

ÜBER FUNKTIONSTÖRÜNGEN DER NEBENNIERE IM AKUTEN STRAHLENSYNDROM

Männliche Ratten erhielten Ganzkörperbestrahlungen von 800 „r“. Die Nebennierenregion der Ratten wurde mit Blei allseits geschützt. Es wurde der Kortikosterongehalt des aus der Nebenniere abfließenden Blutes in vivo, sowie die kortikosteronsynthetisierende Fähigkeit der Nebennieren in vitro bestimmt. Die Nebennieren wurden histologisch untersucht. Die Resultate wurden mit den Daten von gleichwertigen Tieren, welche unter identischen Bedingungen bestrahlt wurden, jedoch nicht durch Blei geschützt waren, verglichen. Es wurde festgestellt, dass der Kortikosterongehalt des venösen Blutes der abgedeckten Nebenniere rasch ansteigt und noch nach 48 Stunden höhere Werte aufweist, als die Gruppe der nicht abgedeckten Tiere. Bei der Hälfte der nicht geschützten Tiere fällt die Hormonsekretion im Endstadium praktisch ganz aus, wogegen diese Erscheinung bei den geschützten Tieren überhaupt nicht gesehen wurde. Die Synthetisierungsfähigkeit des Hormons war während des ganzen Versuches bei der geschützten Gruppe bedeutend höher. Diese Funktion dürfte bei den Abwehrfunktionen des Organismus eine ausschlaggebende Rolle spielen.

Az V. Honvédorvosi Tudományos Értekezleten, 1961. október 28-án elhangzott előadás nyomán.

A Honvéd KÖJÁL és az Országos Közegészségügyi Intézet Bakteriológiai Osztálya közleménye.

A gázoedemát okozó clostridiumok immunfluorescens vizsgálata

Írta: Geck Péter dr. állatorvos-alezredes és Szántó Rózsa dr.

Közismert, hogy a gázoedemát okozó Clostridiumok, a Clostridium perfringens, Clostridium oedematiens, Clostridium histolyticum és Clostridium septicum, az emberi és állati béltraktusban rendszeresen előforduló baktériumok, amelyek faecessel kerülnek a talajba, ahol spórás állapotban hosszú ideig megőrzik életképességüket.

Gázoedemás megbetegedést rendszerint csak akkor okoznak, ha súlyos szövetröncsolással járó sérülést következtében kerülnek a szövetekbe.

Statisztikai adatok szerint a háborús sérülések 30%-a szennyeződik Clostridiumokkal és ezek kb. 5%-ából gázoedema alakul ki.

A betegség kórképében és annak néha igen rohamos kifejlődésében a Clostridiumok nagyfokú invazív és toxikus képességének egyaránt szerepe van. A kórokozók megfelelő anaerob körülmények között, anoxiás környezetben gyors szaporodásnak indulnak. A kórokozó törzstől és annak toxintermelésétől függően a betegség klinikai lefolyásában egyszer a szövetek elhalása, máskor a nagyfokú oedema, vagy a gázképződés áll az előtérben. A toxinhatás következtében súlyos általános intoxikációs állapot alakul ki.

Gázoedemás megbetegedésekben a Cl. perfringens 70—80%-ban, a Cl. oedematiens 30—40%-ban, a Cl. septicum 10%-ban szerepel kórokozóként.

A Clostridiumok identifikálása nehéz és hosszadalmas feladat, rendszerint több napot, esetenként 1—2 hetet vesz igénybe. Azért fordult figyelmünk az immunfluorescens identifikálási módszer felé, mert viszonylag egyszerű, gyors és nagyfokú specificitással rendelkezik.

Munkánkban a Cl. perfringens, Cl. oedematiens, Cl. histolyticum és a Cl. septicum gázoedemát okozó baktériumokkal foglalkoztunk. Ellenőriztük a tör-

zsek tenyésztési, morfológiai, biokémiai és állatpatogenitási tulajdonságait, valamint a spórák hőrezisztenciáját.

