

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE SKŁODOWSKA
LUBLIN-POLONIA

VOL. IX. 3.

SECTIO DD

1954

Z Zakładu Mikrobiologii Wydziału Wet. U. M. C. S.

Kierownik: Prof. dr Józef Parnas

Józef PARNAS, Zbigniew LORKIEWICZ, Irena POZNANSKA

**Badania nad uzjadliwieniem szczepu Stauba oraz
hemaglutynacją z włoskowcami różycy**

Исследования над повышением вирулентности у штамма
Стоба и над гемагглютинацией с возбудителями рожи
у свиней

**Studies on the raise of virulence of Staube's strain and
haemagglutination with *Erysipelothrix rhusiopathiae***

Szerokie zastosowanie w naszym kraju niezjadliwego szczepu Stauba jako szczepionki przeciwko różycy skłoniły nas do wykonania doświadczeń nad możliwością rewersji tego szczepu. Z drugiej strony pomysły próby zastosowania szczepionki Trauba zachęciły nas do wyszukiwania — przy pomocy odczynu hemaglutynacji (HA) — szczepów nadających się do produkcji szczepionki.

Tematy zdawałoby się odległe w istocie jako cel ostateczny, miały za zadanie otrzymanie skutecznego preparatu przeciwko różycy.

Uzjadliwianie szczepu Stauba

Gledhill, Traub, Dedie oraz inni wykazali, że budowa antygenowa włoskowca różycy zależy od podłoża na jakim jest on hodowany. W równym stopniu zjadliwość tego drobnoustroju zależy od podłoża.

Gledhill (1948) pasażował niezjadliwy szczep włoskowca różycy na bulionie z dodatkiem 10% surowicy świńskiej. Pasaże przeprowadzano codziennie i co pewien okres czasu zakażano myszki. W końcowym wyniku uzyskano zjadliwy szczep. Podobne doświadczenia przeprowadzał Stryszak (dane ustne) z identycznym rezultatem.

Opierając się na badaniach Gledhilla zajęliśmy się uzjadliwieniem szczepu Stauba. Szczep ten pasażowano na bulionie z dodatkiem 10 % surowicy świńskiej.

Po 22 pasażach 2 myszki zakażone dootrzewnowo dawką 0,75 cc 18 godzinnej hodowli padły po 48 godzinach. Myszki te pozostawały na diecie, składającej się z owsa i wody, celem osłabienia ich stanu odpornościowego. Z serca, śledziony i wątroby padłych myszek wyhodowano włoskowce. Na sekcji stwierdzono obrzęk śledziony i wątroby. Włoskowce w preparatach z agaru krwistego układały się pojedynczo lub po dwa. W preparatach hodowli otrzymanej na zwykłym agarze drobnoustroje układały się w postaci nitek.

W dalszym toku badań użyto tego uzjadliwionego szczepu do zakażenia następnych 2 myszek, którym podano hodowlę włoskowca w ilości 0.25 cc przy rozcieńczeniu 1:10. Myszki padły w ciągu 72 godzin.

Uzjadliwiony szczep w miarę hodowania na zwykłym agarze utracił swoją zjadliwość dla myszek.

Doświadczenie powyższe powtórzono dwukrotnie, jednak w obydwu seriach nie stwierdzono uzjadliwienia. Obserwowano natomiast w miarę zwiększania ilości pasaży obfitszy wzrost drobnoustrojów a włoskowce stawały się grubsze i dłuższe, układając się w postaci spletanych nitek. Na bulionie wytwarzał się po 24 godzinnym wzroście grudkowaty osad. Na pożywkach stałych kolonie były dwa razy większe od normalnych o powierzchni połyskującej, brzegach gładkich.

Proces uzjadliwienia szczepu Stauba jest ważnym zagadnieniem ze względu na stosowanie tej szczepionki w terenie. Być może zjawisko w rewersji szczepu Stauba zachodzi w naturze.

