

Zakład Antropozoologii Instytutu Medycyny Pracy i Higieny Wsi w Lublinie.
Kierownik: prof. dr Józef Parnas.

Z y g m u n t K A C Z E R A

Spostrzeżenia dotyczące dynamiki rozwoju przeciwciał u świnek morskich zakażonych brucellozą

К вопросу по динамике развития антител у морских свинок зараженных бруцеллезом

Remarks Concerning Dynamism of the Development of Antibodies in Guinea Pigs Infected with Brucellosis

Jednoczesne odkrycia Smitha i Fabiana oraz Schroedera i Cotton'a (1911—12) donoszące, że świnki morskie ulegają zakażeniu pałeczkami *Brucelli*, doprowadziły do powszechnego użycia tych zwierząt w badaniach doświadczalnych.

W naszym Instytucie przeprowadza się po raz pierwszy w Polsce na dużą skalę badania na świnkach morskich, których celem jest znalezienie odpowiedniego szczepu do produkcji szczepionki przeciw brucellozie ludzi. Doniesienie to jest właśnie częścią tej pracy, prowadzonej przez J. Parnasa, A. Chodkowskiego i K. Łazugę oraz współpracowników.

Celem niniejszej pracy było:

1. poczynienie obserwacji nad pojawianiem się aglutynin oraz przeciwciał wiążących dopełniacz, w surowicy świnek morskich, zakażonych różnymi szczepami *Brucella brucei*, w zależności od dawki zarazków i czasokresu infekcji.

2. przebadanie szczepów *Brucella brucei* kolekcji własnej, pod względem ich własności antygenowych.

Materiał i metoda pracy

Świnki morskie wagi ok. 450 g zaszczepiono w trzech grupach. Do zakażeń użyto 50 krajowych szczepów *Brucella brucei* kolekcji własnej. Szczepie-

nie wykonywano domięśniowo, wstrzykując w prawą tylną łapkę 1 ml zawiesiny pałeczek *Brucelli* fazy S, otrzymanej z 48 godzinnej hodowli. Zawiesiny bakteryjne, o różnych gęstościach, sporządzano wg. skali nefelometru Browna. Rozcieńczenia przeprowadzano płynem Ringera.

I grupa świnek — do zakażeń użyto 10 szczepów; każdym z nich szczepiono 16 świnek, sporządzając cztery różne rozcieńczenia zawiesiny bakteryjnej. Poszczególным rozcieńczeniem szczepiono 4 świnki. Gęstość zawiesin bakteryjnych była następująca:

- I. 5 miliardów bakterii w 1 ml,
- II. 500 tysięcy bakterii w 1 ml,
- III. 5 tysięcy bakterii w 1 ml,
- IV. 50 bakterii w 1 ml,

Po 10, 30, 60 i 90 dniach skrwawiono po jednej śwince z każdego rozcieńczenia.

II grupa świnek — do zakażeń użyto 30 szczepów; każdym z nich szczepiono 6 świnek, sporządzając trzy różne rozcieńczenia zawiesiny bakteryjnej. Tymi rozcieńczeniami szczepiono po 2 świnki. Gęstość zawiesin bakteryjnych była następująca:

- I. 5 miliardów bakterii w 1 ml,
- II. 500 tysięcy bakterii w 1 ml,
- III. 5 tysięcy bakterii w 1 ml,

Po 10 dniach skrwawiono po jednej śwince z każdego rozcieńczenia; po 30 dniach skrwawione świnki szczepione rozcieńczeniem I, po 60 dniach II, z tym, że te ostatnie zaszczepiono ponownie po 60 dniach III, a po 119 dniach II, z tym, że te ostatnie zaszczepiono ponownie po 60 dniach od chwili pierwszego zakażenia, zjadliwym szczepem *Brucelli* odmiany *bovis* Nr. 544, w ilości 5 tysięcy bakterii.

