

# PRZEGLĄD EPIDEMJOLOGICZNY

---

WYDAWANY PRZEZ  
PAŃSTWOWY ZAKŁAD EPIDEMJOLOGICZNY  
MINISTERSTWA ZDROWIA PUBLICZNEGO.



~~28,020/π.~~

---

REDAKCJA I ADMINISTRACJA: CHOCIMSKA 2b. (daw. Langnerowska). Tel. 243-84.

---

PRENUMERATA ZA TOM 50 ARKUSZ. 7000 Mk. ROCZNIE.  
CENA POJEDYŃCZEGO ZESZYTU 150 Mk. ZA ARKUSZ DRUKU

W A R S Z A W A.

# REGULAMIN

## ogłaszania prac w „Przeglądzie Epidemjologicznym”

1) „Przegląd Epidemjologiczny” zamieszcza prace oryginalne oraz streszczenia zbiorowe i referaty z dziedziny epidemjologii, bakterjologii, serologii i działów pokrewnych.

2) Prace należy nadsyłać pod adresem Państwowego Zakładu Epidemjologicznego:

Warszawa Chocimska 2b (dawn. Langnerowska).

3) „Przegląd Epidemjologiczny” pojawiać się będzie w terminach dowolnych w objętości 50 arkuszy druku rocznie.

4) Prace, przyjęte do druku, umieszczane będą w porządku napływania rękopisów, przyczem kolejność prac w poszczególnych numerach określa redakcja; dla prac nadchodzących pocztą za datę otrzymania uważaną będzie data wysłania.

5) Redakcja prosi o nadsyłanie prac pisanych po jednej stronie na maszynie lub bardzo czytelnie, z pozostawieniem marginesu i wolnego miejsca przed tytułem dla notat redakcyjnych.

6) Autorowie proszeni są o dołączanie do swych prac streszczeń w jednym z języków obcych (angielskim, francuskim, niemieckim).

7) Nadsyłane prace powinny być starannie wykończone, aby uniknąć znacznych zmian w korektach (znaczne zmiany poczynione w korektach odpłacane będą na koszt autora).

8) Tablice barwne i fotografie mogą być wykonywane w wyjątkowych tylko przypadkach z funduszków wydawnictwa.

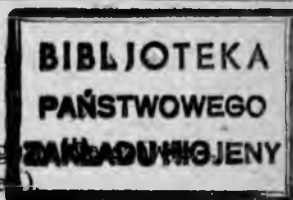
9) Redakcja prosi o dokładne podawanie bibliografji przy końcu prac pod tytułem „Piśmiennictwo”. Dane bibliograficzne zawierać winny nazwisko i inicjały autora, tytuł dzieła lub pisma oraz dla artykułów rok, tom i stronicę, zaś dla dzieł ilość stronic, nazwisko wydawcy, miejsce wydania i rok wydania (n. p. Nicolle Ch. Typhus exanthématique Bull. Pasteur 1920, XVIII, 49) — albo „Krusse W. Allgemeine Mikrobiologie” 1184 str. F. Vogel. Lipsk 1910 r. Inaczej podana bibliografja nie będzie uwzględniana.

10) Celem uniknięcia zwłoki korekty będą przesyłane autorom pozamiejscowym tylko na specjalne żądanie, lub o ile redakcja uzna to za konieczne.

11) Autorowie otrzymują po 25 odbitek swych prac na koszt wydawnictwa.

12) Honorarjum za prace oryginalne lub referaty zamówione wynosi 500 marek od arkusza druku.

Z Państwowego Zakładu Epidemiologicznego  
(Dyrektor Dr. Ludwik Rajchman)



## Badania nad pożywkami.

DONIESIENIE I.

### Zależność wzrostu bakterij chorobotwórczych na podłożach agarowych od czynników fi- zycznych.

Podał

Dr. STANISŁAW SIERAKOWSKI

Zastępca Dyrektora Zakładu, Kierownik Działu Szczepionek.

Przy współudziale

H. RABINOWICZÓWNY, Z. MODRZEWSKIEJ, E. SALAMONÓWNY  
Asystentek Zakładu.

I.

#### Cel i metody badania.

Badania te podjęte zostały głównie dla celów praktycznych, mianowicie, ażeby stwierdzić, czy sposób przyrządzania pożywek, przyjęty obecnie w pracowniach bakterjologicznych, prowadzi istotnie do najlepszego wyzyskania materiału, z którego przyrządza się pożywki. Dotyczy to pożywek przyrządzanych zarówno do badań nad ich wartością, gdzie zależy na możliwie dokładnem wyzyskaniu pożywki, jak i do wyrobu szczepionek ochronnych, gdzie chodzi przede wszystkim o zaoszczędzenie materiału i pracy, jak wreszcie do badań djagnostycznych, w których zależy na jak najbujniejszym wzroście bakterij chorobotwórczych.

Badania wykonywaliśmy we flaskach płaskich (typu *Roux'a*), pojemności 1 litra, których największa powierzchnia płaska wynosiła 200 cm. kwadratowych. Po nalaniu do flaski określonej pożywki, sterylizowano ją w autoklawie przy ciśnieniu 15 funtów angielskich, w ciągu 30 minut. Po wysterylizowaniu pożywka agarowa zastygała w temperaturze pokojowej. Do doświadczeń tych używaliśmy 5 gatunków bakterij: tufusu, cholery, dyzenterji typu *Shiga-Kruze*, odmienca X 19 oraz gronkowców. Pierwsze trzy wzięliśmy głównie z tych względów, że gatunków tych używa się do masowego wyrobu szczepionek oraz ze względu na różnice biologiczne pomiędzy niemi; dwa ostatnie ze względu na ich odmienne własności biologiczne.

Posiewanie odbywało się w ten sposób, że dwa do trzech cm.<sup>3</sup> hodowli buljonowej 24 godz. danych bakterij wlewano do flaski płaskiej pipetą, następnie flaskę poruszano w rękach tak, żeby cała powierzchnia agaru była zwilżona. Na jedno doświadczenie posiewano zawsze 5 flaszek, ażeby zmniejszyć możliwość wyników przypadkowych.

Szczepy bakteryjne, używane do doświadczeń, były zawsze te same. Przed rozpoczęciem doświadczeń, a następnie co miesiąc, były one kontrolowane na czystość. Posiane flaski wstawiano do ciepłarki o określonej temperaturze na określony przeciąg czasu. Po wyjęciu flaszek z ciepłarki kontrolowano je na czystość, sprawdzano, czy cała powierzchnia agaru jest zarośnięta i czy niema pożywek z agarem połamany. Flaszki zanieczyszczone, niezarośnięte na całej powierzchni oraz z agarem połamany, usuwano. Pozostałe zalewano roztworem fizjologicznym soli kuchennej w ilości 25 cm.<sup>3</sup> na flaskę i pozostawiano tak 20 do 30 minut. Następnie, poruszając zlekka flaską, splukiwano zawiesinę i zlewano do wyjałowionej flaski (każdą serję złożoną z 5 flaszek oddzielnie), filtrując zawiesinę przez wysterylizowany lejek z gazy. Każdą flaskę po splukiwaniu dwa razy 10 cm. roztworu fizjologicznego soli kuchennej. Wreszcie dla każdej serji płukano lejek. Do zawiesiny dodawano 1% formaliny 40%-owej, poczem trzęsiono ją na trzęsawce elektrycznej 15 minut, a następnie oznaczano ilość bakterij metodą nefelometryczną. Przytem określano miano danej zawiesiny, t. zn. ilość zawiesiny, która daje zmętnienie takie same, jakie daje standart, zawierający, w 10 cm. roztworu fizjologicznego soli kuchennej z dodatkiem 1% formaliny, 2—5 miligramów bakterij (wilgotnej wagi), zeszkrobanych z powierzchni świeżej, 18-godzinnej pożywki agarowej. Standarty, oddzielne dla każdego gatunku bakterij, były przygotowywane co dwa miesiące. Zawiesiny bakterij, należące do jednego doświadczenia, były zawsze porównywane z jednemi i temi sameimi standartami. Jeżeli badana zawiesina była zbyt gęsta, wskutek czego 0,2 cm. dawało zmętnienie większe niż standart, to zawiesinę taką rozcieńczano uprzednio 5—10 razy roztworem fizjologicznym soli kuchennej.

Oprócz metody nefelometrycznej, posługiwaliśmy się niejednokrotnie równolegle metodą liczenia ilości kolonij bakterij, zdolnych do rozwoju na płytkach z pożywką agarową, oraz oznaczaniem ilości bakterij w komorze do liczenia ciałek czerwonych krwi. Pierwsza z tych metod wykazuje jedynie ilość bakterij zdolnych do rozwoju, a bakterje niezdolne do rozwoju

nie są wykazane. Przy oznaczaniu wydajności pożywek powinny być i one brane pod rachubę. Pozatem metoda ta jest mniej ścisła, niż nefelometryczna i bardziej kłopotliwa. Druga metoda, liczenie bakterij w kamerze, jest również mniej ścisła i bardzo kłopotliwa.

Nasuwało się pytanie, jaka jest dokładność naszej metody, jak wiele różnic w wynikach można złożyć na karb niedokładności metody.

W tym celu wykonaliśmy następujące doświadczenie: do 50 flaszek płaskich nalano po 100 cm. jednej i tej samej pożywki agarowej, posiano bakterjami tyfusowemi i trzymano w cieplarni 24 godziny przy temperaturze 36°. Następnie flaszki te podzielono na 10 dowolnych grup po 5 flaszek w każdej. Każdą grupę splukano oddzielnie i porównano wyniki, obliczając ilość miligramów bakterij otrzymanych z jednego cm.<sup>3</sup> pożywki.

Wyniki przedstawia tablica I-sza.

TABLICA I.

Serja	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Ilość mlg. bakt. otrzym. z 1 cm <sup>3</sup> pożywki agarowej	5,8	5,86	5,96	5,98	5,99	6,01	6,1	6,3	6,34	6,73

Największa różnica, jaką w tym doświadczeniu dostrzeżono, wynosiła 16%, najmniejszej otrzymanej liczby. A więc taka jest mniej więcej dokładność naszych badań.

### DOŚWIADCZENIE I-sze.

#### Zależność wzrostu bakterij chorobotwórczych na pożywce agarowej od stężenia pożywki.

Badania te podjęto w celu skontrolowania, czy ogólnie przyjęte stężenie pożywek, używanych do hodowli bakterij chorobotwórczych (wyciąg z 500 gr. mięsa w 1 litrze wody z 1—2% peptonu) jest najodpowiedniejszym stężeniem dla hodowli bakterij.

Do doświadczeń tych użyto jednej i tej samej pożywki w różnym stężeniu. Za punkt wyjścia służyła pożywka mocno zgęszczona, która przyrządzona została w następujący sposób: 50 kg. mięsa końskiego, drobno posiekanego, zagotowano w kotle parowym bez dodawania wody i wyciśnięto w prasie ręcznej. Otrzymano w ten sposób 21 litrów wody mięsnej czyli wyciąg pięciokrotnie zagęszczony, jeżeli przyjąć, że zwykle 1 litr wyciągu otrzymuje się z 500 gr. mięsa. Do tego wyciągu dodano 10% peptonu oraz ługu sodowego, w ilości potrzebnej do reakcji PH 7,6.

Biorąc za punkt wyjścia tę skoncentrowaną pożywkę, rozcieńczyliśmy ją odpowiednio 0,5%-owym roztworem soli kuchennej, nalewając po 100 cm. rozcieńczonej pożywki do flaszek, zawierających po 3 gr. agaru mielonego. Dla kontroli posiewaliśmy również dany gatunek bakterij na agarze z 0,5% roztworem soli kuchennej bez pożywki. Agar z solą dawał minimalny wzrost bakterij, który należało odjąć od ilości bakterij, otrzymanych na agarze z dodatkiem pożywki stężonej.

Przy zestawianiu wyników doświadczenia obliczaliśmy:

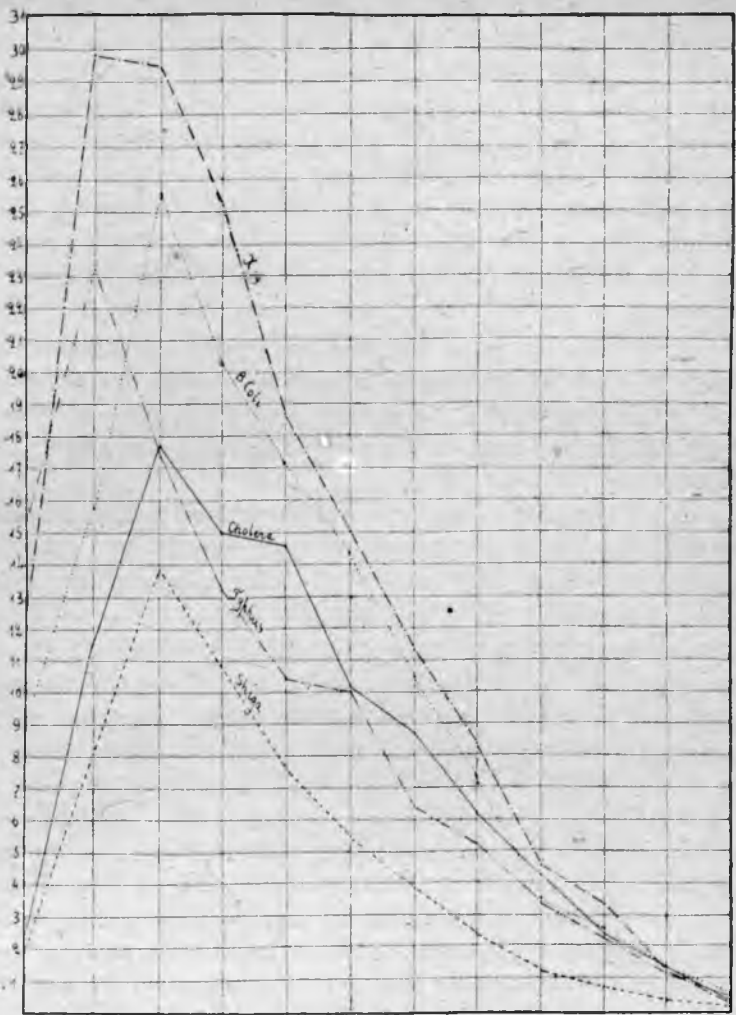
1) ilość miligramów bakterij, przypadającą na 1 cm.<sup>3</sup>, odpowiednio rozcieńczonej, pożywki agarowej, czyli bezwzględną wydajność pożywki w zależności od stężenia;

2) ilość miligramów bakterij, jaka przypadała na 0,1 cm.<sup>3</sup>. skoncentrowanej pożywki, czyli stopień wyzyskania pożywki w zależności od stężenia.

Wyniki tych badań przedstawiają dwie krzywe, z których krzywa Nr. 1 przedstawia zależność wydajności pożywki od koncentracji, a krzywa Nr. 2 stopień wyzyskania pożywki w miarę zagęszczania jej lub rozrzedzania (patrz krzywa Nr. 1).

Jak widać z załączonych krzywych, wydajność pożywki agarowej wzrasta dla wszystkich badanych gatunków bakterij w miarę zagęszczania pożywki aż do koncentracji, wynoszącej 3% peptonu i 1,5-krotny wyciąg mięsny. Przy dalszem zagęszczaniu pożywki, wynoszącym 5% peptonu i 2,5-krotny wyciąg, zauważamy różnicę pomiędzy poszczególnymi gatunkami bakterij: a) bakt. coli i wibrjony cholery dają wzrost znacznie gorszy, b) odmieniec X 19 prawie nie zmienia swego wzrostu, c) bakterje tyfusowe reagują na takie zagęszczenie w sposób dodatni, zwiększając swój wzrost bardzo wybitnie.

Przy pożywce o największem zęszczeniu, t. zn. przy 10% peptonu i 5-krotnym wyciągu, wszystkie badane gatunki bakterij bez wyjątku dają wzrost gorszy. Najbardziej zahamowany jest wzrost bakterij dyzenterycznych typu *Shiga-Kruze*, wibrjonów cholery i bakt. coli, znacznie mniej odmienca X 19, a najmniej bakterij tyfusowych, które okazały się najbardziej wytrzymałymi na zagęszczenie pożywki. A zatem, zwykle używaną pożywkę możnaby 1,5 razy zagęścić, zwiększając przez to wzrost takich bakterij, jak cholery, coli, *Shiga Kruze*. Przy dalszem zagęszczaniu pożywki jedne z tych bakterij dają lepszy wzrost. np. bakt. tyfusowe, inne, jak coli, znacznie gorszy. Przez zagęszczenie można otrzymać pożywkę, na której bakterje okrężnicy rosną znacznie gorzej, niż bakt. tyfusowe. Własność ta mogłaby być wyzyskana dla celów praktycznych diagnostyki, jednak z tem zastrzeżeniem, że podane wyniki są miarodajne dla danej serji wyciągu i danego peptonu. Przy innym wyciągu i innym peptonie poszczególne gatunki bakterij mogą zachowywać się nieco odmiennie. Jest to zupełnie zrozumiałe, ponieważ poszczególne serje wyciągu oraz peptonu są zbiorowiskiem ciał różnych, nie tylko pod względem ilościowym, ale i jakościowym.



10%	5%	3%	2%	1.5%	1%	0.75%	0.5%	0.3%	0.2%	0.1%	0.02%
peptonu — de peptone											
S	2.5	1.5	1.0	0.75	0.5	0.37	0.25	0.15	0.1	0.05	0.02
wyciąg skomcentrowany 5%... rasy, extrait de viande 5, 2.5... fois concentré											
pożywka stężona				pożywka normalna				pożywka rozcieńczona			
milieu concentré				milieu normal				milieu dilué			

**KRZYWA Nr. 1.**

**Wzrost bakterij na pożywce agarowej w zależności od stężenia pożywki.**  
 Na rzędnych oznaczone są różne stężenia pożywki. Na odciętych oznaczona jest ilość mlgr. bakterij, otrzymanych z 1 cm<sup>3</sup> odpowiednio stężonej pożywki.

**COURBE Nr. 1.**

**Développement des microbes sur gélose, en relation avec la concentration du milieu de culture.**  
 Ord. Differentes concentrations du milieu. Absc. Nombre de mlgr. correspondant à 1 cm.<sup>3</sup> de gélose.

Nie znamy przyczyny, wywołującej zahamowanie wzrostu bakteryj przy zagęszczaniu pożywki, możemy jedynie zaznaczyć, że zahamowanie wzrostu bakteryj na podłożach mocno stężonych nie jest spowodowane zagęszczeniem ciał, które bakterje adsorbują, albowiem bakterje, rosnąc na takich pożywkach w stopniu początkowo nieznacznym, zmniejszałyby koncentracje tych ciał, adsorbując je — tem samem stwarzałyby się warunki odpowiednie dla dobrego rozwoju bakteryj.

Dalej możemy stwierdzić, że czynnikiem tym nie jest sól kuchenna, ponieważ koncentracja jej w zagęszczonej pożywce wynosi, według obliczenia, 1,46%. Jak wykazuje jedno z następnych badań, taka ilość nie hamuje wzrostu bakteryj.

Tym czynnikiem nie może być zbyt mała zawartość wody w pożywce, jeśli bowiem 5-krotny wyciąg daje 2—3% suchej pozostałości, to pepton daje 10%, agar 3%; otrzymujemy więc, że pożywka najbardziej skoncentrowana zawiera 84 do 85% wody. Taka ilość wody według *Kruzego* (1910) jest jeszcze dostateczna dla rozwoju bakteryj.