Hemaglutynacja z włoskowcami różycy

Z ostatnich badań nad hemaglutynacją z włoskowcami różycy zasługują na pokreślenie prace Gelenczei i Konstansk ego. Zadaniem naszych badań było stwierdzenie zdolności hemaglutynujących w zależności od fazy drobnoustroju oraz krwinek różnych gatunków zwierząt.

Przebadano 200 szczepów włoskowca różycy, z których 91 pochodziło z województwa lubelskiego, 17 z krakowskiego, 14 z warszawskiego, 14 z gdańskiego, 13 z ódzkiego, 12 z zielonogórskiego,

10 z poznańskiego, 9 z wrocławskiego, 8 z bydgoskiego, 4 z śląskodąbrowskiego, 7 z Wielkiej Brytanii oraz 1 szczep niezjadliwy Stauba.

Większość szczepów była w fazie S (150) reszta (50) w fazie R. Fazę drobnoustroju określano na podstawie wyglądu kolonii oraz preparatów zrobionych z hodowli płynnej.

W badaniach wstępnych stwierdziliśmy, że najobfitszy wzrost włoskowców jest na bulionie, z wyciągiem wątrobowym, tak że drobnoustroje dla odczynu HA oraz zahamowania HA hodowaliśmy na tej pożywce. Odczyn hemaglutynacji wykonywaliśmy z krwinkami kurzymi, końskimi i świńskimi. Krwinki używane do odczynu trzykrotnie przemywano w płynie fizjologicznym i 30% ich zawiesinę przetrzymywano do 7 dni w chłodni. Płyn fizjologiczny stosowany do płukania krwinek oraz dla samego odczynu był świeżo przygotowany (najwyżej przed tygodniem).

Antygen do odczynu HA rozcieńczano od 1:2 do 1:32. Wyniki odczytywano na stoliku z lusterkiem.

Technika odczynu hemaglutynacji

Probówki	1	2	3	4	5	6	kontr.
Antygen w ilości 0,5 cc rozcieńczenia	nie rozc.	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	—
Płyn fizjolog.	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,75
Krwinki 0,5 %	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	5	0,25

W przypadku zupełnej HA tworzy się osad o nieregularnej postaci zajmujący całą powierzchnię dna probówki, barwy różowo-łososiowej. U silnie aglutynujących szczepów odczyn utrzymuje się dłużej, niż u słabo aglutynujących. Odczyt po 2 godzinach wykazuje niższe miano, niż po 45 minutach. Jeżeli hemaglutynacja nie zachodzi, krwinki opadają na dno i tworzą w środku mały krążek o zabarwieniu ceglastym.

Z 200 przebadanych szczepów krwinki kurze aglutynowało 30. Miano 1:16 wykazywały 3 szczepy, 1:8 — 4 szczepy, 1:4 — 11 szczepów, 1:2 — 11 szczepów i 1 szczep w stanie nierozcieńczonym.

Z krwinkami końskimi dodatnia hemaglutynacja występowała z 34 szczepami. Z tego w rozcieńczeniu 1:8 — 2 szczepy, 1:4 — 4 szczepy, 1:2 — 27 szczepów oraz w stanie nierozcieńczonym 1 szczep.

Z krwinkami świńskimi 1 szczep aglutynował do rozcieńczenia 1:4, 2 szczepy do rozcieńczenia 1:2 a 6 w stanie nierozcieńczonym.

Hemaglutynację niezupełną traktowano jako ujemną.

Wśród szczepów hemaglutynujących przeważały drobnoustroje w fazie R (20 szczepów) na 10 szczepów w fazie S. Z okręgu lubelskiego hemaglutynowało 13 szczepów, z wrocławskiego 4, warszawskiego 3, poznańskiego 2, gdańskiego 2, łódzkiego 2, z krakowskiego, zielonogórskiego, bydgoskiego i Wielkiej Brytanii po jednym szczepie.

Odczyn hemaglutynacji ze szczepami dającymi dodatnie wyniki został powtórzony, przy czym nie zauważono znacniejszych różnic w porównaniu z pierwotnymi wynikami.

