

ANNALÉS  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE SKŁODOWSKA  
LUBLIN — POLONIA

VOL. IV, 12.

SECTIO D

1949

---

Z Zakładu Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego U. M. C. S.  
(Dyrektor: Prof. Dr L. Fleck)

Zakładu Anatomii Patologicznej Wydziału Weterynaryjnego U. M. C. S.  
(Dyrektor: Prof. Dr T. Żuliński)

i Państwowego Zakładu Higieny, filia Lublin  
(Dyrektor: Dr C. Chromiński).

---

L. FLECK, F. STAŃSKI, N. NICEWICZOWA

## **Zastosowanie próby leukergicjnej do wykrywania zakażeń utajonych u zwierząt doświadczalnych.**

### **The use of the leukergy test for the detection of inapparent infections in laboratory animals.**

Podczas doświadczeń nad leukergią stwierdziliśmy, że u zwierząt doświadczalnych, a w szczególności u królików i świnek morskich występuje często samoistna leukergia, utrzymująca się przez kilka dni lub trwająca nawet dłużej.

Z pośród 278 królików, zakupionych u chłopów przez lubelską filię PZH dla wytwórni szczepionki przeciwścieklicznowej, badanych w ciągu najbliższych dni po zwózce, tylko 88 (tj.  $31\% \pm 2,8$ ) dawało ujemny odczyn leukergiczny, wzgl. słaby odczyn dodatni, więc (—), ( $\pm$ ), lub (+). Reszta wykazywała odczyny wyraźnie dodatnie, dochodzące do (+++) i (++++) , tj. zlepieniu ulegało 55% lub nawet 80% ich ciałek białych we krwi cytrynianowej, inkubowanej przez 3 godziny w temperaturze 37°.

Króliki, trzymane czas dłuższy w dobrych warunkach wivarium Zakładu Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego, wykazały większy odsetek prób ujemnych:

Seria I, 51 królików, ujemnych 35, tj. 69%

Seria II, 18 królików, ujemnych 14, tj. 77%

Seria III, 10 królików, ujemnych 7, tj. 70%

Naogół więc  $\frac{2}{3}$  królików dały odczyn ujemny, a  $\frac{1}{3}$  dodatni. Systematyczne badanie „zdrowych“ królików przez czas dłuższy dawało wy-

niki mniej więcej takie jak przedstawiony w tabelicy I. U królika tego (Nr 52) zaobserwowano w ciągu ok. 8 tygodni jeden dłuższy okres dodatniej leukergii, trwający około 10 dni, jeden krótszy kilkudniowy w okresie porodu i małe wysoki jednodniowe. Razem na 39 oznaczeń było dodatnich (powyżej +) 13, ujemnych więc 26, tj. 66%.

W naszych warunkach trzymane króliki miały więc w ciągu około  $\frac{2}{3}$  miesiąca ujemny odczyn, a w ciągu  $\frac{1}{3}$  czasokresu dodatni. Zgadza się to dobrze ze statystyką jednorazowych oznaczeń w trzech podanych wyżej seriach. W innych warunkach odsetek ujemnych i dodatnich wyników byłby oczywiście inny. Równoczesności dodatnich wyników u większej ilości królików, tj. jakichś okresów, w których by gwałtownie wzrósł odsetek dodatnich samoistnych leukergii wśród naszych królików nie zauważyliśmy, musimy jednak odrazu zaznaczyć, że w ciągu trzech lat nie mieliśmy epidemii stajennej.

Stosunki u świnek przedstawiają się inaczej:

- |            |   |                  |           |               |
|------------|---|------------------|-----------|---------------|
| Seria I,   | 50 świnek, waga od 400 g w górę (PZH Lublin)  | ujemnych 8, tj.  | . . . . . | 16% $\pm$ 5,4 |
| Seria II,  | 66 świnek, waga od 250 g w górę (Zakł. Mikrobiologii Lek. i Wet.)                                     | ujemnych 18, tj. | . . . . . | 27% $\pm$ 6   |
| Seria III, | 16 świnek, noworodki, okres obserwacji 2--6 tyg., stale ujemnych z wyjątkiem okresu 1--2 dni (+ do +) | 16, tj.          |           | 100%          |

Wszystkie dorosłe i małe świnki były na oko zdrowe. Różnica między serią II i serią I (młodsze i starsze świnki) wynosi  $11 \pm 7,4\%$ , wydaje się więc być istotną. Różnica między serią III (noworodki) a serią I i II jest na pewno realna. Można więc wysunąć wniosek, że świnki noworodki nie wykazują leukergii w ciągu około 6 pierwszych tygodni, po za jednym lub kilku okresami słabej leukergii (1—2 dni), a wieku ok. 6 tygodni odczyn leukergiczny staje się u większości prawie stale dodatni, tak, że u dużych „zdrowych” świnek zaledwie niewielki odsetek wykazuje ujemny odczyn leukergiczny. Przykłady jednomiesięcznej obserwacji dwu świnek, jednej nowonarodzonej, drugiej 280 g (w dniu rozpoczęcia obserwacji) podane są w tabelicy II.

Mogłoby się zdawać, że dodatni odczyn leukergiczny jest cechą konstytucyjną prawidłowych dojrzałych świnek, u młodych zaś leukocyty nie ulegają zlepieniu. Przeciw temu przemawia następująca obserwacja:

Dnia 23.3 urodziła świnka N I (Leukergia +++ ) dwoje młodych, N II i N III. Wszystkie trzy mają się na oko dobrze.

29. 3. N I, Leuk. +++	N. II, Leuk. —	N. III, Leuk. —
1.4. exitus, sekcja : pneumonia. Histolog.: wybitne przekrwienie płuc, wysięk surowiczo-komórkowy w pęcherzykach. Nacieki okołona-czyniowe. Przekrwienie węzłów limfatycznych i namnożenie komórek histiocytarnych w węzłach, Zwrodnienie tłuszczowe wątroby.	Leuk. —	Leuk. —
7. 4.	Leuk. —	Leuk. ++++
12. 4.	Leuk. +++ świnkę zabito; sekcja : makroskop. b. zm. Mikroskop.: wyraźne przekrwienie płuc.	Leuk. ++++ świnkę zabito; sekcja : pneumonia w okresie nawału, histologicznie stwierdzono bardzo wybitne przekrwienie płuc. Nacieki drobnokrzętkowe dookoła naczyń.

Było więc u matki zapalenie płuc, które doprowadziło u niej w 7 dni po porodzie do śmierci i przeszło na potomstwo.