Az egyes baktériumtörzsekből antigént készítettünk, melyekkel nyulakat immunizáltunk és magas titerű antibakteriális immunsavókat nyertünk.

Ellenanyagjelzésre a Lissamine—Rhodamin RB 200-as fluorescens festéket használtuk, amely fluorescens mikroszkópban narancsvörös színben fluoreszkál.

A specifikus ellenanyagok globulin frakcióját telített ammóniumsulfáttal csaptuk ki és Rhodaminnal jeleztük egyrészt a teljes immunsavót, másrészt a specifikus globulin frakciót. Összehasonlítás céljából kicsaptuk a jelzett teljes savó globulin frakcióját is, amikor is meggyőződünk, hogy a kicsapás nem zavarja meg a már létrejött fluorochrom fehérje kapcsolatot. Az indirekt festéshez szükséges nyúl antiglobulint kecskében termeltük.

Rhodaminnal jeleztük a teljes kecskesavót, ennek globulin frakcióját és külön fluorochromizáltuk a nyúl-globulin tartalmú savó globulin frakcióját is.

Az immunkötés specificitásának ellenőrzésére ellenanyagot nem tartalmazó natív nyúl savót és külön nyúl globulint fluorochromizáltunk Rhodaminnal, azzal a céllal, hogy kontrollként használjuk a baktériumkenet festéseknél.

Minden homolog kenet mellé kontroll kenetet készítettünk a következő séma szerint:

1. homolog törzs + a többi gázoedemát okozó Clostridium törzs,
2. homolog törzs + nem patogén Clostridiumok,
3. homolog törzs + Cl. botulinum A és B típus,
4. homolog törzs + Escherichia coli és Salmonella-csoport,
5. homolog törzs + Gram pozitív patogén coccusok.

A baktériumkenetet hővel, vagy etilalkohollal fixáltuk, majd festés után Leitz-rendszerű fluorescens mikroszkópban vizsgáltuk kék fényel, általában 300—400-szoros nagyítással.

A vizsgálatok során néhány esetben észlelt nem specifikus gyenge fluorescencia kiküszöbölésére a Coons—Kaplan—Leduc által ajánlott egér májporos kimerítési módszert alkalmaztuk. Munkánkban a Coons és munkatársai által ajánlott direkt és indirekt festési módszert használtuk.

A direkt festési eljárásnál a fixált homolog és kontroll baktériumkenetet homolog jelzett immunsavóval hoztuk össze.

A homolog immunsavó specifikusan kapcsolódik a megfelelő baktériumhoz úgy, hogy kimosással sem távolítható el és az immunsavók fehérjemolekuláiba beépült fluorescens festék világítása jelzi a fluorescens mikroszkópban, hogy specifikus kapcsolat jött létre. Fentiek alapján érthető, hogy a kontroll kenet nem fluoreszkál, mivel a kimosás alkalmával a festék tartalmú savót is kimostuk, s azért a látótér egyneműen sötét marad.

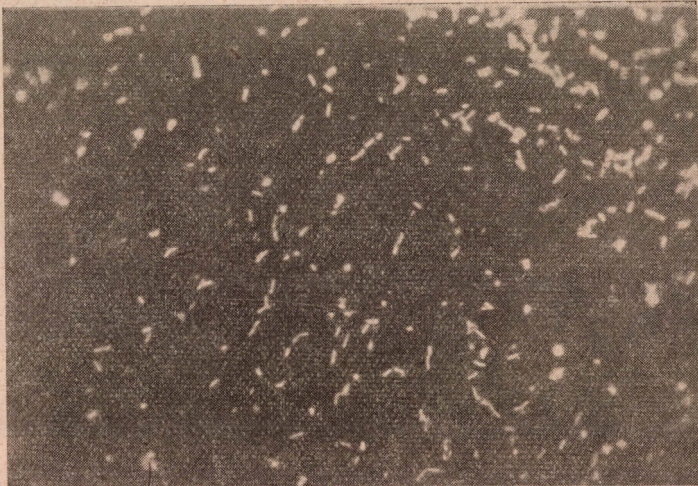
A direkt festési módszer hátránya, hogy minden specifikus immunsavót külön fluorochromizálni kell, míg az indirekt festési eljárásnál csak a nyúl antiglobulint kell jelezni fluorescens festékekkel és specifikus immunsavóként jól használhatók a nyúlban termelt tömény, vagy 1:10-es hígítású laboratóriumi diagnosztikus savók.

