

Z Działu Antropozoonoz Instytutu Med. Pracy Wsi w Lublinie
i Pracowni Mikroskopu Elektronowego P.Z.H. w Warszawie

J. PARNAS, T. MIERZEJEWSKI, A. FELTYNOWSKI
i K. ŁAZUGA

Badania porównawcze nad właściwościami pałeczek:
***Pasteurella tularemiae*, *Pasteurella multocida*,**
Pasteurella rodentium* i *Brucella brucei

Сравнительные исследования свойств палочек:
Pasteurella tularemiae*, *Pasteurella multocida
Pasteurella rodentium* и *Brucella brucei

Comparative studies on properties of bacteria:
***Pasteurella tularemiae*, *Pasteurella multocida*,**
Pasteurella rodentium* and *Brucella brucei

Badania mikrobiologiczne

Pewne pokrewieństwo mikrobiologiczne pomiędzy pałeczkami *Pasteurella tularemiae*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella rodentium* i *Brucella brucei*, ma duże znaczenie epidemiologiczne, zarówno teoretyczne, jako też i praktyczne. Było ono przedmiotem różnych badań, przy czym niejednokrotnie zwracano uwagę na łączność, głównie serologiczną, pomiędzy tymi pałeczkami. U ludzi i zwierząt, zdarzają się towarzyszące sobie zakażenia pałeczką tularemii i brucellą, np. u bydła, świń i owiec, współzakażenia brucellą i pałeczką tularemii, zaś u gryzoni pałeczkami tularemii, rodentiozy, posocznicy krwiotocznej, oraz brucellą. U zajęcy zwraca się coraz częściej uwagę na występowanie pałeczek brucelli. Przejdziemy odrazu do omawiania wyników doświadczeń własnych.

Tabela I przedstawia opisane dotąd w piśmiennictwie różnice pomiędzy pałeczkami interesującej nas grupy, *Pasteurella* i *Brucella brucei*, dotyczące ruchu i rzęsek, tworzenia indolu, wzrostu na żółci, aktywności w stosunku do dekstrozy, sacharozy, laktozy,

T a b e

Dane porównawcze dotyczące właściwości *Pasteurella tularemiæ*,

Wielkość	Wy- maga- nia wzros- towe	Ruch i rzęski	Wzrost na żółci	Indol	Mleko lak- muso- we	Hemo- liza	H ₂ S
<i>Past. tularemiæ</i> 0,2 x 0,7 n	cystyna cysteina poż. jajowa	—	—	—	nie zmienia	—	tworzy na pożywce z cystyną
<i>Past. rodentium</i> 0,6 X 1,5-5,0 n	podłoże zwykłe	+ młode hodowle	+	—	od- czyn zasadowy	—	+
<i>Past. multocida</i> 0,3 X 1,25n	podłoże zwykłe	—	—	+	nie zmienia	—	+
<i>Brucella brucei</i> 0,6—1,5 x 0,3—0,5 n	podłoże pH6,6—7,2 (10% CO ₂)	—	—	—	nie zmienia	—	+

1 a I

Pcsteurella rodentium, *Pasteurella multocida* i *Brucella brucei*

C U K R Y					Chorobotwór- czość	Zmiany anatomo-pat. u gryzoni
Deks- troza	Sacha- roza	Lakto- za	Rafi- noza	Ram- noza		
+	—	—	—	—	człowiek, królik, zając, szczur, wiewiórka, mysz, wodny szczur, owca, bydło, świnia świnka morska,	ogniska martwiczo — ropne w wę- złach chłonnych, płucach, śledzionie i wątrobie
+	±	—	—	+	królik, szczur, mysz, pies, kot, koń, człowiek,	gruźelki w wątro- bie, śledzionie, nłucach, jelitach i błonach surowicznych
+	+	—	—	—	mysz, królik, kot, pies, bydło, koń, koza, owca, świnia,	krwiotoczne zapa- lenie płuc i błon surowicznych
+	—	—	—	—	bydło, koń, człowiek, świnka morska, mysz,	ogniska martwicze w śledzionie i wę- złach chłonnych

T a b e

Badania porównawcze nad współodczynami odpornościowymi

Nr królika	Odczyn aglutynacyjny z <i>Brucella ab. bov.</i>	Odczyn aglutynacyjny z <i>Pasteurella tularemiæ</i>	Odczyn wiązania dopełniacza antygenem <i>Brucelli</i>	Odczyn wiązania dopełniacza z antygenem <i>Past. tularemiæ</i>
surowice królicze				
1	1/1600	—	++++	—
2	1/400	—	++++	—
3	1/400	—	++++	—
4	1/800	—	++++	—
5	1/1600	—	++++	—
6	1/400	—	++++	—
7	1/400	—	++++	—
8	1/1600	—	++++	—
9	1/1600	—	++++	—
10	1/800	—	++++	—
11	1/1600	—	++++	—
12	1/400	—	++++	—
13	1/400	—	++++	—
14	1/400	—	++++	—
15	1/400	—	++++	—
16	1/1600	—	++++	—
17	1/1600	—	++++	—
18	1/800	—	++++	—
surowica ludzka				