U jednego z dzieci wystąpiła leukergia 7.4 a 12.4 wykazano histopatologicznie pneumonię w okresie nawału. U drugiego leukergia pojawiła się dopiero 12.4., w słabszym stopniu i dnia tego wykazano histopatologicznie wyraźne przekrwienie płuc. Więc nawet bardzo młode zwierzęta mogą dawać dodatnią próbę leukergiczną, jeśli są chore. Z dawnych obserwacji wiemy, że także nowonarodzone zdrowe króliki mają ujemny odczyn leukergiczny, mogą jednak w razie choroby zakaźnej już w kilka dni po porodzie dawać odczyn dodatni, podobnie jak nowonarodzone świnki. Z drugiej strony udaje się wychować izolowane tuż po urodzeniu i sztucznie karmione świnki w stanie wolnym od leukergii. Wobec tego nasuwa się przypuszczenie, że tak częsty odczyn dodatni u zwierząt dorosłych jest wyrazem choroby, być może najczęściej zakaźnej i to w większości przypadków choroby zakaźnej utajonej, ponieważ większość tych zwierząt klinicznych objawów choroby nie wykazuje. U ludzi występuje leukergia poza stanami chorobowymi jedynie podczas

ciaży (Kwiatkowski). Badania anatomo patologiczne i histopatologiczne zwierząt klinicznie zdrowych lecz wykazujących dodatni odczyn leukergiczny dawały z reguły wyniki pozytywne. Oto przykłady:

*Królik nr 8, samica.* Od dnia 17.I. (dzień sprowadzenia do Zakładu) do 29.I. dawał dodatni odczyn leukergiczny (+ + do + + + +), potem żadnych objawów chorobowych nie wykazywał. Ilość leukocytów wahała się około 12.000, więc była według literatury jeszcze w granicach normy. Królika zabito 29.I. Sekcja wykazała: w płucach rozlane zapalenie płuc. W pęcherzykach wysięk komórkowy, przyczym na wysięk ten składają się znaczne ilości histiocyty, obecnych również w tkance międzypęcherzykowej. Poza tym skupienia ogniskowe komórek limfocytopodobnych w tkance międzypęcherzykowej. W świetle naczyń krwionośnych wybrukowanie ścianki leukocytami. Gdzieś niedługo przenikanie leukocytów przez ściankę. Wezły chłonne: w przestrzeniach między grudekami chłonnymi liczne komórki histiocytarne oraz mierny przerost siateczki. Śledziona: przekrwienie, potem narządy wewnętrzne bez zmian. Wobec podanych zmian histopatologicznych i braku bakterii w rozmazach i hodowli z ognisk zapalenia w płucach przyjmujemy, iż królik ten chorował na zapalenie płuc na tle wirusowym. W każdym razie dodatni odczyn leukergiczny znajduje wytłumaczenie.

*Królik nr 40 samiec* — pogryziony przez innego samca, nazajutrz i dnia następnego leukergia + + + +, zabity w 48 g. po walce. Zmiany naskórne: rany kłusane i drapanie na grzbiecie, głowie i odnóżach tylnych. Płuca: ogniskowe wynaczynienia; wśród elementów krwi stwierdza się zlepy leukocytów w ilości do kilkadziesiąt w jednym zlepie. Ponadto gdzieś niedługo, wewnątrz naczyń i w wyłwach widać hemosiderocyty. Występują one też w tkance płuc. W świetle jednego oskrzelika krew. Śledziona: hemosiderocyty o wyraźnej budowie amebowatej, przeładowane ziarnistościami. Przyjmujemy, że na skutek walki przyszło do wynaczynienia w płucach. Nagromadzenie hemosiderocytów dowodzi rozpadu czerwonych ciałek krwi w ogniskach wynaczynienia, fagocytozy hemosideryny przez komórki histiocytarne, których znaczna ilość przeszła do śledziony. Leukergia byłaby wyrazem ostrego podrażnienia układu histiocytarnego.

*Królik nr 78 samica.* Długi okres samoistnej leukergii (od 20.I. do 18.II., od + + do + + + +), potem prawie dwumiesięczny okres ujemny (od 19.II. do 12.IV.), potem 13.IV. leukergia nagle wybitnie dodatnie (+ + +). Nazajutrz leukergia znowu + + +, leukocytoza 9.900, temperatura 38,9, żadnych klinicznych objawów chorobowych. Zwierzę zabito. Sekcja wykazała: badanie histologiczne — nacieki drobnokrążłokomórkowe okołonaczyniowe i w tkance międzyzrazikowej wątroby. W tkance łącznej międzyzrazikowej widać również komórki limfocytopodobne. Wśród elementów komórkowych limfocytopodobnych stwierdza się komórki większe o budowie ziarnistej, stanowiące prawdopodobnie komórki układu histiocytarnego. Obraz tego narządu przypomina marskość wątroby (cirrhosis hepatis), co świadczy o procesie dłużej trwającym, a obecność nacieków limfocytopodobnych o zaostrzeniu. Śledziona miernie przekrwiona, inne narządy bez zmian. Długotrwała leukergia z okresami remisji znajduje wytłumaczenie. Przepuszczalnie toczył się proces natury zakaźnej.

*Świnka dorosła nr 8 samiec.* Leukergia samoistna (+ + do + + + +) w ciągu trzech tygodni obserwacji. Żadnych objawów chorobowych. Zabita 12.II. Sekcja: makroskopowo żadnych zmian nie stwierdzono. Badanie mikroskopowe: w płucach ostro ograniczone ogniska nacieków drobnokomórkowych dokoła oskrzeli i naczyń, ponadto gdzieś niedługo rozlane skupienia komórek limfocytopodobnych w tkance

międzypęcherzykowej. Obraz odpowiada w zupełności opisowi i ilustracjom podanym przez *Lauche'go* w podręczniku *Jaffego*, patrz o tym niżej.

*Świnka dorosła* nr 9 samiec — Leukergia dodatnia (+ + + do + + + +) w ciągu 5 tygodni obserwacji. Żadnych objawów chorobowych. Zabita 7.III. Sekcja: makroskopowo przerost węzłów chłonnych, zwłaszcza w śródpiersiu. Zwapniałe ogniska w wątrobie. Mikroskopowo w płucach ogniska nacieków komórkowych okołoskrzelowe i w tkance międzypęcherzykowej jak u świnki nr 8, w węzłach rozplem komórek histiocytarnych.