Czynnikiem tym nie mogą być wyłącznie substancje, produkowane przez bakterje (produkty przemiany materji, powodujące zahamowanie wzrostu), gdyż ilość ich w takim razie powinna być proporcjonalna do ilości bakteryj. W ten sposób moglibyśmy wytłumaczyć jedynie niezwiększenie się wzrostu bakteryj pomimo zwiększenia stężenia pożywki.

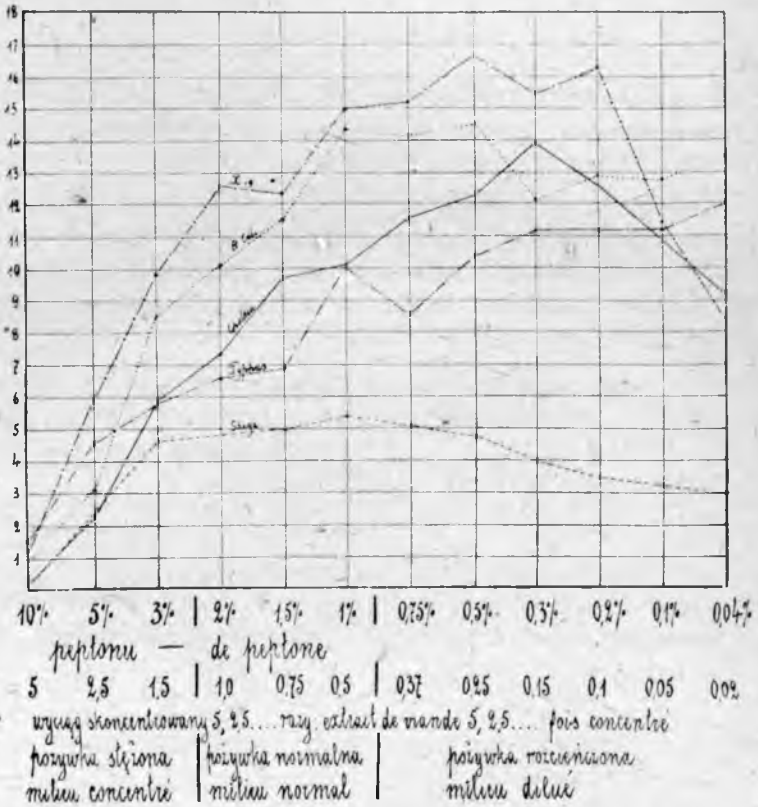
Czynnikiem tym nie mogą być wyłącznie substancje zawarte w pożywce, ponieważ wówczas wzrost bakteryj nie mógłby się rozpocząć. Zjawisko zahamowania wzrostu bakteryj przy zbyt niem zagęszczeniu pożywki możnaby wytłumaczyć w ten sposób, że bakterje, rozwijając się, powodują powstawanie czynnika, który sumując swe działanie z odpowiednim czynnikiem w pożywce, powodują zahamowanie wzrostu bakteryj. Może to być albo zwykłe zsumowanie jednakowych czynników, albo zjawisko, że ciała produkowane przez bakterje, reagując z ciałami, zawartymi w pożywce, wytwarzają wspólnie warunki, które przy pewnem nasileniu powodują zahamowanie wzrostu bakteryj (patrz krzywa Nr. 2).

Naogół badane gatunki bakteryj wyzyskują dobrze pożywki aż do stężenia, wynoszącego 1% peptonu i 0,5-krotny wyciąg mięsny, z wyjątkiem wibrjonów cholery, które już, od stężenia 0,3% peptonu i 0,15-krotnego wyciągu, dają zdecydowany spadek. Niektóre gatunki bakteryj, jak choleryczne i odmieniec X 19, dają spadek wyzyskania przy pożywce bardzo rozcieńczonej.

Przy zagęszczaniu pożywki powyżej 1% peptonu i 0,5-krotnego wyciągu, wszystkie gatunki bakteryj zaczynają gorzej wyzyskiwać pożywkę. Przy stężeniu powyżej 3% peptonu i 1,5-krotnego wyciągu następuje gwałtowny spadek wyzyskiwania pożywki, odpowiadający obniżeniu wydajności pożywek wskutek nadmiernego zagęszczenia. Zjawisko to jest zgodne z prawami adsorbcji, na podstawie których wiemy, że, w miarę zagęszczania ciała, ulegającego adsorbcji, zwiększa się wprawdzie ilość ciała zaadsorbowanego, lecz przyrost ciała zaadsorbowanego jest proporcjonalny do ciała ulegającego adsorbcji jedynie przy małych stężeniach. Przy większych, przyrost



jest coraz mniejszy. Musimy jednak zaznaczyć, że tutaj mamy do czynienia z bardzo szczególnym przypadkiem adsorpcji, gdyż: 1) ciała zaadsorbowane ulegają gruntownej zmianie, są zasymilowane i znikają jako takie; 2) ilość ciała adsorbującego zmienia się wciąż, z chwili na chwilę, w miarę rozwoju lub rozpadu bakteryj.



### KRZYWA Nr. 2.

Stopień wyczerpania pożywki agarowej w zależności od jej stężenia.

Na rzędnych oznaczone są stężenia pożywki. Na odciętych oznaczona jest ilość mgr., przypadająca na 0,1 cm.<sup>3</sup> skoncentrowanej pożywki.

### • COURBE Nr. 2.

Degré d'épuisement du milieu gélosé, en relation avec la concentration.

Ord. Differentes concentrations du milieu. Asc. Nombre de mgr. correspondant à 0,1 cm.<sup>3</sup> du milieu concentré.

Zupełnie odmiennie zachowują się bakterje czerwone typu *Shiga-Kruze*. Optimum wyczerpania pożywki przez te bakterje leży przy 1% peptonie i 0,5-krotnym wyciągu, natomiast pożywki bardziej rozcieńczone albo bardziej stężone dają znaczny spadek.

zwiększania się grubości warstwy agaru. Spadek wzrostu niektórych gatunków bakteryj przy cenniejszej warstwie agaru tłumaczymy sobie wpływem zwiększonego stężenia pożywki oraz wysychaniem zbyt cenniejszej warstwy agaru. Widzimy więc, że cząstki, potrzebne do rozwoju bakteryj tyfusowych i bakteryj *Shiga-Kruze*, dyfundują łatwiej, niż cząstki potrzebne do rozwoju *coli* i odmienia X 19. Z tego wynikałoby, że cząstki potrzebne dla bakteryj tyfusowych i *Shiga-Kruze* są mniejsze, niż dla *coli* i odmienia X 19. Oczywiście to mniemanie wymaga jeszcze potwierdzenia.

Zjawiska zmniejszania się wzrostu pewnych gatunków bakteryj w miarę zwiększania się głębokości pożywki agarowej nie można tłumaczyć zatruciem pożywki przez bakterje, gdyż produkty przemiany bakteryj, powodujące zatrucie pożywki, musiałyby być proporcjonalne do ilości bakteryj. Nie można więc przyjąć, że przy grubości warstwy agaru, wynoszącej 1,5 cm., 3,2 miligr. *coli* na 1 cm.<sup>2</sup> zatrzało pożywkę o tyle, że dalszy wzrost był zahamowany, gdyż na pożywce o grubości warstwy 0,75 cm. otrzymaliśmy na 1 cm. 6,5 miligr. *coli*, t. j. dwa raz więcej.

Różnice we wzroście poszczególnych gatunków bakteryj, w miarę zwiększania grubości warstwy pożywki agarowej, możemy tłumaczyć także różną szybkością, z jaką cząstki potrzebne do rozwoju są adsorbowane przez dany gatunek bakteryj: im są one szybciej adsorbowane, tem większa powstaje różnica w stężeniu tych ciał na powierzchni i w głębi pożywki, co może mieć wpływ na szybkość dyfuzji. Tłumaczenie to nie wydaje się nam bardzo prawdopodobnem z tego względu, że *coli* i odmieniec X 19 nie rozwijają się wolniej, niż bakterje tyfusowe i *Shiga-Kruze*.

Wpływ głębokości warstwy agaru na wzrost różnych gatunków bakteryj może być wyzyskany dla celów djagnostyki praktycznej; np. przy głębokości warstwy agaru, wynoszącej 1,5 cm., bakterje tyfusowe dały obfity wzrost niż *bacterium coli*.

### Wnioski praktyczne.

1) Do dalszych doświadczeń nad wydajnością pożywek, gdy chodzi o dokładne wyzyskanie pożywki, nie należy używać grubszej warstwy agaru niż 0,5 cm., gdyż przy grubszej warstwie pewne gatunki bakteryj nie mogłyby naleźć pożywki wyzyskać.

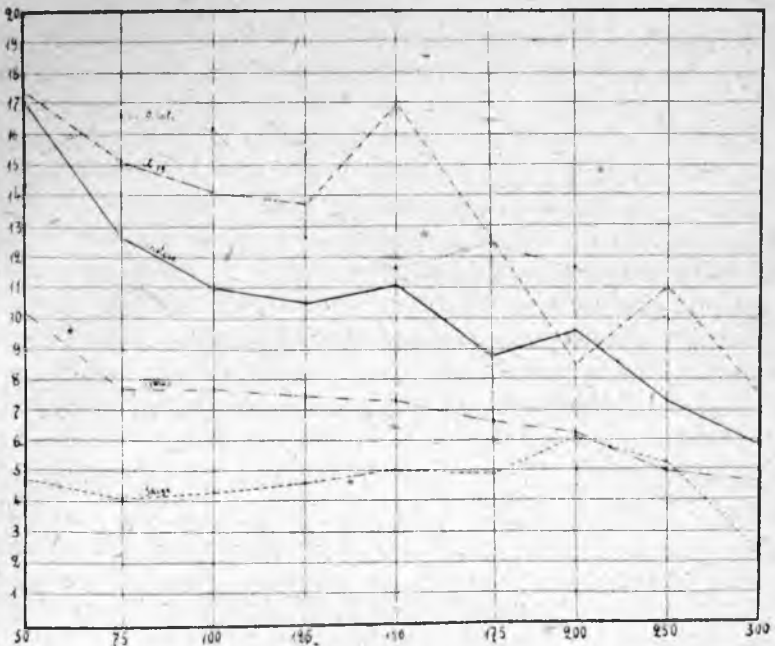
2) Do wyrobu szczepionek ochronnych można zwiększać grubość warstwy agaru do 1,5 cm., jeżeli chodzi o bakterje tyfusowe lub czerwonkowe, natomiast przy cholerze zwiększanie grubości warstwy agaru ponad 1 cm. byłoby połączone ze stratą.

3) Dla celów djagnostyki praktycznej, gdy chodzi o wyosobnienie bakteryj chorobotwórczych, jak bakterje tyfusowe lub *Shiga-Kruze*, możemy znacznie zwiększać grubość warstwy agaru, ponieważ w miarę zwiększania się głębokości pożywki, warunki wzrostu bakteryj tyfusowych i bakteryj dyzenterycznych typu *Shiga-Kruze* polepszają się w stosunku do bakt. *coli*. Obecnie, na płytkę *Petriego* o średnicy 9 cm, nalewa się przeciętnie 10 do 15 cm.<sup>3</sup> pożywki agarowej, co daje grubość warstwy agaru od 0,17—0,25 cm. Z powodów, wyfuszonych powyżej, należałoby nalewać na płytkę kilka razy więcej.

### Zależność wzrostu bakteryj od zmiennych ilości jednakowo zgęszczonej pożywki agarowej.

Do tych doświadczeń wzięliśmy tę samą pożywkę, której używaliśmy w poprzednich doświadczeniach, w stężeniu 1%-ego peptonu oraz 0,5-krotnego wyciągu mięsnego; w stężeniu tem większość badanych gatunków bakteryj dobrze wżyskuje pożywkę. Poszczególne serje w tym doświadczeniu zawierały różne ilości pożywki, od 50 do 300 cm.<sup>3</sup>. W doświadczeniu mamy stałe zgęszczenie pożywki, natomiast zmiennymi są: a) ilość pożywki, od 50 do 300 cm. we fłaszce płaskiej, b) grubość warstwy pożywki, od 0,25 cm. do 1,5 cm.

Wyniki tych doświadczeń ilustruje krzywa Nr. IV, która przedstawia stopień wżyskania pożywki czyli ilość miligramów bakteryj, jaką daje 1 cm.<sup>3</sup> pożywki w zależności od grubości warstwy pożywki o stałym zgęszczeniu.



KRZYWA Nr. 4.

Stopień wżyskania pożywki agarowej przez bakterje, w zależności od ilości jednakowo stężonej pożywki.

Na rzędnych oznaczone są różne ilości pożywki, zawierającej 1% peptonu i wyciąg mięsny, rozcieńczony w stosunku 1 : 2. Na odciętych oznaczona jest ilość mlgr. bakteryj, przypadająca na 1 cm.<sup>3</sup> pożywki.

COURBE Nr. 4.

Degré d'épuisement du milieu gélifié dépendant de la quantité du milieu à égale concentration. Ord. Différentes quantités de milieu contenant 1% de peptone et 0,5 d'extrait de viande dilué (1:2). Absc. Nombre de mlgr. correspondant à 1 cm.<sup>3</sup> de gélose.

Widzimy, że w miarę zwiększania się ilości pożywki, wyzyskanie jej zmniejsza się, lecz w różnym stopniu dla poszczególnych gatunków bakteryj. Jeżeli porównamy krzywe Nr. IV z Nr. III, uderzy nas podobieństwo w przebiegu krzywych dla poszczególnych gatunków bakteryj. Bakterje tyfusowe oraz bakterje czerwonkowe typu *Shiga-Kruze* wykazują bardzo mały spadek wyzyskania pożywki w miarę zwiększania się jej ilości i warstwy. Inne gatunki bakteryj, jak cholera, coli oraz odmieniec X 19, znacznie gorzej wyzyskują pożywkę o grubej warstwie agarowej.

Obniżenie stopnia wyzyskania pożywki, w miarę zwiększania się ilości i grubości warstwy agarowej, różne dla poszczególnych gatunków bakteryj, zależy od mniejszej lub większej zdolności dyfuzyjnej cząstek, potrzebnych do rozwoju danego gatunku bakteryj. (Twierdzenie to jest słuszne przy zagęszczeniu pożywki, wynoszącym 1% peptonu i 0,5-krotny wyciąg mięsny. Jeżeli wziąć pożywkę o zagęszczeniu 3-razy większym, to nawet bakterje tyfusowe wyzyskują gorzej pożywkę w miarę zwiększania się ilości i grubości warstwy agarowej).

Doświadczenia powyższe potwierdzają w zupełności wyniki poprzedniego badania; co więcej, w poprzednim doświadczeniu wskazywaliśmy, opierając się na I-em doświadczeniu, że bakterje czerwonkowe typu *Shiga-Kruze* dlatego wyzyskiwały nieco słabiej pożywkę w miarę zwiększania się grubości warstwy agaru, że pożywka była coraz bardziej rozcieńczana. Otóż, w tym doświadczeniu pożywka ma stałe stężenie i wskutek tego bakterje czerwonkowe typu *Shiga-Kruze* wyzyskują zupełnie jednakowo pożywkę, niezależnie od grubości warstwy agaru (krzywa wyzyskania pożywki przez bakterje czerwonkowe typu *Shiga-Kruze* przebiega poziomo).

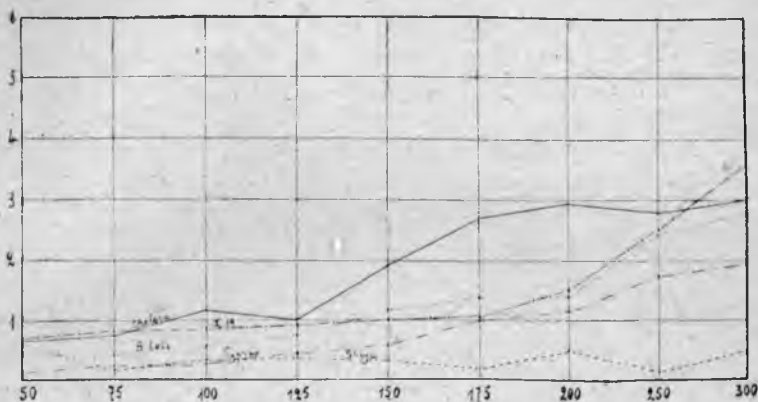
Dla potwierdzenia faktu, że przy grubej warstwie agarowej pożywki niektóre gatunki bakteryj nie zdążyły wyzyskać pożywki wskutek powolnej dyfuzji cząstek, potrzebnych dla ich rozwoju, wykonaliśmy następujące doświadczenie.

Flaszki płaskie z pożywką agarową, używane do tego doświadczenia, po splukaniu z nich w zwykły sposób bakteryj, wstawione były p o r a z d r u g i do cieplarki (bez posiewania, gdyż po splukaniu pozostała zupełnie dostateczna ilość bakteryj, zdolnych do rozwoju). Następnego dnia flaszki te były splukane po raz drugi.

Wyniki otrzymane po drugim splukaniu przedstawia krzywa Nr. 5.

Widzimy, że bakterje czerwonkowe typu *Shiga-Kruze*, po powtórnym wstawieniu do cieplarki, nie dały wzrostu, niezależnie od grubości warstwy pożywki. To znaczy, że pożywka za 1-szym razem była zupełnie wyzyskana, nawet przy grubości warstwy, wynoszącej 1,5 cm. Bakterje tyfusowe dały bardzo słaby wzrost i to wyłącznie tam, gdzie grubość warstwy agaru była znaczna. Natomiast wybrjony cholery, odmieniec X 19 i bakt. coli dały wzrost względnie obfity, lecz jedynie na pożywkach o warstwie niezbyt cienkiej, t. j. tam, gdzie obserwowaliśmy spadek wyzyskania pożywki przy pierwszym splukiwaniu. Pożywki o warstwie cieńszej, niż 0,625 cm. (przy ilości pożywki 125 cm.), zostały zupełnie wyczerpane.

Przytoczone powyżej doświadczenia I, II i III wykazują, że szablonowy do tej pory sposób przyrządzania pożywek dla bakterij chorobotwórczych nie wytrzymuje krytyki. Zarówno koncentracja pożywki, jak ilość oraz grubość warstwy agarowej, winny uwzględniać: 1) gatunek bakterij, 2) cel dla którego bakterje hodujemy.



KRZYWA Nr. 5.

Zależność wzrostu bakterij na pożywce agarowej, powtórnie posianej (po usunięciu bakterij wyrosniętych) tym samym gatunkiem bakterij od ilości pożywki o stałym zgęszczeniu.

Na rzędnych oznaczone są ilości pożywki. Na odciętych oznaczona jest ilość mlgr. przypadająca na 1 cm.<sup>3</sup> agaru.

COURBE Nr. 5.

Dépendance de la croissance des microbes sur un milieu gélosé, réensemencé du même microbe (après lavage de la surface) de la quantité de milieu à concentration fixe.

Ord. Quantités de milieu. Absc. Nombre de mlgr. correspondant à 1 cm.<sup>3</sup> de gélose.

#### DOŚWIADCZENIE IV-te.

Zależność wzrostu bakterij na pożywkach agarowych od czasu trwania hodowli.

