

**BIBLIOTEKA
Towarzystwa lekarskiego
W KRAKOWIE.**

Z PRACOWNI WŁASNEJ.

DOŚWIADCZENIA NA ZWIERZĘTACH Z TUBERKULINĄ.

DONIESIENIE PIERWSZE.

[Rzecz, czytana na posiedzeniu Warsz. Tow. Lek. w d. 5 Maja 1891 r.]

Podał

O. Bujwid.

W Grudniu roku zeszłego miałem sposobność przekonania się, iż wytwory przemiany materii bakterij gruźliczych po wstrzyknięciu świnkom morskim, dotkniętym gruźlicą, powodują charakterystyczny odczyn miejscowy i ogólny. Też same wytwory, wstrzyknięte osobom chorym, na wilka i gruźlicę wywołały następnie odczyn, właściwy płynowi KOCH'a.

Wtedy już nadałem mieszaninie wytworów pomienionych nazwę tuberkuliny, która to nazwa wkrótce i przez KOCH'a jego środkowi nadaną została.

Dalsze badania, wykonane przez innych autorów, a mianowicie przez HUEPPE'go i SCHOLL'a, oraz CROOKSWANK'a, potwierdziły drogę przezemnie obraną, oraz przekonały, iż tuberkulina jest w istocie mieszaniną różnych produktów, wytwarzanych przez bakteryje gruźlicze, z wyjątkiem pewnej toksalbuminy, która się rozkłada podczas wyjaławiania otrzymanego przetworu.

Metoda, jakiej się obecnie trzymam przy otrzymywaniu preparatu tuberkuliny, z małemi zmianami jest tą samą, jaką podałem w № 4 Gazety Lek. z roku bieżącego. Obecnie używam czystych hodowli bakterij w buljonie i na agarze silniej rozwiniętych i skutkiem tego otrzymuję produkt silniej działający, przy tejże gęstości, zupełnie zbliżony w działaniu do tuberkuliny KOCH'a. Hodowle na agarze wyrastają prędzej, a po upływie 4 tygodni rosnąć przestają; natenęzas używam ich do otrzymania tuberkuliny; hodowle buljonowe rosną wolniej i dopiero po upływie 6 tygodni są silnie rozwinięte, przestają zaś rosnąć po 7—8 tygodniach. Doświadczenia próbne, wykonane na zwierzętach, wykazały, że ilość produktu, otrzymana z czystych hodowli, zdjętych z powierzchni agaru [największa ilość, jaką do tego użyłem, wynosiła 12 gramów], jest stosunkowo nieznaczna; główna zaś ilość tuberkuliny zawiera się w glebach, na których owe hodowle wyrosły. Z 12 gramów czystej hodowli można otrzymać około 5 ctm. sz. tuberkuliny, gdy tymczasem z 80 próbek gleby agarowej, na której owe 12 gramów czystej hodowli wyrosły, można otrzymać około 30 ctm. sześć. tuberkuliny.

2-140269

Akc. ZI.nr.

140269 200

VF B932 d 1891

Gliceryna nie lepiej oddziaływa na rozpuszczenie tuberkuliny z czystych hodowli, niż woda czysta, lub z dodaniem 5—10% gliceryny, dokładniejszych wszakże prób w tym kierunku nie przedsiębrałem, przekonawszy się, że zapomocą wody wyjałowionej można wyciągnąć tak z samych hodowli, jakoteż i z gleby odżywczej, przeważną ilość produktu.

Wygodniejszym do otrzymania większych ilości produktu jest buljon alkaliczny z mięsa z dodatkiem 0,5% soli, 5% gliceryny i 2% peptonu. Wytwory życiowe bakterij gruźliczych, po 6—8 tygodniach hodowania, znajdują się tutaj w obfitości i w stanie gotowym, tak, iż dla otrzymania tuberkuliny wystarcza zageścić płyn z hodowlą. Trudniej tylko otrzymać czystą hodowlę dobrze wyrośniętą w buljonie, niż na agarze. Daleko częściej dostają się do hodowli zanieczyszczenia, tak, iż nieraz trzeba odrzucać $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ kolbek z hodowlą buljonową.

