

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. VIII, 10

SECTIO D.

1953

Z Instytutu Medycyny Pracy Wsi w Lublinie
Dyrektor: prof. dr Józef Parnas
Dział Antropozoologii
Kierownik: prof. dr Józef Parnas

Józef PARNAS, Heinz THEILE,
Tadeusz MIERZEJEWSKI

Badania nad antygenową i nieantygenową bruceliną

**Исследования над антигеновым и неантигеновым
брицеллином**

Studies on Antigenic and Non-antigenic Brucellin

Brucelina PS, która jest pełnoantygenowym alergenem, uzyskanym przez rozbicie komórek drogą wielokrotnego zamrażania i odtajania, okazała się u ludzi i zwierząt bardzo swoistym i czułym alergenem. Ujemną stroną bruceliny PS, zawierającej około 4 miliardów komórek w 1 ml, jest działanie toksyczne zaznaczające się w mniejszym lub większym stopniu u ludzi (i królików), reagujących dodatnio i wysoce uczulonych na toksyny brucelli. Wprowadzenie śródskórne 0,1 ml tego rodzaju pełnej bruceliny PS, wywołuje czasem silne odczyny miejscowe (bardzo duży i rozległy naciek około 10×10 cm, bardzo silne zaczerwienienie, czasem martwica środkowa, podrażnienie okolicznych naczyń chłonnych) i ogólne (gorączka, bóle głowy, bezsenność). Z chwilą pojawienia się pierwszych tego rodzaju objawów, rozcieńczono brucelinę PS do 1 miliarda i 500 milionów komórek w 1 ml, i dzięki temu uzyskano preparat, który wprowadzony śródskórnie w ilości 0,05 ml, rzadko wywołuje objawy toksyczne, natomiast jest nie mniej czułym i swoistym alergenem. Zmierzając do uzyskania jeszcze lepszego alergenu, poddano brucelle rozbiciu przy pomocy ultradźwięków. Uzyskana tą drogą brucelina PD, prawie że nie działa toksycznie i jest bardzo swoistym i czułym alergenem. Z tego powodu prawdopodobnie zastąpi ona brucelinę PS.

Brucelina PS i brucelina PD mają tę stronę ujemną, że wprowadzone śródskórnice, nawet w śladach powodują w ustroju wolnym od brucelozы wystąpienie przeciwciał swoistych wywołujących dodatni odczyn aglutynacji, wiązania dopełniacza, precipitacji, hemaglutynacji oraz wzrost indeksu fagocytarnego. Mogliśmy się o tym przekonać wykonawszy około 300 badań u ludzi i około 200 badań u zwierząt. Tabela I przedstawia tego rodzaju działanie antygenowe bruceliny PS. Jak widać na tabeli I, u 38 krów majątku F. wykonano 5.I.53 r. odczyn Wrighta, który wypadł dodatnio w mianach: 1/25 — 1/100 u krów Nr 38, 26, 23, 31, 12, 32, 30. Odczyn wiązania dopełniacza wykonany u krów majątku F. wypadł dodatnio tylko u 3 krów, mianowicie Nr 26, 12, 32. Odczyn Burneta wykonany dnia 6.III.53 r. u krów majątku F. wypadł dodatnio tylko w 3 przypadkach, mianowicie u krów Nr 38, 12, 24. Odczyn Burneta wykonano przy pomocy bruceliny PS, wprowadzając ją śródskórnice w ilości 0,2 ml. Żeby się przekonać, jaki wpływ wywarła brucelinizacja na odczyny odpornościowe, wykonano dnia 2.IV.53. r., a więc w 8 tygodni po wykonaniu odczynu Burneta, odczyn Wrighta, odczyn wiązania dopełniacza i obliczenie indeksu fagocytarnego u wszystkich krów. Okazało się, że miano dodatnie aglutynacji (1/50—1/800) wypadło u wszystkich prawie krów, z wyjątkiem krów Nr 28 i 30. Odczyn wiązania dopełniacza wypadł dodatnio u krów Nr 45, 46, 47, 38, 26, 23, 17, 43, 9, 30, 7, 13, 34. Indeks fagocytarny dodatni (od 8 do 20) wystąpił u większości krów. Dane powyższe wskazują na to, że serologiczno-odpornościowe skutki brucelinizacji, wyrażające się dodatnimi odczynami, utrzymują się długo. To samo zjawisko obserwowano u ludzi. U ludzi zakażonych brucelozą, wykazujących dodatnie odczyny serologiczne i dodatni odczyn fagocytarny, stwierdziliśmy po zastosowaniu bruceliny PS i PD, podniesienia miana odczynów serologicznych i liczby indeksu fagocytarnego.