*Świnka dorosła* nr 2 samiec. — Leukergia dodatnia (+ + + do + + + +) w ciągu 4 tygodni obserwacji. Żadnych objawów chorobowych. Zabita 23.II. Sekcja: makroskopowo — powiększone węzły chłonne fałdu kolanowego, krezkowe i poza otrzewnowe. Dwa ogniska martwicze w wątrobie wielkości ziarna maku. Badanie histologiczne: rozległe rozlane ogniska martwicze w wątrobie, liczne hemosiderocyty o ziarnistej budowie w sąsiedztwie ognisk martwiczych. Mierny rozplem komórek siateczki węzłów chłonnych. W oczkach siateczki liczne komórki histiocytarne. Nerki: daleko posunięte zmiany wsteczne, zanik budowy szczególnie substancji korowej. W substancji rdzennej pojedyncze histocyty. Płuca: ogniska nacieków jak u świnki nr 8.

*Świnka dorosła* nr 19 samiec. — Leukergia dodatnia (+ + +) w ciągu 4 dni obserwacji. Żadnych objawów chorobowych. Zabita 12.III. Sekcja: w lewym płucu dwa ogniska wielkości ziarna soczewicy (*susp. quoad carnificatio post inflammationem*). Bardzo duże węzły wnekowe (jak duże ziarna soczewicy). Świeży infarkt wątroby. Wybroczyny w nerkach. Histologicznie płuca: ogniska nacieków jak w płucach świnki nr 8. Węzły limfatyczne: rozplem komórek histiocytarnych oraz przerost siateczki.

*Świnka dorosła* nr 35 samiec. — Leukergia dodatnia (+ + + do + + + +) przez 11 dni obserwacji. Żadnych objawów chorobowych. Zabita 28.III. Sekcja: rozlany wylew krwawy podopłucnowy, sięgający włąb mięszu płuca prawego. Dwie wybroczyny podopłucnowe w lewym płucu. Zbliżnowacenie podłużne w wątrobie. Obrzęk węzłów chłonnych śródpiersia. Histologicznie: odczyn histiocytarny, liczne komórki żerne w pęcherzykach i tkance międzyzrądkowej płuc. Drobne ogniska nacieków komórkowych, analogiczne do opisanych przez *Lauche'go*.

Znajdywaliśmy więc stale u zwierząt ze samcistną (tj. nie eksperymentalną) leukergią zmiany chorobowe. Poza różnymi zmianami w wątrobie, nerce, węzłach limfatycznych, śledzionie — w dużej liczbie przypadków, zwłaszcza u świnek występowały zmiany w płucach. Obejmują one całą skalę możliwości od mniej lub więcej wyraźnego, umiejscowionego przekrwienia (świnka nr N II i N III), poprzez wybitne ogniska zapalne z wysiękiem i histiocytami (N I), aż do zmian bardziej przewlekłych jak owe ogniska nacieków komórkowych dookoła oskrzeli i naczyń a także w tkance międzypęcherzykowej, opisane przez *Lauche'go* i innych autorów, jako zjawiska stałe w płucach świnek od piątego tygodnia życia: „Wielkie znaczenie dla eksperymentalnego badacza ma znajomość zachowania się tkanki limfatycznej w płucach gryzoniów. Występuje ona nie tylko często w stosunkowo bardzo dużej ilości lecz wykazuje też, szczególnie u świnki morskiej, niezwykle dużą zdolność reagowania na

najrozmaitsze bodźce. Można odróżnić 2 rodzaje występowania (Guerisse-Pellisier, Klein): zbite, mniej lub więcej ostro ograniczone guzki, znajdujące się obficie w grubszym rusztowaniu łącznotkankowym, tj. dookoła oskrzeli i naczyń, i zupełnie rozlane, bardzo rozmaicie silnie rozwinięte limfatyczne grudki w delikatnych ściankach międzypęcherzykowych, często niezależne od oskrzeli i naczyń. Jak wynika szczególnie z gruntownych badań Gerlacha i Finkeldęga, należą te rozmaicie silnie rozwinięte guzki limfatyczne do prawidłowego obrazu płuca świnki od 5 tego tygodnia życia pozamacicznego. Czasem występują one szczególnie gęsto pod opłucną (Arnold). Już z powodu drobnych, nietylko bakteryjnych lecz nawet mechanicznych, bodźców powiększają się te guzki bardzo szybko i obficie, tak, że ich wygląd po jakimś zabiegu może być tylko z największą ostrożnością wartościowany<sup>1)</sup>. Dodatkowo zaznaczamy, że u zwierząt klinicznie chorych (gorączkujących, z wyciekami z ucha lub nosa, z brakiem łaknienia i biegunką, z cianozą i ciężkim oddechem, kaszlem, objawami błędnikowymi, z ropiejącymi owrzodzeniami lub tp.) a także u zwierząt sztucznie zakażonych (*Klebsiella*, *Tbc*, *Brucella*) stwierdziliśmy z reguły dodatnią próbę leukergiczną. Charakterystyczną jest rzeczą, że rany skóry, połączone z miejscowym odczynem zapalnym, (obrzęk, zaczerwienienie, wydzielina ropna) dają u królików bardzo wybitne dodatnie odczyny leukergiczne. Natomiast nawet dość rozległe zmiany gruźlicze, np. w płucach, wywołują u tych zwierząt odczyny słabe. Dokładne badania histopatologiczne zmian towarzyszących leukergii spontanicznej i sztucznie wywołanej są w toku. Przeprowadza je F. Stański.

Dodajemy wyraźnie, że liczne kontrolne badania młodych świnek z ujemną leukergią i królików z ujemną leukergią różnego wieku wykazały brak zmian analogicznych w organach, w szczególności nie znajdowaliśmy u świnek bardzo młodych (do 4 tygodni) owych ognisk nacieków limfatycznych w płucach, zgodnie z literaturą.

W literaturze fachowej przyjmuje się, że ogniska te, zjawiające się z reguły u świnek około 5-tego tygodnia życia, stanowią cechę prawidłową płuc świnek. Jeśli zważymy, że właśnie w tym okresie zjawia się regularnie trwały dodatni odczyn leukergiczny, odczyn, który poza tym dowodzi stanów zapalnych, nasuwa się możliwość innej interpretacji owych ognisk limfatycznych w płucach. Czy nie są one raczej wyrazem jakiejś bardzo rozpowszechnionej u świnek przewlekłej infekcji lub licznych infekcji? Rozpoczęliśmy próby zakażenia młodych świnek miazgą płuc świnek dorosłych, używając metody zakażenia przez nos według Durand-Sparrow a także próby zakażenia krwią.