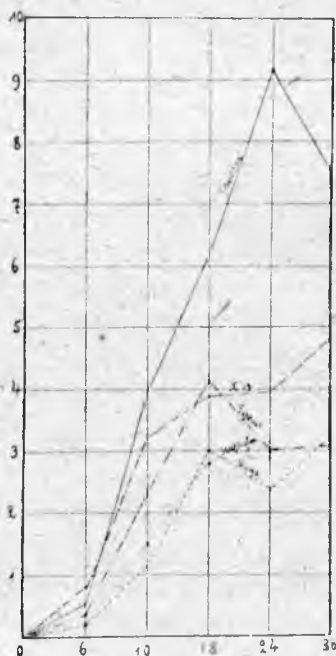
W tem doświadczeniu posiewaliśmy flaszki płaskie z pożywką agarową zawierającą 1% peptonu i wyciąg 1-krotny przy reakcji lekko alkalicznej, różnemi gatunkami bakterij i hodowaliśmy je 6, 10, 18, 24, 36 godzin, w cieplarni przy 36° C.

Wyniki tych badań przedstawia krzywa Nr. 6.

Widzimy, że wszystkie badane gatunki bakterij dają minimalny wzrost przez pierwsze 6 godzin; jest to tak zwany okres wylęgania bakterij. Po 10-18 godzinach wszystkie gatunki bakterij dają intensywny wzrost; jest to okres wzrostu logarytmicznego. Po 18-tu godzinach rozmnażanie się bakterij jest już prawie ukończone; wskutek tego, po 24 godzinach jedne gatunki

bakteryj dają minimalny wzrost, inne nawet spadek. Odmienne zachowuje się cholera, która rośnie dłużej, do 24 godzin. Z doświadczeń tych wynika, że bakterje na pożywce agarowej rosną krótko, od 6 do 24 godzin, później wzrost jest minimalny. Oczywiście, twierdzenie to jest słuszne jedynie w tych warunkach, w jakich robione było doświadczenie.

*Graham-Smith* (1920), hodując bakterje na pożywkach płynnych i określając ilość bakteryj żywych zapomocą posiewów na płytkach, znalazł największą ilość bakteryj, zdolnych do rozwoju, dopiero po dwóch dniach (w temperaturze 37° C.).



### KRZYWA Nr. 6.

Zależność wzrostu bakteryj od czasu trwania hodowli

Na rzędnych oznaczone są różne ilości godzin. Na odciętych oznaczona jest ilość mlgr. bakteryj, przypadająca na 1 cm.<sup>3</sup> pożywki.

### COURBE Nr. 6.

Dépendance de la croissance des microbes du temps de durée de la culture.

Ord. Nombre d'heures de culture. Absc. Nombre de mlgr. correspondant à 1 cm.<sup>3</sup> de gélose.

### Wnioski praktyczne.

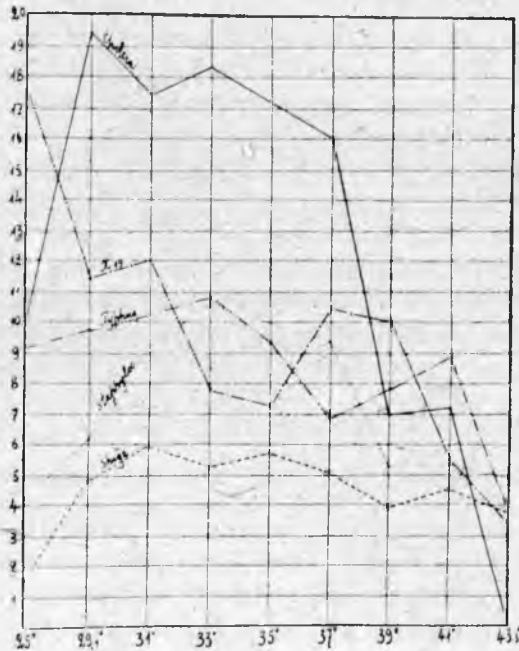
1) Do dalszych badań nad wydajnością pożywek, gdy zależy na wyzyskaniu pożywki, wystarczy hodować bakterje 24 godziny w temperaturze 36° C. To samo dotyczy hodowli bakteryj w celu otrzymania szczepionek. 2) Jeżeli chodzi o badanie djagnostyczne, gdzie zależy na czasie, to badanie po 6 godzinach jest bezcelowe, gdyż wzrost wówczas jest minimalny; po 10 godzinach można już próbować badania, najlepiej jednak po 18 godzinach.

## DOŚWIADCZENIE V-te.

### Zależność wzrostu bakteryj od temperatury.

Różne gatunki bakteryj hodowaliśmy w ciągu 24 godzin w jednakowych ciepłarkach, nastawionych na różne temperatury, od 25° do 43° C., zachowując pozostałe warunki niezmiennie.

Wyniki tych badań przedstawia krzywa Nr. 7.



KRZYWA Nr. 7.

Zależność wzrostu bakteryj od temperatury.

Na rzędnych są oznaczone różne stopnie temperatury. Na odciętych wyznaczona jest ilość mlgr., przypadająca na 1 cm.<sup>2</sup> agar.

COURBE Nr. 7.

Dépendance de la croissance des microbes de la température.

Ord. Differentes températures. Absc. Nombre de mlgr. correspondant à 1 cm.<sup>2</sup> de gélose.

1) Odmieniec X 19 dał najlepszy wzrost przy 25°; w miarę zwiększania się temperatury, wzrost opada stopniowo (znaczny spadek wzrostu przy 33° i 35° należy odnieść na karb niedokładności metody badania). Ten brak przystosowania do wyższych temperatur u odmienca X 19 potwierdzały saprofityczny charakter tego gatunku bakteryj. Byłby to jeszcze jeden dowód więcej, że nie jest on zarazkiem duru plamistego. 2) Wibrjony cholery dały najlepszy wzrost przy 29°. Od 29° do 37° wzrost utrzymuje się na wysokości, przy wyższych temperaturach gwałtownie spada. 3) Gron-

kowce, podobnie, jak bakterje czerwone typu *Shiga-Kruze*, dają dobry wzrost od 31° do 37°; przy wyższych temperaturach następuje spadek wzrostu. 4) Bakterje tyfusowe są bardziej wytrzymałe na wysokie temperatury, niż inne gatunki badane.

Badane bakterje chorobotwórcze dają najlepszy wzrost po 24 godz., w temperaturach od 31° do 37°. Temperatura powyżej 37° jest już bezwzględnie szkodliwa dla rozwoju bakteryj. Bakterje chorobotwórcze przystosowały się do wyższych temperatur, ale kresem tego przystosowania jest temperatura 37°, temperatura normalna ciała ludzkiego.

Nasuwa się przypuszczenie, że reagowanie organizmu przez podwyższenie temperatury na zakażenie jest bardzo celowe, ponieważ temperatura powyżej 37° warunkuje gorszy wzrost bakteryj. Pogląd ten można przyjąć jedynie z dużym zastrzeżeniem, ponieważ warunki rozwoju bakteryj na powierzchni pożywki agarowej są inne, niż wewnątrz organizmu.

### Wnioski praktyczne.

**Cieplarki nasze do hodowania bakteryj chorobotwórczych powinny mieć temperaturę niższą niż 37°, nastawione bowiem na 37° łatwo mogą osiągnąć temperaturę wyższą (do 39°), która jest już szkodliwa dla bakteryj.**

### DOŚWIADCZENIE VI-te.

#### Zależność wzrostu bakteryj od czasu trwania hodowli i od temperatury.

Doświadczenie poprzednie wykazało, że po 24 godzinach bakterje chorobotwórcze dają najlepszy wzrost przy temperaturze 31° do 37° C. Nasuwało się pytanie, jaki wzrost daje hodowla bakteryj: 1) hodowana przez dłuższy czas w temperaturze niższej i 2) przez czas krótszy — w temperaturze wyższej.

W tym celu szczep cholery hodowaliśmy w różnych temperaturach, od 27° — 41° C, w ciągu różnego przeciągu czasu, od 6 — 72 godzin, zachowując inne warunki niezmiennione.

Wyniki tych badań przedstawia krzywa Nr. 8.

Podobnie, jak w poprzednich doświadczeniach, możemy skonstatować, że bakterje w pierwszych godzinach po posianiu rosną słabo; jest to tak zwany okres wylęgania. Okres ten jest tem krótszy, im wyższa jest temperatura, przy której hodujemy bakterje, o ile nie przekraczamy temperatury 37°, albowiem przy wyższych temperaturach okres wylęgania znowu się wydłuża. Okres wylęgania dla bakteryj, hodowanych w temperaturze 27°, wynosi 12 godzin, przy 31° — 9 godzin, przy 34° — 6 godzin, przy 37° mniej niż 6 godzin, przy 39° i 41° okres ten znowu staje się dłuższy.

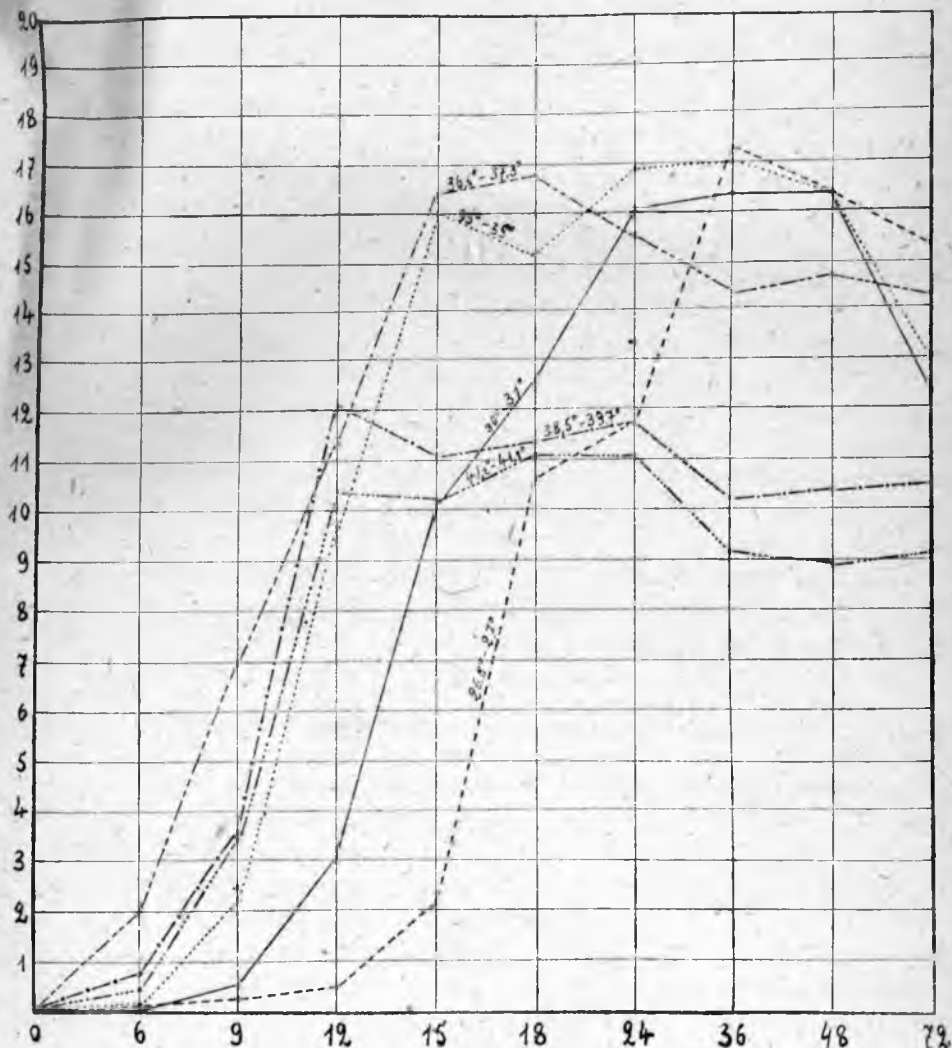
Po okresie wylęgania następuje okres szybkiego (logarytmicznego) rozmnażania się bakteryj. Powstaje pytanie: 1) jak długo trwa ten drugi okres, 2) jakie daje on maximum wzrostu bakteryj i po jakim czasie — w zależności od temperatury w granicach od 27° — 41°.

1) Okres ten trwa tem dłużej, iż niższą jest temperatura, przy której hodujemy bakterje: przy temperaturze 39° i 41° okres ten wynosi 6 godzin



przy temperaturze 37° od 9—12 godzin, przy temperaturze 34° do 18 godzin, przy 30°—18 godzin, przy 27°—24 godziny.

2) Maximum wzrostu bakterij jest tem wyższe, im niższa jet temperatura: przy 41° wynosi 11 mgr., przy 39° prawie 12 mgr., przy 37°—16, przy 34°—17, przy 30°—16,5, przy 27°—17,3.



KRZYWA Nr. 8.

Zależność wzrostu wibrjonów cholery od temperatury i czasu trwania hodowli.

Na rzędnych oznaczone są różne ilości godzin. Na odciętych oznaczona jest ilość mlgr. bakterij, przypadających na 1 cm.<sup>3</sup> pożywki.

COURBE Nr. 8.

Dépendance de la croissance de vibrions cholériques de la température et du temps de la culture.

Ord. Different nombre d'heures de culture. Absc. Nombre de mlgr., correspondant à 1 cm.<sup>3</sup> de gélose.

kowce, podobnie, jak bakterje czerwonkowe typu *Shiga-Kruze*, dają dobry wzrost od 31° do 37°; przy wyższych temperaturach następuje spadek wzrostu. 4) Bakterje tyfusowe są bardziej wytrzymałe na wysokie temperatury, niż inne gatunki badane.

Badane bakterje chorobotwórcze dają hajlepszy wzrost po 24 godz., w temperaturach od 31° do 37°. Temperatura powyżej 37° jest już bezwzględnie szkodliwa dla rozwoju bakteryj. Bakterje chorobotwórcze przystosowały się do wyższych temperatur, ale kresem tego przystosowania jest temperatura 37°, temperatura normalna ciała ludzkiego.

Nasuwa się przypuszczenie, że reagowanie organizmu przez podwyższenie temperatury na zakażenie jest bardzo celowe, ponieważ temperatura powyżej 37° warunkuje gorszy wzrost bakteryj. Pogląd ten można przyjąć jedynie z dużem zastrzeżeniem, ponieważ warunki rozwoju bakteryj na powierzchni pożywki agarowej są inne, niż wewnątrz organizmu.

### Wnioski praktyczne.

**Cieplarki nasze do hodowania bakteryj chorobotwórczych powinny mieć temperaturę niższą niż 37°, nastawione bowiem na 37° łatwo mogą osiągnąć temperaturę wyższą (do 39°), która jest już szkodliwa dla bakteryj.**

### DOŚWIADCZENIE VI-te.

#### Zależność wzrostu bakteryj od czasu trwania hodowli i od temperatury.

Doświadczenie poprzednie wykazało, że po 24 godzinach bakterje chorobotwórcze dają najlepszy wzrost przy temperaturze 31° do 37° C. Nasuwało się pytanie, jaki wzrost daje hodowla bakteryj: 1) hodowana przez dłuższy czas w temperaturze niższej i 2) przez czas krótszy — w temperaturze wyższej.

W tym celu szczep cholery hodowaliśmy w różnych temperaturach, od 27° — 41° C, w ciągu różnego przeciągu czasu, od 6 — 72 godzin, zachowując inne warunki niezmiennione.

Wyniki tych badań przedstawia krzywa Nr. 8.

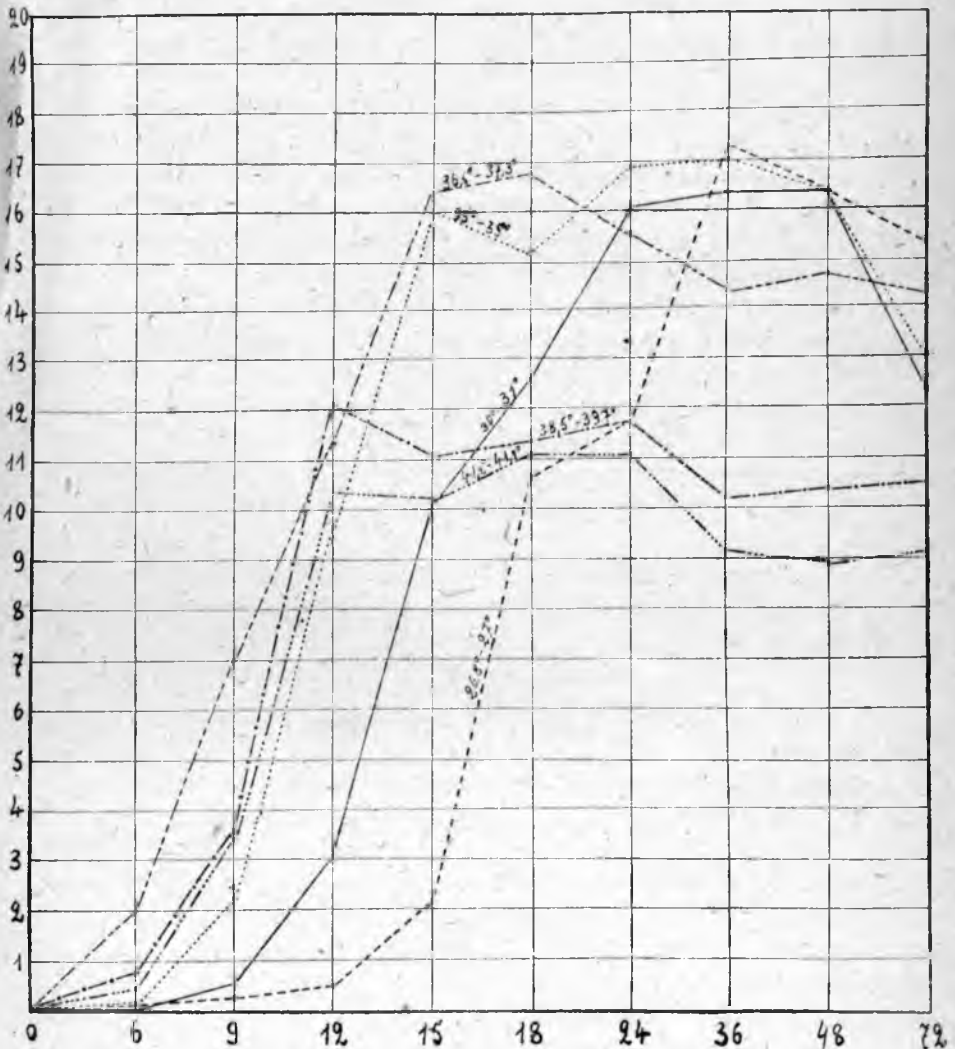
Podobnie, jak w poprzednich doświadczeniach, możemy skonstatować, że bakterje w pierwszych godzinach po posianiu rosną słabo; jest to tak zwany okres wylęgania. Okres ten jest tem krótszy, im wyższa jest temperatura, przy której hodujemy bakterje, o ile nie przekraczamy temperatury 37°, albowiem przy wyższych temperaturach okres wylęgania znowu się wydłuża. Okres wylęgania dla bakteryj, hodowanych w temperaturze 27°, wynosi 12 godzin, przy 31° — 9 godzin, przy 34° — 6 godzin, przy 37° mniej niż 6 godzin, przy 39° i 41° okres ten znowu staje się dłuższy.

Po okresie wylęgania następuje okres szybkiego (logarytmicznego) rozmnażania się bakteryj. Powstaje pytanie: 1) jak długo trwa ten drugi okres, 2) jakie daje on maximum wzrostu bakteryj i po jakim czasie — w zależności od temperatury w granicach od 27° — 41°.

1) Okres ten trwa tem dłużej, iż niższą jest temperatura, przy której hodujemy bakterje: przy temperaturze 39° i 41° okres ten wynosi 6 godzin

przy temperaturze 37° od 9—12 godzin, przy temperaturze 34° do 18 godzin, przy 30°—18 godzin, przy 27°—24 godziny.