Wielu badaczy poszukuje takich alergenów brucelinowych, któreby były pozbawione tego rodzaju pełno-antygenowego działania na ustrój. Zdrowskim i innym badaczom radzieckim udało się uzyskać alergen brucelinowy, nazwany brucelohydrolizatem. Badacze duńscy Ottosen i Plum podają, że ich alergen PEBA jest pozbawiony własności antygenowych, zachowując swoistość i czułość alergenową. Poszukując tego rodzaju alergenów otrzymano w dziale Antropozoonoz 4 frakcje, mianowicie:

I frakcję białkowo-cukrową *Brucella ab. b.*

II frakcję białkową *Brucella ab. b.*

III frakcję cukrową *Brucella ab. b.*

IV frakcję używaną przez nas do odczynu wiązania dopełniacza.

Frakcje powyższe uzyskano przy pomocy następujących metod: materiałem wyjściowym do wydzielania poszczególnych frakcji antygenowych *Brucella ab. b.* był proszek acetonowy, otrzymany ze spłóczyzny 5-dniowych hodowli agarowych *Brucella ab. b.* Proszek acetonowy otrzymano w następujący sposób: przemytą masę bakteryjną zadawano 3-krotnie 10-krotnie większą objętością zimnego (-7° C) bezwodnego acetonu i każdorazowo wirowano, następnie osad przemyto zimnym eterem 2-krotnie, a po ostatnim odwirowaniu wysuszono pod zmniejszonym ciśnieniem w wakuumeksykatorze.

Frakcję I otrzymano ekstrahując uzyskany proszek 5% kwasem trójchlorooctowym w temp. 18 do 20° C przez 24 godz. Po upływie tego czasu oddzielono wyciąg od osadu przez wirowanie. Osad odrzucono, płyn natomiast po 24-godzinnej dializie zagęszczono pod niskim ciśnieniem do 1/3 objętości początkowej. Zagęszczony ekstrakt zadano 98% etanolem w stosunku 1:5, pozostawiając go w temperaturze pokojowej na 24 godziny. Wytrącony osad oddzielono od płynu przez wirowanie. Osad przemyto alkoholem, acetonem i eterem oraz wysuszono w eksykatorze w temp. 20° C. Otrzymano suchy proszek koloru białego, który w roztworach wodnych daje pozytywne reakcje ogólne na białka i węglowodany (Piotrowski, Molisch). Proszek ten stanowi frakcję I, nazwaną białkowo-cukrową.

Frakcję II i III otrzymano przez rozbicie frakcji I białkowo-cukrowej, stosując bardzo łagodną hydrolizę kwaśną. W tym celu frakcję I zadano 1/10 N kwasem octowym i podgrzewano przez 4 godziny na wrzącej łaźni wodnej, następnie odwirowano. Osad po przemyciu i wysuszeniu w roztworach wodnych daje silne reakcje dodatnie na białko (Piotrowski, Heller, sulfosalicylowa) oraz bardzo słabą reakcję na cukry Molischa. Osad ten jest frakcją II, nazwaną białkową.

Płyn po oddzieleniu osadu zadano bezwodnym acetonem w stosunku 1:5. Po 24 godzinach, oddzielono wypadnięty osad przez wirowanie. Otrzymany osad w roztworach daje silny odczyn na cukry Molischa i bardzo słaby na białka Piotrowskiego. Ten osad jest frakcją III nazwaną wielocukrową.