III grupa świnek — do zakażeń użyto 11 szczepów; każdym z nich szczepiono 6 świnek, sporządzając dwa różne rozcieńczenia zawiesiny bakteryjnej. Rozcieńczeniem I szczepiono 2 świnki, a rozcieńczeniem II 4 świnki. Gęstość zawiesin bakteryjnych była następująca:

- I. 5 miliardów bakterii w 1 ml,
- II. 5 tysięcy bakterii w 1 ml.

Po 20 i 65 dniach skrwawiono po jednej śwince z każdego rozcieńczenia, a po 110 dniach po 2 świnki szczepione rozcieńczeniem II, z tym, że te ostatnie zaszczepiono ponownie po 65 dniach od chwili pierwszego zakażenia, zjadliwymi szczepami *Brucelli* odmiany *bovis* Nr 24 lub 544, w ilości po 5 tysięcy bakterii.

Z surowicą świnek morskich wykonywano odczyn zlepný, oraz odczyn wiązania dopelnacza wg. metod ujednostajnionych, stosowanych w Instytucie Medycyny Pracy i Higieny Wsi.

Wyniki badań

Wyniki badań przedstawione są na tabelach I, II, IIa, III, IV, V, oraz na ryc. 1 i 2.

Omówienie i wnioski

1) Na tabelach I, II, II a i III, podane są poszczególne szczepy *Brucelli* użyte do badań, gęstość ich zawiesin, wprowadzanych świnkom morskim, czasokres zakażenia świnek (od 0 do 110 dni), oraz dynamika rozwoju przeciwciał zlepných i wiążących dopełniacz.

Zaznaczają się tu pewne prawidłowości jak:

- a) im większa dawka pałeczek *Brucelli* tym wyższe miana i wcześniejsze pojawianie się przeciwciał zlepných.
- b) najwyższe miana zlepných występowały po 90 dniach od chwili zakażenia.
- c) im większa dawka pałeczek *Brucelli* tym wcześniejsze pojawianie się przeciwciał wiążących dopełniacz.
- d) przeciwciała zlepných pojawiały się wcześniej od przeciwciał wiążących dopełniacz (np. po 10 dniach dodatni odczyn zlepný — 94,6‰, dodatni odczyn wiązania dopełniacza — 8,1‰).

Dane te są szczegółowo przedstawione na tabelach IV i V.

Graficzne przedstawienie podanych tu stosunków widzimy na ryc. 1 i 2.

2) Nie zauważono wyraźniejszych różnic serogenných między 50 badanymi szczepami.

3) W wypadku ponownego zakażenia 41 świnek morskich wzorcowymi szczepami zjadliwymi *Brucelli* Nr 544 (W e y b r i d g e) lub 24 (własny), w dawce 5000 pałeczek, spostrzeżono tylko nieznaczny wzrost miana odczynu zlepného ($1/80$ — $1/160$ średnio).

4) Wśród 370 przebadanych surowic świnek morskich, znaleziono 10, które wykazały dodatni odczyn wiązania dopełniacza i ujemny odczyn zlepný (2,7‰). Przemawia to za koniecznością stosowania obu odczynów w badaniach rozpoznawczych.

6.	19 bovis	I	4	1	0	1	0	0	1	1/400	+	1	1/200	+
		II	4	1	1/25	1	1/100	+	1	1/50	+	1	1/200	+
		III	4	1	—	1	1/100	—	1	1/25	+	1	1/50	+
		IV	4	1	0	1	—	—	1	1/25	—	1	1/50	+
7.	13/18 bovis	I	4	1	1/50	1	1/100	+	1	1/100	+	1	1/50	+
		II	4	1	—	1	1/50	+	1	0	0	1	1/300	+
		III	4	1	—	1	1/50	+	1	1/50	+	1	1/50	+
		IV	4	1	—	1	1/25	—	1	1/25	—	1	1/50	+
8.	16/21 bovis	I	4	1	0	1	1/200	+	1	1/50	+	1	1/400	+
		II	4	1	—	1	1/25	+	1	0	0	1	0	0
		III	4	1	—	1	—	+	1	1/50	+	1	1/100	+
		IV	4	1	—	1	1/100	—	1	1/25	—	1	1/25	+
9.	22/34	I	4	1	1/50	1	1/400	+	1	1/100	+	1	1/400	+
		II	4	1	—	1	0	0	1	0	0	1	1/200	+
		III	4	1	—	1	1/50	—	1	1/25	+	1	1/200	+
		IV	4	1	—	1	0	0	1	0	0	1	1/400	+
10.	30/42 bovis	I	4	1	1/100	1	1/200	+	1	1/50	+	1	1/400	+
		II	4	1	—	1	1/100	—	1	1/50	+	1	1/200	+
		III	4	1	—	1	1/100	+	1	—	—	1	1/200	+
		IV	4	1	—	1	0	0	1	0	0	1	1/200	+