W tej chwili będę mógł pokazać Szanownym Kolegom wygląd należycie rozrośniętych hodowli w buljonie i agarze. Warstwa agaru jest jednostajnie pokryta większymi i mniejszymi żółtawo-białawymi brodawkowatymi grudkami, przypominającymi zastygły tłuszcz wołowy, tylko o nieco bardziej mętnym połysku. Z jednej próbki otrzymać można, przy należytych rozroście, od 1—3 i więcej decygramów czystej hodowli i około $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ ctm. sześć. tuberkuliny.

Hodowla buljonowa przedstawia się w postaci przezroczystego płynu, w którym pływają większe i mniejsze kruche płatki czystej hodowli w sposób mocno przypominający oczka zastygłego tłuszczu na rosole.

Tak agarowe, jak i buljonowe hodowle, wydają charakterystyczny zapach, przypominający nieco bez perski i zarazem kwiat gryki. Zapach ten w produkcie gotowym w znacznej części niknie, pozostawiając zapach miodu, oraz ekstraktu mięsnego, lub skórki chleba razowego.

W celu otrzymania tuberkuliny wylugowuję kilkakrotnie na zimno wodą wyjałowioną agarowe hodowle i otrzymane po 24 godzinach wyciągi wyjaławiam za pomocą trzykrotnego ogrzania, co 6—12 godzin, do 100° C. przez 5—10 minut. Toż samo robię z buljonowymi hodowlami. Przy wyjaławianiu w płynie pojawia się męt rozkładającej się toksalbuminy, czy innego jakiegoś ciała białkowego. Wyjałowiony płyn filtruję za pomocą filtru PASTEUR'a, odpowiednio urządzonego przezemnie w tym celu w sposób, opisany w *Centralbl. für Bacteriologie*. Filtr składa się ze świeczki glinkowej, połączonej za pomocą rurki kauczukowej o grubych ścianach z kolbą grubościenną, przez której szyję przechodzi dwuotworowy korek kauczukowy. Jeden otwór łączy się ze świeczką, drugi z kolbą, z której powietrze zostaje wypompowaniem za pomocą pompki BUNSEN'a. Świeczka, rurka i kolba z korkiem uprzednio ulegają wyjałowieniu. Za pomocą takiego filtra w ciągu kilku godzin można przefiltrować od 300—500 ctm. sześć. płynu i uwolnić go w ten sposób od bakterij. Następnie otrzymany płyn zgęszczam do gęstości syropu w aparacie BRIEGER'a, w cieplecie 45—50 C° przy ciśnieniu około 20—30 mm.

Otrzymany mętny płyn, gęstości syropu, poddaję raz jeszcze trzykrotnemu, krótko trwającemu wyjałowieniu, po którym męt zbija się w dość obszerne kłaczkę, opadające na dno, poczem pozostaje płyn klarowny, brunatny, właściwego zapachu, gęstości około 1,150—80, zawierający w obfitości sole, pepton,

oraz około 50% gliceryny, obok właściwie działającej nieznaney substancyi. Tak otrzymany przetwór działa na zwierzęta w sposób mniej lub więcej podobny do tuberkuliny Koch'a, t. j. wstrzyknięty świnkom morskim, dotkniętym gruźlicą, w ilości 0,1 ctm. sześć, wywołuje u nich podwyższenie ciepłoty o 1—2° C.. Ścisłejsze oznaczenie zawartości działającej substancyi dotąd nie jest mi znane i sądzę, że dotąd wogóle nie jest możebnem.

Tuberkulina, otrzymana przezemnie, jest płynem ściśle wyjałowionym, nie zawierającym resztek martwych bakterij gruźliczych, co wynika ze sposobu jej otrzymywania, a mianowicie skutkiem filtrowania przez glinę. Nie można tego powiedzieć o tuberkulinie Koch'a, która zawiera resztki martwych bakterij gruźliczych, oraz pewnego rodzaju laseczki, nieszkodliwe zresztą, które oznaczyłem jako *bacillus aërophilus*, pochodzący z powietrza. Tuberkulina Koch'a posiada nieco bardziej ciemną barwę, co zależy, być może, od stężania w parownicach przyrządu BRIEGER'a, metalowych, zawierających miedź; jedna porcyja tuberkuliny, przezemnie w takimże przyrządzie niedawno otrzymana, również posiadała tę samą barwę.