Frakcję IV, stosowaną do odczynu wiązania dopełniacza, otrzymano w następujący sposób: 3—4 dniową hodowlę *Brucella ab. b.* spłukuje się 10 ml 0,85% roztworu soli kuchennej, następnie zawieszinę wstrząsa się przez 20 minut na łaźni wodnej. Po ostudzeniu zawieszinę sączono przez azbest; płyn o bursztynowym zabarwieniu, po wymiareczkowaniu był używany do odczynu wiązania dopełniacza.

Aby się przekonać o właściwościach antygenowych tych 4 frakcji, wstrzyknięto królikom dn. 4.III. 1953 r. 0,1 ml każdej frakcji śródskórnice. Króliki były uprzednio badane serologicznie

na nosicielstwo brucelli; badanie wypadło ujemnie. 27.III. 1953 r. wykonano z surowicą tych królików odczyn aglutynacji, odcz. wiązania dopełniacza oraz obliczono indeks fagocytarny.

Króliki szczepione frakcją I wykazały aglutynację w mianie 1/100, zaś odcz. wiązania dopełniacza był ujemny. Indeks fagocytarny wynosił 14,4. Króliki szczepione frakcją II wykazały aglutynację w mianie 1/200, dodatni odczyn wiązania dopełniacza; indeks fagocytarny wynosił 13,6. Króliki szczepione frakcją III wykazały aglutynację w mianie 1/100, dodatni odczyn wiązania dopełniacza; indeks fagocytarny wynosił 2,7. Króliki zaszczipione frakcją IV wykazały aglutynację w mianie 1/100, odczyn wiązania dopełniacza dodatni; indeks fagocytarny wynosił 10,3.

9.IV. 1953 r. wykonano ponowne próby rozpoznawcze u wymienionych królików. U królików szczepionych frakcją I stwierdzono aglutynację w mianie 1/25, odczyn wiązania dopełniacza ujemny. Króliki, frakcja II — odczyn aglutynacji 1/50, odczyn wiązania dopełniacza dodatni. Króliki, frakcja III — odczyn aglutynacji 1/25, odczyn wiązania dopełniacza ujemny. Króliki, frakcja IV — odczyn aglutynacji 1/50, odczyn wiązania dopełniacza dodatni.

18.IV.53: króliki, frakcja I — aglutynacja ujemna, odczyn wiązania dopełniacza ujemny. Króliki, frakcja II — aglutynacja 1/25, odczyn wiązania dopełniacza ujemny. Króliki, frakcja III — aglutynacja ujemna, odczyn wiązania dopełniacza ujemny. Króliki, frakcja IV — aglutynacja 1/25, odczyn wiązania dopełniacza ujemny.

30.IV.53: króliki, frakcja I — aglutynacja ujemna, odcz. wiązania dopełniacza ujemny. Króliki, frakcja II — aglutynacja ujemna, odcz. wiązania dopełniacza ujemny. Króliki, frakcja III — aglutynacja ujemna, odcz. wiązania dopełniacza ujemny. Króliki, frakcja IV — aglutynacja ujemna, odcz. wiązania dopełniacza ujemny.

Z doświadczenia tego wynika, że frakcja II (białkowa) ma największe własności antygenowe i powoduje po wprowadzeniu śródskórnym dodatnie odczyny serologiczne na długi okres czasu (około 8 tygodni). Frakcja I (białkowo-cukrowa) posiada te właściwości w mniejszym stopniu, czego wyrazem jest ujemny odczyn wiązania dopełniacza i szybsze wygasanie odczynu aglutynacji (ok. 5 tygodni). Frakcja III (wielocukrowa) przedstawia się po-

dobnie, z tym, że antygenowo jest słabsza. Frakcja IV (pełnoantygenowa) wywołuje na dłuższy okres czasu dodatnie odczyny serologiczne. Z danych tych wynika, że żadna z badanych frakcji nie jest czystym haptenem, lecz posiada w mniejszym lub większym stopniu właściwości antygenowe.