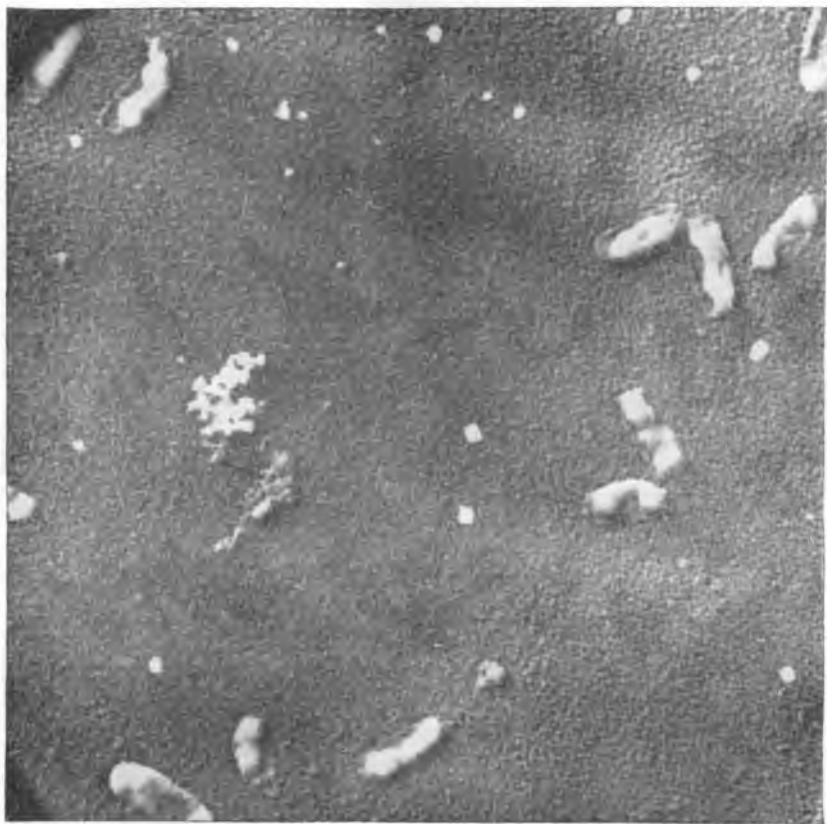
I a II

z *Brucella brucei* i *Pasteurella tularemiae*

Indeks opsono fagocytny z <i>Brucellą</i>	Indeks opsono fagocytny z <i>Past. tula- remiae</i>	Odczyn aler- giczny skórny z <i>Bruceliną</i> PD	Odczyn aler- giczny skórny z <i>Tularyną</i> U
41,60 (+++)	12,34 (+)	++	—
18,40 (+)	8,75 (±)	+	—
20,60 (++)	9,84 (±)	++	—
23,70 (++)	12,23 (+)	—	—
34,50 (++)	12,36 (+)	+	—
20,65 (++)	11,64 (+)	+++	—
19,84 (++)	7,84 (±)	++	—
37,62 (++)	13,72 (+)	++	—
33,60 (++)	11,32 (+)	+	—
22,12 (++)	12,1 (+)	++	—
31,20 (++)	7,9 (±)	+++	—
25,48 (++)	12,1 (+)	++	—
20,44 (++)	10,73 (+)	+	—
20,12 (++)	11,56 (+)	+	—
29,60 (++)	16,6 (+)	+	—
23,00 (++)	12,8 (+)	—	—
27,12 (++)	10,2 (+)	+++	—
23,64 (++)	9,04 (±)	+++	—
29,00 (++)	5,96 (±)	++++	±

rafinozy i ramnozy, wymagań wzrostowych i chorobotwórczości dla zwierząt doświadczalnych. Wzięto również pod uwagę charakter wywoływanych zmian anatomo-patologicznych, pozwalających na odróżnienie tych czterech gatunków pałeczek. (Tabela I).

Mając do dyspozycji 18 królików zakażonych brucellozą, wykonano różne odczyny z antygenami: *Brucella brucei* i *Pasteurella tularemiæ*. Wyniki tych prób przedstawione są w tabeli II.



Ryc. 1. *Pasteurella tularemiæ*. Otoczki. Pow. 18000 $\times$ (mikrosk. elektron.).

Jak widać miana odczynów zlepných surowic króliczych z antygenem *Brucella abortus bovis* są wysokie (od 1/400 do 1/500). Odczyn zlepný z antygenem *Pasteurella tularemiæ* we wszystkich próbach był ujemny. Odczyn wiązania dopełniacza z antygenem *Brucella abortus bovis*, we wszystkich próbach okazał się silnie

dotatni. Ten sam odczyn z antygenem *Pasteurella tularemia* natomiast we wszystkich próbach był jednak ujemny. Zjawiska współaglutynacji pomiędzy antygenami *Brucella brucei* i *Pasteurella tularemia*, są spostrzegane w praktyce laboratoryjnej.

W naszych poprzednich badaniach, wykonanych z J. Krupieńską, stwierdzaliśmy również tego rodzaju zjawiska współaglutynacji. Natomiast odczyn wiązania dopełniacza zarówno w próbach poprzednich (200 badań — surowice ludzi i zwierząt), jak również i obecnych, wypada zawsze swoście dla surowic, pochodzących od ludzi i zwierząt, zakażonych brucellą. Nie zauważyliśmy nigdy istnienia dodatniego odczynu wiązania dopełniacza z tymi surowicami, przy użyciu antygenu *Pasteurella tularemia*. Prawdopodobnie dalsze próby na większym materiale surowic, pochodzących zarówno od ludzi i zwierząt, zakażonych brucellozą, jak również pałeczką tularemii, wykażą większą swoistość i czułość odczynu wiązania dopełniacza. Pragniemy zaznaczyć, że wykonywaliśmy odczyn wiązania dopełniacza w kierunku tularemii, przy użyciu antygenu uzyskanego przez rozbicie pałeczek, przy pomocy ultradźwięków (2375 Kc/s w ciągu 90 min. — w cieple 35° C).

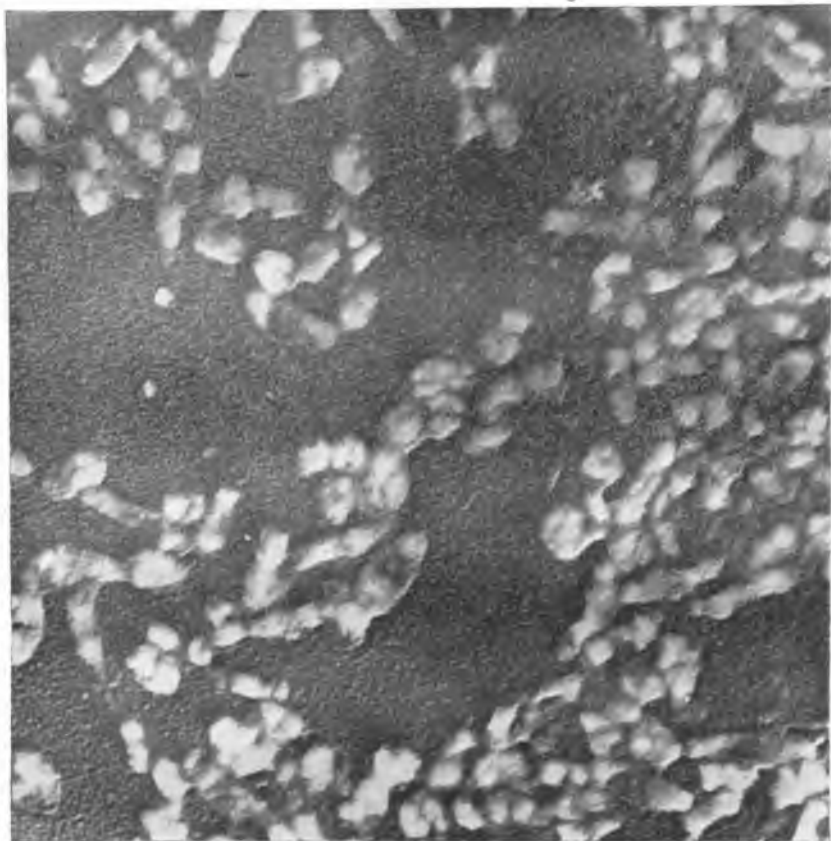
Wykonano u zwierząt badanych, odczyn alergiczno-skróny, zarówno z antygenem brucelinowym (brucelina PD), jako też z tularyną U (zawiesina pałeczek tularemii, rozbita przy pomocy ultradźwięków).

U większości królików odczyn Burneta, był silnie dodatni lub dodatni. W żadnym wypadku nie otrzymano zjawiska paralogii z tularyną.