Przystąpimy teraz do właściwego przedmiotu, który nas dzisiaj obchodzi, mianowicie do doświadczeń na zwierzętach.

Właściwie mówiąc, jakkolwiek od Grudnia r. z. jestem niemi zajęty, mogę je uważać dopiero za rozpoczęte.

Ogółem użyłem do doświadczeń w mojej pracowni 11 myszy, 8 świnek morskich i 7 królików, prócz tego rozpocząłem doświadczenia nad 2 jałówkami, nad 13 świnkami, 11 królikami i 4 psami, w Instytucie medycyny doświadczalnej ks. OLDENBURSKIEGO w Petersburgu, o których będę mówił później, ponieważ doświadczenia te dopiero zostały rozpoczęte.

I. Wstrzykiwania tuberkuliny u zwierząt zdrowych.

1) Świnka zdrowa, o ciepłocie kilkakrotnie sprawdzonej, wynoszącej w odbytnicy 36,4—37° C..

30. XII. Po wstrzyknięciu 0,3 ctm. sześć. tuberkuliny

w 6 godzin	ma ciepłotę	37,6° C.
w 9	" "	38° C.
w 14	" "	37,8° C.
w 24	" "	37,9° C.
w 46	" "	36,6° C..

2) 2 świnki, zdrowe, wagi 456 i 338 grm., ciepłota przed rozpoczęciem wstrzykiwań 37—37,4° C..

19. III. Po wstrzyknięciu 0,2 ctm. sześć. tuberkuliny, ciepłota pozostała bez zmiany.

5. IV. Po wstrzyknięciu 0,5 tuberkuliny, ciepłota pozostała bez zmiany.

27. IV. Po wstrzyknięciu 1 ctm. sześć. tuberkuliny, ciepłota podniosła się w 6 godzin z 37,6° C. do 39,2° C. u pierwszej i do 38,5° C. u drugiej. Waga świnek, w ten sposób traktowanych, które dostały po 3—4 ctm. sześć. tuberkuliny, wcale nie uległa zmianie na niekorzyść, przeciwnie nieco się powiększyła.

3) 6. III. Myszy dostały po 0,1 ctm. sześć. tuberkuliny; żadnych widocznych zmian nie przedstawiają.

4) 4. V. 4 króliki z ciepłotą 38,6°; 38,4°; 39,2° i 39,1° C., jeden 2, drugi 1, dwa zaś po 0,5 ctm. sześć. dostały po dwa grm. tuberkuliny. W 5 godzin potem ciepłota 40, 39,6, 39,6, i 40,6. Od tej chwili ciepłota zaczyna się zniżać, a następnego dnia staje się prawidłową.

Widzimy ztąd, że zwierzęta zdrowe, jak: myszy, świnki i króliki, są bardzo mało wrażliwe na działanie tuberkuliny. Podczas gdy 0,1 u zdrowego człowieka powoduje silną gorączkę, do 40° C. dochodzącą, u zwierząt wzmiankowanych żadnego widocznego odczynu nie powoduje, dopiero 0,3—0,5 ctm. sześć. u świnek, zaś 0,5—1,0 u królików daje wyraźną różnicę ciepłoty.

II. Doświadczenia na chorych zwierzętach.

8. XII. Zaszczepiono do otrzewnej 2 świnkom po $\frac{1}{2}$ ctm. sześć. płwociny gruźliczej, zawierającej prawie czyste bakteryje gruźlicze.

26. XII. Jedna świnka zdechła. Znalaziono gruźlicę rozległą otrzewnej wątroby, nerek [mniej rozległą] i gruźlicę prosówkową płuc z wysiękiem opłucnej.

27. XII. Drugiej śwince [nieco wychudzona, smutna] wstrzyknięto [przy ciepłocie subnormalnej 35° C.] 0,3 tuberkuliny. W 12 godzin ciepłota spadła do 34° C., świnka z objawami zapaści, zdawało się, wkrótce padnie.