Ażeby się przekonać, jakie własności alergenowe posiadają otrzymane przez nas frakcje brucelinowe w odczynie skórno-alergicznym Burneta, wprowadzano śródskórnice po 0,1 ml frakcji I, II, III i IV oraz brucelinę PS i brucelinę PD królikom i świnkom morskim, zakażonym 2 miesiące wcześniej *Brucella ab. b.* Wyniki tego doświadczenia przedstawia tabela II. Z tabeli tej wynika, że tylko brucelina PS i PD wywołały u zwierząt zakażonych dodatnie i wybitnie dodatnie odczyny Burneta. Frakcja I (białkowielocukrowa) spowodowała u większości zwierząt odczyn ujemny, u niektórych słabo dodatni. Frakcja II (białkowa) zachowała się podobnie. Frakcja III (wielocukrowa) wywołała prawie u wszystkich zwierząt odczyn ujemny. Frakcja IV spowodowała u 2 świnek odczyn dodatni, u 2 słabo-dodatni, u reszty ujemny. Brucelina PD wywołała u wszystkich prawie zwierząt dodatnie lub wybitnie dodatnie odczyny, zaś brucelina PS zachowała się podobnie. Z doświadczenia tego wynika, że wartości alergenowe frakcji I, II, III i IV są prawie żadne i nie mogą być porównywane z pełnoalergenowymi antygenami, jakimi są brucelina PS i PD. Przytoczone doświadczenia kazały nam pozostać przy preparatach PS i PD.

W r. 1949 ogłosili Ottosen i Plum swe prace przedstawiające wyniki badań z ich preparatem nieantygenowym PEBA. Autorzy ci otrzymują tę brucelinę w sposób następujący: zawiesinę bakterii w roztworze fizjologicznym doprowadzono za pomocą kwasu solnego do $\text{pH} = 1,4 - 1,5$, oraz gotowano w 100°C przez 40 minut, po czym bakterie oddzielono przez wirowanie. Płyn doprowadzono do $\text{pH} = 4,5$. W tym pH wypada substancja, która po oddzieleniu płynu zostaje rozpuszczona w wodzie przy $\text{pH} = 7$, dając ostateczny preparat, używany do prób alergicznych.

Poddaliśmy brucelinę PEBA oraz brucelinę PS i PD orientacyjnej analizie chemicznej, co przedstawiają poniższe dane. Brucelinę PS i PD wirowano przy 3600 ob/min. Do badań użyto płynu z nad osadu. Przeprowadzono następujące próby:

TABELA II

Zwierzę	Frakcja I	Frakcja II	Frakcja III	Bruc.P.D.	Pruc.P.S.	Frakcja IV
Królik Nr.1	-	-	-	-	-	-
Królik Nr.2	-	-	-	-	-	-
Królik Nr.3	±	±	-	++	++	-
Królik Nr.4	-	-	-	+	-	-
Królik Nr.5	-	-	-	++	++	-
Królik Nr.6	±	±	-	+++	+++	±
Królik Nr 7	-	-	-	++	+	-
Królik Nr 9	±	±	-	++	++	±
Królik Nr 10	-	-	-	±	-	-
Świnka morska Nr 6	±	±	±	++	++	-
Świnka morska Nr 7	-	-	-	+	+	-
Świnka morska Nr 8	±	±	±	+	+	+
Świnka morska Nr 9	-	-	-	++	++	+

	brucelina	PS	PD	PEBA
Próba biuretowa Piotrowskiego		++	++	±—
„ Hellera		+	+	+
„ ksantoproteinowa		+	++	—
„ Molischa		++	++	—
„ Fehlinga		—	—	—

Z zestawienia powyższego widać, że brucelina PS i PD zawiera białko i węglowodany. Ujemny wynik reakcji Fehlinga świadczy o braku ciał redukujących. Na uwagę zasługuje fakt, że barwa reakcji biuretowej w wypadku bruceliny PD jest bardziej intensywnie fioletowa niż przy brucelinie PS (niebiesko-fioletowa). Tak samo próba ksantoproteinowa, oznaczona dwoma plusami przy brucelinie PD, a jednym przy brucelinie PS w reakcji z tą ostatnią wypada znacznie słabiej, tzn. nie powoduje powstania tak intensywnego zabarwienia pomarańczowego, jak brucelina PD. Już na zasadzie tych prób można by przypuszczać, że brucelina PD

jest bogatsza w białko, a szczególnie w aminokwasy aromatyczne, zawierające w swej cząsteczce rdzeń benzenowy.

