można natomiast podawać równocześnie bakteriofagi z surowicą odpornościową lub nowarsenolem.

Pierwszy D'Herelle (191) zastosował bakteriofagoterapię przy pulloriozie. Śmiertelność po zastosowaniu bakteriofagów spadła z 95% na 5%. Podobne wyniki osiągnęli Kramer i Hollande. Kuszaszwili (1945—1948) leczył pisklęta chore na pullorozę, podając 4—6 kropli faga doustnie przy pomocy pipety ocznej bez uprzedniego podawania dwuwęglanu sodu i otrzymał dobre wyniki leczenia. Nikiforowa, Łuszkow i Artimiczew (1951) wskazują na szerokie stosowanie bakteriofaga przy pulloriozie jako czynnika leczniczego i profilaktycznego. Natomiast Korotcz (1948) wspomina o słabych wynikach otrzymanych przy leczeniu pulloriozy bakteriofagiem. Według Wyszeleskiego (1948) kury, które przechorowały tyfus wykazują stan odpornościowy, który niektórzy autorzy wyjaśniają obecnością faga niszczącego pa-

łeczki tyfusu kurzego (*Salm. gallinarum*). Dzięki obecności bakteriofaga w jelitach chorych kur następuje ich wyzdrowienie, a odporność u wyzdrowiałych istnieje tak długo, dopóki w ich jelitach znajduje się bakteriofag. Z drugiej strony zjadliwość bakteriofaga utrzymuje się do czasu obecności pałeczki tyfusu w organizmie ptaka. Wystąpienie fagoodpornych form *S. galinarum* osłabia względnie niszczy wirulentność faga i tym samym znosi odporność ptaków na tyfus (Wyszelski). Zahamowanie epizocji związane jest z pojawieniem się wirulentnego faga, który z jednej kury przenosi się do drugiej. Tam, gdzie tyfus szeroko rozpowszechnia się, brak jest bakteriofaga skierowanego przeciwko niemu.

Nikiforowa (1/51) podaje, że działanie bakteriofaga przy tyfusie kur jest dodatnie, jednakże mogą powstawać formy bakteriofagoodporne i wówczas dochodzi do nawrotów choroby. Poliwalentny fag używany w celach profilaktycznych przy paratyfusie kurcząt okazał się mało skuteczny z powodu powstawania ras odpornych na działanie faga (Swincow — 1951r.). Broudin w Indochinach użył bakteriofagów przeciw cholerze drobiu wywołanej przez *Pasteurella avium* z pomyślnymi wynikami. Mistrál zastosował bakteriofagi przeciwko zakażeniom *Pasteurella suipestifer* u świń z dobrym wynikiem. Wyszelski (1948) przedstawia bakteriofag jako cenny lek w walce z paratyfuszem świń. Poleca podawać go trzy razy dziennie w ciągu kilku dni w dawkach po 3—10 ml w 100 ml wody lub mleka. Szerstobojew zastosował na terenie irkuckiej stacji doświadczalnej bakteriofagi przeciw dyzenterii prosiąt, używając mieszanego faga przeciw *Sal. suipestifer* i *E. coli*. Fagoprofilaktykę zaczynało przez odstawienie młodych od matki, czasami bezpośrednio po urodzeniu lub na drugi dzień życia, ponieważ zwierzęta w niektórych wypadkach zakażały się pierwszego dnia. Fagi podawano doustnie w dawce 5—10 ml co pięć dni, aż do przejścia prosiąt na normalną karmę. Na 2605 prosiąt, którym podawano fagi, zachorowało 136 (5,2%), padło 21 (0,8%); w kontrolnych grupach liczących 1750 sztuk zachorowało 1160 (66%), padło 479 (27,4%). Przez zastosowanie fagoprofilaktyki zmniejszono zachorowalność 13-krotnie, a śmiertelność 30-krotnie. Przy leczeniu dyzenterii prosiąt podawano fagi doustnie lub w postaci lewatyw do sześciu razy dziennie. Doustna dawka wynosiła 10—15 ml (u nowonarodzonych 5—10 ml), przy podawaniu w postaci lewatyw 15—30 ml. Na 4931 chorych sztuk wyzdrowiało 4754 (95,9%) — padło 177 (4,1%). W porównaniu z grupą kontrolną śmiertelność zmniejszyła się ponad 6,6 raza. Wyzdrowienie w wielu przypadkach następowało już po 24—48 godzinach.