28. XII. Ciepłota 36,7° C.. W miejscu uprzedniego zaszczepienia płwociny guzik twardawy, wielkości małego orzecha, przy dotykaniu bolesny. Następnego dnia ciepłota około 36° C.. Stopniowo guzik słabo wyczuwalny.

5. I. 0,1 tuberkuliny, przy ciepłocie 37° C..

6. I. Po 24 godzinach ciepłota 37° C..

7. I. 37,8° C.. 8. I. 38,5° C.. Wstrzyknięto 0,2 tuberkuliny, w 8 godzin ciepłota 38,9° C..

9. I. Ciepłota 37,5° C.. Następnego dnia ciepłota waha się pomiędzy 36,8°—38° C..

16. I. Po zaszczepieniu 0,5 ctm. tuberkuliny, świnka padła przy objawach zapaści. Znalaziono gruźlicę sieci wielkiej, umiejscowioną w postaci dużych serowatych guzów. Gruźlica wątroby bardzo słaba, gruźlica płuc — po kilka gruzełków w obu dolnych płatach. W narządach, badanych drobnowidzowo, uwydatniają się bardzo duże ogniska zapalne, *resp.* gruzełki z bardzo nielicznymi, nieraz niedającymi się odszukać lasecznikami gruźliczemi, zupełnie odwrotnie niż przy śmierci z zakażenia gruźlicą, bez interwencji tuberkuliny, co zdarza się niekiedy u królików, nigdy prawie u świnek.

24. I. Zaszczepiono pod skórę 3 świnkom po 0,2 słabo mętnego płynu, otrzymanego z rozdrascia grudki czystej hodowli w wodzie wyjałowionej.

Ciepłota przed zaszczepieniem 37,8°—38,2° C..

13. II. U wszystkich 3 świnek w miejscu zaszczepienia duże guzy z gęstą serowatą zawartością, w której można znaleźć niezbyt liczne bakteryje gruźlicze, zawarte przeważnie w białych ciałkach. Ciepłota 37,8°—37,9° C.. 2 świnki z większemi guzami dostały po 0,1 tuberkuliny, 3-a została dla kontroli.

Po 6 godzinach ciepłota u świnek, którym wstrzyknięto, 39,2° C., u drugiej dla kontroli 37,6° C..

14. II. Ciepłota 38,6°—38,7° C.. Zawartość guzów wyraźnie płynniejsza, po wyciśnięciu u jednej wypływa surowiczowo-krwawy płyn, o niezbyt licznych bakteryjach, również wewnątrz białych ciałek.

15. II. Ciepłota 37,8° C.. Nacieczenie naokoło miejsca zaszczepienia bardzo zmniejszone, guzy bardzo małe.

17. II. 0,1 tuberkuliny, przy ciepłocie 37,8° C., w 5 godzin potem ciepłota 39,5° C., toż samo w 8 godzin.

18. II. Ciepłota 38,2° i 38,8 C..

19. II. Guziki prawie znikły. Natomiast w miejscu pierwszego zaszczepienia tuberkuliny [rozcieńczonej $\frac{2}{3}$ objętości wody wyjałowionej] pojawia się stwardnienie, które stopniowo schodzi, jako obumarły kawałek skóry. To samo dzieje się u obu świnek chorych, u zdrowych nie podobnego miejsca nie ma.

27. II. Wstrzyknięto 0,1 tuberkuliny, przy ciepłocie 37,8° i 38° C., w 8 godzin ciepłota 39° i 40,2° C..

28. II. Ciepłota 38,4° — 33,8° C.. Waga 1) 351 grm., 2) 426 grm..

1. III. Ciepłota 37,6° — 38,4° C..

Guzik u pierwszej świnki zupełnie znikł, u drugiej bolesny, mniejszy.

Następne wstrzyknięcia 11, 15 i 19 po 0,1 ctm. sześć. Zwierzęta dość mocno osłabione, reagują wyraźnie podwyższeniem ciepłoty od 38,5°—39,7° C.. W przestankach pomiędzy wstrzykiwaniami ciepłota bardzo mało różni się od normy, zaledwo o 0,2°—0,5° C.; u świnki, której nie szczepiono, dla kontroli, stopniowe wychudnienie i osłabienie widoczniejsze niż u leczonych; guz w miejscu zaszczepienia rośnie, potem pęka i wydziela serowatą gęstą ropę. Gruczoły pachowe i pachwinowe od strony odpowiadającej zaszczepieniu łaseczników gruczołowych coraz wydatniejsze. Ciepłota 37,5°—38,6 C., wyższa niż u szczepionych tuberkuliną w czasie pomiędzy jednym a drugim wstrzyknięciem.