<sup>1)</sup> Jaffe, Anatomie u. Pathologie der Spontanerkrankungen der kleinen Laboratoriumstiere, Springer, 1931, str. 36.

W każdym razie próba na leukergię okazała się dobrym testem na chorobę zakaźną, rozwiniętą klinicznie lub też małoobjawową wzg. utajoną. Dotyczy to oczywiście na razie tylko tych gatunków zwierzęcych, które badaliśmy, więc królików i świnek. Co do myszy białych, to z dotychczasowych obserwacji wynika, że reagują one leukergią raczej rzadko i słabo. U 25 zdrowych myszek znaleźliśmy przy jednorazowym badaniu (krew z ogona) odczyn zupełnie ujemny. U myszy zakażonych (*Klebsilla*) występowały odczyny dodatnie ++ do ++++. Potrzebne są w tej sprawie dalsze badania. U psów stosunki są podobne jak u królików, tj. znaczna większość prób jednorazowych daje wynik ujemny. U baranów natomiast obserwowaliśmy często samoistną leukergię.

Należy przypuszczać, że mogą istnieć infekcje nie dające leukergii. Z badań J. Szczygielskiej wiemy np., że jady neurotropowe jak jad kiełbasiany lub tężcowy nie dają leukergii, bo jest ona wyrazem odczynów zapalnych, nie występujących po tych jadach. Natomiast jad błonicy lub bac. *perfringens* wywołują leukergię. Możliwe więc jest, że istnieją także infekcje przebiegające bez zwiększonej lepkości leukocytów.

Z badań Płatakisa wiemy, że kiła u ludzi może w pewnych okresach nie wywoływać leukergii. Z obserwacji Flecka i Boreckiej wiemy, że gruźlica w niektórych okresach u ludzi i królików wykazuje ją tylko słabo. Z drugiej strony z nielicznych jak dotąd obserwacji Flecka i Kordeckiego wiemy, że w otoczeniu chorych na grypę wykazują też niektórzy klinicznie zdrowi ludzie przez kilka dni dodatni odczyn leukergicjny, być może jako wyraz infekcji utajonej. Wszystko to wymaga dalszych badań.

Co się tyczy utajonych infekcji zwierząt doświadczalnych to według wielu autorów (Cole i Kuttner, Mc Cartney, Beller i Bieling itd.) trzeba się liczyć z utajoną spirochetozą, encephalitis wirusową, ciętami wtrętowymi królików i świnek (Kurloff), t. zw. Virus III (Rivers i Tillet), znajdującym się u prawie każdego królika i dającym się uczynić przez pasażę jądrową, dalej z wtrętami ślinianki świnek (Jackson, 80% dorosłych świnek nosicielami tego wirusa, nieobecnego u młodych — pokrywa się doskonale z naszą statystyką ( $84 \pm 5,4$ ) dodatniej leukergii u dorosłych świnek), podobnymi wtrętami u myszy i szczurów (Thompson), utajoną infekcją bartonellową, wreszcie utajoną infekcją organizmami L (Klieneberger, Steaben, Mc Callum i inni) i wielu innymi.

Zdaje się, że zwierzę wolne od zarazków chorobotwórczych należy do wyjątków. Leukergia, jako odczyn zapalny, niewątpliwie nie sygnalizuje samej obecności zarazka, wskazuje jednak na procesy tak małe, jakich żadna inna próba uwidocznić jeszcze nie może. W świetle tej próby widzimy jak rzadkie jest „zdrowie“, jako stan wolny od mniejszych

lub większych procesów zakaźnych: prawie ciągle odbywa się w organizmie fluktuacja nasilających się i przesilających się odczynów.

Być może, że okoliczność ta wyjaśnia rozbieżność autorów co do cytologicznego składu krwi zwierząt doświadczalnych. Według zestawienia Jacobsthala i Schubacka<sup>1)</sup> waha się np. ilość leukocytów u zdrowych świnek zdaniem Burnetta w granicach 5555 — 21.895, zdaniem Breymanna w granicach 3.400 — 18.600, zdaniem Klienebergera 6.900 — 13.400 w mm<sup>3</sup>. Odsetek obojętnochłonnych waha się w granicach 9 — 69 (!), limfocytów 15 — 88 (!). U królików zdrowych znalazł Domarus leukocytów 3.800 — 13.000, Gruber 5000 — 14.000, Welle 3.700 — 14.650, Klieneberger 3.450 — 12.000. Odsetek pseudoeozynofiliów waha się w granicach 8 — 64 itd. Haam<sup>2)</sup> zwraca z naciskiem uwagę na to, „jak wielkie różnice zachodzą w podawanych przez poszczególnych autorów liczbach“ leukocytów u królików zdrowych i przyznaje, że sprawa ta nie jest dotąd wyjaśniona, mimo bardzo licznych badań nad wpływem wieku, płci, fazy trawienia i rodzaju karmy, wpływów psychicznych (bardzo istotne!), temperatury pomieszczenia i td. Flaum<sup>3)</sup> podaje takie prawidłowe ilości ciałek białych u świnek: Hayem 5.600; Bethel 7.200; S. Mayer 10.160; Bender 15.000; Kurloff 12.600; Scholz 16.000. Podobnie przedstawia się ta sprawa według Wirtha, który wyraźnie podkreśla wielkie różnice ilościowego składu cytologicznego krwi u różnych osobników (króliki, świnki, myszki) i u tego samego osobnika w kilku oznaczeniach.

Griffith i Farris<sup>4)</sup> podają, że prawidłowa ilość leukocytów waha się u szczurów w granicach 6.000 — 18.000, odsetek neutrofilów w granicach 8 — 39, limfocytów 5 — 15. Największą wagę przywiązują ci autorowie do wpływów emocjonalnych. Według Little i tow.<sup>5)</sup> prawidłowa ilość leukocytów u myszy waha się w granicach 5.002 — 10.500, odsetek neutrofilów w granicach 8 — 25, limfocytów 63 — 80 i td.

Otóż wiele z tych rozbieżności wyjaśniloby się, jeślibyśmy przyjęli że wśród pozornie zdrowych zwierząt były liczne zwierzęta z utajoną infekcją, taką, jaką wykazuje odczyn leukergiczny.

Należałoby przede wszystkim zbadać hematologię zwierząt z ujemną próbą leukergiczną, by przekonać się jak wyglądają liczby prawidłowe. Tablica Nr I demonstruje zależność między leukocytozą a leukergią

<sup>1)</sup> Kolle -- Kraus -- Uhlenhut: Handbuch der path. Mikroorganismen, T. III, str. 333.