Szerstobojew i Kosarewicz stosowali z dobrym wynikiem u chorych źrebiąt i kłacz

swoisty bakteriofag przeciw *Salmonella abortus equi*, podawany w ciągu trzech dni *per os*. Bakteriofag wstrzymuje wzrost bakterii i rozpuszcza komórki z grupy *Salmonella*.

Według Parnasa w leczeniu bakteriofagiem przy zadaniu jego większej ilości występuje czasem pogorszenie ogólnego stanu na skutek wyzolenia z rozpuszczonych komórek endotoksyn i zatrucia ustroju. W takich przypadkach należy równolegle z wprowadzeniem bakteriofaga podać surowicę o wysokim mianie antytoksycznym, a w braku tej można stosować u źrebiąt chorych, krew względnie plazmę krwi matki, która posiada wiele przeciwciał. W Italii stosowano profilaktycznie i leczniczo bakteriofagi przeciwko paciorkowcom żółtowym. Koniom podawano zapobiegawczo wodę do picia łącznie z fagiem oraz dodawano do wód ściekowych, w których bakteriofagi rozpuszczały paciorkowce. D'Herelle i LeLouet zastosowali bakteriofagi przeciwko *Pasteurella bovis*. 20000 sztukom bydła podawano dożylnie 10 ml hiperwirulentnego faga; żadne z zaszczepionych zwierząt nie zachorowało. Verge i Vallé zalecają przy kolibacilozie cieląt stosowanie wieloważnego bakteriofaga, który podaje się dwa razy dziennie *per os* po 10 ml. Równocześnie zamiast mleka podaje się odwar siemienia lnianego lub ryżu w ciągu dwu do trzech dni, po czym można podawać mleko z dodatkiem 2% kwasu mlekowego. Działanie jest bardzo szybkie, od drugiego dnia stan zdrowia poprawia się, a biegunka ustaje. Iwanow stosował bakteriofagi przy salmonellozie; doświadczenie przeprowadził na 53 chorych cielętach, u których stwierdzono *S. enteritidis* Gärtner; do leczenia używał 20 g bakteriofaga i 200 g odwaru siana, do roztworu dodawał 50 g 40% alkoholu i podawał to cielęciu. W ciągu 24 godzin po otrzymaniu leku dostawało cielę tylko odwar siana, na drugi dzień mieszanekę odwaru siana z mlekiem w ilości 4 l. dziennie (po równej części mleka i odwaru), potem tylko mleko. Iwanow otrzymał tą drogą polepszenie stanu ogólnego, zmniejszenie nasilenia biegunki i powolny powrót do zdrowia.

Według Wyszelskiego przy paratyfusie cieląt należy stosować bakteriofag dożylnie, *per os* względnie po oczyszczeniu odbytnicy lewatywą *per rectum* w zdwojonej dawce rozcieńczonej przegotowaną wodą w stosunku 1:5—1:10. Na 6—8 godz. przed podaniem bakteriofaga *per os* przerywa się karmienie i podaje do picia przegotowaną i ostudzoną od +35° do +38°C wodą, a na 1/2 godz. przed leczeniem 25—30 ml 3—5% roztworu sody. Dawka bakteriofaga zależy od wagi i wieku cielęcia, a także od aktywności preparatu i waha się od 10—100 ml w mieszaninie z przegotowaną wodą. Powtórne podanie bakteriofaga może nastąpić po 6 godz. od karmienia i 1,5—2 godz. przed podaniem nowego pokarmu. Przy stosowaniu bakteriofagów nie jest wskazane podawanie innych lekarstw i kwaśnych produktów.

Szerstobojew zastosował fagoprofilaktykę przeciwko kolibacilozie i paratyfusowi cieląt. Podawał on 15—25 ml faga *per os* co trzeci dzień przy kolibacilozie, a co 5-ty przy paratyfusie do 30—45 dnia. Z 362 cieląt, którym podawano zapobiegawczo fagi zachorowało 9 (2,5%), a 5 (1,4%) padło, z tych 5-ciu, trzy sztuki otrzymały zaledwie jedną dawkę faga. W grupach kontrolnych na 427 cieląt padło 118 (27,6%) czyli przy zastosowaniu fagów zmniejszono śmiertelność dwudziestokrotnie. Lecznico przy kolibacilozie cieląt podawano *per os* 1—3 razy dziennie 15—20 ml faga. Z 621 leczonych cieląt wyzdrowiało 609 (98,1%), a padło dwanaście (1,9%). W kontrolnej grupie na 197 sztuk padło 57 (29,2%). Przy pomocy fagoterapii zmniejszono śmiertelność 15-krotnie. Przy fagoterapii paratyfusu cieląt uzyskano gorsze wyniki (15% zwierząt padło) a proces leczenia trwał dłużej. Mur omce w i Tulczyńska uzyskały ujemne wyniki przy fagoterapii paratyfusu. Lawrence, Slanetz i Jawetz (1941) próbowali leczyć gronkowcowe zapalenie wymienia przez wstrzykiwanie bakteriofagów; wyniki były niepomysłne. Verge leczył bakterio-

fagami z dobrymi wynikami zapalenia wymion u krów spowodowane przez *E. coli*.