2) Maximum wzrostu bakteryj jest tem wyższe, im niższa jet temperatura; przy 41° wynosi 11 mgr., przy 39° prawie 12 mgr., przy 37°—16, przy 34°—17, przy 30°—16,5, przy 27°—17,3.



KRZYWA Nr. 8.

Zależność wzrostu wibrjonów cholery od temperatury i czasu trwania hodowli.

Na rzędnych oznaczone są różne ilości godzin. Na odciętych oznaczona jest ilość mlgr. bakteryj, przypadających na 1 cm.<sup>3</sup> pożywki.

COURBE Nr. 8.

Dépendance de la croissance de vibrions cholériques de la température et du temps de la culture.

Ord. Different nombre d'heures de culture. Absc. Nombre de mlgr., correspondant à 1 cm.<sup>3</sup> de gélose.

W granicach od 37° do 27° maxima różnią się stosunkowo nieznacznie, powyżej 37° mamy od razu znaczny spadek wzrostu.

3) Maximum wzrostu występuje tem później, im niższa jest temperatura; przy temperaturze 27°—31° maximum wzrostu osiąga się po 36 godzinach, przy temperaturze 33° po 24 godzinach, przy 37° po 18 godzinach, przy 39° po 12 godzinach.

*Graham Smith* (1920), posługując się odmienną metodą badania, otrzymał wyniki analogiczne: im niższe temperatury stosuje, w granicach od 17°—37°, tem wyższe otrzymuje maximum wzrostu, ale coraz później.

Na zapytanie, przy jakiej temperaturze należy hodować bakterje cholery, możemy odpowiedzieć, że zależy to od tego, jak d ł u g o mamy zamiar je hodować: jeżeli 36 godzin to w 27°, 24 godziny w 34° do 30°, 12—18 godz. w 37°. Wyższych temperatur stosować nie należy.

Z doświadczeń tych wynika, że do hodowania bakteryj chorobotwórczych niekoniecznie trzeba używać cieplarek o stałej temperaturze, lecz że do tego celu mogą wystarczyć w zupełności termosy, to znaczy naczynia mniej więcej izolowane, wewnątrz których temperatura spada powoli. Termosy te powinny odpowiadać następującym warunkom: temperatura początkowa nie powinna być zbyt wysoka, żeby nie hamowała wzrostu bakteryj (może wynosić 41°), po 6 godzinach powinna mieć około 37° — jest to najlepsza temperatura dla szybkiego rozmnażania się bakteryj; po 18 godzinach, kiedy wzrost bakteryj jest ukończony, temperatura może wynosić 30°.

Zwykle termosy, będące w handlu, naogół odpowiadają tym warunkom i dlatego mogą być używane do hodowli bakteryj chorobotwórczych, jak to wykazałem w jednej z moich prac poprzednich.

## DOŚWIADCZENIE VII-me.

### Zależność wzrostu bakteryj na pożywce agarowej od stężenia soli kuchennej.

Jak wiadomo, do pożywek dla bakteryj chorobotwórczych dodaje się zwykle 0,5% NaCl. Zadaliśmy sobie pytanie, czy dodatek ten jest uzasadniony.

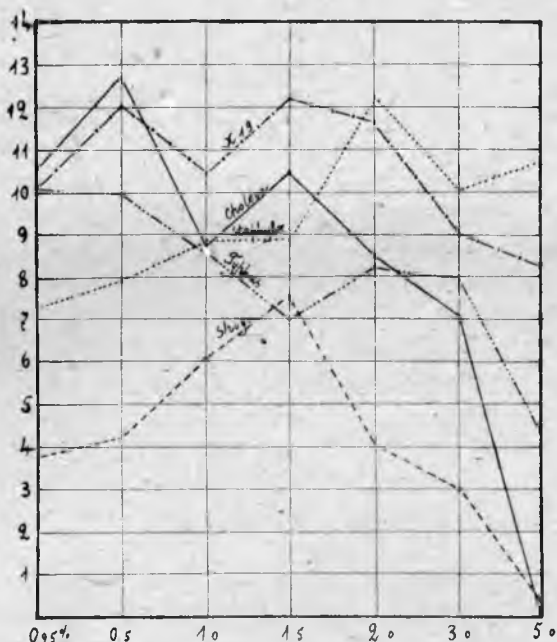
W tym celu do pożywki, zawierającej 1% peptonu i 1-krotny wyciąg mięsny, dodawaliśmy różne ilości chemicznie czystej soli kuchennej, od 0,25% do 5% i badaliśmy w zwykły sposób wzrost bakteryj. Musimy zaznaczyć, że pożywka sama już zawierała 0,25% NaCl.

Wyniki tych badań przedstawia krzywa Nr. 9.

Wyniki te wykazują, że różne gatunki bakteryj zachowują się odmiennie wobec soli kuchennej.

1) Bakterje cholery dały optimum wzrostu przy 0,5% NaCl; później, w miarę zwiększania się ilości soli, wzrost słabnie: przy 3% soli jest 3,5 razy słabszy, przy 5% spada do 0. Bakterje cholery znoszą źle ilości soli kuchennej, powyżej 0,5%.

2) Bakterje tyfusowe dały najlepszy wzrost przy 0,25% do 0 5% NaCl; przy 1% NaCl mamy mały spadek (wynoszący około 15%), później, do 3% NaCl, wzrost utrzymuje się mniej więcej na jednym poziomie, a przy 5% daje wzrost o połowę mniejszy. Bakterje tyfusowe znoszą dość dobrze ilości soli od 0,25—3%.



KRZYWA Nr. 9.

Zależność wzrostu bakteryj na pożywce agarowej od ilości NaCl dodanej do pożywki. Na rzędnych oznaczony jest % NaCl. Na odciętych oznaczona jest ilość mlgr. bakteryj, przypadająca na 1 cm.<sup>3</sup> pożywki.

COURBE Nr. 9.

Dépendance de la croissance des microbes de la quantité de NaCl additionnée au milieu de culture.

Ord. Le % de NaCl. Absc. Nombre de mlgr. correspondant à cm.<sup>3</sup> de gélose du milieu.

3) Bakterje czerwinkowe typu *Shiga-Kruze* dają słaby wzrost przy 0,25% i 0,5% NaCl; przy 1,5% NaCl wzrost ten zwiększa się prawie dwójnasób, przy 2% NaCl zaczyna znowu spadać, przy 5% równa się prawie 0. Bakterje czerwinkowe typu *Shiga-Kruze* dają najlepszy wzrost przy stężeniu soli kuchennej 1 — 1,5%; mniejsze lub większe stężenie znoszą źle.

4) Odmieniec X 19 jest w znacznym stopniu obojętny na zmiany stężenia soli kuchennej.

5) Gronkowce zachowują się odmiennie od reszty badanych bakteryj; rosną one coraz lepiej, w miarę zwiększania stężenie soli, od 0,25—2% NaCl;

przy 5,5% dają bardzo nieznaczny spadek. Ten gatunek bakteryj, gnieźdzący się często na skórze, przystosował się widocznie do dużych koncentracji soli.

*Beauveri* (pracę tę znamy jedynie z referatu) stwierdził, że w wodzie peptonowej wibrjony cholery rosną najlepiej przy 3% NaCl. Wyniki te nie zgadzają się z naszymi. Być może, że wpływ soli kuchennej w pożywkach płynnych jest inny. *Eisenberg* wykazał, że stężenie soli kuchennej, wynoszące 5,8%, hamuje wzrost bakteryj tyfusowych i wibrjonów cholery.

### Wnioski praktyczne.

Ilość soli kuchennej w pożywce powinna być dostosowana do gatunku bakteryj, który mamy zamiar hodować. Z czterech zbadanych gatunków bakteryj, każdy zachowuje się odmiennie: 1) cholere należy hodować na agarze, zawierającym 0,5% NaCl, 2) bakterje tyfusowe najlepiej rosną przy 0,5% NaCl, lecz znoszą dość dobrze jeszcze 3% NaCl, 3) bakterje czerwone typu Shiga-Kruze hodować należy z 1,5% NaCl, 4) odmieniec X 19 rośnie dobrze przy 0,5—5% NaCl, 5) gronkowce hodować należy przy stężeniu NaCl od 2 — 5%. Pożywki, zawierające 5% NaCl, mogłyby służyć do izolacji gronkowców od innych bakteryj.

### DOŚWIADCZENIE VIII-me.

#### Zależność wzrostu bakteryj od stężenia H'.

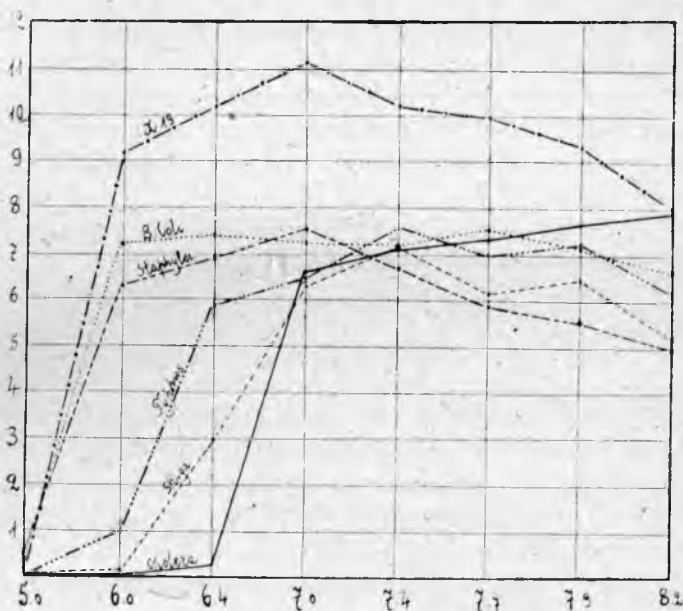
W ostatnich czasach szereg autorów, między innymi (*Michaelis*) *Dernby*, zastosowało metodę oznaczania koncentracji jonów wodorowych przy alkalizowaniu pożywek dla bakteryj. Z tych prac wynika, że poszczególne gatunki bakteryj rosną jedynie przy pewnej ściśle określonej koncentracji H'. Jak wiadomo, koncentracja H', odpowiadająca punktowi obojętnemu, oznacza się Ph 7, płyny kwaśne mają Ph mniejsze 6, 5, 4, . . . . . 2, 1, płyny alkaliczne Ph 8, 9, . . . . . 14.

Badania, dotyczące zależności wzrostu bakteryj od koncentracji H', wykonano w ten sposób, że pożywkę, zawierającą 1-krotny wyciąg 1% peptonu, zalkalizowano mocno zapomocą NaOH do Ph 10, następnie, dodając do poszczególnych części tejże pożywki różne ilości kwasu octowego, otrzymano buljon o Ph 10,3—8,8 aż do 5,0. Koncentracje H' oznaczyliśmy metodą kolorymeryczną, posługując się wskaźnikami, podanymi przez *Michaelisa*. Do poszczególnych seryj buljonu dodawaliśmy agaru w ilości 3%. Pod wpływem agaru, pożywki mocno alkaliczne zakwasiły się w znacznym stopniu, pożywki, stojące blisko punktu obojętnego, zakwasiły się nieznacznie, pożywki kwaśne pozostały bez zmiany. Po dodaniu agaru otrzymaliśmy pożywki w granicach od Ph 8,2 do 5,0. Poszczególne serje tej pożywki rozlewaliśmy jak zwykle do flaszek płaskich po 100 cm., używając po 5 flaszek do każdego doświadczenia.

Wyniki tych badań przedstawia krzywa Nr. 10.

- 1) Przy Ph 5,0 nie rośnie żadna z badanych bakteryj.
- 2) Przy Ph 6,0 dały dobry wzrost: odmieniec X 19, gronkowce i *bact. coli*; są to wszystko gatunki bakteryj, rozkładające cukry z wytwarzaniem

kwasów — są więc przystosowane do reakcji kwaśnej. Bakterje tyfusowe dały przy Ph 6,0 bardzo słaby wzrost, bakterje czerwone typu *Shiga-Kruze* oraz wibrjony cholery nie dały wzrostu.



KRZYWA Nr. 10.

Zależność wzrostu bakteryj od alkaliczności albo kwasowości pożywki, określanej za pomocą oznaczenia stężenia H<sup>+</sup>.

Na rzędnych oznaczone są różne ilości H<sup>+</sup>. Na odciętych oznaczona jest ilość mlgr. bakteryj, przypadająca na 1 cm.<sup>3</sup> pożywki.

COURBE Nr. 10.

Dépendance de la croissance des microbes de l'alkalinité ou bien de l'acidité du milieu déterminé par la mesure de concentration en ions hydrogène.

Ord. Différents nombre d'ions hydrogène. Absc. Nombre de mlgr. correspondant à 1 cm.<sup>3</sup> de gélose.

3) Przy Ph 6,4 bakterje czerwone typu *Shiga-Kruze* dają już dość duży wzrost bakteryj, natomiast wibrjony cholery rosną dopiero przy Ph 7,0, a więc w punkcie obojętnym. Należy podkreślić, że wibrjony cholery również rozkładają cukry z wytwarzaniem kwasów, pomimo to w środowiskach kwaśnych, poniżej Ph 7,0, nie rosną zupełnie.

Jeżeli przyjrzymy się poszczególnym krzywym, wyobrażającym wzrost bakteryj w zależności od H<sup>+</sup>, widzimy, że krzywe te wznoszą się ostro do góry, a później utrzymują się na jednej wysokości, wykazując niewielkie wahania. Wskutek tego optimum wzrostu jest dość szerokie.

Do wytłumaczenia tego zjawiska przyczynić się może następujące spostrzeżenie. Jeżeli badać Ph zawiesin bakteryjnych splukanych (roztworem fizjologicznym NaCl z 1% fenolu) z powierzchni pożywki agarowej o różnym Ph to, dopóki bakterje rosną obficie, Ph zawiesiny jest stałe, niezależnie od Ph pożywki; z chwilą, kiedy bakterje na pożywce agarowej zaczynają rosnać źle, Ph zawiesiny zbliża się do Ph podłoża. Wydaje się więc, że bakterje posiadają zdolność regulowania stężenia  $H'$  w środowisku, w którym żyją, podobnie jak organizmy wyżej uorganizowane. Wskutek tego, wzrost bakteryj na pożywkach bardziej lub mniej kwaśnych, albo alkalicznych zależy od tego, w jakim stopniu dany gatunek bakteryj posiada zdolność regulowania koncentracji  $H'$ .

W tym miejscu poprzestaniemy na zaznaczeniu jedynie tego zjawiska; rozwiemy i uzasadnimy je w osobnym doniesieniu.

## S T R E S Z C Z E N I E.

Doświadczenia te miały na celu stwierdzenie, czy sposób przyrządzania pożywek dla bakteryj chorobotwórczych, przyjęty obecnie w pracowniach bakterjologicznych, jest odpowiednim do badań nad wartością pożywek, do wyrobu szczepionek ochronnych oraz do analiz dajagnostycznych. Doświadczenia były wykonane na pożywkach agarowych, nad bakterjami tyfusowymi, wibrjonami cholery, bakterjami czerwinkowemi typu *Shiga-Kruze*, odmiancem X 19 i *bact. Coli*.

Ilość bakteryj oznaczano metodą nefelometryczną, po splukaniu ich z powierzchni pożywki agarowej fizjologicznym roztworem soli kuchennej.

**Doświadczenie I-sze**, dotyczące zależności wzrostu bakteryj od stężenia pożywki, czyli od ilości peptonu i wyciągu mięsnego, zawartego w pożywce agarowej, wykazało naogół co następuje. Pożywki rozcieńczone są w zupełności wyzyskiwane przez bakterje, gdyż ilość bakteryj, otrzymywanych z 1 cm. pożywki, jest mniej więcej proporcjonalna do jej stężenia. Pożywki, zawierające od 1% peptonu i 0,5-krotnego wyciągu do 2,5% peptonu i 1,25-krotnego wyciągu, są coraz gorzej wyzyskiwane, albowiem ilość bakteryj, otrzymywanych z 1 cm. agaru, nie jest proporcjonalna do stężenia pożywki. Przy tych stężeniach jednak wydajność pożywki, w miarę zagęszczania się jej, jeszcze się zwiększa. Przy koncentracji pożywki większej niż 2,5% peptonu i 1,25-krotny wyciąg, nie otrzymujemy już większego wzrostu bakteryj, lecz przeciwnie spadek, t. zn. że w pożywkach mocno zagęszczonych spada nie tylko wyzyskiwanie pożywki, lecz nawet i wydajność. Wyjątek stanowią bakterje czerwinkowe typu *Shiga-Kruze*, które najlepiej wyzyskują pożywkę o średnim zagęszczeniu, natomiast pożywki rozcieńczone i stężone wyzyskują gorzej. Najbardziej wytrzymałymi na zagęszczenie danej serji pożywki okazały się bakterje tyfusowe.

Z doświadczeń tych nasuwają się następujące wnioski praktyczne.

I. Chcąc możliwie wyzyskać pożywkę, trzeba jej używać w stężeniach, zawierających  $1/2-1/10$  peptonu wraz z wyciągiem mięsnym  $1/4-1/2$ -krotnym.



II. Do wyrobu szczepionek ochronnych, gdzie zależy nie tylko na wydajności pożywki, ale na oszczędzaniu naczyń szklanych i pracy, używać trzeba pożywek bardziej stężonych, zawierających 2% peptonu i 1-krotny wyciąg, wówczas bowiem niewielka strata na wyzyskaniu pożywki opłaca się wskutek zaoszczędzania naczyń i pracy

III. Do badań dżagnostycznych, gdzie zależy na jak największym wzroście bakteryj, należałoby używać pożywek jeszcze bardziej zgęszczonych, (2—3% peptonu, 1—1,5-krotnego wyciągu), ażeby otrzymać możliwie obfity wzrost bakteryj chorobotwórczych.

**Doświadczenie II-gie** wykonane zostało w celu stwierdzenia, jak gruba powinna być warstwa pożywki agarowej, ażeby była należycie wyzyskana. Doświadczenie to wykazało, że jedne gatunki bakteryj, jak tyfusowe, bakterje czerwonkowe typu *Shiga-Kruze*, wyzyskują zupełnie dobrze pożywkę, nawet przy grubości warstwy agaru 1,5 cm., inne, jak wibrjony cholery, dają nieznaczny spadek wzrostu w miarę zwiększania się grubości warstwy agarowej, wreszcie odmieniec X 19 oraz bac. Coli dają znaczny spadek wzrostu przy zwiększaniu grubości warstwy agaru ponad 0,5 cm.

Z doświadczenia tego można wyprowadzić następujące wnioski:

1. Celem dokładnego wyzyskania pożywki nie należy używać grubszej warstwy agaru niż 0,5 cm.

2. Przy wyrobie szczepionek ochronnych można zwiększać grubość warstwy agaru do 1,5 cm., jeżeli chodzi o bakterje tyfusowe lub czerwonkowe, natomiast przy hodowli bakteryj cholerycznych zwiększanie grubości warstwy agaru ponad 1 cm. byłoby połączone ze stratą.

3. Dla celów dżagnostyki praktycznej, gdy chodzi o wyosobnienie bakteryj chorobotwórczych, jak bakterje tyfusowe lub *Shiga-Kruze*, możemy zwiększać znacznie grubość warstwy agaru, ponieważ w miarę powiększania się głębokości pożywki, warunki wzrostu dla bakteryj tyfusowych i bakteryj dżyzenterycznych typu *Shiga-Kruze* polepszają się w stosunku do bakt. coli Obecnie na płytkę *Petri'ego* o średnicy 9 cm. nalewa się przeciętnie 10 do 15 cm.<sup>3</sup> pożywki agarowej, co daje grubość warstwy agaru od 0,17—0,25 cm. Z powodów wyłuszczonych powyżej, należałoby nalewać na płytkę pożywki kilka razy więcej.