<sup>2)</sup> Jaffe: Anatomie u. Pathologie der Spontanerkrankungen, str. 161.

<sup>3)</sup> Jaffe: Anatomie u. Pathologie der Spontanerkrankungen, str. 179.

<sup>4)</sup> Griffith i Farris: The Rat, str. 356.

<sup>5)</sup> Biology of the Laboratory Mouse by The Staff of the Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory str. 93.



u królika nr 52. Niewątpliwie istnieją też wpływy nerwowe, i to bardzo wydatne, warunkujące ilość leukocytów, zdaniem naszym nie można jednak składać na nie wszystkich rozbieżności hematologicznych występujących w danych różnych autorów.

Wykrywanie infekcji utajonej przy pomocy próby leukergicznej może mieć duże znaczenie: przede wszystkim dla selekcji zdrowych zwierząt do doświadczeń, a szczególnie do pasażów wirusowych, np. przy wyrobieniu szczepionki przeciw wodowstrętowi. Pomijanie tego postulatu winno być uważane za błąd w sztuce.

Po drugie dla wynajdywania nowych, niezbadanych zakażeń i zarazków.

Po trzecie dla celów epidemiologicznych: możliwość łatwego wykrywania ludzi lub zwierząt z zakażeniem utajonym dałaby epidemiologii bardzo duże usługi. Być może, przyjdzie czas, kiedy w dużych miastach oprócz systematycznych, okresowych badań próbek wody, będzie się systematycznie pobierało „próbki“ szczurów i myszy w celu zbadania na chorobę jawną lub utajoną, z których niejedna przenosi się na ludzi. Być może, że uda się tą drogą uchwycić zagrażającą epidemię odzwierzęcą in statu nascendi. Odczyn leukergiczny przyda się w tych badaniach, bo pozwoli w ciągu kilku godzin stwierdzić zmianę w zwykłym odsetku zwierząt dodatnich i wykryć rozpoczynającą się epizootę.

---

## T A B L I C A I.

Królik nr 52

Rabbit No 52

*Przebieg próby leukerycznej w ciągu dwóch miesięcy.**The course of the leukergy test during two months.*

Data	Leukocytoza	Leukergia	Data	Leukocytoza	Leukergia	
8.1.	10.600	±	9.2.	6.500	+	partus
9.1.	16.200	++	10.2.	11.900	++++	
10.1.	19 000	+	12.2.	12.000	++.	
15.1.	14 800	++	13.2.	11.500	+	
16.1.	12 600	+	14.2.	10.800	+	
17.1.	14.800	+++.	16.2.	9.600	—	
19.1.	13.100	+++	17.2.	8.800	—	
20.1.	15.200	++.	18.2.	6 700	—	
22.1.	23.800	+++	19.2.	8.100	±	
23.1.	25.200	+++	20.2.	7.100	—	
25.1.	15.800	+	21.2.	7.700	+	
27.1.	14.200	+	22.2.	8.200	—	
28.1.	16.800	+	23.2.	9.200	—	
29.1.	8.000	±	24.2.	6.600	—	
30.1.	7.900	±	25.2.	4.500	—	
31.1.	8.100	—	26.2.	5.800	±	
3.2.	8.300	—	27.2.	8.200	—	
4.2.	7.600	—	28.2.	5.700	—	
5.2.	7.800	—	1.3.	6.600	+	
7.2.	6.200	—				

T A B L I C A II.

Świnka „S” Guinea pig „S”  
*Przebieg próby leukergicznej  
 w ciągu miesiąca.*  
*The course of the leukergy test  
 during one month*

Świnka „Noworodek B” ur. 17.3.  
 Newborn guinea pig B., born  
 17-th march.  
*Przebieg próby leukergicznej w ciągu  
 pierwszego miesiąca życia.*  
*The course of the leukergy test  
 in the first month of life.*

Data	Leukergia	Waga	Data	Leukergia	Waga
15.3.	±	280 g	17.3.	—	81 g
16.3.	++		19.3.	—	
17.3.	++		21.3.	—	
19.3.	±		23.3.	—	105 g
20.3.	—	35 g	26.3.	—	
22.3.	+++		29.3.	—	
23.3.	++		1.4.	—	142 g
24.3.	++		4.4.	+	
25.3.	+++		6.4.	—	
26.3.	++++		9.4.	+	
1.4.	++	350 g	11.4.	—	162 g
2.4.	+++		12.4.	—	
3.4.	+++		13.4.	—	167 g
5.4.	++				
6.4.	++				
7.4.	+++	370 g			
8.4.	++++				
9.4.	+++				
12.4.	+++	410 g			

## PIŚMIENNICTWO

- 1) Fleck: *Le Sang*, XX, 1, 1949.
  - 2) Fleck: *Journal American Medical Association*, Feb., 1949, str. 542.
  - 3) Fleck — Murczyńska: *Arch. Pathol.*, Vol. 47, March 1949.
  - 4) Fleck — Murczyńska: *Texas Rep. Biol. Med.*, V, 156, 1947.
  - 5) Fleck — Płatakis — Borecka: *Polski Tygodnik Lekarski* 1949, w druku.
  - 6) Beller — Bieling: *Die Viruskrankheiten der Laboratoriumstiere*, 1942.
  - 7) R. Jaffè: *Anatomie u Pathologie der Spontanerkrankungen der kleinen Laboratoriumstiere*, Springer, Berlin, 1931.
  - 8) Griffith — Farris: *The Rat*, 1942.
  - 9) B. Jackson Laboratory Staff, D. Snell, Editor: *Biology of the Laboratory Mouse*, 1941.
  - 10) Kolle — Kraus — Uhlenhut: *Handbuch der pathog. Mikroorganismen*.
  - 11) Wirth: *Grundlagen einer klinischen Hämatologie der Haustiere*. 1931.
- Cytowane prace Szczygielskiej, Płatakisa, Flecka i Boreckiej, Flecka i Kordeckiego są w przygotowaniu.

## S U M M A R Y

The phenomenon of the agglomeration of white blood cells into clumps of several to numerous cells with marked tendency to cytological homogeneity has been termed „Leukergy“ (Fleck, 1942). Leukergy takes place in infectious febrile diseases, in inflammatory processes and also in the second part of the pregnancy in women; it can be artificially induced in rabbits by an intravenous injection of killed bacteria (particularly of Gram-negative bacteria), by some bacterial toxins (for instance diphtherial toxin), by intravenous injection of foreign protein or intrapleural injection of turpentine. It appears 3 — 5 hours after the injection and lasts 2—5 days. The technique of the test with citrated blood, incubated for 1 — 3 hours at 37° C, is described in *Arch. of Pathol.*, March, 1949. The main features of the leukergy phenomenon and the results of experimental studies on its mechanism are described in the previous papers. In well marked cases leukergy may be also observed in vivo, e.g. using a slit lamp, in vessels of the conjunctiva in people with rised temperature, or in vessels of the conchae in a prepared mouse. These findings seem to be in agreement with some of the findings of other authors („white emboli“ Copley; „sludged blood“ — Kniseley-Bloch).