Az indirekt festési eljárásnál a fixált baktérium és kontroll kenetre először jelzetlen homolog immunsavót helyeztünk, majd kimosás után fluorochromizált nyúl antiglobulint cseppentettünk a kenetre. Ekkor a baktériumhoz kötődött nyúl immunsavó globulin frakciója kapcsolódik a fluorochromizált nyúl antiglobulinhoz és így az antiglobulin indirekt módon festi meg a baktériumokat. Kimosás és szárítás után a kenet alkalmas a fluorescens mikroszkópban való vizsgálatra.

Natív nyúlsavót és globulint is fluorochromizáltunk, kontrollként, azzal a céllal, hogy megfesti-e a baktériumokat. Kimosás után a baktériumkenetek egyetlen esetben sem adtak fluorescenciát. A fent említett módszerekkel számos vizsgálatot végeztünk, a fontosabb eredményeket a következőkben foglalhatjuk össze.

Mínt hogy konkrétan a gázoedemát okozó *Clostridium*ok immunfluorescens vizsgálatára irodalmi adatok nincsenek, számos technikai és módszerbeli nehézséget kellett előjáróban megoldani.

Megfelelő vaccina és magas titerű immunsavó nyerése problémájának megoldása után módosítottuk az immunsavó konjugálásának módszerét. Eddig ugyanis a savó fehérje mennyiségétől függően kellett a fluorescens festék mennyiségét kiszámítani, ami előzetes fehérje meghatározást igényelt. Az acetonnal oldott Rhodamin és a foszforpentachlorid koncentrációja sem megbízhatóan stabil az aceton gyors párolgása miatt, ezért néhány esetben az 1 ml savóra számított 0,1 ml Rhodamin festék vagy nem került megfelelő mennyiségben az immunsavóba, vagy a megengedettnél több került bele és így a savi pH-jú festékelegy kicsapta a fehérjéket. Mindkét hibaforrást sikerült kiküszöbölni, ha a konjugálás alkalmával csak a savó pH-ját figyeltük és a szabályosan elkészített festékelegyet $+2\text{ C}^\circ$ -on állandó keverés közben lassan addig cseppentettük a savóhoz, míg pH-ja 7-re állt be. Ezzel a módszerrel sikerült elérnünk, hogy sohasem csapódott ki fehérje a savóból és ugyanakkor a savó minden esetben csillogó narancsvörös színben fluoreszkált.



1. sz. kép

A megfelelő metodika kidolgozása után a gázoedemát okozó kórokozók kimutatására direkt immunfluorescens vizsgálatokat végeztünk. A *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. histolyticum* és *Cl. septicum* és a fent felsorolt kontrollok direkt festési módszerrel homolog fluorochromizált teljes immunsavóval festve a homolog baktériumok csillogó narancsvörös színben négy kereszttel fluoreszkáltak, míg a kontroll kenetben fluoreszcencia nem volt látható.

A vizsgált *Clostridium*ok spórákat tartalmazó tenyészeit festve a spórák rendkívül intenzíven fluoreszkáltak, míg a baktériumok egyéb részei kevésbé intenzív fluoreszcenciát mutattak. Ez a jelenség további vizsgálatokat igényel.