Preparat alergenny PEBA za wyjątkiem próby Hellera, przy której powstaje zmętnienie, i wątpliwej próby biuretovej, nie daje dodatnich reakcji na cukry i aminokwasy aromatyczne (reakcja ksantoproteinowa). Zmętnienie pojawiające się przy próbie Hellera powstać może na skutek zmiany pH (patrz otrzymywanie preparatu PEBA).

Ujemny wynik reakcji barwnych na białka i węglowodany nie może świadczyć o kompletnym braku tych ciał w preparacie; być może, że wchodzi one w skład alergenu, tworząc związek, który przy próbach przez nas stosowanych nie pozwala na uwidocznienie poszczególnych komponentów (hydrolizy i analizy pierwiastkowej alergenu nie przeprowadzano z powodu małej ilości tegoż).

Wykonane próby ilościowe względnej zawartości cukru i białka w brucelinie PS i PD dały wyniki następujące:

		Fotokolorometr, filtr D.		
Brucelina		PS	PD	kontrola odczynnik.
		cukier		
%	ekstynkcji	72—75	70—72	100
%	adsorbcji	28—25	30—28	0
		białko		
%	ekstynkcji	82—85	80—82	100
%	adsorbcji	18—15	20—18	0

Wychodząc z założenia, że czym większy jest odsetek adsorbcji, tym większe stężenie substancji badanej, względnie odwrotnie, im mniejszy odsetek ekstynkcji, tym większy odsetek substancji badanej, dochodzimy do wniosku, że brucelina PS i PD są prawie jednakowo bogate w węglowodany i białko. Odczyny barwne na cukry robiono według ilościowej metody Dische, na białko według ilościowej metody biuretovej.

Aby się przekonać o własnościach antygenowych bruceliny PEBA wykonano doświadczenia na 5 królikach wolnych, jak wykazała kontrola, od brucelozycy. Królikom wprowadzono śródskórnie po 0,1 ml bruceliny PEBA i w 18 dni potem wykonano odczyn aglutynacji i odczyn wiązania dopełniacza. Odczyny te wypadły ujemnie; dowodzi to, że brucelina PEBA jest istotnie preparatem nieantygenowym. Następnie wypróbowano brucelinę PEBA u ludzi

chorych na brucelozę. Chorzy otrzymali śródskórnie na przedramieniu lewym 0,1 ml bruceliny PEBA, na przedramieniu prawym 0,1 ml bruceliny PS; otrzymano następujące wyniki odczynu Burneta:

1) Chory I. G. Brucelina PS: naciek 7×6 cm, zaczerwienienie 10×8 cm, martwica środkowa 1×1 cm; brucelina PEBA: naciek i zaczerwienienie $4,5 \times 3,5$ cm. 2) Chory B. P. Brucelina PS: zaczerwienienie 6×5 cm, naciek 2×3 cm, martwica środkowa; brucelina PEBA: zaczerwienienie 2×2 cm, nacieku brak. 3) Chory R. B. Brucelina PS: zaczerwienienie $3,5 \times 3,5$ cm, naciek $2 \times 2,5$ cm; brucelina PEBA: zaczerwienienie 1×1 cm, nacieku brak. 4) Chory B. G. Brucelina PS: zaczerwienienie 3×3 cm, naciek 2×2 cm; brucelina PEBA: zaczerwienienie z nieznacznym naciekiem 2×2 cm. 5) Chory A. Ż. Brucelina PS: zaczerwienienie i naciek 3×3 cm; brucelina PEBA: zaczerwienienie i naciek $1 \times 1,5$ cm. 6) Chory S. W. Brucelina PS: zaczerwienienie i naciek 2×2 cm; brucelina PEBA: zaczerwienienie bez nacieku 2×1 cm. 7) Chory B. Z. Brucelina PS: zaczerwienienie i naciek 8×8 cm; brucelina PEBA: zaczerwienienie z nieznacznym naciekiem 2×1 cm.