13. III. Świnka kontrolowana padła przy wadze niżej o 60 grm. od poprzedniej [notowanej przed trzema tygodniami]. Znalezione: duży guz pod skórą, w miejscu szczepienia, zropiałe gruczoły pachowe i pachwinowe z obu stron; gruczoła prosówkowa obu płuc, wątroby, śledziony [2 razy powiększona, miękka, czerwona], nieco gruczołków w otrzewnej i w nerkach. Badanie drobnowidzowe uwydatnia bardzo liczne drobne gruczołki w wymienionych narządach, z bardzo obfitymi bakteryjami gruczołowymi. Nacieczenie drobnokomórkowe w okolicy gruczołków znacznie mniej wyrażone, niż u świnki traktowanej tuberkuliną.

Ponieważ po ostatnich mianowicie wstrzykiwaniach zauważono upadek sił u zwierząt, którym wstrzykiwano, zrobiono zatem przerwę trwającą 17 dni. Po tym czasie zwierzęta nieco się poprawiły ogólnie, jedna świnka przybrała 20 grm. na wadze. Wrzody w miejscu szczepienia nie ponowiły się, powiększyły się jednak gruczoły pachowe i pachwinowe. Pod koniec tego okresu zaczęły ponownie gorączkować 37,8°—38,8° C.. Wstrzykiwania zostały na nowo rozpoczęte i ponowione 5, 13, 23 i 29 Kwietnia. Podczas ostatnich wstrzykiwań, również 0,1 tuberkuliny, zwierzęta były bardzo osłabione i ciepłota zaczęła być niższą, subnormalną, mianowicie u pierwszej świnki. Po 2 ostatnich wstrzyknięciach odczyn gorączkowy był słabo wyrażony, ciepłota podniosła się z 36,5° do 37,6°—38,1° C. przyczem za każdym razem po wstrzyknięciu zwierzę wydawało się zwawszem i powracało do łaknienia. 29. IV. w 3 godziny po wstrzyknięciu 0,1 tuberkuliny, świnka 1 padła. Znalezione następujące zmiany pośmiertne: pod skórą, w miejscu szczepienia bakterij gruczołowych, nie ma ani śladu ropnia,

zaledwie małe zaczerwienienie. Gruczoł pachowy strony odpowiedniej zropiały, wielkości ziarna dużego grochu, podobnież kilka drobniejszych gruczołów w pachwinie lewej. Oba płuca twarde, włóknisto chrząstkowej spójności, mają wygląd marmurkowy, od licznych, szarych, włóknistych, żółtych, serowatych i krwawo nacieczonych ognisk, pośród których widnieją wysepki zupełnie zdrowej tkanki płucnej. W wątrobie nieliczne drobne prosówkowe gruzelki. W śledzionie małej, bladej, podobnież nieliczne drobne gruzelki. Nadnercza oba powiększone, stwardniałe. Nerki i otrzewna zdrowe. Badanie drobnowidzowe jeszcze nie dokonane.

III. Doświadczenia na królikach z zakażeniem komory przedniej oka i podskórnem.

3. I. 2 króliki, szary i biały, dostały do komory przedniej bardzo drobną ilość słabo mętnego płynu, z roztartej grudki hodowli czystej, agarowej. Ciepłota obu tych królików, jak również u zdrowego, wziętego dla kontroli, wynosiła od 37,5°, 37,4° i 38° C.. W ciągu tygodnia rogówka zmętniała i pojawił się silny odczyn w całej łącznicy.