ROZCIŃCZENIE I — 5 miliardów bakterii w 1 ml. ROZCIŃCZENIE III — 5 tysięcy bakterii w 1 ml.

„ II — 5000 tysięcy „ „ 1 ml. „ IV — 54 bakterie „ 1 ml.

— 0 — oznacza brak surowicy.

Tabela II

Liczba porządkowa	Nr szerepu i odmiana	Rozcielenie	Ilość świńek zaszczepionych	W																
				po 10 dniach			po 30 dniach			po 60 dniach			po 110 dniach							
				Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepy	Odczyn wiązania dopełniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepy	Odczyn wiązania dopełniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepy	Odczyn wiązania dopełniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepy	Odczyn wiązania dopełniacza					
1.	4/5 bovis	I	2	1	1/100	—	1	1/50	+											
		II	2	1	1/25	—							1	1/25	+					
		III	2	1	—	—														+
2.	8/11 bovis	I	2	1	1/50	—	1	1/50	+											
		II	2	1	1/25	—														+
		III	2	1	1/25	—							1	1/25	+					+
3.	6/7 bovis	I	2	1	1/200	—	1	1/50	+											
		II	2	1	1/25	—														+
		III	2	1	0	0							1	1/25	+					+
4.	10/13 bovis	I	2	1	1/100	—	1	1/50	+											
		II	2	1	1/50	—														+
		III	2	1	—	—							1	1/50	+					+
5.	11/14 bovis	I	2	1	1/100	—	1	1/100	+											
		II	2	1	1/50	—														—
		III	2	1	1/25	—							1	—	+					+
6.	9/12 bovis	I	2	1	1/200	—	1	1/100	+											
		II	2	1	1/100	—														+
		III	2	1	1/25	—							1	—	+					+
7.	7/8 bovis	I	2	1	1/25	—	1	1/25	+											
		II	2	1	1/50	—														0
		III	2	1	—	—							1	—	—					0

8.	17/22 bovis	I	2	1	1/200	—	1	1/50	+			1	1/200	+
		II	2	1	1/100	—						1		
		III	2	1	1/25	—								
9.	18/23 bovis	I	2	1	1/200	—	1	1/100	+			1	1/25	+
		II	2	1	1/100	—								
		III	2	1	1/50	—						1	1/25	+
10.	21/33 bovis	I	2	1	1/100	—	1	—	+					
		II	2	1	1/25	—						1	1/50	
		III	2	1	—	—						1	1/100	+
11.	55/73 bovis	I	2	1	1/100	—	1	1/200	+					
		II	2	1	1/200	—						1	0	0
		III	2	1	1/100	—						1	1/200	+
12.	23/55 bovis	I	2	1	1/200	—	1	1/100	+					
		II	2	1	1/100	—						1	1/25	+
		III	2	1	1/25	—						1	—	—
13.	14/19 bovis	I	2	1	1/25	—	1	—	—					
		II	2	1	1/50	—						1	1/50	+
		III	2	1	1/200	—						1	1/50	+
14.	31/43 bovis	I	2	1	1/200	—	1	1/100	+					
		II	2	1	1/100	—						1	0	0
		III	2	1	1/25	—						1	1/25	+
15.	37/50 bovis	I	2	1	1/200	—	1	1/25	+					
		II	2	1	1/100	—						1	1/25	+
		III	2	1	—	—						1	—	+

ROZCIENICZENIE I — 5 miliardów bakterii w ml.
 " II — 500 tysięcy " " w ml.
 " III — 5 " " w ml.

