

Warszawa, 30 września 1936 r.

URZĄD PATENTOWY



C 12 k 5/00

RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ OPIS PATENTOWY

Nr 23502.

Kl. 30 h, 6.

Schering-Kahlbaum A. G.
(Berlin, Niemcy).

Sposób wytwarzania wielowartościowych szczepionek laseczników kokluszu (Bordet-Gengou).

Zgłoszono 10 sierpnia 1934 r.

Udzielono 10 lipca 1936 r.

Pierwszeństwo: 14 września 1933 r. (Niemcy).

Od czasu odkrycia lasecznika kokluszu przez Bordet'a i Gengou'a napotyka się w literaturze wzmianki o tem, że lasecznik kokluszu potrzebuje bezwzględnie w pierwszych pokoleniach do swego wzrostu na sztucznej pożywce hemoglobiny, ale stopniowo daje się przyzwyczaić do pożywek, pozbawionych hemoglobiny (p. Handbuch der pathogen. Mikroorganismen, Kolle, Kraus, Uhlenhuth, tom V, 2, 1928, artykuł Löwenthala i Zurukzoglu, str. 1346 i nast.). Według nowszych badań autorów angielskich (porówn. Gardner i Leslie, The Lancet 222,9, 1932) przyzwyczajania hodowli do coraz innej pożywki ma zachodzić jednocześnie z przemianą antygenów. Jednorodne pod względem serologicznym fazy I i

II (względnie A i B) mają się przetwarzać w fazy III i IV, dające się serologicznie oddzielać i już zewnętrznie zaznaczające się kształtem swych kolonij. Fazy I i II odpowiadają postaci S, natomiast fazy III i IV mają reprezentować postać R. Szczególnie ważną jest rzeczą, że razem ze zmianą faz ginie również toksyczność kultur. Toksyczne są jedynie fazy I i II.

W przeciwieństwie do tych wszystkich danych przekonano się jednak, że z poszczególnych epidemij kokluszu w ostatnich latach dało się wyodrębnić przeszło 50 szczepów, które od szczepów, przytaczanych dotychczas w literaturze, różnią się zasadniczo tem, że pod każdym względem okazują się absolutnie stałymi. W

ciągu przeszło czteroletniej obserwacji hodowano te szczepy, przeprowadzając je przez sto posiewów, przyczem zachowały one bez zmiany wszystkie swoje właściwości. Żaden z tych szczepów nie dał się przyzwyczaić do pożywek, pozbawionych hemoglobiny. Jeżeli rosną one na podłożu, wolnem od hemoglobiny, to w sposób zupełnie niedostrzegalny. Zewnętrzny obraz kolonii pozostaje niezmieniony. O zmianie faz nie może być mowy, a ich toksyczność — na co trzeba zwrócić specjalnie uwagę — zostaje zachowana w całej pełni.

Te szczepy lasecznika koklusu różnią się zatem zasadniczo od szczepów, opisywanych dotychczas. Stanowią one materiał wyjściowy dla omawianych niżej antygenów częściowych, t. j. antygenów, powstających przez rozszczepianie antygenów naturalnych na oddzielne części. Jak już wspomniano, toksyczność laseczników koklusu jest znana już oddawna i polega na pewnej endotoksynie, silnie związanej z organizmem bakteryj. Wielokrotnie usiłowano już oddzielić tę ilość toksyny w postaci rozpuszczalnej od zasadniczo niejadowitych składników korpuskularnych bakteryj, t. j. składników, które nie przeszły do roztworu cząsteczkowego lub koloidalnego. Ze sposobów tych najbardziej znany jest sposób Besredki. Opisane dotychczas sposoby nie nadają się jednak do użytku, ponieważ otrzymywanie na ich podstawie toksyny wysokowartościowej, rozpuszczalnej i wolnej od bakteryj, udaje się naogół z regularnością niedostateczną.