Wykonano również próby mające na celu oznaczenie wskaźnika opsonino-fagocytnego z krwią królików, zakażonych brucellą, przy użyciu żywej zawiesiny *Brucella abortus bovis* i *Pasteurella tularemia*. Wskaźnik Huddlesona wypadł u wszystkich królików silnie dodatnio, natomiast z pałeczkami tularemii słabo dodatnio. To doświadczenie wskazuje na pewne powinowactwo immunobiologiczne między obu pałeczkami, z punktu widzenia zjawiska fagocytozy, które w przebiegu brucellozy jest uważane za swoiste.

Badania biochemiczne

Po wykonaniu doświadczeń mikrobiologicznych, przeszliśmy do badań immunochemicznych, w nadziei, że analiza chromatograficzna składu aminokwasów i cukrowców pełnych antygenów, *Pasteurella tularemiæ*, *Past. multocida*, *Past. rodentium* i *Brucella brucei* potrafi głębiej sięgnąć do zjawisk pokrewieństwa wymienionych zarazków.



Ryc. 2. *Pasteurella tularemiæ* w zbitej masie. Pow. ok. 16000 $\times$ (mikrosk. elektron.).

Hodowle agarowe bakterii, przebyte płynem fizjologicznym, zadawano dwukrotnie 5% roztworem kwasu tróchlorooctowego. Otrzymane w ten sposób wyciągi, każdorazowo przepuszczano przez sącdek Aschefrei 388, następnie dializowano i zagęszczano pod próżnią do objętości 10 ml. Zagęszczony diali-

zat, w celu wytrącenia pełnego antygeny, zmieszano z bezwodnym acetonem w stos. 1 : 8. Po 24 godz. oddzielono osad od płynu przez wirowanie, osad przemylano acetonem i suszono pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymany suchy, biały, proszek rozpuszczony w roztworze soli fizjologicznej dał dodatnie wyniki na białko (odczyn Piotrowskiego) i cukry (reakcja Molischa). Rozbicia w ten sposób otrzymanego sympleksu dokonywano drogą łagodnej hydrolizy kwaśnej. W tym celu 0,15 g suchego proszku zadawano 70 ml 0,1 n CH_3COOH , hydrolizując go na wrzącej łaźni wodnej przez 4 godz. Otrzymano: osad białka, cieniutką warstwę lipidową i płyn, w którym rozpuścił się węglowodan. Osad usuwano przez wirowanie, przemylanie 0,1 n kwasem octowym, acetonem i suszono w próżni. (Dąbrowska 1950, 1951, 1954, Mikulaszek 1951). Następnie hydrolizowano go przez 21 godz. w 20% HCl, pod chłodnicą zwrotną. Hydrolizat, po usunięciu kwasu solnego, użyty był do porównawczej analizy chromatograficznej, aminokwasów frakcji białkowej sympleksu. Cukrowce wytrącano 8-krotną objętością bezwodnego acetonu, które po przemyciu acetonem i eterem oraz wysuszeniu, hydrolizowano 6% kwasem solnym, przez 6 godz., pod chłodnicą zwrotną.

Hydrolizaty zubożone wodorotlenkiem sodu, odparowywano do sucha w próżni i odsalano, na drodze ekstrakcji pirydynowej. (Mierzejewski 1953). Wyciąg pirydynowy służył jako materiał wyjściowy, do porównawczej analizy chromatograficznej, frakcji węglowodanowej sympleksu.

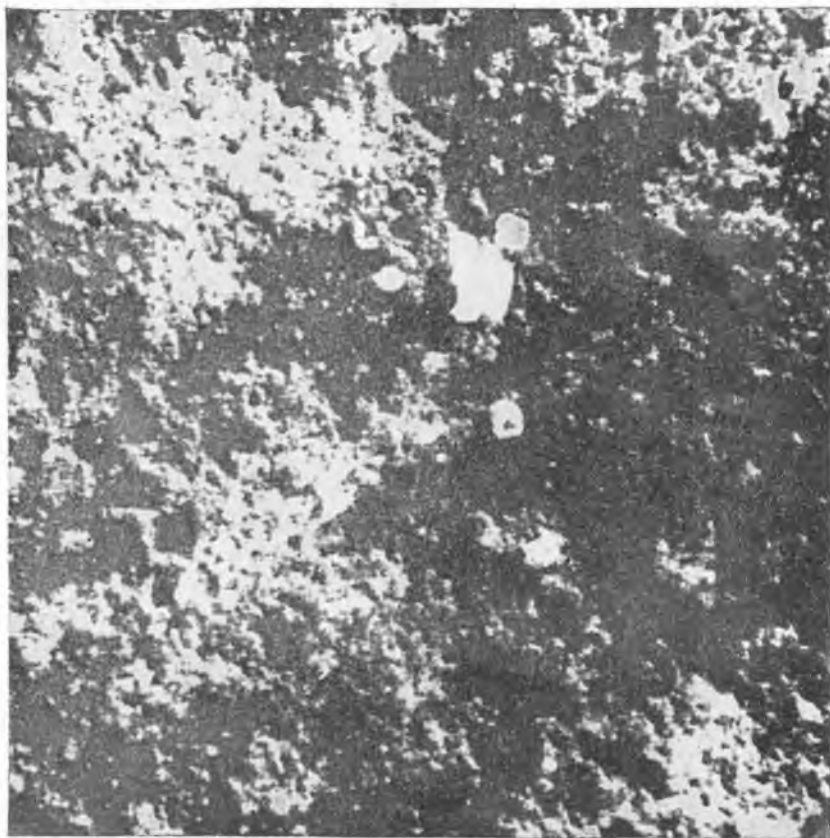
Badań nad komponentą fosfolipidową antygeny bakteryjnego, jako frakcją nie swoistą i nieantygenową, nie przeprowadzano.

Analiza chromatograficzna nie różniła się metodycznie od ogólnie stosowanej (Consden, Gordon, Martin 1944, Boissonas 1950). Aminokwasy frakcji białkowej rozdzielano na bibule Whatman Nr 1 w układzie: fenol — woda w kierunku pierwszym, propanol — woda w kierunku drugim. Cukry rozdzielano na jednokierunkowym chromatogramie w układzie: pirydyna — butanol — woda, na bibule Whatman Nr 1 (Opieńska-Blauth, Madecka-Borkowska 1950).

W y n i k i: Chromatogram hydrolizatu frakcji białkowej antygeny *Brucella brucei* daje 14 plam barwnych fioletowo-różowych, po spryskaniu butanolem roztworem ninhydryny. Substancje barwiące się ninhydryną (aminokwasy) odpowiadają swym położeniem, plamom kontrolnym czystych aminokwasów: plama pierwsza (1) umiejscowieniu: leucyny — izoleucyny, 2 — metioniny i waliny, 3 — proliny, 4 — tryptofanu, 5 — tyrozyny, 6 — alaniny, 7 — treoniny, 8 — lizyny, 9 — glikokolu, 10 — seryny, 11 — asparaginy (?), 12 — kwasu glutaminowego, 13 — kwasu asparaginowego, 14 — ?. Naniesienie na chromatogram 5-krotnie

większej ilości hydrolizatu powoduje pojawienie się plamy nowej odpowiadającej umiejscowieniem histydyinie.