* do 60 dniach zaszczepione ponownie szczepem
 544 w ilości 5 tys. bakterii.
 0 — oznacza brak surowicy.

23.	42/56 bovis	I	2	1	1/50	—	1	1/50	+				1	1/25	+	
		II	2	1	1/50	—										
		III	2	1	0	0								1	1/100	+
24.	57/75 bovis	I	2	1	—	—	1	1/50	+							
		II	2	1	1/25	—										
		III	2	1	1/25	—								1	1/25	+
25.	25/37 bovis	I	2	1	1/100	+	1	1/25	+							
		II	2	1	1/50	—										
		III	2	1	1/50	—								1	1/50	+
26.	34/46 bovis	I	2	1	1/100	—	1	1/50	+							
		II	2	1	1/50	—										
		III	2	1	—	—								1	1/200	+
27.	50/67 bovis	I	2	1	1/100	—	1	1/50	+							
		II	2	1	1/50	—										
		III	2	1	1/50	—								1	1/100	h. n.
28.	54/72 bovis	I	2	1	1/100	—	1	1/200	+							
		II	2	1	1/50	—										
		III	2	1	1/25	—								1	1/200	+
29.	39/52 bovis	I	2	1	1/200	—	1	1/200	+							
		II	2	1	1/100	+										
		III	2	1	1/100	—								1	1/25	+
30.	40,53 bovis	I	2	1	1/50	—	1	1/50	+							
		II	2	1	1/25	—										
		III	2	1	1/25	—								1	1/100	+

ROZCIENICZENIE I = 5 miliardów bakterii w 1 ml. *) po 60 dniach zaszczepiono ponownie szczepem 544
 II = 500 tysięcy " " w 1 ml. w ilości 5 tys. bakterii.
 III = 5 " " w 1 ml. 0 — oznacza brak surowicy.

Tabela III

Liczba porządkowa	Nr szczepu i odmiana	Rozcielenie	Ilość świńek zaszczipionych	W			Y			N			I			K			I			B			A			D			A			N					
				po 20 dniach			po 65 dniach			po 110 dniach			po 110 dniach			po 110 dniach			po 110 dniach			po 110 dniach			po 110 dniach			po 110 dniach			po 110 dniach			po 110 dniach			po 110 dniach		
				Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza	Ilość świńek zabitych	Odczyn zlepty	Odczyn wiązania dopelniacza						
1.	12/17 bovis	I II	2 4	— 1/100	— +	— +	1 1	1/100 1/100	+	+	+	1 1	1/100 1/100	+	+	+	1 1	1/100 1/100	+	+	+	1 1	1/100 1/100	+	+	+	1 1	1/100 1/100	+	+	+								
2.	13/18 bovis	I II	2 4	1/25 1/50	h.n. —	h.n. —	1 1	0 1/100	0 +	0 +	0 +	1 1	1/25 1/100	1/25 1/100	— +	— +	— +	1 1	1/25 1/100	— +	— +	1 1	1/25 1/100	— +	— +	1 1	1/25 1/100	— +	— +	— +									
3.	15/20 bovis	I II	2 4	1/50 0	+	+	1 1	1/50 0	+	+	+	1 1	1/100 0	1/100 0	+	+	+	1 1	1/100 0	1/100 0	+	+	+	1 1	1/100 0	1/100 0	+	+	+	+									
4.	22/29 bovis	I II	2 4	1/50 1/200	+	+	1 1	1/50 1/200	+	+	+	1 1	1/200 1/50	1/200 1/50	+	+	+	1 1	1/200 1/50	1/200 1/50	+	+	+	1 1	1/200 1/50	1/200 1/50	+	+	+	+	+								
5.	24/36 bovis	I II	2 4	1/200 1/200	+	+	1 1	1/200 1/200	+	+	+	1 1	1/200 1/200	1/200 1/200	+	+	+	1 1	1/200 1/200	1/200 1/200	+	+	+	1 1	1/200 1/200	1/200 1/200	+	+	+	+	+								
6.	34/46 bovis	I II	2 4	1/25 1/25	+	+	1 1	1/25 1/25	+	+	+	1 1	1/25 1/25	1/25 1/25	+	+	+	1 1	1/25 1/25	1/25 1/25	+	+	+	1 1	1/25 1/25	1/25 1/25	+	+	+	+	+								
7.	35/47 bovis	I II	2 4	1/50 1/100	+	+	1 1	1/50 1/100	+	+	+	1 1	1/50 1/100	1/50 1/100	+	+	+	1 1	1/50 1/100	1/50 1/100	+	+	+	1 1	1/50 1/100	1/50 1/100	+	+	+	+	+								