Histopathological studies seem to indicate, that in inflammatory processes leukergy plays an important role in the accumulation of leukocytes along the inner surface of the small veins and the migration of leukocytes, connected, as we know, with the increased stickiness of the leukocytes. Besides, leukergy exerts most probably also an indi-

rect influence on the phagocytosis, because leukergic leukocytes stick to the agglutinated blood-platelets and such clumps of platelets appear in leukergic conditions in increased number and contain often the greatest amount of bacteria, added to the blood (compare antixenic function of the blood platelets, Houlihan and Copley).

In the course of the authors experiments on leukergy, they have noticed, that in laboratory animals, seemingly healthy, particularly in guinea pigs and rabbits, there appears often a spontaneous leukergy, lasting few days or persisting even for a longer period of time.

The test performed in groups of animals gave the following results:

A series of rabbits freshly bought from the breeders, 278 animals, a negative leukergy test has been found in 88 (31 per cent) animals.

I. series of rabbits from the Department's vivarium, 55 animals, a negative leukergy test has been found in 35 (69 per cent) animals.

II. series of rabbits from the Department's vivarium, 18 animals, a negative leukergy test has been found in 14 (77 per cent) animals.

III. series of rabbits from the Department's vivarium, 10 animals, a negative leukergy test has been found in 7 (70 per cent) animals.

All the rabbits showed no symptoms of any disease except small excoriations of the skin (caused by scratchings and bites), occurring particularly in freshly bought animals. Systematic every-day or at short intervalls examination of a seemingly healthy rabbit gives results, like these shown on tabel I. In this case (rabbit No. 52) it was noticed in the course of about 8 weeks one prolonged period of positive leukergy (10 days), a second lasting several days (parturition) and several lasting 24 hours.

The situation in guinea pigs is different:

I. series, 50 guinea pigs, weight above 400 g, negative 8 animals (16 per cent  $\pm$  5.4).

II. series, 66 guinea pigs, weight above 250 g, negative 18 animals (27 per cent  $\pm$  6)

III. series, 16 guinea pigs, newborn, negative 16 (100 per cent) animals.

New born, healthy guinea pigs give then a negative leukergy test and systematic studies proved, that this state is maintained for about the first six weeks; in this period, however, there may occur short periods of positive reaction. About the sixth week the reaction, under our conditions, in the majority of animals becomes positive and is in this form more or less maintained over the whole life. See Table II.

Histopathological examinations of the seemingly healthy and positive reacting rabbits and guinea pigs revealed constantly the presence of morbid lesions.

## Examples:

*Rabbit No 8* — starting from 17-th January (the day, the animal was brought to the Department) till 29-th January, the rabbit gave a positive leukergy reaction (from ++ to ++++), whereby it showed no pathological symptoms. The white blood cells count was about 12,000, i. e. according to the literature, still normal. The rabbit was destroyed 29-th January. Post mortem findings: diffuse bronchopneumonia. The alveolar lumina contain cellular exudate, consisting of a large number of histiocytes, present also in the interstitial tissue. In the lungs, there are foci of small round cells. The inner wall of the small blood vessels is paved by a line of leukocytes. Here and there the emigration of the leukocytes through the blood vessel's wall can be seen. Lymphatic nodes: between the follicles numerous cells of the histiocytary type; hyperplasia of the reticulum framework. Spleen: the principal lesion is a marked congestion. In the remaining organs no alterations were found.

The authors, taking into consideration the above described histopathological lesions and the absence of bacteria in the smears and cultures from the inflammatory foci in the lungs, suppose that the rabbit suffered from a virus bronchopneumonia. In any case, the presence of the positive leukergy test in the rabbit has its explanation.

*Rabbit No 49* — bitten by another male, on the following day and the day after leukergy ++++, destroyed 48 hours after the fight. Lesions on the skin: bitten wounds and scratches on the back, head and hind quarters. Lungs: focal haemorrhages; among the morphological elements of the blood there are agglomerations of leukocytes, some of them counting numerous white blood cells. An increased number of haemosiderocytes appear here and there among the morphological elements of the blood in the blood vessels and in the lung tissue. In the lumen of one bronchiole the presence of blood was noticed. The spleen: numerous amoebic histiocytes, whose cytoplasm contains fine granules. The authors conclude: the fight of the two male rabbits resulted in haemorrhages in the lungs. The presence of haemosiderocytes proves, that the breakdown of the red blood corpuscles has taken place in the focal haemorrhages, haemosiderin has been phagocytized by the histiocytary cells, a large number of which has migrated to the spleen. Leukergy would express the state of acute stimulation of the histiocytary system.

*Rabbit No 78* — a long period of spontaneous leukergy, (from 20-th January till 2-th February from ++ to ++++); next an almost two-monthly negative period (from 19-th February till 12-th April). On the 13-th April leukergy suddenly distinctly positive (+++). The next day leukergy again +++, the white blood cells count 9,900, temperature 38.9° C., no clinical symptoms of any disease. The animal was destroyed. Histopathological examination: perivascular and interstitial infiltrations of small round cells in the liver. In the fibrous tissue, among the small round cells, there are large cells of the histiocytary type, with a slightly granular cytoplasm. The features of the tissue indicate cirrhosis hepatitis, which proves, that the process had a chronic course. The small round cell infiltration is a mark of an exacerbation of the process. The spleen slightly congested. The remaining organs showed no pathological lesions. The long lasting leukergy with its periods of remission, finds its explanation. There was present most probably in the liver a process of an infectious nature.

*Mature guinea pig* No 8, during a period of threeweekly observation spontaneous leukergy (from ++ to ++++). No symptoms of any disease. Destroyed 2-th February. Post mortem findings were negative. Histopathological examination: Peribronchial and perivascular, well defined foci of infiltrations with small round cells. In the septa, here and there, diffuse infiltrations with small round cells. The picture corresponds to the description and the drawing, given by Lauche in Jaffés textbook, p. 36.