Chromatogram hydrolizatu frakcji białkowej pałeczki tulareмии daje 12 plam odpowiadających umiejscowieniem: 1 — leucynie — izoleucynie, 2 — metioninie — walinie, 3 prolinie, 4 —



Ryc. 3. *Pasteurella tularensiae* rozbite ultradźwiękami (tularyna U).
Pow. 16000 × (mikrosk. elektron.).

tyrozynie, 5 — alaninie, 6 — treoninie, 7 — lizynie, 8 — glikokoliowi, 9 — serynie, 10 — ?, 11 — kw. glutaminowemu, 12 — kw. asparaginowemu.

Analiza białkowej frakcji *Pasteurella multocida* po hydrolizie kwaśnej, daje chromatogram na aminokwasy z 12-tu plamami

barwnymi odpowiadającymi umiejscowieniem: plama 1 — izoleucynie — leucynie, 2 — metioninie — walinie, 3 — prolinie, 4 — tyrozynie, 5 — alaninie, 6 — treoninie, 7 — lizynie, 8 — glikokolowi, 9 — serynie, 10 — ?, 11 — kw. glutaminowemu, 12 kw. asparaginowemu.

Hydrolizat frakcji białkowej *Pasteurella rodentium* daje plamy odpowiadające umiejscowieniem: plama 1 — leucynie — izoleucynie, 2 — metioninie, walinie, 3 — prolinie, 4 — tyrozynie, 5 — alaninie, 6 — treoninie, 7 — lizynie, 8 — glikokolowi, 9 — serynie, 10 — ?, 11 — kw. glutaminowemu, 12 — kw. asparaginowemu.

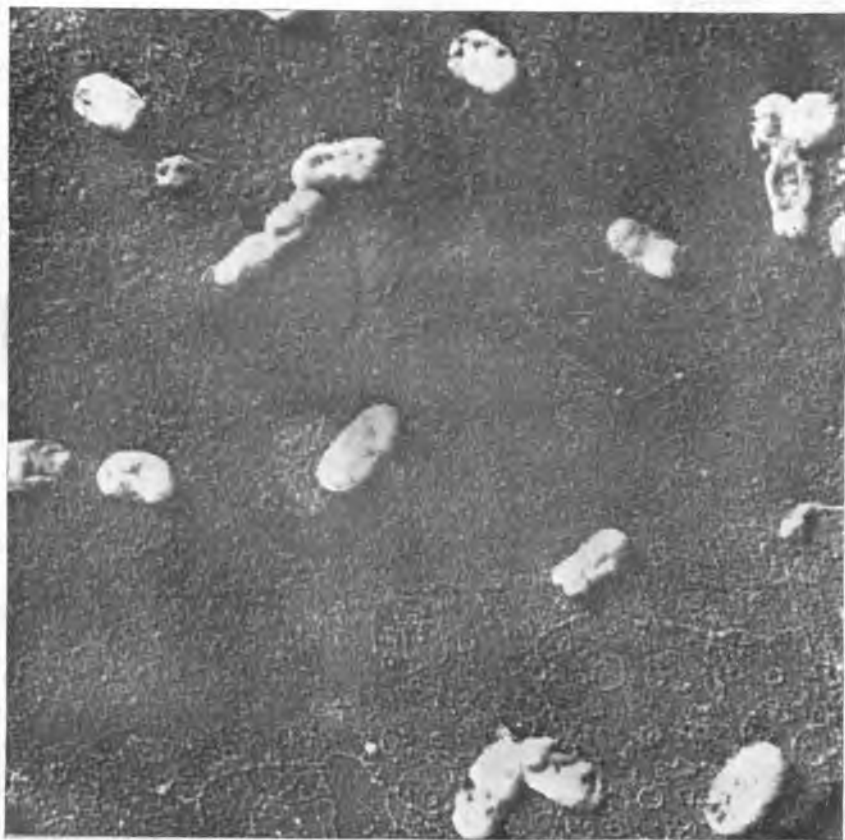
Porównując chromatogramy hydrolizatów białkowych badanych pałeczek, można stwierdzić, że frakcje białkowe są do siebie podobne. Spostrzega się jednak małe różnice w ilości i jakości składowych aminokwasów białkowej komponenty antygenów, bowiem hydrolizat frakcji białkowej brucelli na chromatogramie daje więcej plam aminokwasowych (14—15) w porównaniu z pozostałymi badanymi frakcjami białkowymi (12 plam). Natomiast chromatogram na aminokwasy frakcji białkowej *Past. tularemiae*, *multocida* i *rodentium* w porównaniu z chromatogramem brucelli nie wykazuje plamy odpowiadającej umiejscowieniem tryptofanowi.

Analiza chromatograficzna cukrowców pałeczek tularemii, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella rodentium* i *Brucella brucei*, po hydrolizie, przedstawia się następująco: wielocukry *Pasteurella tularemiae* dają na chromatogramie 7 plam redukujących acetonowy roztwor azotanu srebra. (chromatogram nr V, kropla T). Plamy te odpowiadają umiejscowieniem: plama a — ?, b — glikozaminie, 1 — galaktozie, 2 — glikozie, 3 — arabinozie względnie mannozie bądź fruktozie, 4 — ksylozie, c — rybozie.

Hydrolizat wielocukru *Pasteurella multocida* daje na chromatogramie siedem plam, które ułożeniem odpowiadają: plama a — ?, b — glikozaminie, 1 — galaktozie, 2 — glikozie, 3 — arabinozie, względnie fruktozie bądź mannozie, 4 — ksylozie, c — rybozie.

Hydrolizat frakcji wielocukrowej *Pasteurella rodentium* daje na chromatogramie cztery plamy zredukowane, z których plama „a” odpowiada umiejscowieniem plamie „a” hydrolizatu węglowodanu *Pasteurella tularemiae*, 2 — glikozie, 3 — mannozie, bądź arabinozie, względnie fruktozie. Oprócz tych wyraźnych plam

widzimy na chromatogramie wielocukru *Pasteurella rodentium* (chromatogram Nr V, kropla R) zaciemnienia na wysokości spływu galaktozy (plama 1). Świadczyć to może o małej zawartości tego cukru w badanej frakcji.



Ryc. 4. *Pasteurella multocida*. Pow. 18000 $\times$ (mikrosk. elektron.).

Chromatogram hydrolizatu wielocukru bruceli (chromatogram Nr V, kropla III) jest bardzo podobny do chromatogramu wielocukrowego hydrolizatu *Pasteurella rodentium*. I tu widzimy dwie wyraźne plamy na wysokości spływu glikozy (plama 2) oraz mannozy, bądź arabinozy względnie fruktozy (plama 3) i zaciemnienia na wysokości spływu plamy „a” wielocukrowego hydrolizatu *Pasteurella tulareniae*, glikozaminy (b), i galaktozy (1).