**Doświadczenie III-cie** dotyczyło zależności wzrostu bakteryj od ilości pożywki i grubości warstwy agarowej, przy stałym stężeniu pożywki. Bakterje czerwonkowe typu *Shiga-Kruze* oraz bakterje tyfusowe wyzyskują pożywkę nawet przy grubej warstwie agaru, albowiem: 1) wzrost bakteryj tych jest proporcjonalny do ilości pożywki i 2) podłoża z wyrośniętymi bakterjami, po usunięciu z nich bakteryj i wstawieniu powtórnie do cieplarki, nie dają wzrostu. Natomiast bac. coli i odmieniec X 19 wyzyskują pożywkę bardziej powierzchownie: pożywki o grubej warstwie agarowej dają stosunkowo mniejszą ilość bakteryj i, po powtórnem wstawieniu do cieplarki, otrzymuje się jeszcze wzrost; potwierdzałoby to przypuszczenie, że pożywki te za pierwszym razem nie były wyzyskane.

**Doświadczenie IV-te** stwierdza zależność wzrostu bakteryj na pożywkach agarowych od czasu hodowania w temperaturze 36°. Wykazuje ono,

że wszystkie badane gatunki bakteryj zachowują się mniej więcej jednako: przez pierwsze 6 godzin wzrost jest niewidoczny, przez następnych 12 godzin — obfity, po 18 godzinach jest prawie ukończony i przy dalszym hodowaniu zmienia się bardzo mało. Z doświadczeń tych nasuwają się następujące wnioski praktyczne.

1. Żeby wyzyskać pożywkę, wystarczy hodować 24 godziny w temperaturze 36°. To samo dotyczy hodowania bakteryj w celu otrzymania szczepionek.

2. Jeżeli chodzi o badanie djagnostyczne, gdzie zależy na czasie, badanie po 6 godzinach jest bezcelowe, gdyż wzrost wówczas jest minimalny; po 10 godzinach można już próbować badania, najlepiej jednak po 18 godzinach.

**Doświadczenie V-te** obejmuje zależność wzrostu od temperatury. Badane bakterje chorobotwórcze dają najlepszy wzrost w temperaturach od 31°—37°. Temperatura od 39° wzwyż jest już bezwzględnie szkodliwa dla badanych gatunków bakteryj chorobotwórczych. Odmieniec X 19 zachowuje się odmiennie, albowiem najlepszy wzrost dał przy temperaturze 25°, w miarę zaś podwyższania temperatury wzrost był coraz gorszy.

**Doświadczenie VI-te** stwierdza zależność wzrostu wibrjonów cholerycznych od czasu hodowania i temperatury. Wyniki tych badań są następujące:

1. Okres początkowy, gdy wzrost bakteryj jest niewidoczny, jest tem krótszy, im wyższą jest temperatura, przy której hodujemy bakterje, o ile nie przekraczamy 37°.

2. Okres szybkiego rozmnażania się jest tem dłuższy i występuje tem później i maximum jego jest tem większe, im niższą jest temperatura (w granicach od 27°—41°) Maximum wzrostu w temperaturze 39° i 41° jest znacznie niższe od maximum wzrostu przy 37°; natomiast maximum przy temperaturze 34, 31, 27° różni się mało od maximum przy 37°. Tak więc, temperatura, przy której należy hodować wibrjony cholery, zależy od tego, jak długo mamy zamiar je hodować: jeżeli 36 godzin to w 27°, 24 godziny w 34 do 30°, 12—18 godzin w 37°. Wyższych temperatur stosować nie należy.

Do hodowli bakteryj chorobotwórczych niekoniecznie trzeba używać cieplarek o stałej temperaturze; do tego celu mogą wystarczyć w zupełności termosy, to znaczy naczynia mniej więcej izolowane, wewnątrz których temperatura spada powoli.

**Doświadczenie VII-me** dotyczy zależności wzrostu bakteryj od stężenia soli kuchennej, w granicach od 0,25—5%.

Z doświadczeń tych wynika, że ilość soli kuchennej w pożywce powinna być dostosowana do gatunku bakteryj, który mamy zamiar hodować. Z czterech zbadanych gatunków bakteryj każdy zachowuje się odmiennie: 1) cholere należy hodować na agarze, zawierającym 0,5% NaCl, 2) bakterje tyfusowe najlepiej rosną przy 0,5% NaCl, lecz znoszą dość dobrze jeszcze 3% NaCl, 3) bakterje czerwonkowe typu *Shiga Kruze* hodować należy z 1,5% NaCl, 4) Odmieniec X 19 rośnie dobrze od 0,5—5% NaCl, 5) gronko-

wce hodować należy przy stężeniu NaCl od 2—5%. Pożywki, zawierające 5% NaCl, mogłyby służyć do izolacji gronkowców od innych bakteryj.

**Doświadczenie VIII-me** dotyczy zależności wzrostu bakteryj od stężenia H<sup>+</sup>.

1. Przy stężeniu Ph 5,0 nie rośnie żadna z badanych bakteryj.
2. Przy Ph 6,0 dają dobry wzrost bac. Coli, odmieniec X 19 i gronkowce. Wszystkie te gatunki bakteryj posiadają zdolność rozkładania cukrów z wytwarzaniem kwasów.
3. Przy Ph 6,4 rosną już bakterje tyfusowe, natomiast bakterje czerwonkowe typu *Shiga-Kruze* dają bardzo słaby wzrost.
4. Wibrjony cholery dają wzrost dopiero przy Ph 7,0, t. j. w punkcie obojętnym.

## L I T E R A T U R A.

1. Michaelis. Die Wasserstoffionenkoncentration. Berlin 1914.
2. Derbny. Annales de l'Institut Pasteur 1921. XIX. 277.
3. Eisenberg. Centralbl. f. Bakt. Or. I Abt. T. 82. 1918. 69.
4. Beauverie. Compt. Rend. Acad. des Sc. Paris T. 163. 1916. 494.
5. Graham Smith. The Journal of Hygiene. T. 19. 1920. 134.
6. Kruze. Allgemeine Mikrobiologie. Lipsk 1910.

De l'Institut Epidémiologique de Varsovie  
(Directeur Dr. L. Rajchman).

## Recherches sur les Milieux.

### I. RAPPORT.

# Influence des différents agents sur la croissance des bactéries pathogènes dans les milieux gélés.

Présenté par le

**Dr. STANISŁAW SIERAKOWSKI**

Vice-Directeur de l'Institut, Chef du Service des vaccins.

En collaboration avec

**M-mes Z. MODRZEWSKA, H. RABINOWICZ et E. SALAMON**

Assistants de l'Institut.

## S O M M A I R E.

Les recherches des auteurs avaient pour but d'étudier si le mode usuel de préparation des milieux gélés donne les conditions optima dans la préparation des vaccins ainsi que pour les recherches diagnostiques.



à 41° est inférieur au maximum du développement à la température de 37°. Le maximum du développement à des températures de 34, 31, 27° diffère peu du maximum obtenu à la température de 37°.

**Expérience VII.** Influence de la concentrations des ions d'hydrogènes sur le développement des bactéries.

A la concentration Ph 5,0, aucune espèce de microbes examinés ne se développe.

A la concentration Ph 6, 0 le bac. Coli, le Proteus X 19 et les staphylocoques se développent bien.

A la concentration Ph 6, 4 le bac. typhique se développe bien, tandis que le développement du bac. *Shiga-Kruze* est moins intense.

Le vibron cholérique se développe seulement dans Ph 7,0, c'est à dire, au point neutre.

Les résultats des recherches suivantes prouvent, que différentes espèces de bac. se comportent différemment en présence de NaCl.

Le vibron cholérique se développe le mieux dans 0,5% de NaCl; si le % de NaCl est plus élevé le développement s'amointrit — il est 3,5 fois plus faible à une concentration de 3% de NaCl; il disparaît dans 5% de NaCl. Le bac. cholérique se développe médiocrement dans une concentration plus élevée que 5%.

Le bac typhique se développe le mieux dans 0,25—0,5% de NaCl. On remarque un diminution de son développement dans 1% de NaCl à peu près de 1,5%. Le développement reste le même jusqu'à 3% de NaCl, mais dans 5% de NaCl il s'abaisse jusqu'à la moitié. Le bac. typhique supporte 0,25 — 3% NaCl.

Le bac. *Shiga-Kruze* donne un faible développement avec 0,25—0,5% de NaCl. Mais celui-ci est deux fois plus intense dans 1,5% de NaCl, il s'abaisse dans 2% et s'arrête à 5%.

Le bac. *Shiga-Kruze* se développe le mieux dans 1 — 1,5% de NaCl. Ce bacille supporte mal la concentration du NaCl.

La concentration du NaCl. est indifférente au développement du Proteus X 19.

Les staphylocoques diffèrent des autres bac. qui ont été observés. Leur développement s'accroit en mesure de l'élévation de la concentration de NaCl de 0,25 à 2%. Dans 3,5% ils montrent un abaissement insignifiant. Cette espèce de bac. se trouvant souvent sur la peau, est accoutumée à une concentration de NaCl.

---

Z Zakładu Higjeny i Bakterjologii Uniwersyt. Jana Kazimierza we Lwowie.  
(Kierownik Doc. Dr. Zdzisław Steusing).

## Działanie dezynfekcyjne jodyny.

Skreślił

Dr. STANISŁAW LASKOWNICKI  
asystent lwowskiej Kliniki chirurgicznj.

Pod koniec XVIII-go w. zaczęto porównywać proces ropienia ran z procesem gnicia; wyłoniły się wtedy dość mglisto sformułowane pojęcia o istnieniu grzybków, które mogą rany zanieczyścić—zaczęto też myśleć o sposobach uniknięcia tego zanieczyszczenia.

W tym czasie pojawia się po raz pierwszy, wprowadzony przez autorów francuskich i angielskich, wyraz dezynfekcja, który w rozmaitych odmianach zaczyna się coraz częściej powtarzać.

W r. 1861 *Lister* wprowadza w użycie kwas karbolowy i stwarza erę antyseptyczną.

Właściwe podstawy ogromnej już dziś nauki o dezynfekcji stworzyli *Pasteur* i *Koch* swemi publikacjami, które dały początek nauce o specyficzności bakteryj. Nastąpił okres walki zapomocą różnego rodzaju środków dezynfekcyjnych, już nie z owemi nieznanemi bliżej „grzybkami“, ale z drobnoustrojami, których naturę, wytrzymałość i różne właściwości poznano już dość dobrze.

W rezultacie problem odkażania narzędzi i materiałów opatrunkowych został już zupełnie rozwiązany—kwestja odkażenia rąk operatora i pola operacyjnego pozostała do dziś dnia w chirurgji problematyczną. W dalszym ciągu trwają poszukiwania za środkiem, któryby zabijał w jak najkrótszym czasie drobnoustroje, wnikał głęboko w skórę, a równocześnie nie drażnił i nie uszkadzał tkanek.

Do dziś dnia środka dezynfekcyjnego, któryby w zupełności odpowiadał tym warunkom, nie posiadamy, mamy jednak środki, które, wedle doświadczeń klinicznych, rolę swą spełniają zupełnie dobrze.

Środkiem, który zajmuje dziś w dezynfekcji dominujące stanowisko, jest jod. Roztwór jodu w alkoholu prawie zupełnie wyparł dziś w chirurgji dawniej ogólnie używany roztwór sublimatu, posiada jednak jeszcze wielu przeciwników. Podnoszone są często zarzuty, że jod jest środkiem o słabym działaniu dezynfekcyjnym z powodu słabej swej rozpuszczalności i że jest przytem środkiem drażniącym.

Śród licznych badań i publikacji, w których zastanawiano się nad siłą bakterjobójczą jodyny, znajdujemy ogromną rozbieżność zdań. I tak, gdy z jednej strony spotkać się można ze zdaniem, że jodyna *in vitro* nie ma wielkiej siły dezynfekcyjnej, z drugiej strony (*Brüning*) można słyszeć, że jodyna posiada znaczną zdolność zabijania i powstrzymywania drobnoustrojów w rozwoju i że zdolność ta przewyższa o wiele siłę bakterjobójczą alkoholu. *Brunner*, określając działanie jodyny na skórze, wypowiada przekonanie, że o jałowości skóry po użyciu jodyny niema mowy; jodyna jedynie uszkadza przeważną część drobnoustrojów, znajdujących się na skórze, przez odciągnięcie od nich wody przy parowaniu i wysychaniu i utrwała je następnie (*fixuje*), powstrzymując ich zdolność do opuszczenia skóry.

W zajmujących badaniach nad zdolnością wnikiwania jodyny w głąb skóry, stwierdzili *Walther* i *Tobraine*, że wnika ona pod powierzchnią skóry na 60 do 80  $\mu$ , *Noguchi* zaś stwierdził na zamrażanych preparatach, że jodyna przenika całą górną część *stratum corneum*, a wzdłuż przewodów włosowych wnika głębiej po za *stratum Malpighii*, nie dosięga jednak gruczołów łojowych, potowych ani końców włosów.

Wnikanie swe w głąb skóry zawdzięcza jodyna alkoholowi, a ma to duże znaczenie w dezynfekcji skóry.

Jod, rozpuszczony w wodzie, np. w postaci płynu *Lugola*, ma o wiele większą siłę bakterjobójczą, nie wnika jednak dość głęboko w skórę, dlatego też do odkażania pola operacyjnego w roztworze wodnym nie nadaje się.

Jak widać z dotychczasowych badań, istnieje rozbieżność zdań co do siły bakterjobójczej jodyny, jej zaś działanie dezynfekcyjne wcale nie jest dokładnie określone.

### Dezynfekcja.

Jeżeli się zastanowimy nad tem, w jaki sposób przebiega t. zw. dezynfekcja, a zwłaszcza, w jaki sposób działają bakterjobójczo na drobnoustroje środki chemiczne, to pokazuje się, że cała sprawa jest nieco skomplikowaną.

Uszkodzenie drobnoustrojów przez wpływy zewnętrzne może się przedstawiać w rozmaitej formie. I tak, przy małym uszkodzeniu, przejawiać się ono może w tymczasowem zniknięciu tej lub owej funkcji życiowej (np. zdolności produkowania toksyn) lub w powstrzymaniu, na przeciąg pewnego czasu, zdolności do rozwoju, zdolności te jednak po pewnym czasie wracają.

Zwykle jest tak, że drobnoustrój przez pewien czynnik szkodliwy nie jest jeszcze zabity, staje się jednak niezdolnym do rozmnażania się tak długo, jak długo znajduje się pod działaniem czynnika szkodliwego; z chwilą jednak, gdy drobnoustrój zostanie uwolniony od działania szkodliwego wpływu i przeniesiony w warunki sprzyjające jego rozwojowi, zdolność rozmnażania się wraca. Wreszcie, po jeszcze silniejszym uszkodzeniu, drobnoustrój zostaje zabity i, pomimo usunięcia szkodliwego wpływu

i przeniesienia drobnoustroju w optimum warunków życiowych, już się nie rozwija i nie rozmnaża.

W jaki sposób i dlaczego giną bakterje?

Na to pytanie trzeba dać cały szereg odpowiedzi, bo cały szereg różnych czynników fizycznych i chemicznych działa bakterjobójczo.

Niektóre bakterje, mało odporne, giną przy wysychaniu; giną też i w wodzie — chodzi tu prawdopodobnie o zaburzenia osmotyczne, które do zabicia wrażliwych bakterij w zupełności wystarczają. Śmierć drobnoustroju przychodzi do skutku, gdy proces rozkładu żywej plazmy wzmagają się tak, że przewyższa jej funkcje asymilacyjne; w ten sposób tłumaczymy działanie bakterjobójcze temperatury od 40° do 60° C. Śmierć drobnoustroju może nastąpić z powodu oksydacji żywej plazmy, dochodzącej do zupełnego spalania (chlor, ozon, światło). Są środki, rozpuszczające ciało bakterij (antiformina). Śmierć drobnoustroju sprowadza koagulacja, ścięcie białka drobnoustroju (wysoka temperatura, sole metali i fenol). Wreszcie środki dezynfekcyjne działają chemicznie; jest to t. zw. dezynfekcja chemiczna.

Środki chemiczne działają bakterjobójczo tem łatwiej, im lepiej się rozpuszczają, zwłaszcza w wodzie. Środek chemiczny, rozpuszczony w wodzie na pojedyncze molekuly, lepiej dyfunduje, przenika do ciała bakterji i w ten sposób działa bakterjobójczo przez zdolność dyfuzji. *Krönig* i *Paul* udowodnili, że pewne środki chemiczne działają bakterjobójczo w miarę stopnia dysocjacji elektrolitycznej.

Ciała, rozpuszczone w wodzie, dzielą się na drobiny elektro-pozytywne i elektro-negatywne, czyli jony. *Krönig* i *Paul* udowodnili, że działanie dezynfekcyjne soli metali zależy nie tylko od siły dezynfekcyjnej elektro-pozytywnego kationu (jonu metalicznego), ale także od elektro-negatywnego anionu, a nawet i od części niezdysonowanej. Najważniejszym jednak czynnikiem bakterjobójczym danego środka jest jego zdolność ścinania białka.

Wszystkie silne *desinficientia* są środkami ścinającymi białko, choć nie wszystkie środki, ścinające białko, są środkami dezynfekcyjnymi (np. alkohol, tannina). Niejednakowo łatwo zostaje ścięte białko żywe, jak martwe, przytem łatwość ścinania się białka zależna jest od ilości zawartej w niem wody.

Formy wegetatywne drobnoustrojów zawierają około 80% wody, zarodniki zaś składają się z białka silnie skoncentrowanego, zawierającego wody bardzo mały procent, białko też ich ścina się bardzo trudno. Białko z 6% zawartości wody ścina się przy 145° C., białko, wolne od wody, dopiero przy 170° C.

Suche gorące powietrze zabijać może zarodniki w temp. od 140° do 170° C, wilgotne gorąco, a więc para nasycona, zabija je w temperaturze niższej, oddaje ona bowiem zarodnikom, które są w suchym stanie ciałami hygroskopijnymi, wodę, powoduje przez to ich pęcznienie i dopiero potem ścina ich białko.

Jak z tego wynika, działanie dezynfekcyjne rozmaitych środków nie jest rzeczą prostą. Przy użyciu różnych środków działają rozmaite czynniki, nad których wpływem trzeba się zastanowić.

I tak, za mało jest powiedzieć, że np. jodyna utrwała bakterje na powierzchni skóry. Trzeba się przekonać, czy jodyna drobnoustroje zabija, czy też je tylko osłabia na pewien czas, czy przypadkiem nie działa powstrzymująco na ich rozmnażanie się, a działając równocześnie chemotaktycznie na leukocyty, czy nie wydaje następnie na ich łup drobnoustrojów osłabionych, pozbawionych zdolności rozmnażania się i obrony.

### Technika badania.

Badając jakiś środek, musimy rozważyć jego właściwości powstrzymujące rozwój drobnoustrojów (antyseptyczne) i jego właściwości bakterjobójcze (dezynfekcyjne), przytem, w tej drugiej grupie, rozważyć musimy działanie dezynfekcyjne tegoż środka na formy wegetatywne i na zarodniki.