*Mature guinea pig* No 9, positive leukergy during 5 weeks of observation. No symptoms of any disease. Destroyed 7-th March. Post mortem findings: hyperplasia of the lymphatic glands, notably the mediastinal lymphatic glands. In the liver several calcified foci. Histopathological examination: Peribronchial and perivascular infiltrations with small round cells, i. e. the same picture as in guinea pig No. 8. The lymphatic glands show an increased number of histiocytes.

*Mature guinea pig* No 2, in the course of a period of four weeks leukergy positive (from +++ to ++++). No symptoms of any disease. Destroyed 2-th February. Post mortem findings: Hyperplasia of the lymphatic glands, notably of the subiliae, medial iliac and mesenteric. Two necrotic foci, the size of a poppy seed, in the liver. In the neighbourhood of the necrotic foci numerous haemosi-erocytes, containing in their cytoplasm granules. Hyperplasia of the reticulo-endothelial elements of the lymphatic glands. Hyperplasia of the reticular framework, which contains a large number of histiocytes. Kidneys: Intensive degenerative lesions of the cloudy swelling type, affecting particularly the glomerular tufts. Several histiocytes in the medullar part of the kidney. Lungs: Peribronchial and perivascular foci of infiltrations with small round cells i. e. the same picture as in guinea pig No. 8.

*Mature guinea pig* No 19, -- Positive leukergy (+++) during four days of observation. No symptoms of any disease. Destroyed 3-th March. Post mortem findings: Lungs: two foci, the size of a lentil seed (Susp. quoad carnificationem post inflammationem). Enlarged mediastinal lymphatic glands (the size of a large lentil seed). A fresh infarct in the liver. Petechiae in the kidneys. Histopathological examination: Lungs: Peribronchial and perivascular foci of infiltrations with small round cells, the same picture as in guinea pig No: 8. Hyperplasia of the reticular framework, which contains numerous histiocytes.

*Mature guinea pig* No 35, Leukergy positive (from +++ to ++++) during a period of 11 days of observation. No symptoms of any disease. Destroyed 28-th March. Post mortem findings: diffuse subpleural haemorrhage, extending into the lung tissue of the right lobe. In the left lung two subpleural petechiae. An oblong scar in the liver. Enlargement of the mesenteric lymphatic glands. Histopathological examination: A marked stimulation of the histiocytary system. Numerous histiocytes and phagocytic cells in the lumen of the alveoli and in the septa of the lungs. Peribronchial and perivascular foci of cellular infiltrations, similar to those described by Lauche.

In two guinea pigs, three weeks old, fed by the mother who died (from pneumonia) on the 9-th day after parturition, (N. II. and N. III) leukergy was found on the 14-th day after birth. No clinical symptoms of any disease were noticed. Post mortem examination revealed con-

siderable hyperaemia of the lungs in one case, in the second a typical picture of bronchopneumonia in the stage of congestion.

The authors, then, have found in a number of seemingly healthy animals with a spontaneous leukergy various histopathological lesions besides the different lesions in the liver, kidneys, lymphatic glands and the spleen, in a great number of cases, particularly in guinea pigs, the main lesions were situated in the lungs. The lesions comprise a large scale of possibilities, from a more or less distinct localized haemorrhages and congestions, very well marked inflammatory foci, to lesions of a decidedly chronic character, as the peribronchial and perivascular cellular infiltrations, described by *Lauche* and others as regular phenomena pretentively normally occurring in the lungs of guinea pigs from the 5-th week of their life onwards, (see *Jaffe*, 1. c. pag 36). In view of the appearance of these foci contemporary with the leukergy in the growing up guinea pigs, it might be supposed, that they are not normal phenomena, but are the result of a very common, inapparent disease of these animals. This supposition demands, of course, experimental corroboration. In any case, guinea pigs isolated after the parturition from their mothers and fed artificially with cow-milk by the use of a pipette, remain negative to the leukergy test, even when they reach maturity.

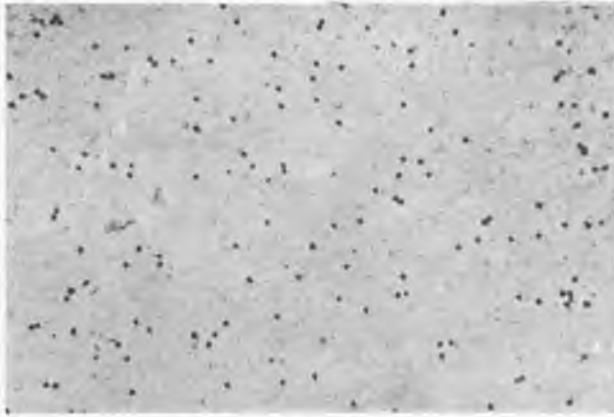
The leukergy test seems to be a good indicator of the existence of inapparent diseases, at least some of them. It must be supposed, however, that there are infections, which do not give leukergy. Neurotropic toxins, e. g. botulismotoxine and tetanotoxine do not give leukergy, because leukergy is a manifestation of inflammatory reactions which do not take place directly as a result of the action of these toxins. Syphilis in man may in some stages be not accompanied by leukergy, on the other hand, as it is kown from not yet numerous observations, in the period of influenza epidemic a positive leukergy test appears not only in the patients, but also in some people of the patients' environment.

In the light of the leukergy test it can be seen how rare is „health“ as a constant state free from more or less severe infectious processes, often clinically undetected. It is known how often laboratory animals are bacterial, protozoal or virus carriers. It must be accepted that inapparent infections are also a very common phenomenon in laboratory animals. May be that the great divergence of the haematological data of various authors concerning the normal laboratory animals arouse, because not all the examined animals were healthy. Before starting any experiment and particularly before all the inoculations of a laboratory animal used for the production of vaccines the leukergy test should be performed. This test may be also helpful in epidemiologic studies.

---

---



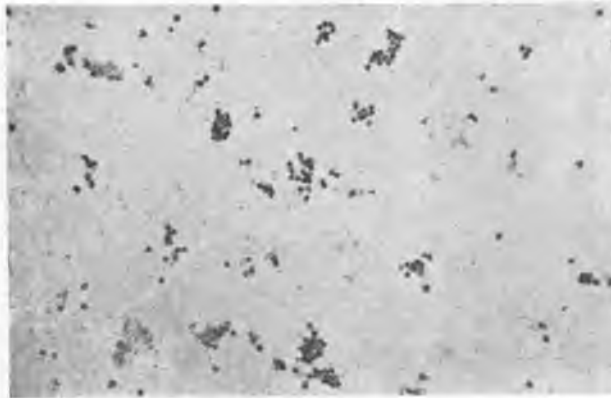


Ryc. 1.