Otrzymane przez nas wyniki porównawcze świadczą, że:

a) w zakresie syntezy swoistych wielocukrów zaznacza się podobieństwo względnie powinowactwo chemiczne między pałeczką tularemii i *Pasteurella multocida* z jednej strony, oraz pałeczką rodentiozy i *Brucella brucei* z drugiej.

b) skład aminokwasowy białka antygenowego u badanych pałeczek jest bardzo podobny. O powinowactwie chemicznym bada-

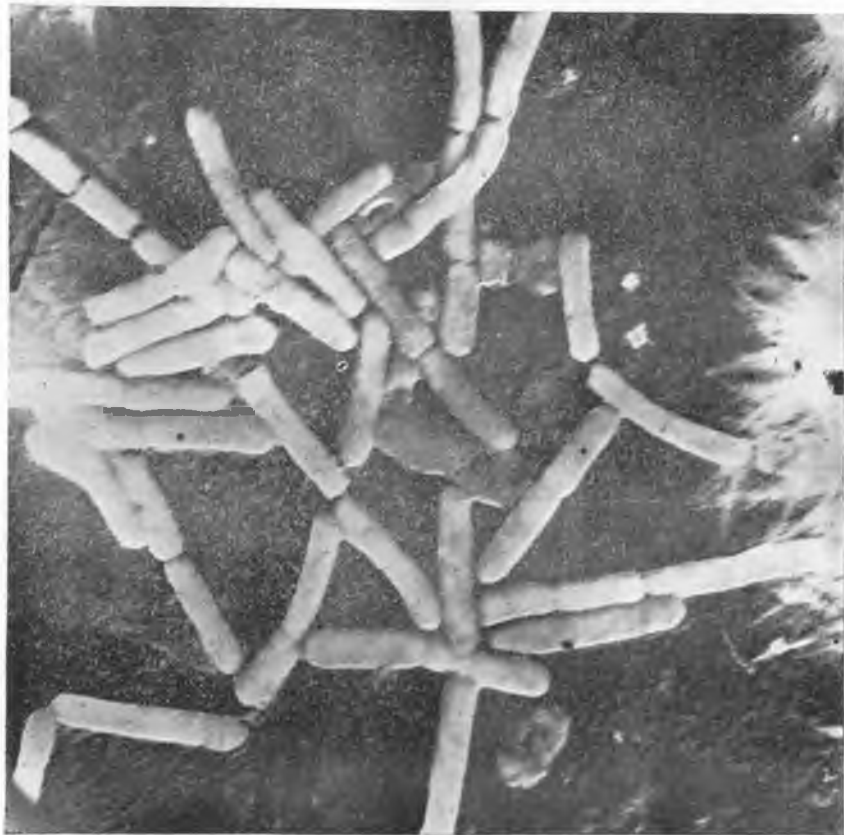


Ryc. 4a *Pasteurella multocida*. Pow. 18000 $\times$ (mikrosk. elektron.).

nych pałeczek względnie zasadniczych różnicach, na podstawie przeprowadzonych prób aminokwasowego składu frakcji białkowej, mówić nie można.

Badania w mikroskopie elektronowym

Ribi i Shepard (1955) śledzili morfologię pałeczek tularemii w różnych okresach wzrostu, przy pomocy mikroskopu elektronowego. Podział komórek pał. tularemii daje się tą metodą spostrzegać. Zauważono przy tym tworzenie się włókienkowych czę-

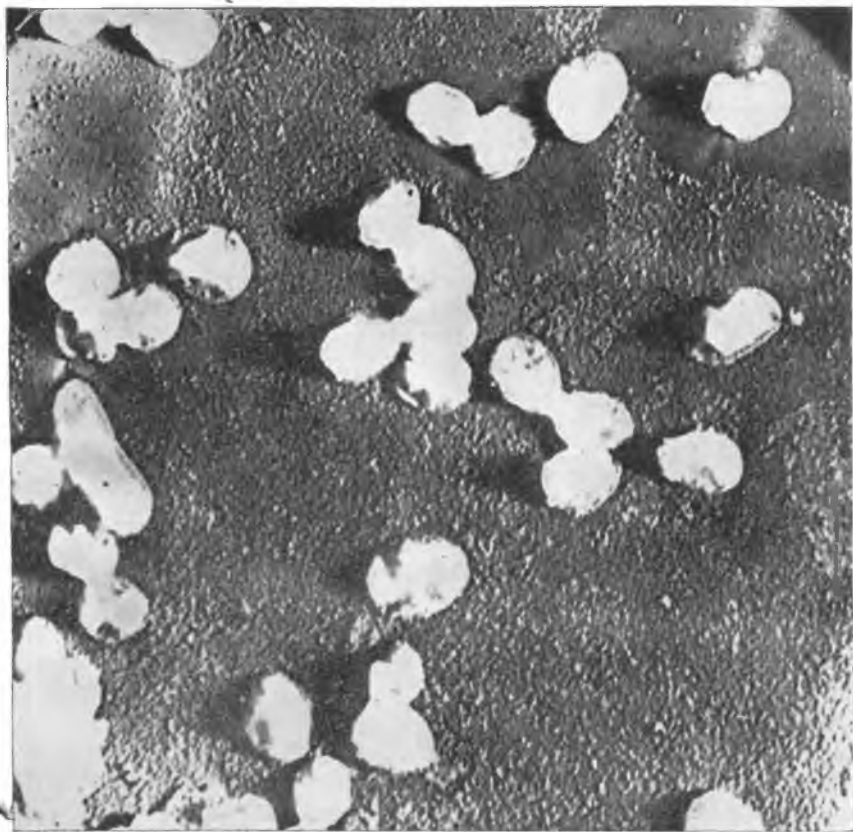


Ryc. 5. *Pasteurella rodentium*. Pow. 15000 $\times$ (mikrosk. elektron.).

ści komórek, zwłaszcza w fazie końcowej wzrostu pał. tularemii. Są one bardzo kruche, łamliwe i tworzą się z nich ciała okrągłe i włókienka protoplazmatyczne. Są to postacie odpowiadające prawdopodobnie postaciom niedostrzegalnym, przesączalnym, opisywanym przez badaczy radzieckich.