Okazało się, że zupełnie niezawodnie można uzyskać substancje o znacznej toksyczności, jeżeli komórki bakteryjne doprowadza się do pęknięcia w taki sposób, aby otrzymana z nich masa przy badaniu mikroskopowem przedstawiała już tylko masę bezpostaciową. To pękanie względnie rozsadzanie komórek bakteryjnych

można osiągnąć np. przez działanie mechaniczne, jak rozcieranie w moździerzu z użyciem lub bez użycia piasku lub ziemi okrzemkowej, albo przez działanie roztworami hypotonicznymi, jak wylugowywanie zapomocą wody destylowanej, lub jeszcze skuteczniej przez wielokrotne zamrażanie i odtajanie hodowli, a więc zapomocą sposobu, wogóle niestosowanego dotychczas do uzyskiwania szczepionek bakteryjnych. Zawiesiny, wstępnie w ten sposób potraktowane, można następnie, np. przez odwirowanie, uwolnić od nierozpuszczalnych cząstek komórek bakteryj; tworzą one wówczas substancje trujące, które przeszły do roztworu, a poprzednio były zawarte w komórkach laseczników koklusu. Ich właściwości trujące łatwo jest wykazać przez wstrzykiwania doskórne, podskórne lub dożylnie zwierzęciu doświadczalnemu (królikowi lub śwince morskiej). Wycenienie wartościowości uzyskuje się przez oznaczenie tak zwanej Dosis necroticans minima u świnki morskiej lub królika. Zapewnia to również możliwość uzyskania pożądanego stężenia substancji toksycznej.

Można przytem postępować np. w sposób następujący.

Hodowlę lasecznika koklusu zawiesza się w fizjologicznym roztworze soli kuchennej i zamraża w mieszaninie oziębiającej. Po całkowitem zamarznięciu zawiesiny bakteryjnej doprowadza się ją ponownie do odtajania, a następnie znów do zamarznięcia.

Proces ten powtarza się kilkakrotnie. Przy badaniu mikroskopowem osadu zawiesin bakteryjnych, przedwstępnie w ten sposób obrobionych, okazuje się, że bakterje przeistoczyły się w masę bezpostaciową.

Działanie immunizacyjne (uodporniające) posiadają nie tylko trucizny rozpuszczające się, ale również i nierozpuszczające się i niezawierające jadu pozostałości bak-

teryjne. Oprócz otrzymywania antygenów trujących, lecz wolnych od bakterij, ma się również możliwość wytwarzania nietrujących antygenów lasecznika koklusz. Substancje trujące można usunąć również przez poddawanie tych substancyj działaniu ciepła w temperaturach wyższych, np. do 100°C.

Wynalazek niniejszy umożliwia ze szczepów o jednolitej toksyczności, po równomiernem a sztucznem odciążeniu trucizny, wytwarzanie szczepionek i nadawanie im ewentualnie każdorazowo żądanej zjadliwości, a to przez odpowiednie połączenie bakterij, pozbawionych trucizny, z roztworami trucizny, wolnymi od bakterij. W ten sposób można każdy z obu antygenów częściowych doprowadzić w stosownej ilości do działania i stworzyć najlepsze warunki uodpornienia ustroju.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób wytwarzania wielowartościowych szczepionek laseczników koklusu (Bordet-Gengou), znamienny tem, że stosuje się pochodzące z epidemij czasowo od siebie odległych szczepy bakterij lasecznika Bordet-Gengou, których właściwości hodowlane, jak również tworzenie się toksyn pozostają bez zmiany nawet

przy długotrwałem ich hodowaniu na sztucznych pożywkach.

2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tem, że komórki bakteryjne doprowadza się do pęknięcia tak, ażeby masa, otrzymana z tych bakterij, przedstawiała przy badaniu mikroskopowem już tylko masę bezpostaciową.

3. Sposób według zastrz. 2, znamienny tem, że hodowlę laseczników koklusu doprowadza się w fizjologicznym roztworze soli kuchennej wielokrotnie do zamarznięcia i odtajania.

4. Sposób według zastrz. 1 — 3, znamienny tem, że substancję trującą, zawartą w bakterjach, usuwa się całkowicie, np. przez odwirowanie.

5. Sposób według zastrz. 1 — 4, znamienny tem, że substancję trującą, zawartą w bakterjach, oddziela się całkowicie od substancji nietrującej przez ogrzewanie do 100°C.

6. Sposób według zastrz. 1 — 4, znamienny tem, że antygeny trujące i nietrujące łączy się ze sobą w stosunku, najlepiej nadającym się do celów uodpornienia ustroju.

Schering - Kahlbaum A. G.
Zastępca: M. Skrzykowski,
rzecznik patentowy.