Granicę powstrzymania drobnoustrojów w rozwoju można oznaczyć stosunkowo łatwo, trzeba jednak odróżnić powstrzymanie w rozwoju tymczasowe, albo utrudnienie w rozwoju, od powstrzymania w rozwoju bezwzględne. I tak np., nie będą powstrzymane w rozwoju drobnoustroje, które wyrosną na pożywce dopiero w 3-cim lub 4-tym dniu; ich rozwój będzie jedynie utrudniony.

Miara więc siły antyseptycznej danego środka będzie najmniejsza jego ilość, dodana do pożywki, wywołująca bezwzględne powstrzymanie wzrostu drobnoustrojów (albo ich zdolności do rozmnażania się na pożywce).

O wiele trudniej jest oznaczyć bakterjobójczość danego środka, czyli jego siłę dezynfekcyjną, a właściwie nie możemy oznaczyć zupełnie dokładnie siły bakterjobójczej wielu środków (najkrótszy czas działania danego środka, w którym drobnoustroje zostały zabite; daje nam pojęcie o jego sile dezynfekcyjnej).

Największa trudność polega na zupełnem usunięciu środka dezynfekcyjnego z materiału, na którym są umieszczone drobnoustroje, poddane jego działaniu. Przy niedokładnem bowiem usunięciu środka badanego, dostaje się on, wraz z badanym materiałem, na pożywkę i tam, albo będzie rozpuszczony w pożywce (buljonie), albo tworząc warstwę antyseptyku wokoło badanego materiału na pożywce stałej (na agarze), wywołuje powstrzymanie w rozwoju drobnoustrojów żywych jeszcze, choć osłabionych działaniem tegoż środka.

Środek dezynfekcyjny trzeba albo zneutralizować (np. sublimat siarczkim amonu) albo wypłukać, żeby uwolnić drobnoustroje od dalszego szkodliwego wpływu—nie jest to jednak zawsze rzeczą łatwą. Specjalnie niełatwym zadaniem okazało się usunięcie środka dezynfekcyjnego przy metodzie badania, podanej przez Kocha, gdzie drobnoustroje zasusza się na nitkach jedwabnych, które zanurza się w tym celu w zawiesinie bakteryj, czy to w buljonie, czy też w płynie fizjologicznym.

Drobnoustroje osadzają się na nitkach na różnej głębokości, z drugiej strony płyn dezynfekcyjny wnika też głęboko w nitki, czasem głębiej, niż za-



wiesina drobnoustrojów. Nie łatwo też potem dany środek dezynfekcyjny zneutralizować lub wypłukać z nitek, zważywszy, że nie wszystkie płyny wnikają równie głęboko. Inaczej pod tym względem zachowuje się buljon, inaczej płyn fizjologiczny, inaczej 1% roztwór sublimatu, a inaczej 1%-towy roztwór siarczku amonowego.

Specjalnie w badaniach metodą *Kocha* różni autorowie dochodzili do różnych wyników. Wytłumaczyć to można właśnie w ten sposób, że rozmaite płyny, wnikając rozmaicie głęboko, osadzają swe sole metali w rozmaitych warstwach i w rozmaitych miejscach na nitkach; nic też dziwnego, że otrzymuje się najrozmaitsze wyniki.

*Geppert* wykazał, że zarodniki węglika, które jakiś czas leżały w sublimacie, nie wyrastają na pożywce, zawierającej małe ilości sublimatu, podczas gdy na pożywce, wolnej od sublimatu, wyrastają zupełnie dobrze. To doświadczenie ilustruje zupełnie wyraźnie, że żyjące bakterje albo zarodniki nie mogą się rozwinąć, gdy pożywka albo materiał, na którym są umieszczone, zawiera jeszcze drobne ślady środka dezynfekcyjnego, wystarczające, aby powstrzymać ich rozwój. Okazało się również, że specjalnie trudno jest usunąć z nitek jedwabnych sublimat, ponieważ posiada on pewną skłonność do zatrzymywania się na nitkach, jest bowiem dla nich rodzajem zaprawy (bejcy).

Zaczęto próbować innych metod.

I tak, *Gruber* podał metodę suspensyjną, która nie utrzymała się jednak długo, gdyż wykazano, że i przy tej metodzie przychodzi do powstrzymania w rozwoju żyjących jeszcze bakteryj. Próbowano zasuszać drobnoustroje na bibule, wiórkach szklanych, kawałkach gumy, płytkach i kulkach szklanych, wreszcie na granatkach, które wprowadzili w użycie *Paul* i *Krönig*.

Granatki mają tę zaletę, że łatwo jest zasuszyć na nich drobnoustroje i że łatwo potem daje się usunąć płyn dezynfekcyjny przez wypłukanie, choć z drugiej strony, przy zanadto dokładnem płukaniu, można mechanicznie usunąć także i drobnoustroje. Płukanie musi się odbywać ostrożnie i przy każdym doświadczeniu w jeden i ten sam sposób.

Zanim opiszę technikę laboratoryjną, jaką posługiwałem się w swych doświadczeniach, muszę wspomnieć jeszcze o wskazówkach *Paula* i *Kröniga*, którzy technikę badań drobnoustrojów, zasuszonych na granatkach, dokładnie podali. Zrobili oni to w tym celu, by raz na zawsze ustalić dla wszystkich sposób postępowania w tych badaniach i by uniknąć w ten sposób ogromnych różnic w wynikach, jakie podają różni autorowie, badając działanie jednego i tego samego środka dezynfekcyjnego na tych samych bakterjach.

Warunki podane przez nich są następujące:

1) Badane bakterje muszą być w rozmaitych doświadczeniach jednakowo odporne.

2) Ilość użytych bakteryj musi być w każdym doświadczeniu mniej więcej ta sama.

3) Bakterje muszą być przeniesione do płynu dezynfekcyjnego tak, aby nic z pożywki, na której były hodowane, wraz z nimi do tego płynu się nie dostało.

4) Badane płyny dezynfekcyjne muszą mieć zawsze tę samą temperaturę.

5) Po wyjęciu z płynu dezynfekcyjnego, a przed umieszczeniem drobnoustrojów na pożywkę, muszą być one zupełnie uwolnione od działania płynu dezynfekcyjnego.

6) Drobnoustroje muszą być przeniesione zawsze na taką samą ilość pożywki, przy tej samej temperaturze, w optimum warunków rozwoju.

7) Liczba pozostałych przy życiu drobnoustrojów musi być obliczona (w formie kolonij), dlatego należy używać pożywek stałych.

8) Jeżeli chodzi o ściśle badania naukowe, należy koncentrację badanych płynów obliczać nie na podstawie procentu ich ciężaru, lecz należy używać płynów w ilościach równodrobinowych.

Nie trzymałem się zupełnie dokładnie przepisów, wyżej podanych. Pierwszy i drugi warunek został spełniony. Bakterje były przez cały czas badania stale jednakowo odporne, co stwierdzałem zawsze zupełnie pewnie doświadczeniami kontrolnymi. Ilość bakterij była mniej więcej ta sama, bo do doświadczeń używałem wybranych granatków, średnicy od 1 $\frac{1}{2}$  do 2 mm.

Warunek trzeci nie został spełniony, granatki bowiem były maczane w buljonie, zawierającym drobnoustroje, poddawane badaniom i potem wysuszane w eksikatorze. W ten sposób dookoła każdego granatka tworzyła się skorupa zaszuszonego buljonu z drobnoustrojami. Robiłem to celowo z następujących powodów.

1) Metodą tą chciałem podnieść odporność bakterij i badać je w możliwie najlepszych warunkach egzystencji, w takich, w jakich znajdują się w naturze, a więc w zaschniętej ropie.

2) Wskutek tego, że drobnoustroje zostają poddane rozmaitym manipulacjom przygotowawczym w laboratorium, jak wstrząsaniu (mechaniczne wstrząsanie wedle *Gotschlicha* i urazy mogą również uszkadzać i osłabiać żywotność bakterij), wysuszaniu, wystawianiu na działanie światła i t. p., zmniejsza się ich odporność w stosunku do tej, jaką mają w naturze. Ten minus starałem się wyrównać, stwarzając drobnoustrojom ochronną skorupę z pożywki, ubogiej zresztą w białko, która je ochraniać miała od dalszych wpływów szkodliwych

3) Nie chodziło mi o specjalne porównanie wyników moich z wynikami, uzyskanymi dotychczas w licznych badaniach, chodziło mi głównie o odpowiedź na pytanie, w jaki sposób działa jodyna na bakterje, w jakim czasie je zabija, czy je zabija wogóle, czy też tylko powstrzymuje ich rozwój, czy działaniem jodyny jest owo utrwalanie drobnoustrojów na skórze i utrudnianie im w ten sposób opuszczenia miejsca, na którym się znajdują.

4) W doświadczeniach moich udało mi się wykazać, że otoczka ta z pożywki staje się, z chwilą dostania się drobnoustrojów w zabójcze dla ich istnienia warunki, ochroną bardzo problematyczną i słabą

Warunek czwarty został spełniony; badania odbywały się zawsze w temperaturze pokojowej, w porze letniej.

Co do warunku piątego sędzę, że i ten spełniłem, starałem się bowiem zawsze o dokładne usunięcie płynu dezynfekcyjnego przez zneutralizowanie go i wypłukanie.

Warunek szósty był spełniony zawsze.

Liczenie kolonij, rozwiniętych z pozostałych przy życiu drobnoustrojów (warunek siódmy), spełniałem tam jedynie, gdzie chodziło mi o wykazanie działania osłabiającego wzrost i rozwój drobnoustrojów przez badany środek

Ostatni warunek odpada sam przez się, bo nie chodziło mi o badania zupełnie ściśle.

### Technika laboratoryjna.

Wybrawszy granatki o przekroju mniej więcej  $1\frac{1}{2}$  do 2 mm., wygotowywałem je najpierw w t. zw. mieszaninie utleniającej przez 15 minut, żeby je pozbawić substancyj organicznych. Mieszanina utleniająca składa się:

ze 100 części Kalium bichromatam  $K_2Cr_2O_7$

„ 100 „ stężonego kwasu siarkowego  $H_2SO_4$

„ 1000 „ wody  $H_2O$

$K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4 = H_2Cr_2O_7$  czyli kwas nadchromowy, który w zetknięciu się z substancjami organicznymi, zwłaszcza przy ogrzaniu, zamienia się na kwas chromowy  $H_2Cr_2O_4$ , oddając bardzo łatwo 3 drobiny tlenu; utlenia on substancje organiczne i jest równocześnie środkiem bakterjobójczym i oczyszczającym.

Następnie poddawałem granatki przepłukaniu przez 24 godziny w wodzie płynącej, aby usunąć z nich resztki kwasu chromowego, poczem kilkakrotnie opłukiwałem je w wodzie destylowanej. Tak przygotowane granatki wysuszałem następnie w miseczce porcelanowej, w suszarce, aż do zupełnej suchości; układałem następnie po 50 do 100 sztuk razem do epruwetek, które, zatkawszy watą, poddawałem suchej sterylizacji w suszarce, w temperaturze 150 do 160° C, przez 24 godzin.

Następnie sterylizowałem szereg naczyń, używanych potem do doświadczeń. Płyny, neutralizujące dany środek dezynfekcyjny i roztwór fizjologiczny soli kuchennej, którym granatki były opłukiwane, były również sterylizowane.

Badania przeprowadzałem z trzema gatunkami drobnoustrojów, z *bac. coli*, który jest najodporniejszy z grupy bakterij tyfusowych, ze szczepem *staphylococcus pyogenes aureus*, najodporniejszym z drobnoustrojów niezarodnikujących i z zarodnikami *bac. subtilis*, które są najodporniejsze ze wszystkich zarodników.

*Koch* polecił wprawdzie, by do badań używać zarodniki węglika, bo tych nie znajdujemy w powietrzu, przy pewnych jednak ostrożnościach można się ustrzec od tego, by *bac. subtilis* nie dostał się na pożywkę z powietrza.

Po wyhodowaniu szczepu, który miał być badany, na agarze skośnym i buljonie, wlewałem kulturę buljonową do hodowli agarowej i, obracając

w rękach, splókiwałem w ten sposób hodowlę z agaru. Po dokładnem zmieszaniu, buljon z zawartemi w nim drobnoustrojami wylewałem na sterylizowaną płytkę *Petriego*. Na drugą płytkę wsypywałem granatki, które następnie wkładałem wyżarzoną i ostygłą pincetą na chwilę do buljonu, pojedynczo tak, by zupełnie były przez buljon opłukane; przez lekkie wstrząśnienie usuwałem nadmiar buljonu na granatku i układałem je następnie jeden za drugim rzędami na płytce *Petriego*. Granatki starałem się układać tak, aby jeden drugiego nie dotykał. Na jednej płytce umieszczałem w ten sposób około 100 granatków. Płytkę taką umieszczałem z granatkami w eksikatorze w próżni, na 12 do 24 godzin, aż granatki zupełnie wyschły i z trudnością dawały się oderwać od podstawy.

Tak przygotowane granatki poddawałem następnie działaniu płynów dezynfekcyjnych.

By móc określić siłę bakterjobójczą badanego środka, staramy się ją porównać z siłą bakterjobójczą jakiegoś znanego czynnika. Takimi czynnikami, służącemi do porównania, są: 5%-owy kwas karbolowy, 1‰ roztwór sublimatu i para wodna o temperaturze 100° C.

Przedewszystkiem więc określałem odporność badanego szczepu na parę wodną. W tym celu, ułożywszy na sterylizowanej płytce *Petriego* granatki z zasuszonymi drobnoustrojami i nakrywszy płytkę, wkładałem ją szybko do aparatu *Kocha* w chwili, gdy termometr wskazywał 100° C. i para wyraźnie uchodziła pod pokrywką. Po oznaczonym czasie odkrywałem nakrywkę aparatu, nakrywkę płytki i pincetką wyżarzoną, a potem oziębioną w sterylizowanym płynie fizjologicznym, wyjmowałem jeden granatek i rzucałem go do próbówki z agarem skośnym, następnie drugi granatek do próbówki z buljonem.

Całą tę procedurę starałem się wykonywać szybko, by nie oziębić aparatu *Kocha* przez odkrycie, trwające zanadto długo albo też powtarzałem ją dla każdego doświadczenia osobno.

Badając środek dezynfekcyjny postępowałem w następujący sposób.

Pewną ilość granatków wkładałem do sterylizowanego naczynka porcelanowego z nakrywką na znajdujące się wewnątrz sitko porcelanowe i nalewałem na nie badany środek dezynfekcyjny. Po oznaczonym czasie wyżarzoną i ostygłą pincetą wyjmowałem granatek, wkładałem go do naczynka z płynem neutralizującym i opłukiwałem w ten sposób, że granatek, trzymany w pincecie, przesuwalem wolno przez całą szerokość naczynka 5 razy tam i z powrotem, następnie puszczałem go wolno, znów chwytałem w pincetę i znów 5 razy płukałem. To samo powtarzałem w drugim naczynku również z płynem neutralizującym i w następnych dwu naczynkach z roztworem fizjologicznym soli kuchennej. Granatek kontrolny opłukiwałem również tak samo, bez wkładania go jednak do płynu dezynfekcyjnego. Wszystkie naczynka i płyny, do doświadczeń używane, prócz płynów dezynfekcyjnych, były sterylizowane. Próbówki z pożywkami, na których znajdowały się granatki z drobnoustrojami, stały w termostacie przy 37°C. przez 10 dni i były codziennie oglądane.

## Działanie środków dezynfekcyjnych na *bac. coli*.

*Bac. coli*, którego używałem do doświadczeń, poddane działaniu pary wodnej nasyconej, przy 100° C., po 15" działania, pozostawały przy życiu, po 1/2, min. działania ginęły. Para nasycona o 100° C. zabija *bac. coli* prawdopodobnie natychmiast; wynik dodatni po 15" zapisać należy na karb niedostatecznie wysokiej temperatury w aparacie *Kocha*, który był przez chwilę, przy wkładaniu do niego granatków, odkryty i przez to oziębiony.

Po podziałaniu na ten sam szczep, umieszczony również na granatkach, w tych samych warunkach, roztworem 5%-owym nalewki jodowej przy następującym postępowaniu: 1) 5% jodyna, 2) 1% tiosiarkan sodowy, 3) detto, 4) płyn fizjologiczny, 5) detto, okazało się, że roztwór ten zabija *bac. coli* po 1/2 minucie.

Rozczyn *Lugola* (sposób postępowania ten sam) zabija *bac. coli* po 1 min. działania; 1% roztwór jodu w 97% alkoholu zabija *bac. coli* w dwu minutach (sposób postępowania j. w.). 1% roztwór tymolu w 97% alkoholu (sposób postępowania: 1) tymol, 2) płyn fizjolog., 3) detto) nie zabija tego samego szczepu w 10 min. Dowodzi to słabej siły dezynfekcyjnej i tymolu i 97% alkoholu, który, tak mało odpornych drobnoustrojów, jeszcze po 10 min. nie zabija.

1% roztwór sublimatu, przy sposobie postępowania: 1) sublimat, 2) 1% siarczek amonowy, 3) detto, 4) płyn fizjolog., 5) detto, zabija *bac. coli* po dwu minutach.

## Działanie środków dezynfekcyjnych na *staphylococcus pyogenes aureus*.

Doświadczenia ze szczepem *staphylococcus aureus*, wychodowanym z przypadku osteomyelitis, przeprowadziłem dokładniej, niż z *bac. coli*, stafilokoki bowiem są dość odporne na działanie środków dezynfekcyjnych, podczas gdy *bac. coli* jest wrażliwy i łatwo ulega uszkodzeniu.

### a) Działanie pary o 100° C. na stafilokoki.

Para wodna nasycona, o 100° C., zabija *stafilokoki* po dwu minutach działania.

W następnym doświadczeniu sublimat neutralizowałem 1%-owym roztworem siarczku amonowego, który przyrządzałem w ten sposób, że do 100 cm<sup>3</sup> przekroplonej, sterylizowanej wody dodawałem sterylizowaną pipetą 1 cm<sup>3</sup> siarczku amonowego.

b) Działanie 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub> roztworu sublimatu.

Sposób postępowania: 1) sublimat, 2) siarczek amonowy, 3) detto, 4) płyn fizjol., 5) detto.

Cz. dz. 1)	po 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
0'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5'	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10'	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20'	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30'	-	+1 m.	+3 m.	+	+	+	+	+	+	+
45'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Doświadczenie to zostało wykonane na agarze skośnym, ponieważ, jak to i z późniejszych doświadczeń się okazuje, stafilocoki po doświadczeniach dezynfekcyjnych łatwiej wyrastają na agarze.

Stafilocoki zostają zabite przez sublimat po 45'; po 5 min. działania zostają już osłabione, czego dowodem jest, że wyrastają dopiero po 24 godzinach; poddane działaniu sublimatu przez 30 minut, wyrastają po 48 godzinach w formie 1 małej kolonii, po 3 dniach są 3 kolonie, po 4 dniach wyraźnie plus.

c) Działanie 1% roztworu jodu w 97% alkoholu.

Sposób postępowania: 1) alkohol jodowy, 2) tiosiarczan sodowy, 3) płyn fizjol., 4) detto.

Cz. dz.	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3'	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
5'	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
10'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15'	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
20'	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
30'	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
45'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1% roztwór jodu w 97% alkoholu zabija stafilocoki, podobnie jak 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub> sublimat, po 45 minutach. Po 20 minutach działania stafilocoki zostają wyraźnie osłabione, wyrastają dopiero po 3 dniach.

1) Cz. dz. — czas działania.

+ oznacza, że drobnoustroje rosną na pożywce.