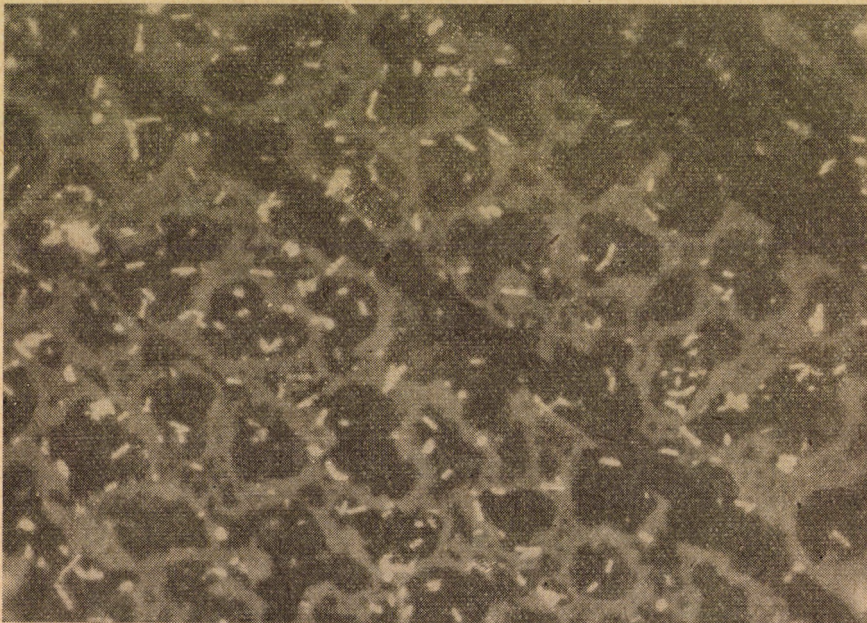
Összehasonlítottuk a jelzett homolog immunsavók és egyrészt az ebből kicsapott globulinok, valamint a külön fluorochromizált immunglobulin kötési és festési készségét. Megállapítható volt, hogy úgy a savók, mint a globulinok egyformán jól festik a homolog baktériumtörzseket, csupán a mosás ideje rövidül meg a globulin festés esetében.

A reakció specifikusságának további megerősítésére a *Cl. perfringens* és *Escherichia coli* baktériumokat 1:10 arányban kevertük és homolog *Cl. perfringens* immunsavóval festettük. Csak a *Cl. perfringens* nagyságrendű bakté-

riumok fluoreszkáltak, míg a coli baktériumok nem adtak értékelhető fluoreszcenciát.

Összehasonlító vizsgálatokat végeztünk az egér májporral végzett savó kimerítés hatására vonatkozóan is. Vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy a festett immunsavók és globulinok kimerítése alkalmával az egér májpor a kimerítésen kívül megköti az immunfehérjékhez nem kötődött szabad fluorescens festéket, aminek eredménye, hogy gázoedemát okozó Clostridiumok esetén nem találtunk aspecifikus fluoreszcenciát.

Ugyancsak a reakció specifikusságát mutatja az a vizsgálatunk is, amikor Rhodaminnal jelzett nativ savóval és globulinnal festettük a fent említett kórokozókat és kontroll keneteket. A vizsgálat célja az volt, hogy megállá-



2. sz. kép

pítsuk, hogy az immunanyag nélküli nativ savó és globulin képes-e megfesteni a baktériumokat. Megállapítottuk, hogy a kenetek mosása után sem a gázoedemát okozó kórokozók, sem a kontroll baktériumok nem fluoreszkálnak a fluorescens mikroszkópban.

Cl. perfringens esetén típuspecifikus homolog fluorochromizált immunsavók és globulinok segítségével sikerült elkülöníteni egymástól az A és F típusokat.

Ebből a célból az általánosan használt főzési próbával 50 Cl. perfringens törzset tipizáltunk és a főzési próba eredményeit minden esetben sikerült reprodukálnunk a fluorescens módszerrel.

A fent leírtak alapján a direkt festési módszer alkalmasnak bizonyult a gázoedemát okozó Clostridiumok gyors identifikálására. Ezen módszer egyetlen hátrányát, azt ugyanis, hogy minden immunsavót és globulint fluorochromizálni kell, az indirekt módszerrel próbáltuk egyszerűsíteni.

Az indirekt módszer alkalmazhatóságának döntő előfeltétele a magas titerű nyúl antiglobulin tökéletes fluorochromizálása. Az indirekt festési módszerrel festett homolog baktérium kenetek a direkt festési módszerrel egyező, csillogó, négy keresztrel fluoreszkáltak, míg a controlok nem adtak fluoreszcenciát.