Preparat leukergii ujemny (—): leukocyty rozrzucone.

Fig. 1.

A negative leukergy test (—): Leukocytes scattered.



Ryc. 2.

Preparat leukergii dodatni (++++): leukocyty zlepione.

Fig. 2.

A positive leukergy test (++++): leukocytes clumped.

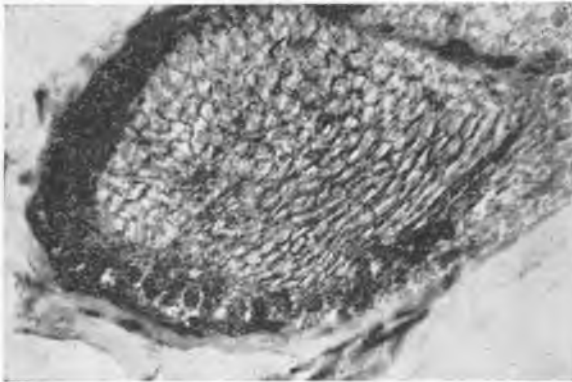


Ryc. 3.

Preparat leukergii dodatni (+++), silniejsze powiększenie: 37 ciałek (24 granulocyty, 12 limfocytów i 1 monocyt). Zlepieniu uległo 13 granulocytów (54%), 4 limfocyty (33%), razem 17 ciałek (46%).

Fig. 3.

A positive leukergy test (+++), higher magnification: 37 cells (24 granulocytes, 12 lymphocytes, one monocyte). Clumped are 13 granulocytes (54 per cent), 4 lymphocytes (33 per cent), together 17 cells (46 per cent).



Ryc. 4.

Pies, Leukergia eksperymentalna (++++), po zastrzyku zabitych pałeczek okrężnicy do żyły podudzia. Rycina przedstawia przekrój naczynia małżowiny usznej, z typowym brzeżnym ustawieniem leukocytów leukergiczných.

Fig 4.

Dog. Experimental leukergy (++++), after an intravenous injection of killed *B. coli*. The figure shows a cross section of a vein of the concha. The leukergic leukocytes pave the inner wall of the vessel.

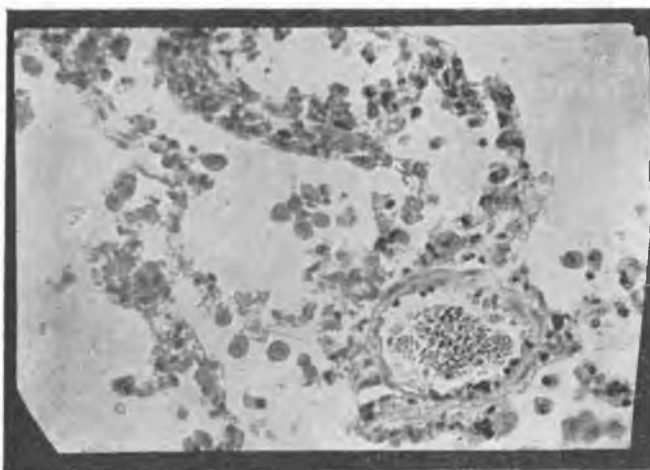


Ryc. 5.

Królik Nr 40 patrz tekst, leukergia spontaniczna, (+ + + +). Wynaczynienia w płucu, powstałe za życia. Na prawo w górze i pośrodku, nieco ku dołowi, duże grupy leukocytów, zlepionych widocznie już za życia.

Fig 5.

Rabbit No. 40., see text, spontaneous leukery (+ + + +). Haemorrhages which took place during the life. On the right upper and centre, a little below, large groups of leukocytes, clumped most probably already during the life.

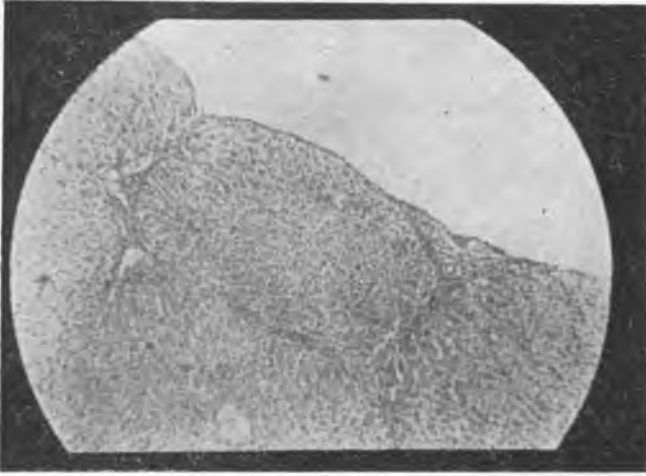


Ryc. 6.

Królik Nr 8, patrz tekst, leukergia spontaniczna. Płuco: wysięk komórkowy w pęcherzykach, histocyty. W naczyniu wybrukowanie ścianki leukocytami, przenikanie leukocytów przez ściankę.

Fig 6.

Rabbit No. 8. see the text, spontaneous leukery. Lungs: cellular exudate in the alveoli, histiocytes. Leukocytes pave the inner wall of the vessel, migration of the leukocytes through the wall.

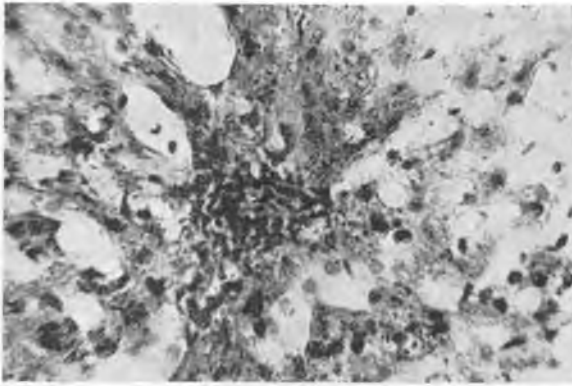


Ryc. 7.

Królik Nr 78 patrz tekst, leukergia spontaniczna. Wątroba: nacieki drobnokrążło-komórkowe okołonaczyniowe i w tkance międzyzrazikowej.

Fig. 7.

Rabbit No. 78. see the text, spontaneous leukergy. Liver: perivascular and interstitial infiltrations with small round cells.



Ryc. 8.

Królik, leukergia spontaniczna (+ + + +)  
Ognisko nacieku drobnokrążło-komórkowego w wątrobie.

Fig. 8.

Rabbit, spontaneous leukergy (+ + + +)  
A focus of small round cells infiltration in the liver.