Nasze badania porównawcze, przeprowadzono także przy pomocy mikroskopu elektronowego. Prace te zostały wykonane

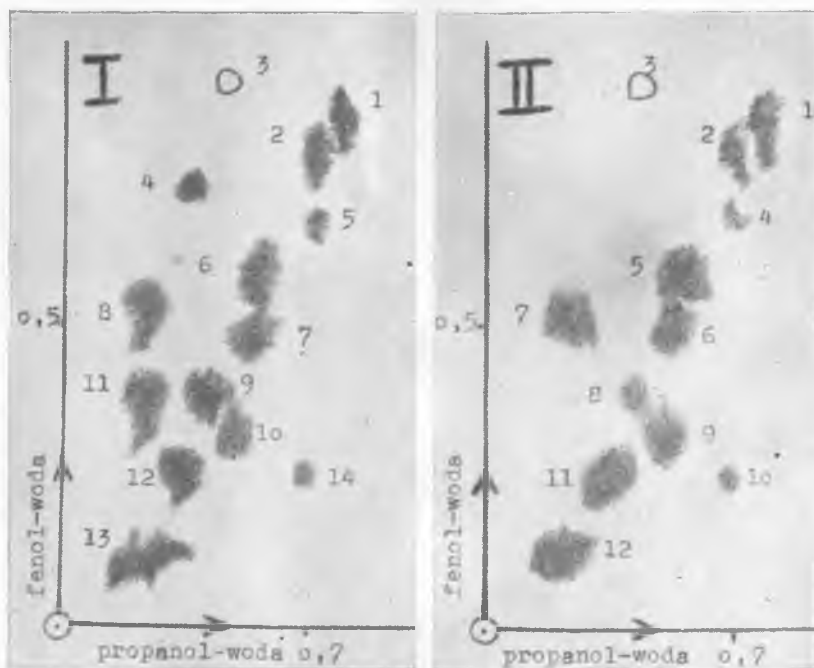
w Pracowni Mikroskopu Elektronowego Państwowego Zakładu Higieny, na mikroskopie konstrukcji szwedzkiej Siegbahna-Schö-
nandera, opisanym szczegółowo gdzie indziej (8,9).



Ryc. 6. *Brucella brucei*. Pow. ok. $24000\times$ (mikrosk. elektron.).

Preparaty do mikroskopu elektronowego, sporządzano w sposób następujący. Do podstawki preparatowej, która w mikroskopie szwedzkim ma kształt cienkiej płytki mosiężnej, z dwoma otworami podłużnymi o wym. $5\text{ mm} \times 1,1\text{ mm}$ każdy, przytwierdzono cienką siateczkę miedzianą w ten sposób, by pokrywała dokładnie podłużne otwory podstawki. Siateczka winna mieć oczka, rzędu kilku setnych mm. Na tej siateczce, rozpięto cieniutką błonkę, która stanowiła podstawę, dla umieszczenia badanego preparatu. Grubość błonki, winna wynosić około $10\text{ m}\mu$, tak, żeby elektrony, mogły przez nią swobodnie przechodzić. Błonka nie powinna wnosić do obrazu żadnej struktury, musi być zupełnie jednorodna. Stosowaliśmy błonki kolodionowe. Błon-

kę taką otrzymywaliśmy przez puszczenie na powierzchnię wody kropli 1% roztworu czystego kolodium w octanie amyłowym. Kropla, na skutek różnicy napięć powierzchniowych, rozlewała się na powierzchni wody, a gdy po kilku sekundach octan amyłowy wyparował, tworzyła się na powierzchni wody, cieniułka warstwa kolodium, żądanej grubości, około 10 m μ . Błonkę tę osadzaaliśmy na siatce, umieszczając podstawkę preparatową z przytwierdzoną uprzednio siateczką w naczyniu, a następnie wypuszczając z niego wodę; błonka wówczas osiadała na siatce.

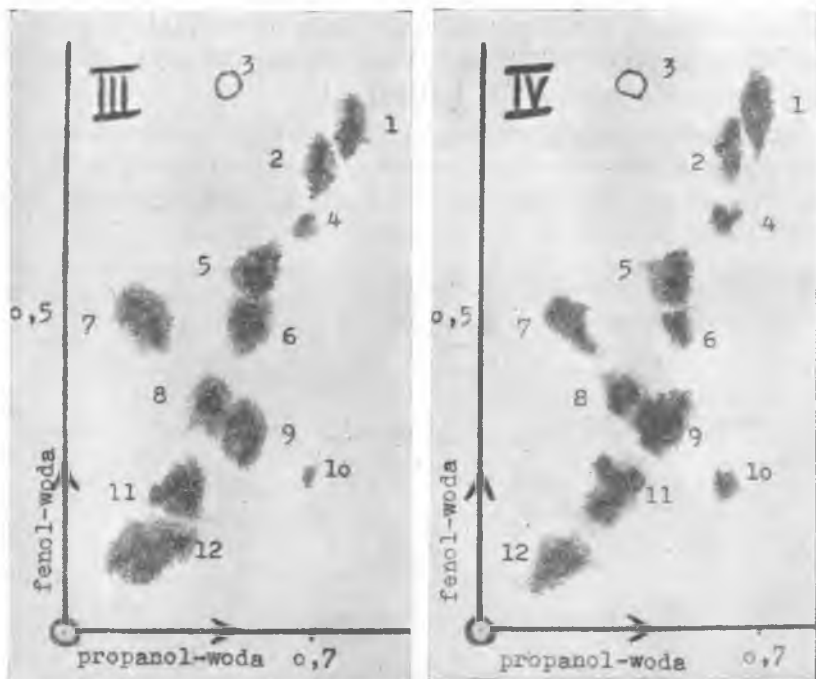


Chromatogram I. Hydrolizat frakcji białkowej *Brucella brucei*
 1 — leucyna, izoleucyna, 2 — metionina, walina, 3 — prolina, 4 — tryptofan,
 5 — tyrozyna, 6 — alanina, 7 — treonina, 8 — lizyna, 9 — glikokol, 10 — seryna,
 11 — ? (asparagina), 12 — kwas glutaminowy, 13 — kwas asparaginowy,
 14 — ?

Chromatogram II. Hydrolizat frakcji białkowej *Pasteurella tularemiæ*
 1 — leucyna, izoleucyna, 2 — metionina, walina, 3 — prolina, 4 — tyrozyna,
 5 — alanina, 6 — treonina, 7 — lizyna, 8 — glikokol, 9 — seryna 10 — ?
 11 — kwas glutaminowy, 12 — kwas asparaginowy.

Bakterie będące przedmiotem badania, hodowano na właściwych im pożywkach stałych (*Pasteurella tularemiæ* na pożywce jajowej Mc Coyá, *Pasteurella multocida* i *Pasteurella rodentium*, na agarze z krwią). Zawie-

sinę bakterii sporządzano z 1 oczka ezy 48-godzinnej hodowli w 2—3 ml. wody destylowanej, lub 0,8% roztworu NaCl. Kropelkę tej zawiesiny, umieszczano na podstawie preparatowej z wysuszoną i przygotowaną, jak wyżej, błonką kolodionową.



Chromatogram III. Hydrolizat frakcji białkowej *Pasteurella multocida*, 1 — izoleucyna, leucyna, 2 — metionina, walina, 3 — prolina, 4 — tyrozyna, 5 — alanina, 6 — treonina, 7 — lizyna, 8 — glikokół, 9 — seryna, 10 — ? 11 — kwas glutaminowy 12 — kwas asparaginowy.