Nagyon fontos körülménynek találtuk a specifikus immunsavó alapos lemosását a baktérium kenetről, mivel a kontroll keneten maradt immunsavó a fluorochromizált nyúl antiglobulinnal kapcsolódva nem specifikus fénylést ad.

Az indirekt festési eljárással sikerült reprodukálnunk az összes eredményeket, amelyeket a direkt festési eljárással kaptunk és azt a következtetést vonhattuk le, hogy mind a két festési módszer egyaránt alkalmas a gázoedemát okozó Clostridiumok gyors identifikálására.

Vizsgálati eredményeinket összefoglalva megállapítható, hogy míg a gázoedemát okozó Clostridiumok klasszikus módszerekkel végzett identifikálásához több nap, illetőleg 1—2 hét szükséges, ugyanakkor az immunfluoreszcens módszerrel ez az idő 1—2 órára rövidíthető.

Vizsgálataink szerint az immunfluoreszcens módszer specificitása megegyezik a klasszikus módszerek érzékenységgel és specificitásával.

Összefoglalás

A Coons és munkatársai által leírt immunfluoreszcens eljárással vizsgáltuk a gázoedemát okozó *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. histolyticum* és *Cl. septicum* gyors identifikálási lehetőségét. A magas titerű antibakteriális immunsavókat és globulinokat Lissamine—Rhodamin RB 200-as fluoreszcens festékekkel jeleztük. A homolog és kontroll baktérium keneteket direkt és indirekt eljárással festettük. A keneteket Leitz-rendszerű fluoreszcens mikroszkópban vizsgáltuk. Vizsgálatainkban kb. 60 Clostridium törzset vizsgáltunk meg és megállapítottuk, hogy a vizsgált Clostridiumok és spóráik homolog jelzett immunsavóval, vagy immunoglobulinnal festve narancsvörös színben négy keresztel értékelhető specifikus fluoreszcenciát adtak a fluoreszcens mikroszkópban. Számos Gram pozitív és Gram negatív baktérium ugyanezen savókkal festve nem adott fluoreszcenciát. Ugyancsak hiányzott a fluoreszkálás, ha a Clostridiumokat Rhodaminnal jelzett nativ nyúlsavóval festettük.

Az immunfluoreszcens módszer alkalmasnak bizonyult a *Cl. perfringens* A és F típusainak elkülönítésére is.

Megfelelő, jelzett és egér májporral kimerített immunsavók és immunoglobulinok birtokában sikerült a gázoedemát okozó Clostridiumok több napot, gyakran 1—2 hetet igénylő identifikálását, ill. tipizálását 1—2 órára leszűkíteni.

IRODALOM

1. Coons, A. H., Kaplan, M. H.: *J. Exper. Med.* 1950. 91. — 2. Coons, A. H., Leduc E. H. és Connolly, J. M.: *J. Exper. Med.* 1955, 102. — 3. Chadwick, C. S., McEntegart, M. G., Nairn, R. C.: *Immunology* 1958. 1. — 4. Bulatova, T. I., Kabanova, E. A.: *ZSMEI* 1960, 3. —

Подполковник вет/сл. д-р П. Гек, д-р Р. Санто:

ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ КЛОСТРИДИЙ, ВЫЗЫВАЮЩИХ АНАЭРОБНУЮ ИНФЕКЦИЮ

Обследовались возможности скорой идентификации бактерий *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. histolyticum*, *Cl. vibrio septicum* причиняющих анаэробную инфекцию, с помощью иммунофлюоресцентного способа Кунса и сотр. Антибактериальные иммунсыворотки высокого титра и глобулины были мечены флюоресцентной краской Лиссамин—Родамин РБ-200. Мазки бактерий были окрашены прямым и косвенным способом и обследованы флюоресцентным микроскопом системы Лейц. В серии опытов обследовались около 60 штаммов клостридий и было установлено, что клостридии и их споры окрашенные меченой гомологической иммун-сывороткой, или иммунглобулином дали четкую специфическую флюоресценцию под флюоресцентным микроскопом. Одновременно многие грамм-положительные и отрицательные бактерии окрашенные теми же сыворотками флюо-

recenziókat nem adták. Ugyanakkor nem volt megfigyelhető a fluoreszcencia a frissen készített nyulak vérszérumában a fluoreszcencia vizsgálatakor.