Podobne wyniki uzyskano u 10 dalszych ludzi chorych na brucelozę.

Jak wskazuje tabela III, wykonano u czterech chorych odczyny śródskórno-alergiczne Burneta, używając bruceliny PS i PEBA. U chorych J. L., T. K. i R. B. zachodzą te same stosunki w nasileniu odczynu jak wyżej opisano. Wyjątkowo u chorego Z. T. brucelina PEBA dała wynik dodatni, natomiast brucelina PS ujemny. Jeśli wziąć pod uwagę, że u tego chorego odczyn wiązania dopełniacza i odczyn Coombsa dają wyniki ujemne, trzeba przyjąć, że brucelina PEBA spowodowała tu odczyn nieswoisty. Na tabeli IV zaznaczono różnice w odczynach śródskórnych u krów (na szyi i fałdzie ogonowym); również i tu brucelina PS dała wyniki lepsze.

TABELA IV
PGR F

Nr. krowy	O.Wrighta	O.W.D.	Brucelina PS	Brucelina PS	P E B A	
			szyja	fałd ogonowy	szyja	fałd ogonowy
12	1/25 ++	++	5,1 - 23,8	+	5,2 - 18,5	groch
38	1/25 ++	▬	5,7 - 11,0	+	6,0 - 9,8	laskowy
24	-	▬	4,0 - 10,2	+	4,1 - 14,0	groch
44	-	•	6,7 - 10,3	-	6,9 - 9,6	
45	-		5,0 - 9,8	-	5,0 - 11,3	
46	-	σ	5,7 - 9,6	-	6,2 - 13,3	
47	-	▬	5,8 - 10,3	-	7,0 - 11,5	
17	-	▬	4,3 - 11,4	-	4,5 - 10,0	
43	-	▬	7,2 - 12,5	-	6,6 - 12,6	
42	-	▬	4,8 - 10,3	-	5,4 - 9,4	
41	-	o	5,1 - 9,5	-	5,3 - 9,6	
39	-		5,2 - 9,8	-	5,5 - 11,5	

Wnioski

1. Brucelina duńska PEBA jest alergenem haptenowym i nie wywołuje, mimo dużych dawek, powstawania przeciwciał swoistych dla brucelli. Pod tym względem brucelina PEBA przewyższa, podobnie jak radziecki preparat brucelohydrolizat, naszą brucelinę PS lub PD.

2. Otrzymane przez nas frakcje brucelli: białkowa, wielocukrowa i białkowo-wielocukrowa nie nadają się do odczynów alergicznych, ponieważ są za mało czułe jako alergeny. Ponadto wywołują powstawanie przeciwciał.

3. Brucelina PS i PD jest w porównaniu z bruceliną PEBA znacznie czulszym alergenem pełnoantygenowym i wywołuje powstawanie przeciwciał, utrzymujących się do 8 tygodni. Brucelina PS i PD jest w porównaniu z bruceliną PEBA znacznie czulszym alergenem, który prawie o 100% przewyższa czułość PEBA, mimo zastosowania tych preparatów w rozcieńczeniach wykluczających silne działanie toksyczne.

4. Powyższe doświadczenia wskazują na to, że dla rozpoznania brucelozы ludzi (zwierząt) nadaje się najlepiej brucelina PD, względnie brucelina PS.