23. I. Stan przedstawia się, jak następuje:

Silne nastrzyknięcie naczyń łącznicy, mianowicie poczynając od miejsca uklucia na granicy rogówki. Tworzy się pęczek naczyńniowy na rogówce mętniej o tyle, że z trudnością widać na dnie komory kilka drobnych ziarnistych tworów. U białego królika duży powierzchowny wrzodzik z dnem serowatem w miejscu uklucia. U szarego królika zmiany mniej natężone. Biały królik zostaje podany wstrzykiwaniom, szary zostawiony dla kontroli.

23. I. Wstrzyknięto pod skórę 0,4 ctm. sześć. gęstej wyjałowionej hodowli bakterij gruźliczych. Ciepłota nie zmieniła się, miejscowo żadnych zmian. W miejscu zaszczepienia powstał zamknięty, z początku nieco chęlbocący guz, w ciągu tygodnia powiększył się on do wielkości orzecha laskowego i tak pozostał aż do obecnej chwili.

29. I. Wstrzyknięto 0,4 ctm. sześć. tuberkuliny bez odczynu ogólnego, dno powierzchownego ropnia wygląda nieco czyściej.

13. II. Ponowne wstrzyknięcie 1 ctm. sześć. tuberkuliny, ciepłota z 36,4° C. po 6 godzinach podniosła się do 38,6° C., następnego rana 37,6° C.. Owrzodzenie większe. Powiększone również i nastrzyknięcie naczyń.

17. II. Wstrzyknięto do naczyń 1 ctm. sześć., ciepłota 39,7° C., stan oka bez zmiany.

27. II. Wstrzyknięto 0,5 ctm. sz. tuberkuliny. Ciepłota 38,2° C..

6. III., 11. III., 15. III., 19. III. wstrzyknięto po 0,5 ctm. sz. tuberkuliny. Odczyn gorączkowy takż sam; miejscowego wyraźnego odczynu nie ma. Owrzodzenie powierzchowne zagoiło się; rogówka przezroczysta i nastrzyknięcie łącznicy zmniejszyło się u obu królików. Natomiast na dnie komory oka widać dość znaczne masy serowate, które u królika traktowanego tuberkuliną są wiele mniejsze niż u drugiego. Ciepłota trzyma się u obu w granicach 37,6°—38° C., z wyjątkiem dni wstrzykiwań, natenczas bowiem jest wyższą u traktowanego tuberkuliną.

13. IV., 14. IV. i 23. IV. dostał po 0,5 ctm. sześć., zaś 27. IV. i 3. V. po 1 ctm. sześć. tuberkuliny. Odczyn gorączkowy po 1 ctm. był wyraźniejszy i dochodził do 39,5° C.. Miejscowe zmiany także same. Stan ogólny i odżywianie królika traktowanego nieco lepsze niż kontrolowanego. W ostatnich dniach królik ten zaczyna nieco gorączkować.

O królikach zarażonych przez podskórne wstrzyknięcie niewiele mam dotąd do powiedzenia, równie jak o myszach i innych zwierzętach, z którymi doświadczenia są w dalszym ciągu dokonywane. Zestawiając dotychczasowe spostrzeżenia, widzimy, co następuje:

- 1) Zdrowe zwierzęta są bardzo mało wrażliwe na działanie tuberkuliny.
- 2) Wrażliwość zwierząt chorych na gruźlicę jest bez porównania większą. Zwierzęta zarażone gruźlicą podskórnie i do otrzewnej szybciej reagują, niż zwierzęta [*resp.* króliki], którym zaszczepiono gruźlicę do przedniej komory oka.
- 3) Tuberkulina powstrzymuje rozwój gruźlicy u zwierząt nią dotkniętych na pewien przeciąg czasu.
- 4) Wstrzykiwanie tuberkuliny przy gruźlicy podskórnej może oddziaływać korzystnie nawet wtedy, gdy się nie tworzy martwiak skóry i tkanki podskórnej w miejscu zakażenia.
- 5) Owrzodzenia gruźlicze mogą być pod wpływem tuberkuliny zagojone bez śladu i bez widocznej szkody dla ustroju.
- 6) Pod wpływem tuberkuliny bakteryje w tkankach ulegają pewnym zmianom, co się wyraża brakiem bakteryj w ogniskach gruźliczych u zwierząt, traktowanych tuberkuliną, a przynajmniej znacznem zmniejszeniem ilości tychże bakteryj w takich ogniskach.