- oznacza, że drobnoustroje zostały zabite.

+ 1 m. — jedna mała kolonia.

Płukanie odbywa się raz tylko, w tiosiarkanie sod., ze względu na małą ilość jodu, zawartego w alkoholu.

Kontrola wyraźna.

d) Działanie 2-0/00 roztworu jodu w 80% alkoholu.

Sposób postępowania: 1) alkohol jodowy, 2) tiosiarkan sodowy, 3) płyn fizjol., 4) detto.

Cz. dz.	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5'	± <sup>1)</sup>	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
10'	-	-	±	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
15'	+	-	±	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
20'	-	-	-	-	±	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
30'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2<sup>0</sup>/00 roztwór jodu w 80% alkoholu zabija stafilocoki po 30 min. działania, znacznie je osłabia po 20 minutach.

e) Działanie 2% roztworu jodu w 70% alkoholu.

Sposób postępowania: 1) alkohol jodowy, 2) tiosiarkan sodowy, 3) płyn fizjol 4) detto.

Cz. dz.	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1/2'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1'	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
1 1/2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2%owy roztwór jodu w 70% alkoholu zabija stafilocoki po 1 1/2'; po 1 minucie widać już lekkie działanie osłabiające, stafilocoki bowiem wyrastają dopiero po 48 godz.

Kontrola, nie podana w ostatnich tablicach, wszędzie była wyraźna: po 24 godz. 60—80—100 kolonij, rozsianych na agarze.

Z doświadczenia tego widać, jak ważne ma znaczenie siła alkoholu, w którym jest rozpuszczony środek dezynfekcyjny—są olbrzymie różnice w wynikach, zależnie od tego, czy używamy alkoholu 70%, czy 97%-go.

1) ± oznacza wzrost niewyraźny:

f) Działanie 5% tra. jodina na stafilokoki.

Sposób postępowania: 1) jodyna, 2) tiosiarkan sodowy, 3) detto, 4) płyn fizjol.  
5) detto.

Cz. dz.	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
0'	+52	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1'	+ 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3'	+ 1	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5'	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
10'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15'	-	-	-	-	±	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Jodyna nie okazuje się zbyt silnym środkiem bakterjobójczym *in vitro*; zabija stafilokoki dopiero po 20 min.; po 15 min. znacznie je osłabia; osłabia je również już po 1 min. działania, jak to widać z tablicy; na płytce kontrolnej wyrosło po 24 godz. 52 kolonij, po 1 min. działania zaś w pierwszym dniu wyrosła tylko jedna mała kolonja.

g) Działanie płynu *Lugola* na stafilokoki.

Sposób postępowania: 1) Lugol, 2) tiosiarkan sodowy, 3) detto, 4) płyn fizjol,  
5) detto.

Cz. dz.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
0'	+130	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10''	-	+1	+5	+	+	+	+	+	+	+
20''	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30''	-	-	+2	+	+	+	+	+	+	+
45''	-	-	-	+1	+	+	+	+	+	+
1'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1½'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Płyn *Lugola* okazuje się bardzo silnym środkiem bakterjobójczym. Kontrola 130 kolonij: po 10 sekundach działania wyrosła jedna kolonja po 48 godzinach; po 20 sekundach działania nic nie wyrosło; po 30 i 45 sekundach wzrost opóźniony.

Po jednej min. działania stafilokoki zostają przez płyn *Lugola* zabite.



### h) Działanie alkoholu 97%-owego na stafilokoki.

Sposób postępowania: 1) alkohol, 2) płyn fizjol., 3) detto.

Cz. dz.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
5'	+82	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10'	+67	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20'	+9	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30'	+30	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45'	+2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60'	-	+1	+	+	+	+	+	+	+	+

97%-owy alkohol po godzinie działania nie zabija jeszcze stafilokoków. To samo dotyczy i 1%-owego roztworu tymolu.

### i) Działanie 1% roztworu tymolu w 97% alkoholu.

Sposób postępowania: 1) tymol, 2) płyn fizjol., 3) detto.

Cz. dz.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
5'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30'	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
45'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60'	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Z tablicy tej widać, że tymol w swej bakterjobójczości daleko pozostaje za jodem.

### j) Działanie dezynf. 70% alkoholu na stafilokoki.

Sposób postępowania: 1) 70% alkohol, 2) płyn fizjol., 3) detto.

Cz. dz.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
0'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1'	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

70%-owy alkohol zabija stafilokoki po 2 minutach.



1) Działanie 2% roztworu phobrolu na stafilokoki.

Sposób postępowania: 1) phobrol, 2) płyn fizjol., 3) detto.

Cz. dz.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
0,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

5%-owy phobrol zabija stafilokoki po 1/2 minucie, 1%-owy phobrol zabija je po 2 minutach działania. Wynik ten jest prawie zupełnie zgodny z wynikiem *Laubenhaimera*, który inaczej pracował, bo zasuszał na granatkach stafilokoki, rozpuszczone w płynie fizjologicznym i nie prznosił w ten sposób do płynu dezynfekcyjnego niczego z pożywki, podczas, gdy tu stafilokoki rozpuszczone były w buljonie i wraz z nim zasuszone na granatkach. Pomimo tego niema różnicy w wynikach.

Sądzę, że tu, jak i prawdopodobnie w doświadczeniu z tymolem, trzeba się liczyć z działaniem powstrzymującym rozwój stafilokoków resztek phobrolu, które utrzymują się na granatku; phobrolu bowiem nie można zneutralizować, a samem płukaniem znów nie udaje się go zupełnie z granatka usunąć, tak, że wyraźnie czuć jego zapach.

W każdym razie phobrol jest bardzo silnym środkiem dezynfekcyjnym.

Ponieważ głównie chodziło mi o wykazanie, jakie jest działanie dezynfekcyjne jodiny, chciałem się przekonać, jak działa ona w obecności białka.

Zrobiłem następujące doświadczenie:

10 cm.<sup>3</sup> 5%-owej tra.-jodi zmieszałem z 10 cm.<sup>3</sup> ascites. W tej chwili ścina się część białka, tworząc strzępy, wypełniające połowę zawartości próbówki. Ścięte białko odcentryfugowałem, a pozostałą część płynu, otrzymanego w ten sposób, użyłem do doświadczenia.

m) Działanie dezynfekc. 5% tra. jodi+ascites aa.

Sposób postępowania: 1) jodyna, 2) tiosiarkan sodowy, 3) detto, 4) płyn fizjol.  
5) detto.

Cz. dz.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
0'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1'	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

5%-owa jodyna zabija obecnie stafilokoki już po 2 minutach działania. Stała się ona silnie bakterjobójczą dzięki temu, że alkohol jej został rozpuszczony przez wodę, zawartą w ascites (stał się około 70%owym, wnosząc to z siły bakterjobójczej).

Doświadczenie to naśladuje do pewnego stopnia warunki powstające wtedy, gdy jodynę wlejemy do rany. I tam jodyna rozpuszczona zostaje wodą, znajdującą się w wydzielinie przyrannej, część jej ścina się z białkiem, wogóle jednak bakterjobójczość jej się wzmacnia.

Chcąc się przekonać, czy w wypadku, gdy drobnoustroje pokryte są białkiem, jak to się dzieje w naturze (zaschnięta ropa); są one więcej odporne na środki dezynfekcyjne, czy mianowicie skorupa z białka jest silną ochroną dla ciała drobnoustrojów, wykonałem następujące doświadczenie.

Granatki, z zasuszonemi na nich stafilokokami, zanurzyłem w ascites i wysuszałem je następnie dokładnie w eksikatorze, tak, że z trudnością dawały się oderwać od swej podstawy. W ten sposób, każdy granatek, na skorupie buljonu ze stafilokokami, otrzymał drugą skorupę zaschniętego białka. Tak spreparowane granatki poddałem działaniu jodyny 5%owej, 70%-owego alkoholu i rozczyну *Lugola*.

Białko nie okazało się zbyt dobrą osłoną dla drobnoustrojów, jodyna zabija je bowiem po 20 minutach, jak to się dzieje w wypadkach, gdy nie są one otoczone białkiem; drobnoustroje jednak przez pierwsze trzy dni nie wyrosły zupełnie; wyrosły dopiero w dniu 4-ym. Wyłumaczyćby to można w ten sposób, że jodyna ścięła silnie białko na powierzchni i nie pozwoliła przez to z początku stafilokokom wyrosnąć na pożywe.



p) Działanie płynu *Lugola* na stafilokoki, okryte białkiem.

Sposób postępowania: 1) płyn *Lugola*. 2) tiosiarkan sodowy, 3) detto, 4) płyn fizjol., 5) detto.

Cz. dz.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
0'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/2'	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1'	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3'	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
5'	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
10'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Płyn *Lugola* działa w tym wypadku mniej bakterjobójczo, niż zwykle; okazał się tu wprawdzie silniejszym w działaniu od jodyny, ale słabszym od 70% alkoholu.

Wyniki te wytłumaczyć można w dwojaki sposób: albo płyn *Lugola* posiada słabszą zdolność wnikania włąb przez warstwę białka, albo też tamte środki ścinają na powierzchni białko, utrwalają w ten sposób bakterje na granatku i nie pozwalają na przeniesienie się ich na pożywkę, podczas gdy jod w roztworze wodnym (*Lugol*) tak silnie białko nie ścina, drobnoustroje więc łatwo mogą opuścić powierzchnię granatka i dostać się na pożywkę.

Dziwiła mnie w doświadczeniach mała bakterjobójczość jodyny *in vitro*. By naśladować warunki, w jakich jodynę zastosowujemy przed operacją na skórze chorego, zanurzyłem granatki ze stafilokokami na parę sekund w jodynie 5%-owej, tak, aby były zupełnie przez nią opłukane; następnie, otrząsnąwszy mechanicznie nadmiar jodyny z granatka przez wstrząśnienie, położyłem granatki na sterylizowanej płytce *Petri'ego* i włożyłem na 10 minut do termostatu celem ich wysuszenia. Potem opłukiwałem granatki po jednej, trzech, pięciu i dziesięciu minutach, jak zwykle i rzucałem na pożywkę.

Jak widzimy z tablicy, niżej podanej, działanie bakterjobójcze 5%-owej jodyny przy wysychaniu znacznie się wzmacnia.



## t) Działanie 70% alkoholu przez wysychanie.

Sposób postępowania: 1) alkohol, 2) płyn fizjol., 3) detto.

Cz. dz.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
0'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5+ 1'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5+ 3'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5+ 5'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5+10'	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Doświadczenia te powtórzyłem z *bac. coli* z tym samym wynikiem. Wszystkie te doświadczenia robiłem po kilka razy. Zdarzyło się raz z *bac. coli* i raz ze *stafilokokami*, że wyrosły na pożywce: *bac. coli* po 5 minutach suszenia, *staphilococcus aureus* po 10 minutach suszenia.

### Działanie środków dezynfekcyjnych na zarodniki *bac. subtilis*

Para nasycona, o temp. 100° C. zabija zarodniki *bac. subtilis*, zaszuszone na granatkach, dopiero po półgodzinnem działaniu: są więc one bardzo nieodporne.

5%-owa n a l e w k a j o d o w a, przy sposobie postępowania: 1) jodyna, 2) 1%-owy tiosiarkan sodowy, 3) dtto, 4) płyn fizjol., 5) dtto—zabija zarodniki *bac. subtilis* zupełnie pewnie dopiero po 24 godzinach. Po 12 godzinach działania na nie 5%-owej jodyny, zarodniki te nie zostają zabite. Ponieważ okazało się, że i *bac. subtilis* wyrasta po doświadczeniach dezynfekcyjnych trudniej na buljonie, następane doświadczenia zostały wykonane tylko na agarze skośnym (Pierwsze dwa doświadczenia wykonałem na agarze i bulionie).

P ł y n L u g o l a (sol. fortior) zabija zarodniki *bac. subtilis* po 6 godzinach działania (sposób postępowania, jak przy jodynie).

1%-owy r o z t w ó r t y m o l u w 97%-owym alkoholu zabija zarodniki *bac. subtilis* po 24 godzinach, przy sposobie postępowania: 1) tymol, 2) płyn fizjol., 3) dtto.

70%-owy a l k o h o l nie zabija zarodników *bac. subtilis* po 24 godzinach działania (sposób postępowania jak przy tymolu).

1%<sub>00</sub> roztwór sublimatu, przy sposobie postępowania: 1) sublimat, 2) siarczek amonowy, 3) dtto 4) płyn fizjol., 5) dtto—nie zabija po 24 godzinach działania zarodników *bac. subtilis*.

N i e z a b i j a i c h r ó w n i e ż w c i ą g u 24 g o d z i n 1%-owy i 5%-owy r o z t w ó r p h o b r o l u *Laubenheimera*. Phobrol (chlor-



meta-kresol) okazuje się więc w działaniu bakterjobjęzmem na zarodniki o wiele słabszym środkiem dezynfekcyjnym, niż w działaniu na formy wegetatywne (Sposób postępowania jak przy tymolu).

By wypróbować działanie 5%-owej jodiny wysychającej na zarodniki *bac. subtilis*, zrobiłem następujące doświadczenie. Zanurzyłem granatek z zarodnikami *bac. subtilis* w 5%-owej jodynie i następnie wysuszyłem go w termostacie (suszenie trwało zawsze 10 minut). Potem zneutralizowałem jod tiosiarczanem sodowym, opłukałem granatek i rzuciłem go na pożywkę. Drugi granatek zanurzyłem w jodynie dwa razy i po każdym razie osuszałem go przez 10 miut.

Trzeci granatek zanurzyłem w jodynie trzy razy, czwarty cztery razy i t. d. i po każdym zanurzeniu wysuszałem przez 10 minut.

Zarodniki *bac. subtilis*, trzy razy w jodynie zanurzone i po każdym razie dokładnie wysuszone, zostały zabite w przeciągu  $\frac{1}{2}$  godziny!

Doświadczenie to najlepiej ilustruje fakt, że jodyna wysychając działa silnie bakterjobjęczo i wobec tego jest silnym środkiem bakterjobjęczym, najsilniej i najpewniej działającym ze środków, które badałem.

Co do techniki laboratoryjnej, to *bac. subtilis* został wyhodowany na agarze sk. śnym i w buljonie; następnie czekałem przez 3 dni na wytworzenie się zarodników, których obecność stwierdziłem pod mikroskopem, poczem postępowalem w ten sam sposób, co przedtem, t. zn. spłukałem buljonem, zawierającym zarodniki, agar sk. śny, w tej zawieszynie maczałem następnie granatki, wysuszałem je w eksikatorze i tak przygotowane poddawałem doświadczeniom.

Szereg przeprowadzonych doświadczeń wykazuje znaczną siłę bakterjobjęczą jodu, w porównaniu z innymi środkami dezynfekcyjnymi.

By podnieść słabą rozpuszczalność jodu w wodzie, dodaje się zwykle k a l i u m j o d a t u m (p ł y n L u g o l a). Z doświadczeń *Paula i Kroeniga* wynika, że kalcjum jodat osłabia działanie bakterjobjęcze samego jonu jodowego, który, tworząc grupę molekularną z tamtym środkiem, nie działa już tak silnie.

Pomimo tego, r o z c z y n L u g o l a jest bardzo silnym środkiem dezynfekcyjnym i przenosi swą siłę dezynfekcyjną znacznie sublimat, tymol, alkohol, a nawet i phobrol. Tę znaczną różnicę w działaniu widać na zarodnikach *bac. subtilis*, które płyn Lugola zabija już po 6 godz. działania, podczas, gdy tamte, z wyjątkiem 5%-owej jodiny, po 24 godz. jeszcze ich nie zabijają. Płyn Lugola zabija stafilocoki tak szybko, jak para wodna.

5% jodyna w działaniu bakterjobjęczem *in vitro*,<sup>1)</sup> jest o wiele słabsza od płynu Lugola; jednak, wysychając, jodyna dorównuje w bakterjobjęczości płynowi Lugola.

---

Skrócenia. Liczby porządkowe w tablicach od 1 do 10 oznaczają ilość dni, w których obserwowano próbówki z pożywką.

a = agar sk. śny.

b = buljon.

1) Badałem działanie 5%-owej jodiny dlatego, bo ten roztwór jest używany we Lwowskiej Klinice chirurgicznej.

Jodyna, wysychając, wzmacnia swą siłę dezynfekcyjną; alkohol odparowuje, pozostaje sam jod in substantia, który drobnoustroje zabija dość łatwo.

Najlepiej ilustruje to działanie jodiny w różnych warunkach doświadczenie z zarodnikami *bac. subtilis*. Mogą one, bez szkody dla siebie, leżeć w jodynie 12 godzin; ta sama jodyna zabija je jednak w przeciągu  $\frac{1}{2}$  godziny, a mianowicie wtedy, gdy zanurzymy granatki z zarodnikami trzy razy na chwilę do jodiny i po każdym zanurzeniu pozwolimy im dokładnie wyschnąć.

Podobne jest działanie jodiny na skórze chorego; zabija ona drobnoustroje, znajdujące się na powierzchni skóry, oprócz zarodników, chociaż i zarodniki węgliką, wedle badań *Noguchi'ego*, po dwukrotnem popędzowaniu, zostają zabite. Trzykrotne pędzowanie i osuszenie zabija najodporniejsze ze wszystkich zarodniki *bac. subtilis*.

Jodyna nie zabija jednak drobnoustrojów, znajdujących się głęboko w skórze, w gruczołach potowych i łojowych, ale je utrwała, osadzając po odparowaniu alkoholu warstwę jodu w ujściach gruczołowych, która to warstwa jest zabójczą dla wydostających się z głębi drobnoustrojów.

5%-owy roztwór jodu w 70%-owym alkoholu jest silniejszym środkiem dezynfekcyjnym, niż płyn *Lugola*. W obecności płynu białkowego 5%-owa tra. jodi bakterjobójczość swą wzmacnia, część jej ścina się z białkiem, z drugiej strony jednak alkohol jej zostaje rozcieńczony wodą, zawartą w płynie białkowym i rozwija przez to silniejsze działanie. To samo dzieje się, gdy jodynę wlejemy do rany; rozcieńcza się ona wtedy wydzieliną przyraną.

Alkohol jodowy, t. j. roztwór 2‰ jodu w 70%-owym alkoholu, co do siły dezynfekcyjnej, nie wiele też ustępuje płynowi *Lugola*.

Daleko w tyle za jodem, w rozmaitych roztworach, pozostaje pod względem siły bakterjobójczej 1‰ roztwór sublimatu

Wprowadzony w użycie przez *Königa* i *Hoffmanna* spirytus tymolowy jest również słabym środkiem dezynfekcyjnym. Działanie bakterjobójcze swe zawdzięcza w największej części 70%-mu alkoholowi, w którym jest rozpuszczony. Okazało się przytem, że ma on własności drażniące i wywołuje czasem *eczema bullosum* na skórze, co stwierdzili wyżej wymienieni autorowie na swoim materiale.

W doświadczeniach podanych widać ogromną różnicę w działaniu dezynfekcyjnym na drobnoustroje między alkoholem absolutnym (wzgl. 97%) a alkoholem 70%-owym. Alkohol absolutny ma wedle *Freya* tworzyć otoczkę ze ściętego na powierzchni drobnoustrojów białka i nie działa przez to wgłąb, podczas gdy alkohol 60%-owy — 70%-owy ścina białko w zupełności tak, że traci ono swoją zdolność do rozpuszczania się i pęcznienia w wodzie.