PIŚMIENNICTWO

1. Ottosen H. E. i Plum N. — Bull. XV. Int. Vet. Congress. London, 1949.
2. Zdrodowski P. F. — Brucelloz. Moskwa, 1953.

Р Е З Ю М Е

Авторами проведены сравнительные исследования по воздействию на организм разных бруцеллиновых аллергенов, а именно: бруцеллина PS и PD, бруцеллина РЕВА по Оттосену и Плюму, а также 4 фракций *Brucella abortus bovis*: белково-сахаридной, белковой, сахаридной и фракции употребляемой для реакции связывания комплемента.

На основании указанных исследований авторы приходят к следующим заключениям:

1. Бруцеллин РЕВА является гаптеновым аллергеном и не вызывает даже при применении больших доз образования избирательных антител против бруцелл. В этой отношении бруцеллин РЕВА стоит выше, подобно как и советский препарат—бруцелле-гидролизат, бруцеллина PS и PD.

2. Полученные авторами фракции бруцелл: белковая, полисахаридная и белково-полисахаридная непригодны для аллергических реакций, так как они слишком мало чувствительны как аллергены и сверх того они вызывают образование антител.

3. Бруцеллины PS и PD являются в сравнении с бруцеллином РЕВА значительно более чувствительными антигеновыми аллергенами и вызывают образование антител, действующих до 8 недель. Бруцеллины PS и PD, помимо применения их в разведениях, исключающих сильное токсическое действие, превосходят почти на 100% бруцеллин РЕВА в отношении своей чувствительности.

4. Описанные в работе опыты свидетельствуют о том, что для распознавания бруцеллеза у людей (у животных) лучше всего пригоден бруцеллин PD, или бруцеллин PS.

SUMMARY

The authors carried out comparative studies on the influence on the organism of several brucellin allergenes, such as brucellin PS and PD, brucellin PEBA according to Ottosen and Plum, and 4 fractions of *Brucella abortus bovis*: albumino-saccharoid, albuminous, saccharoid, and fraction used for the complement fixation test.

On the basis of their investigations the authors arrive at the following conclusions:

1. Brucellin PEBA is a haptene allergene, and does not give rise, even if used in large doses, to antibodies specific to *Brucella*. In this respect brucellin PEBA surpasses, like the Soviet preparation called brucellohydrolysate, brucellin PS or PD.

2. Fractions of *Brucella* obtained by the authors, namely the albuminous, polysaccharoid, and albumino-polysaccharoid fraction, are not suited for allergic reactions, because as allergenes they are too little sensitive. In addition to that, they cause the formation of antibodies.

3. Brucellin PS and PD, in comparison with brucellin PEBA, are much more sensitive full-antigenic allergenes. They cause the formation of antibodies, which remain in the organism up to 8 weeks. Brucellin PS and PD, although they can be used in dilutions excluding strong toxic action, surpass almost by 100 per cent brucellin PEBA as far as sensitivity is concerned.

4. Investigations described by the authors in this report point to brucellin PD or PS as best suited for diagnosis of brucellosis in man and animals.