Kolesow (1948) stwierdził, że w procesach ostrych powierzchownych preparaty fagowe mogą mieć zastosowanie zwłaszcza w przypadkach spowodowanych przez drobnoustroje penicylinooporne. Wszeleski zaleca także miejscowe okłady przy zakażeniach laszczkami beztlenowymi.

W Zakładzie mikrobiologii wet. UMCS (1951—1952) przeprowadzono z dobrymi wynikami badania doświadczalne na myszkach nad działaniem leczniczym i profilaktycznym bakteriofagów przeciwko *E. coli* i *Corynebacterium equi*.

Wyniki fagoterapii są według różnych autorów niejednakowe. Skuteczność preparatów fagowych zależy w dużej mierze od umiejętnego zastosowania ich w odpowiednim momencie, od ilości i od zachowania diety. Należałoby zwrócić większą uwagę na te cenne i tanie środki lecznicze jakimi są bakteriofagi.

Szczegółowy wykaz piśmiennictwa obejmującego 33 pozycje, można otrzymać u autorki.

JERZY SZAFIARSKI

Dalszy przyczynek do usadawiania się rzęsistka bydlęcego (*Trichomonas bovis*) w narządach moczopłciowych buhajów

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej Stalinogród
Kierownik: Doc. dr J. SZAFIARSKI

W związku z poprzednim doniesieniem o usadawieniu się rzęsistków w narządach moczopłciowych buhajów, przeprowadziłem dalsze badania poubojowe sztuk, u których stwierdzono przyżyciowo zarazę rzęsistkową. W gospodarstwie Ł. W. pow. Gliwice woj. stalinogrodzkie z roku na rok narastało zagadnienie jałowoci. Ilość zapłodnień malała mimo, że w roku 1955 kryły w tym majątku dwa buhaje „Zryw“ ur. w roku 1848 i „Robert“ ur. w roku 1953. Załączona tabela wykazuje wyraźnie zmniejszenie się %/0 zapłodnień w ciągu pięciu lat, co wskazuje, że zakażenie u jednego i drugiego buhaja nastąpiło na przełomie roku 1954 i 1955 tak, że proces chorobowy trwał około pół roku.

Cyfry te obejmują pokrycie tak krów jak i jałówek. Gdy jednak obliczymy dane dotyczące tylko jałówek (rok 1955) to przy 51 skokach („Zryw“ i „Robert“) z 14 jałówek tylko 3 zostały pokryte, co daje 5% zapłodnień, przy około 3—4 skoków na jedną. Oba te buhaje poddano w miesiącu maju 1955 r. ubojowi a narządy moczopłciowe przesłano do WZHW w Stalinogrodzie, gdzie wykonano posiewy na pożywkę namnażającą, tak jak w pracy poprzedniej (przednia część cewki moczowej, tylna część cewki moczowej za zagięciem esowatym, pęcherz moczowy, pęcherzyki na-

sienne prawy i lewy, najdrze prawe i lewe, jądra prawe i lewe). Od obu buhajów wyhodowano rzęsistki z przedniej części cewki moczowej.

Buhaj „Zryw“		
Rok	Ilość skoków	% zapłodnień
1950	23	52
1951	51	41
1952	61	44
1953	72	37
1954	69	32
1955 do V m.	47	4
Buhaj „Robert“		
1955	43	6

Dyskusja. Za Pribylem (2), który stwierdził na 88 przebadanych buhajów u 36 sztuk (40%) w worku napletkowym i u 5 sztuk (6%) w cewce moczowej trichomonady i za Küstem (1), który wspomina o znajdowaniu rzęsistków w cewce moczowej, potwierdzam dalsze doniesienie o możliwości umiejscowienia się rzęsistków w cewce moczowej u buhaja. Wynik badania potwierdza, że rzęsistki mogą usadawiać się poza workiem na-