8.	44/58 bovis	I	2	1	1/50	+	1	1/50	+									
		II	4	1	0	0	1	0	0	1	1/25	+	1	1/50				
9.	52/70 bovis	I	2	1	1/50	+	1	0	0									
		II	4	1	1/50	+	1	1/200	+	1	1/200	+	1	1/25				
10.	53/71 bovis	I	2	1	1/50	+	1	1/50	+									
		II	4	1	1/50	+	1	0	0	1	1/50	+	1	1/400				
11.	66/74 bovis	I	2	1	1/200	+	1	1/100	+									
		II	4	1	1/100	+	1	0	0	1	1/100	+	1	1/50				
12.	24 bovis	I	1															
		II	1											1/800				
13.	544 bovis	I	1									1	1/100	+				
		II	1									1	1/200	+				

ROZCIENIENIE I = 5 milionów bakterii w 1 ml. *) po 65 dniach zaszczepiono **) po 65 dniach zaszczepiono
 II = 5 tysięcy " " 1 ml. ponownie szczepem Nr 544 ponownie szczepem Nr 24
 0 — oznacza brak surowicy

Tabela IV

Czas- okres infekcji (dni)		Surowice reagujące dodatnio																			
		Ogólna ilość badanych surowic				I				II				III				IV			
		Odczyn zlepny		Odczyn wiązania dopet- niacza		Odczyn zlepny		Odczyn wiązania dopet- niacza		Odczyn zlepny		Odczyn wiązania dopet- niacza		Odczyn zlepny		Odczyn wiązania dopet- niacza		Odczyn zlepny		Odczyn wiązania dopet- niacza	
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10	37	39	38	8	35	94,6	3	8,1	33	84,6	1	2,6	21	55,3	1	2,6	0	0	0	0	
20	11		9		10	91	10	91					9	100	8	88,9					
30	35	9	8	7	33	94,3	33	94,3	9	100	5	55,5	6	75	4	50	4	57	0	0	
60	19	6	45	8	19	100	19	100	6	100	5	83,3	38	84,4	40	88	6	75	1	12,5	
90	10	8	10	10	10	100	10	100	7	87,5	8	100	9	90	10	100	9	90	10	100	
110			26						26	100	24	92,3									

I — 5 miliardów bakterii w 1 ml.

II — 500 tysięcy " " 1 ml.

III — 5 tysięcy bakterii w 1 ml.