Przy odczynie zahamowania hemaglutynacji do wzrastających rozcieńczeń antygeny dodawaliśmy stałe ilości surowicy, rozcieńczonej płynem fizjologicznym 1:5. Do odczynu użyliśmy surowicy królika uodpornionego włoskowcem różycy, surowicy przeciw różycowej końskiej oraz jako kontroli surowicy królika normalnego. Surowica końska przeciw różycowa powodowała zahamowanie HA przy mniejszym rozcieńczeniu antygeny, niż surowica królicza.

Nasze badania nad hemaglutynacją krwinek przy pomocy szczepów krajowych i kilku zagranicznych, pokrywają się z badaniami Gelenczei (1950) i Konstanskiego (1950), którzy stwierdzili większą zdolność hemaglutynacyjną szczepów w fazie R.

Ze względu na stosunkowo niskie miano hemaglutynacji (minimum winno wynosić 1:32) nie badaliśmy przydatności naszych szczepów do produkcji szczepionki według Trauba.

Wnioski

- 1) Na 3 serie doświadczeń w jednej nastąpiło uzjadliwienie awirulentnego szczepu Stauba.
- 2) Z 200 szczepów włoskowca różycy 30 szczepów hemaglutynowało krwinki kurze. W większości były to drobnoustroje w fazie R.

P I S M I E N N I C T W O

- 1) Dedié K.: Zur Differenzierung der Rotlaufbakterien nach ihren Eigenschaften in vitro. Exp. Vet.-med. 1950.
- 2) Dinter E.: Der Hemagglutinationstest als eine Hilfsmethode bei der Bestimmung immunogener Rotlaufstämme. B. M. T. W. 1949. Nr 12.
- 3) Gelenczei E.: Th. Ivanyi-Sur le pouvoir hemagglutinant du Bact. rhusiopathiae. Zjazd Mikrobiologów w Pradze. 1950.
- 4) Gledhill A. W.: The passive Protection of Mice against Infection with E. rhusiopathiae. J. Comp. Path. Ther. LV, 1945, Nr 2.
- 5) Gledhill A. W.: Swine Erysipelas Infection (Erysipelothrix rhusiopathiae) in Man and Animals. Proc. Royal Soc. of Med. 1948, XII, Nr 5, 330-332.
- 6) Konstansky K., Lat I., Ursiny J.: Pokusy s vyrobou adsorbatove vakciny proti cervence vepru. Cas. Ces. Vet. 1950, V, 14.
- 7) Stryszak A.: Informacja ustna, 1951.

P E Z J U M E

Путем пассажей невирулентного штамма возбудителя рожи у свиней (штамм Стоба) на мясопептонном бульоне с сывороткой свиней авторам удалось в одном случае на 3 серии опытов обнаружить повышение вирулентности этого микроба.

Из числа 200 обследованных штаммов возбудителя рожи, происходящих из всех областей Польши и из Великой Британии, 30 штаммов вызывало гемагглютинацию куриных эритроцитов, причем 3 штамма до титра 1:16. У штаммов в фазе »R« чаще выступала способность к гемагглютинации, чем у штаммов в фазе »S«.

S U M M A R Y

The authors found that by passage of the avirulent strain of *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Staube's strain) on bouillon with swine serum in one case in 3 series of experiments there appeared a raise in virulence of this micro-organism.

In 200 of the examined strains of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, collected from all parts of Poland and obtained from Great Britain — 30 strains agglutinated red blood corpuscles of the hen — 3 strains agglutinated to the titre 1:16. Strains in phase R possessed more often the haemagglutination power than the phase S.

Papier druk. sat. III kl. 80 g.	Format 70 x 100	Ark. druku 6 st.
Annales U. M. C. S. Lublin 1954	Druk P Z P T Przemysł. Pl. Czackiego 10	Zam. nr 853 10 XL

750 egz. S/pl-6-204 Data otrzymania manuskryptu 6. XI. 54. Data ukończenia druku 13. IV.