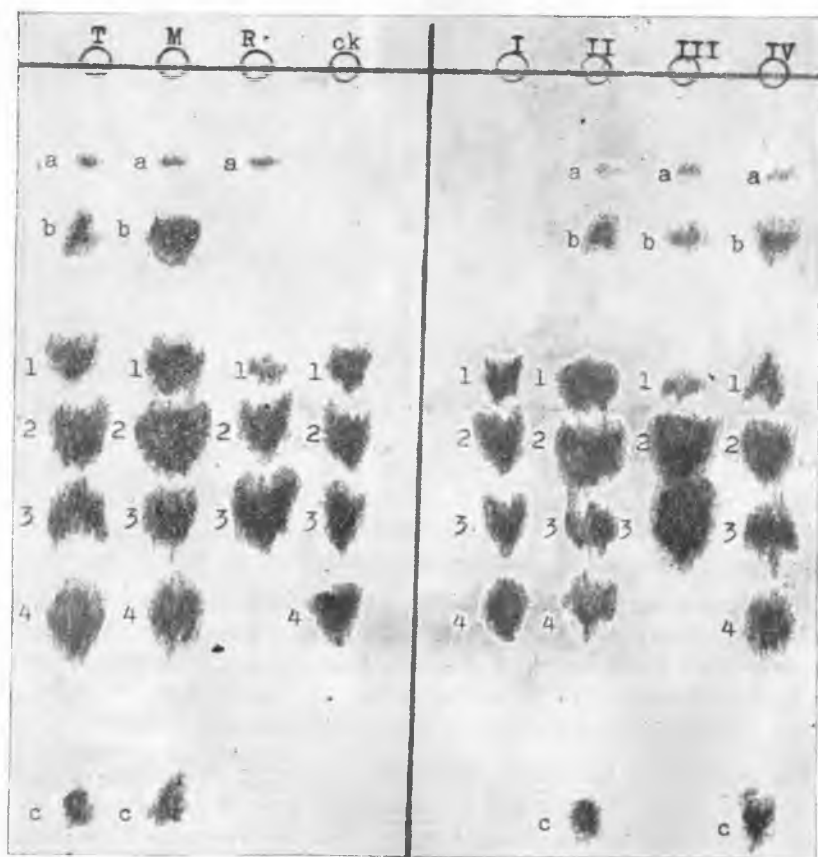
Chromatogram IV. Hydrolizat frakcji białkowej *Pasteurella rodentium*, 1 — leucyna, izoleucyna, 2 — metionina, walina, 3 — prolina, 4 — tyrozyna, 5 — alanina, 6 — treonina, 7 — lizyna, 8 — glikokół, 9 — seryna, 10 — ? 11 — kwas glutaminowy, 12 — asparaginowy.

Dla zwiększenia kontrastu, preparaty uprzednio starannie wysuszone (15 min. w cieplarni w temp. 37°, a następnie 24 godz. w temperaturze pokojowej), cieniowano metodą Williamsa i Wyckoffa (11) przez napylenie ich w wysokiej próżni chromem. Kąt cieniowania wynosił 15°.

Zdjęć dokonywano przy powiększeniu elektronowym, od 5.000 do 8.000 razy. Uzyskane zdjęcia powiększano następnie drogą optyczną trzykrotnie.

Wyniki badań przedstawiają fotografie 1—7, które publikowane są w powiększeniach od 14.000 do 24.000 $\times$. Na ryc. 1 (pow. 18.000 razy) widoczne są pałeczki tularemii, z delikatnie zaznaczonymi otoczkami. Na ryc. 2 widzimy te same pałeczki tularemii w zbitej masie. Ryc. 3 w tym samym powiększeniu, przedstawia pałeczki tularemii, rozbite doszczętnie przy pomocy ultradźwięków (przez 90 min. przy 2.378 kc), po uprzednim ogrzaniu przez 120 minut w temperaturze 60° C (tularyna U).

Na ryc. 5 (w powiększeniu 15.000 razy) przedstawione są pałeczki *Pasteurella rodentium*, morfologicznie nie podobne do pałeczek tularemii. Na ryc. 4, widoczne są pałeczki *Past. mul-*



Chromatogram V. Hydrolizat frakcji wielocukrowej. Układ: pirydyna-butanol-woda, wywoływacz; azotan srebra.

Kropla plama	T <i>Past. tularemiæ</i>	M <i>Past. multocida</i>	R <i>Past. rodentium</i>	Ck cukry kontrolne
Plamą „a”	?	?	?	—
„ „b”	glikozamina	glikozamina	—	—
„ 1	galaktoza	galaktoza	galaktoza	galaktoza
„ 2	glikoza	glikoza	glikoza	glikoza
„ 3	mannoza arabinoza fruktoza	mannoza arabinoza fruktoza	mannoza arabinoza fruktoza	mannoza arabinoza fruktoza
„ 4	ksyloza	ksyloza	—	ksyloza
„ „c”	ryboza (?)	ryboza (?)	—	—

Kropla plama	I cukry kontrolne	II <i>Past. multocida</i>	III <i>Brucella brucei</i>	IV <i>Past. tularem.</i>
Plama 1	galaktoza	galaktoza	galaktoza	galaktoza
„ 2	glikoza	glikoza	glikoza	glikoza
„ 3	mannoza arabinoza fruktoza	mannoza arabinoza fruktoza	mannoza arabinoza fruktoza	mannoza arabinoza fruktoza
„ 4	ksyloza	ksyloza		ksylozz
„ a	—	?	?	?
„ b	—	glikozamina	glikozamina	glikozamina
„ c	—	ryboza (?)	—	ryboza (?)

multocida ze strukturą wyjaśniającą dwubiegunowość barwienia. Na ryc. 4a widzimy w powiększeniu 18.000×, pałeczki *Pasteurella multocida* podobne kształtem do pałeczek *tularemiæ*. Ryc. 6 w powiększeniu 24.000×, przedstawia pałeczki *Brucella brucei*, które nie są podobne morfologicznie do żadnych z pozostałych gatunków pałeczek. Preparat *Brucelli* rozcieńczony był płynem fizjologicznym, a następnie płukany wodą destylowaną na podstawie preparatowej, pozostałe preparaty zawieszano w wodzie destylowanej.

Omówienie wyników badań

Na tabeli I wybrano dane z piśmiennictwa dotyczące podobieństwa i różnic, kształtu, wzrostu, przemiany materii i choroby-

twórczości pałeczek tularemii, rodentiozy, posocznicy krwiotocznej i brucelli. W doświadczeniu wykonanym na 18 królikach zakażonych odmianami *Brucella brucei*, nie zauważono współaglutynacji z pałeczkami tularemii; w poprzednich naszych próbach z surowicami zwierząt i ludzi, spostrzegano odczyn zlepnny z pałeczką tularemii, wywołany surowicą zawierającą zlepniki dla pałeczek brucelli. Natomiast nie zauważyliśmy krzyżowego odczynu wiązania dopełniacza z surowicą brucellozową i antygenem tularemijnym, co zasługuje na podkreślenie. Można by zatem zalecić ten odczyn, w przypadkach współaglutynacji pałeczek Brucelli i tularemii. W doświadczeniu zauważono, że wskaźnik opsonofagocytny krwi królików, zakażonych Brucellą jest dodatni z pałeczką Brucelli, a równocześnie słabo dodatni lub wątpliwy z pałeczką tularemii. Pod tym względem, swoisty odczyn fagocytny, wypada również dodatnio, choć w skali znacznie słabszej z pałeczką tularemii co przemawiać może za antygenowym pokrewieństwem z pałeczką Brucelli. W niniejszym doświadczeniu, jak i w próbach poprzednio wykonanych, (u ludzi i zwierząt), nie zauważono w żadnym wypadku paralogii zachodzącej między brucelliną a tularyną. U osobników zakażonych Brucellą, nie zauważono dodatniego odczynu alergiczno-skórnego z tularyną.