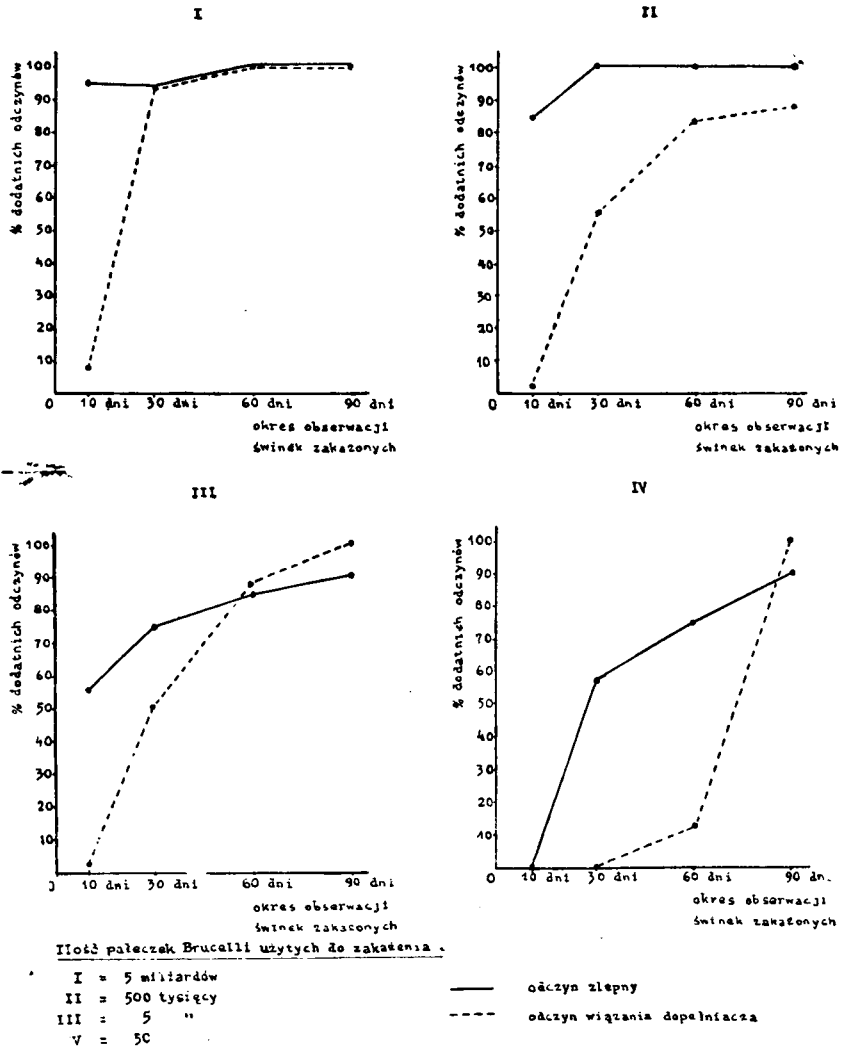
IV — 50 " " 1 ml.

Tabela V

Czasokres infekcji (dni)		Miano odczynu zlepnego a ilość pateczek Brucelli użytych do zakażenia oraz czasokres infekcji																							
		Dawka zaszczepionych bakterii																							
		I.						II.						III.						IV.					
		% surowicy o mianie:				% surowicy o mianie:				% surowicy o mianie:				% surowicy o mianie:				% surowicy o mianie:				% surowicy o mianie:			
1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800		
10	5,7	20	40	34,3	0	0	36,4	36,4	21,2	6	0	0	57,2	19	19	4,8	0	0	0	0	0	0	0	0	
20	20	60	0	20	0	0						11,2	33,3	33,3	22,2	0	0								
30	11,8	41,4	36,4	17,6	3	0	22,2	44,4	22,2	11,2	0	0	33,3	33,3	33,4	0	0	0	25	25	50	0	0	0	
60	5,3	31,6	26,3	21	10,5	5,3	0	100	0	0	0	0	39,4	23,6	18,4	15,7	2,9	0	83,4	0	0	0	16,6	0	
90	20	30	0	30	20	0	0	0	14,3	42,8	14,3	28,6	22,2	22,2	33,4	22,2	0	22,2	33,4	22,2	0	22,2	33,4	22,2	11,1
110							23,2	30,7	30,7	15,4															

I = 5 miliardów bakterii w 1 ml.
 II = 500 tysięcy " " 1 ml.
 III = 5 tysięcy bakterii w 1 ml.
 IV = 50 " " 1 ml.

ZALEŻNOŚĆ DODATNIEGO ODCZYNU WLEPNEGO I WIAZANIA
DOPELNIACZA OD ILOŚCI PAŁECZEK BRUCELLI WYŻYTYCH
DO ZAKAZENIA ŚWINEK MORSKICH.



Ryc. 1.