Az immunofluoreszcencia vizsgálatakor megfigyelhetőek az A és B típusú bakteriumok.

Az eredeti módszerrel sikerült rövidíteni a típus meghatározásához szükséges időt 1 órára, a hagyományos módszerekkel szemben, amelyekhez 1-2 hét szükséges.

Dr. P. Geck, Oberstl. d. Vet. — D., Dr. R. Szántó:

UNTERSUCHUNG GASBRANDERZEUGENDER CLOSTRIDIEN MIT DER IMMUNFLUORESCENZ

Mit dem von Coons und Mitarbeiter mitgeteilten Immunfluoreszenzverfahren wurde die schnelle Identifizierungsmöglichkeit der gasbranderzeugenden *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. histolyticum* und *Cl. septicum* untersucht. Die Immunsere und Globuline hohen antibakteriellen Titer sind mit der Fluoreszenzfarbe Lissamine — Rhodamin RB—200 bezeichnet worden. Die Untersuchung der Ausstriche geschah mit einem Leitzschen Fluoreszenzmikroskop. An Hand der Untersuchungen von ungefähr 60 Clostridienstämme konnte festgestellt werden, dass die mit homolog bezeichnetem Immunsere oder Immunglobulin gefärbten Clostridien oder Sporen in orangeroter Farbe eine mit 4 Kreuzen bewertbare spezifische Fluoreszenz im Fluoreszenz-Mikroskop gaben. Zahlreiche, mit derselben Farbe gefärbte, grampositive und gramnegative Kontrollbakterien gaben keine Fluoreszenz. Die Fluoreszenz blieb auch dann aus, wenn die Clostridien mit Rhodamin gezeichnetem nativem Kaninchenserum gefärbt worden waren.

Die Immunfluoreszenz zeigte sich auch zur Trennung des Typus A und B des *Cl. perfringens* als geeignet.

Im Besitz entsprechender, mit gezeichnetem und durch Mauseleberpulver ausgeschöpfter Immunsere und Immunglobuline gelang die Identifizierung, bzw. Typisierung der gasbranderzeugenden Clostridien, die bisher mehrer Tage, oft 1-2 Wochen bedarfen, auf eine Stunde einzuengen.

Az V. Honvédorvosi Tudományos Értekezleten, 1961. október 27-én elhangzott előadás nyomán.

Karcag Városi Tanács Kórház Sebészeti Osztályának
és a Magyar Néphadsereg Egészségügyi Szolgálatának közleménye

Kísérleti adatok a dumping syndroma pathomechanismusának tisztázására

Írta: Clemens Marcell dr. és Torday Éva dr.

A dumping syndroma (továbbiakban d. s.) az irodalomban megjelent sok külföldi és utóbbi időben hazai közleményben közöltek eredményeképpen ma már jól körülírt és ismert tünetcsoportot alkot.

Jellemző tünetei, az étkezések után közvetlenül fellépő gyengeség, bágyadság, álmoság, szívdobogás, veritékezés és néha collapsus, keringési zavarra utalnak. Ezen tüneteket hányinger, gyomortáji nyomásérzés, erőteljes, hangos bélkorgások és hasmenés kísérheti.

A tünetcsoport kóroktana, annak ellenére, hogy létrejötteinek magyarázatára számos elméletet állítottak fel, tisztázatlan.

London és Polowzowa (18), Ravdin, Jonston és Morrison (22), valamint Abbott, Karr és Miller (2) kimutatták, hogy a vékonybélbe juttatott hypertóniás oldatok térfogata megnövekszik.

Abbott, Karr és Miller írta le, hogy szondán keresztül a jejunumba fecskendezett hypertóniás glucose oldat részben a glucose felszívódása, részben