Dalsze doświadczenie, dotyczy analizy chromatograficznej cukrowców i aminokwasów, zawartych w pałeczkach tularemii, Brucelli, rodentiozy i posocznicy krwiotocznej. Skład aminokwasów białka antygenowego, przedstawia się u wszystkich czterech pałeczek podobnie. Natomiast skład cukrów wskazuje na podobieństwo pałeczki tularemii i posocznicy krwiotocznej. Pałeczki Brucelli i rodentiozy podobieństwa nie wykazują. W mikroskopie elektronowym widać podobieństwo kształtu między pałeczkami *Past. tularemiae* i *Past. multocida*, nieco inaczej zaznacza się natomiast Brucella, a zupełnie inaczej, kształt *Past. rodentium*.

Można by więc powiedzieć, na podstawie naszych badań, że pałeczka tularemii, jest zbliżona do pałeczki posocznicy krwiotocznej, stąd słuszność wspólnej nazwy: *Pasteurella*. Pałeczka rodentiozy zajmuje miejsce odrębne. Brucella wykazuje podobieństwo immunologiczne z pałeczką tularemii (fagocytoza).

PIŚMIENNICTWO:

1. Boissonas R. A.: Helv. Chim. Acta XXXIII (6) 1950.
2. Con-sden R., Gordon A. H., Martin A. J. P.: Biochem. J. 38, 1944.
3. Du-

browska I. I.: Biochimia, 16, 490, 1950. 4. Dubrowska I. I.: Biochimia, 16, 41, 1951. 5. Dubrowska I. I.: Biochimia, 19, 137, 1954. 6. Mierzejewski T.: Acta Microbiol. Pol. III, 1, 1953. 7. Mikulaszek E.: Immunologiczne czynne wielocukrowce Kraków, 1951. 8. Feltynowski A.: Mikroskop elektronowy, w F. Przesmycki, Zarys bakteriologii praktycznej, PZWL, str. 232—248, Warszawa, 1951 (wznowione 1953). 9. Feltynowski A.: Mikroskop elektronowy, w Aleksandrowicz J., Blicharski J. i Feltynowski A.: Mikroskopia elektronowa składników postaciowych krwi, Post. Hig. Med. Dośw., 7, str. 447—471, 1954. 10. Williams R. C., Wyckoff R.: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med, 59, 265, 1945. 11. Williams R. C., Wyckoff R.: Jour. Appl. Physics, 17, 23, 1946. 12. Parnas J., Krupińska A.: P.T.Z. (w druku). 13. Opieńska-Blauth J., Madecka-Borkowska I.: Acta Phys. Pol. vol. I fasc. 23, 1950. 14. Ribí E., Shepard C.: Exp. Cell. Res. 8. 474, 1955.

Р Е З Ю М Е

Научные исследования наружности и общей структуры палочек бруцеллы, туляремии, кровоточивой септицемии и родентиозы, проведенные при помощи электронного микроскопа обнаружили обособленность образа палочек бруцеллы, туляремии и кровоточивой септицемии с одной стороны и палочек родентиозы с другой. Палочки туляремии обнаруживают наличие нежных оболочек, что показано на прилагаемых снимках. Совместной аглютинации палочек бруцеллы с палочками туляремии не замечено; в предыдущих наших опытах с сывороткой животных и людей замечено реакцию слипания с палочкой туляремии, вызванную сывороткой заключающей слепки для палочек бруцеллы. Тем не менее мы не заметили перекрестной реакции связывания дополнения с сывороткой бруцеллы и антигеном тулярийным, что и следует подчеркнуть. Следовательно можно рекомендовать эту реакцию в случаях совместной аглютинации палочек бруцеллы и туляремии. В опыте замечено, что индекс опсонофагоцитозной крови кроликов зараженных бруцеллезом положителен с палочкой бруцеллы но, в то же время, слабо положителен или сомнителен с палочкой туляремии. В этом отношении своеобразная реакция опсонофагоцитозная происходит также положительно хотя в шкале более слабой с палочкой туляремии, что может свидетельствовать о антигеновом родстве с палочкой бруцеллы. В настоящем эксперименте, как и в раньше проведенных опытах, не замечено ни в коем случае параллергии возникающей между бруцеллиной и туляриной. У индивидов

зараженных бруцеллиной не замечено положительной аллергично кожной реакции с туляриной. Состав аминокислот антигенного белка представляется у всех четырех палочек подобным образом. В противоположность тому состав полисахаридов указывает на сходство палочки туляремии с палочкой кровотоочивой септицемии. Палочки бруцеллы и родентиозы схождения не проявляют.

SUMMARY

Studies of the form and general structure of *Brucella brucei*, *Pasteurella tularemiæ*, *Pasteurella multocida* and *Pasteurella rodentium* conducted by the use of an electron microscope proved that there is a separateness of forms of *Brucella brucei*, *Pasteurella tularemiæ* and *Pasteurella multocida* on the one hand and on the other of that of *Pasteurella rodentium*. *Pasteurella tularemiæ* exhibits the presence of delicate envelopes, demonstrated on the enclosed photographs. No agglutination of *Brucellæ brucei* with *Pasteurellæ tularemiæ* has been observed; in our previous tests with animal and human sera an agglutination reaction with *Pasteurella tularemiæ* has been noted and it has been caused by serum, containing agglutinins for *Brucella brucei*. However, the cross agglutination test with brucellar serum and tularemia antigen has not been noticed, a fact that should be stressed. This test ought to be recommended in cases of coagglutination of *Brucella brucei* and *Pasteurella tularemiæ*. In the course of experiments it has been noticed that the opsonocytophagic index of blood of rabbits infected with *Brucella* has been positive with *Brucella brucei* and at the same time mildly positive, or plus minus with *Pasteurella tularemiæ*. In this respect the specific opsonocytophagic reaction is also positive although in a scale considerably milder with *Pasteurella tularemiæ*, that may be an indication of an antigenic relation with *Brucella brucei*. In the present experiment as in tests previously performed in no case parallergergy has been observed between brucellin and tularin. In individuals infected with *Brucella* no positive skin-allergic test with tularin has been seen. The amino acid set of the antigenic protein is in all four kinds of bacteria similar. However, the carbohydrate set indicates a similarity of *Pasteurella tularemiæ* to *Pasteurella multocida*. There is no similarity of *Brucella brucei* to *Pasteurella rodentium*.