ZALEŻNOŚĆ MIANA ODCEWNU SLEPNEGO OD ILOŚCI PAŁECZEK BRUCELLI UŻYTYCH DO ZAKAŻENIA ŚWINEK MORSKICH I CZASOKRESU INFЕКCJI.

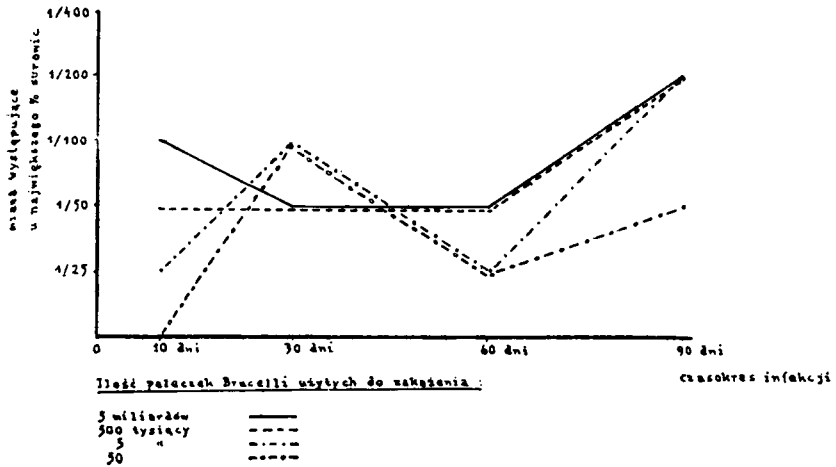


Рис. 2.

РЕЗЮМЕ

Настоящая работа посвящена исследованиям над серогенезом у зараженных бруцеллезом.

Морские свинки заражались разными по количеству дозами краевых штаммов *Brucella brucei var. bovis* (50.500, 500.000 и 5 миллиардов бактерий в 1 мл.). В промежутках времени от 10 до 110 дней производилась слепная реакция, а также реакция связывания комплемента. Установлено, что в крови зараженных морских свинок слепные антитела появлялись скорее, чем антитела связывающие комплемент (спустя 10 дней положительная слепная реакция у 94,6% особей, положительная же реакция связывания комплемента у 8,1% животных). Затем установлено, что образование антител связывающих комплемент, а также слепных антител и высота их титра зависит от количественной дозы бактерий и продолжительности инфекции. Не замечены более ясно выраженные серогенные отличия между 50 исследуемыми краевыми штаммами. В случае повторного заражения стандартными ядовитыми штаммами *Brucella* № 554 (*Weybridge*) или *Brucella* 24 (собственный) при введении 5.000 палочек, наблюдалось спустя 40 дней незначительное повышение титра слеп

ной реакции (в среднем от 1/80 до 1/160). Замечена возможность выступления положительной реакции связывания комплемента при отсутствии слепной реакции в 2,7% исследуемых сывороток.

S U M M A R Y

The present paper concerns investigations on serogenesis in the course of brucellosis. Guinea pigs were infected with various doses of Polish strains of *Brucella brucei* var. *bovis* (50,5 thousand, 500 thousand and 5 milliards of organisms in one cc.). After 10 up to 110 days the agglutination and complement fixation test were carried out. It was found that agglutinative antibodies appear in the blood of infected animals earlier than those fixating the complement. (after 10 days the positive agglutination test — 94.6 per cent, the positive complement fixation test — 8.1 per cent). A dependence of the appearance of antibodies fixating the complement and of the agglutinative ones and of the value of their titre from the dosis of the organisms and the time of infection was demonstrated. No clear serogenic differences between 50 Polish strains were observed. In the case of renewed infection with standard virulent *Brucella* strains Nr 544 (W e y b r i d g e) or Nr 24 (own) in the dosis of 5000 organisms, the author found after 40 days a slight increase of the titre of the agglutination test (averaging from 1/80 to 1/160). In 2,7 per cent of the examined sera there was observed the possibility of the appearance of a positive complement fixation reaction when the agglutination reaction is absent.