TABELA 1
PGR F

L.P. Krowe Nr.	5.I.1953		5.I.1953		6.III.1953		2.IV.1953		2.IV.1953	
	O.Wrighta	O.W.D.	Grupeć faliu	O.W.D.	O.Burnota	O.W.D.	O.Wrighta	O.W.D.	O.W.D.	Indeks fagoc.
1. 44	-	-	6,7	-	10,3 /II/	-	1/400	-	-	9,2
2. 45	-	-	5,0	-	9,8 /II/	-	1/50	+	+	13,8
3. 46	-	-	5,7	-	9,6 /II/	-	1/200	+	+	11,3
4. 47	-	-	5,8	-	10,3 /II/	-	1/400	+	+	7,6
5. 38	1/25	-	5,7	-	11,0 /IV/	+	1/400	+	+	20,2
6. 28	-	-	6,0	-	10,3 /II/	-	-	-	-	10,7
7. 26	1/25	+	4,3	+	10,3 /II/	-	1/50	+	+	10,4
8. 23	1/100	-	5,0	-	8,1 /II/	-	1/400	+	+	11,6
9. 31	1/25	-	4,2	-	13,4 /III/	-	1/800	-	-	13,2
10. 12	1/25	+	5,1	+	25,8 /III/	+	1/400	-	-	17,4
11. 32	1/25	+	4,3	+	13,7 /III/	-	1/100	-	-	6,7
12. 17	-	-	4,3	-	11,4 /IV/	-	1/200	+	+	19,1
13. 24	-	-	4,0	-	10,2 /IV/	+	1/100	-	-	16,0
14. 43	-	-	7,2	-	12,5 /II/	-	1/400	+	+	12,0
15. 42	-	-	4,8	-	10,3 /III/	-	1/100	-	-	9,4
16. 41	-	-	5,1	-	9,5 /III/	-	1/200	-	-	8,4
17. 40	-	-	6,0	-	9,7 /III/	-	1/100	-	-	13,0
18. 39	-	-	5,2	-	9,8 /II/	-	1/100	-	-	10,6
19. 9	-	-	6,0	-	15,4 /IV/	-	1/400	+	+	13,0
20. 30	1/100	-	4,2	-	9,7 /II/	-	-	+	+	7,1
21. 29	-	-	4,9	-	9,0 /II/	-	1/100	-	-	6,2
22. 7	-	-	4,8	-	8,6 /III/	-	1/200	+	+	9,1
23. 4	-	-	5,8	-	11,8 /II/	-	1/100	-	-	7,2
24. 13	-	-	4,2	-	6,0 /II/	-	1/100	+	+	12,4
25. 15	-	-	4,0	-	12,1 /II/	-	1/200	-	-	8,1
26. 3	-	-	4,7	-	7,8 /II/	-	1/100	-	-	7,0
27. 34	-	-	4,2	-	9,0 /II/	-	1/100	+	+	8,4
28. Brube	-	-	6,9	-	11,3 /II/	-	1/100	-	-	9,8
29. Snok	-	+	12,7	+	16,7 /II/	-	1/50	-	-	7,4
30. Lorkak	-	-	6,9	-	10,7 /II/	-	1/100	-	-	10,7
31. Selka	-	-	5,1	-	9,1 /II/	-	1/200	-	-	10,1
32. 4 J.	-	-	6,0	-	10,0 /II/	-	1/100	-	-	7,2
33. 5 J.	-	-	5,5	-	10,0 /III/	-	1/200	-	-	6,9
34. 6 J.	-	-	5,2	-	9,7 /III/	-	1/50	-	-	9,8
35. 10 J.	-	-	5,2	-	8,2 /III/	-	1/100	-	-	9,4
36. 9 J.	-	-	4,4	-	8,1 /III/	-	1/200	-	-	8,1
37. Repeta	-	-	3,0	-	5,5 /III/	-	1/100	-	-	8,3
38.	-	-	-	-	-	-	1/100	-	-	6,9

TABELA III

Chory	Wiek	Zawód	I doba				II doba				III doba			
			Brucelina		Brucelina		Brucelina		Brucelina		Brucelina		Brucelina	
			PS	PEBA	PS	PEBA	PS	PEBA	PS	PEBA	PS	PEBA	PS	PEBA
			zaczerwienienie		naciek		zaczerwienienie		naciek		zaczerwienienie		naciek	
I.L.	43 lat	prac. PGR	60 x 80	35 x 45	30 x 40	10 x 15	65 x 80	40 x 45	30 x 40	10 x 15	60 x 80	40 x 45	30 x 35	10 x 12
T.K.	35 lat	lekarz wet.	30 x 45	25 x 45	-	-	35 x 50	25 x 45	15 x 10	-	40 x 45	15 x 15	15 x 10	-
Z.T.	11 lat	uczeń	8 x 6	25 x 18	6 x 4	10 x 8	8 x 4	25 x 18	4 x 4	10 x 6	4 x 2	20 x 15	2 x 2	6 x 4
B.B.	35 lat	lekarz wet.	80 x 30	40 x 30	30 x 20	6 x 4	80 x 30	45 x 35	35 x 20	6 x 4	70 x 25	42 x 30	32 x 20	6 x 4