To samo dzieje się i ze środkami, rozpuszczonymi w alkoholu: w 70%-ym alkoholu ich zdolność bakterjobójcza wzmacnia się, w alkoholu absolutnym może się znacznie zmniejszyć.

Co do własności drażniących jodiny, to obawa przed nimi wydaje się być nieco przesadzona. Przez cały rok mieliśmy na Klinice Lwowskiej kilka

tylko wypadków eczema na skórze po zastosowaniu jodyny, bez powikłania jednak procesu gojenia się rany.

*Eczema* wystąpiło tylko w kilku wypadkach, przeważnie na scrotum lub w okolicy ingwinalnej; raz tylko na kolanie, po operacji arthrodesis, pod opatrunkiem gipsowym, wystąpiło *eczema madidans*. Wytłumaczyć to można tem, że skóra była w tym wypadku, z powodu zmian troficznych w nerwach, prawdopodobnie mniej odporną.

Po ukończeniu doświadczeń przeczytałem pracę *Rosenberga o Junijocie*, którym autor chce zastąpić jodynę.

*Junijot* i 5% tra. jodi mają zabijać stafilokoki, wedle tego autora, w przeciągu jednej minuty. Jest to niezgodne z wynikami, podanymi przezemnie dlatego, bo autor przenosi na buljonową pożywkę<sup>1)</sup> wraz z drobnoustrojami małe ilości środka badanego.

Następuje tu, rzecz prosta, powstrzymanie w rozwoju żywych jeszcze drobnoustrojów — można więc mówić o sile antyseptycznej danego środka, nie można jednak z doświadczeń tych wysnuwać żadnych wniosków co do siły dezynfekcyjnej (bakterjobójczej) *junijotu*.

Powyższe doświadczenia oraz doświadczenia kliniczne prawniają mnie do następujących wniosków:

1. 5%-owa tinct. jodi zabija drobnoustroje na powierzchni skóry w przeciągu 5 do 10 min. po popędzowaniu; zabija je zupełnie pewnie, gdy popędzowanie powtórzymy po raz drugi. Najodporniejsze zarodniki zabija 5-owa tra. jodi po 3-krotnem popędzowaniu, gdy za każdym razem pozwolimy jodynie wyschnąć.

2. Drobnoustroje, znajdujące się w głębi skóry i w jej gruczołach, zabite nie zostają, zostają jednak unieruchomione i utrwalone niejako przez to, że ujścia gruczołowe, po odparowaniu alkoholu, zamyka warstwa czystego jodu<sup>3)</sup>.

3. 5%-owy roztwór jodu w 70%-owym alkoholu ma o wiele silniejsze jeszcze działanie bakterjobójcze, a mianowicie, działa 15 razy szybciej. Nie wnika wprawdzie tak głęboko, jak tra. jodi, ale jest też mniej drażniącym, nadaje się do dezynfekcji skóry scrotum, szyi i okolicy ingwinalnej.

4. 5%-owy roztwór jodu w alkoholu absolutnym jest doskonałym środkiem w leczeniu ran ropiejących. W obecności płynu białkowego, a więc i w obecności wydzieliny przyrannej, jodyna bakterjobójczość swą wzmaga przez rozcieńczenie alkoholem, oprócz tego wywołuje czynnościowo przekrwienie okolicy rany i działa chemotaktycznie na leukocyty, przez co stwarza niekorzystne warunki dla dalszego rozwoju drobnoustrojów.

5. Do odkażenia rąk polecić należy silnie bakterjobójczy roztwór 2%/<sub>00</sub> jodu w 70%-owym alkoholu. Mycie tym roztworem rąk przez 3 minuty, po uprzednim mechanicznem oczyszczeniu ich przez 10 minut szczotką i mydłem, odkaża je zupełnie dokładnie.

---

1) W buljonie wyrastają stafilokoki po doświadczeniach dezynfekcyjnych bardzo rzadko.

3) Stwierdziły to doświadczenia *Noguchj'ego, Waltera i Touraine'a*.

6. Aby ułatwić działanie jodiny na drobnoustroje, znajdujące się na skórze, należy obmyć przedtem pole operacyjne jod-benzyną, by uwolnić drobnoustroje od otaczającej je w naturze warstewki tłuszczu.

## L I T E R A T U R A

1. Krönig Paul. Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. Zeitsch. f. Hyg. und Infektionskrankheiten. 1897 Bd. XXV. S. 1.
2. Ehrlich-Gonder. Chemotherapie. (Kolle-Wasserm. 2 Aufl. Bd. 3)
3. Gotschlich. Desinfektionslehre (Kolle-Wasserman, 2 Aufl. Bd. 3)
4. Bürgi. Chemische Desinfektionslehre. (Kolle-Wassermann Bd. 3).
5. Grassberger. Die Desinfektion in Theorie und Praxis. Leipzig. 1913. Hirzel.
6. Laubenheimer. Phenol und seine Derivate. (Habilitationsschrift Berlin — Wien. 1909).
7. Brunner. Die Wundbehandlung (Deutsche Chirurgie).
8. Gotschlich. Zentrbl. f. Chir. 1908 № 44.
9. Tenze Zentrbl. f. Chir. 1910 № 21.
10. Kutscher. Berl. klin. Wochenschrift. 1910. № 9.
11. Streitberger. Zentrbl. für Chirurgie. 1911 № 19
12. König-Hoffman, Zentr. f. Ch. 1911 № 24.
13. Herzfeld. Zentr. f. Chirurgie 1909. № 24.
14. Herff. Zentr. f. Chir. 1909. № 52
15. Propping. Zentr. f. Chir. 1911. № 19
16. Hesse. Zentr. f. Chir. 1911 № 15.
17. Hindenberg. Zentr. f. Chir. 1911. № 39.
18. Rosenber. Hautdesinfektion mittels „Junijot“ Ther. der Gegenwart 1921. № 7.

## R É S U M É.

(Institut d'Hygiène à Lwow. Dir. Dr. Steusing).

## De l'action désinfectante de l'iode.

P a r

Dr. LASKOWNICKI (Lwow).

Le but de ce travail était de vérifier l'efficacité de l'iode comme agent désinfectant. Je me suis servi dans mes expériences de la technique publiée pour la première fois par *Paul et König* et décrite par *Laubenheimer*. Cette technique consiste dans le dessèchement des germes sur les grenats et soumission ultérieure de ces germes aux agents bactéricides. Après rinçage des grenats dans des solutions susceptibles de neutraliser les agents désinfectants, puis dans l'eau physiologique, j'ensemenciai avec ces grenats le bouillon et l'agar — agar.

La méthode de *Paul et König* à été modifiée par moi car, au lieu de désécher sur les grenats, l'emulsion des germes dans l'eau physiologique, j'ai utilisé une culture en bouillon.

Je me suis servi de trois sortes de germes, du *b. coli* du *staphylococcus aureus* et du *bac. subtilis* dont les spores opposent aux influences des désinfectants une résistance considérable.

Les résultats de mes expériences sont les suivantes:

L'action du désinfectant sur le	bac. coli	staphyl.aureus	bac. subtilis (spores)
	tué après	tué après	tué après
Vapeur à 100°	15'	2'	30'
Sublimé en solution à 1 <sup>o</sup> / <sub>100</sub>	2	45'	ne tue pas même en 24 heures
Thymol en solution à 2 <sup>o</sup> / <sub>100</sub> dans l'alcool à 97 <sup>o</sup> / <sub>10</sub>	ne tue pas en 10'	ne tue pas en 60'	"
Jode en solution à 1 <sup>o</sup> / <sub>10</sub> dans l'alcool 97 <sup>o</sup> / <sub>10</sub>	2'	45'	
Jode en solution à 2 <sup>o</sup> / <sub>100</sub> dans l'alcool à 80 <sup>o</sup> / <sub>10</sub>		30'	
Jode en solution à 2 <sup>o</sup> / <sub>10</sub> dans l'alcool à 70 <sup>o</sup> / <sub>10</sub>	2'	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '	
L'alcool à 70 <sup>o</sup> / <sub>10</sub>		2'	ne tue pas en 24 heures
Thymol en solution à 1 <sup>o</sup> / <sub>10</sub> dans l'alcool à 70 <sup>o</sup> / <sub>10</sub>		1'	
Tint. jodi off. à 5 <sup>o</sup> / <sub>10</sub>	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '	20'	24 heures
Solution de Lugol sol. fortior	1'	1'	6 heures
Solution de phobrol á 1 <sup>o</sup> / <sub>10</sub> chlor-meta-crésol		2'	ne tue pas en 24 heures
Phobrol en solution á 5 <sup>o</sup> / <sub>10</sub>		1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '	"

Tous ces désinfectants perdent à un certain degré leur pouvoir bactéricide en présence d'un liquide albuminoïde (ascite); il n'y a que la teinture d'iode dont le pouvoir bactéricide augmente dans ces circonstances, au point de tuer le staphylocoque après 2' de contact. L'iode en solution à 5<sub>10</sub> mélangée en partie égale avec le liquide d'ascite, précipite une partie d'albuminoïdes, de sorte que une certaine partie d'iode disparaît (albuminate d'iode). En même temps, l'alcool à 97<sub>10</sub> contenu dans la solution

chemicznej istocie dopełniacza. Więc, dawne odkrycie *Bordeta*, że przy zjawisku cytolizy zanika dopełniacz, zbiegło się z późniejszymi odkryciami, że surowice można inaktywować różnorodnymi środkami fizycznymi, wywołującymi zmianę stanu koloidów w surowicy. Stwierdzono, że czynniki, wywołujące wypadanie globulin z surowic świeżych, wywołują jednocześnie zanik dopełniacza. Zatem rozcieńczanie surowicy wodą destylowaną lub roztworami nieelektrolitów wywołuje z jednej strony zmniejszenie się stężenia jonów, potrzebnych do utrzymania globulin w roztworze, a z drugiej strony zanik dopełniacza. Podobnie absorbcja elektryczna globulin przez zawiesiny (bakterje, kaolin), przez roztwory koloidalne, oraz prawdopodobnie zwiększona wypadalność globulin przy wstrząsaniu, inaktywowały surowice.

Stąd zjawilo się przypuszczenie, czy nie istnieje zależność między wypadalnością globulin surowicy świeżej, zanikiem dopełniacza a cytolizą.

*Hirszfeld* i *Klinger* pierwsi wyrazili pogląd, że istnieje związek przyczynowy między cytolizą a wypadaniem globulin surowic świeżych. Jako wynik tego rozumowania nasuwało się pytanie, czy przez wytrącanie globulin czynnikami fizyko-chemicznymi nie można wywołać cytolizy w mieszaninie surowicy świeżej z komórkami.

Następujące spostrzeżenia przemawiają za tem. *Landsteiner* wykazał, że koloidalny kwas krzemowy wywołuje hemolizę z mieszaniną surowicy świeżej z krwinkami. Później *Nathan* zbadał bliżej to zjawisko i wykrył, że działa tu tylko kwas krzemowy o ściśle określonych własnościach powierzchniowych, n. p. działa tylko  $H_2SiO_3$ , otrzymany w roztworze kwaśnym; kwas krzemowy, otrzymany w roztworze obojętnym lub alkalicznym, a nawet wtórnie zakwaszony, nie działa. Jeżeli mamy do czynienia z kwasem krzemowym, to kwas, otrzymany w roztworze kwaśnym, ma większą powierzchnię właściwą (i wymiary cząstek), niż kwas z roztworu obojętnego lub alkalicznego.

*Sachs* i *Nathan* wykryli podobne własności u polisacharydu inuliny, która w roztworze nie działa, a hemolizuje mieszaninę surowicy świeżej z krwinkami w zawieszynie. Podobnie zachowuje się skrobia. Opierając się na tem, autorzy uzgodnili swe spostrzeżenia z teorią *Hirszfelda* i *Klingera*; wyłonił się z tego pogląd, że własności uruchomienia systemu litycznego surowicy świeżej posiadają tylko ciała o ściśle określonych własnościach powierzchniowych.

Następnie *Georgi* opisał zjawisko hemolizy w mieszaninie, złożonej z izotonicznej glukozy, krwinek barana i surowicy świeżej świnki morskiej. W tym wypadku czynnikiem wywołującym system lityczny surowicy świeżej jest wypadalność globulin, wywołana zmniejszoną zawartością jonów, potrzebnych do utrzymania tych białek w roztworze.

*Hirszfeld* i *Klinger* związali zjawisko działania dopełniacza z zjawiskiem wytwarzania anafilatoksyny i z odczynem *Wassermann*a. Zjawiska te mają swój podkład w chwiejności frakcji globulinowej surowicy. *Friedeberg* wykazał, że, przy tworzeniu się anafilatoksyny, zanika dopełniacz. Następnie prace szkoły *Sachsa*, *Bordeta*, *Hirszfelda* i *Klingera*, *Kopaczew-*

skiego, *Mutermilcha* wykazały, że anafilatoksynę można wytwarzać koloidami i zawiesinami niebiałkowymi. Podług *Bordeta*, *Hirszfelda* i *Klingera* zjawisko to polega na wytrąceniu globulin tych surowic. Stąd można było sądzić, że przez wytrącenie globulin można otrzymać, z jednej strony zanik dopełniacza, a z drugiej anafilatoksynę. Odczyn *Wassermanna*, a właściwie pierwszy jego etap, polega na absorbcji chwiejnych globulin przez koloidalne roztwory lipidów. Autorzy jednakowoż nie przesądzają kwestji identyczności odczynu surowic luetycznych z odczynem surowic, zlabilizowanych sztucznie. Jako wynik faktów opisanych poprzednio, można podać następującą tezę: Zjawiska cytolizy i tworzenia się anafilatoksyny idą równolegle z zanikiem dopełniacza, a zanik dopełniacza z wypadaniem frakcji globulinowej surowicy. Stąd można sądzić, że wypadanie, ew. labilizacja globulin w surowicy świeżej, jest z jednej strony czynnikiem, prowadzącym do cytolizy, a z drugiej do wytwarzania anafilatoksyny.

Proces wypadania koloidów jest wywołany przez zwiększanie się ich cząstek do chwili, aż stają się zbyt wielkie, aby mogły się utrzymać w roztworze koloidalnym: Za zwiększeniem się objętości idą zmiany w własnościach powierzchni. Podczas procesu wypadania, dany koloid przechodzi przez całą serję rozmiarów i powierzchni. Otóż *Hirszfeld* i *Klinger* wypowiedzieli przypuszczenie, że właśnie globuliny, wypadające w surowicy, przy pewnej wielkości cząstek i własności powierzchni, nie uruchamiają systemu litycznego, przy innej nie wytwarzają anafilatoksyny, przy innej wreszcie nie są czynnikiem, wywołującym dodatni odczyn *Wassermanna*.

Omówiona w zarysie hipoteza, sprowadzająca przyczynę cytolizy do pewnej formy wielkości cząsteczek globulinów, była założeniem w tej pracy. O siłach, wywołujących samą cytolizę, nie wiemy niczego pewnego.

Surowica zwierząt składa się z 4 składników fizycznych: wody, krystaloidów, elektrolitów i nieelektrolitów (sole, zasady purynowe, mocznik, glukoza i t. d.) i koloidów (białka, lipoidy, mydła). Koloidy utrzymane są w roztworze przez nabój elektryczny, który otrzymują od krystaloidów-elektrolitów (białka i lipoidy mają nabój—). Wszystkie czynniki, wywołujące zmianę tego naboju, są przyczyną zmiany stanu koloidu i prowadzić mogą aż do jego wytrącenia (precypitacji). Absorbcja białka surowicy przez roztwory koloidalne ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$  coll, mastyks) i zawiesiny (kaolin) ma swój podkład w różnicy naboju między białkiem a ciałami absorbującemi; wraz ze zmianą naboju koloidów idzie zmiana wielkości ich cząstek, aż do chwili, kiedy cząstki, wskutek swej wielkości, nie mogą się w roztworze koloidalnym utrzymać i w tym momencie koloid precypituje. Punkt precypitacji leży zwykle koło punktu izoelektrycznego danego koloidu, t. j. punktu, w którym nabój jego cząstek równy jest 0. Zmianę naboju cząstek możemy uskutecznić przez doprowadzanie do podłoża jonów elektrolitów, posiadających, jak wiadomo, nabój elektryczny. Jony te niejako kopulują z cząstkami koloidu i oddają im swój nabój. Jeśli koloid ma nabój —, a jon +, to kopulacja prowadzi do ogólnego zmniejszenia się naboju cząstki koloidu i gdy ilość naboju +, doprowadzonych przez jony, będzie równa ilości—, właściwych da-

nemu koloidowi, to w tym momencie cząstki jego będą miały nabój równy 0 i koloid będzie wypadał.

Najodpowiedniejszym jonem do wywołania opisanych zmian w koloidach jest jon  $H^+$  z powodu swej wielkiej ruchliwości (najruchliwszy z znanych) i dzięki wypracowanym metodom jego określaniach w płynach. Koloidy surowicy (białka) mają nabój — przy koncentracji  $H^+$ , właściwej dla surowicy (Ph 7,4). Przy zwiększeniu  $H^+$  surowicy, nabój ten będzie dążył do 0 i +, a równolegle z tem będzie szło zwiększanie się wymiarów cząstek koloidu, a co zatem idzie ich powierzchni; przeto Ph płynów może być miernikiem własności powierzchniowych koloidów surowicy.

Jako miernik własności litycznych może nam służyć hemoliza erytrocytów.

Najczulszą frakcją koloidalną surowicy są globuliny, przeto z niemi będziemy mieli przedewszystkiem do czynienia, gdyż one pierwsze będą wypadały przy zwiększaniu  $H^+$ .

Jako objekty systemu hemolitycznego mieszaniny, złożonej z surowicy świeżej z erytrocytami, służyły, z jednej strony, świeża surowica świnki morskiej, a z drugiej przemyte i odwirowane krwinki barana. Ilość jonów wodorowych ustalono, korzystając z własności mieszanin, złożonych z słabego kwasu z jego solą i silnej zasady, w których ilość  $H^+$  nie jest zależna (do pewnych granic) od bezwzględnej ilości kwasu lub soli, tylko od ich stosunku. Płyny takie zachowują stałą ilość  $H^+$  przy rozcieńczaniu (w pewnych granicach). W płynach o zmiennym Ph starano się, aby ilość innych jonów, prócz zmiennego  $H^+$ , była jednakowa we wszystkich, a prócz tego, aby anion kwasowy znajdował się w stężeniu nie większym niż 1/200 n. Płyny te doprowadzono do izotonji przy pomocy NaCl, ew. sacharozy.

## Technika buforów izotonicznych.

### Przygotowanie skali buforów wzorcowych.

#### A. Roztwory. (Sørensen).

I. Bufor cytrawowy. Rozpuszczamy 21,008 gr.  $(C_3H_4OH)(CO_2H)_3$  kryst. w 200 cm.  $nNaOH$  (bez  $CO_2$ ) i dopełniamy do litra świeżo przygotowaną wodą destylowaną (bez  $CO_2$ ). Płyn przechowujemy w kolbie, zatkanej korkiem kauczukowym z dwoma otworami. Przez jeden przechodzi lewar z zaciskaczem, przez drugi rurka z wapnem sódowym ( $CaO + NaOH$ ).

II. Kwas solny. (0,1  $nHCl$ ). Przechowuje się jak poprzedni.

III. Wodorotlenek sodu (0,1  $nNaOH$ ).  $NaOH$  otrzymano z sodu metalicznego i przechowano przez dłuższy czas w roztworze z  $Ca(OH)_2$ . Nastawia miano i przechowuje się, jak poprzednie, w kolbie ze szkła jenajskiego.



IV. Bufor boratowy. Rozpuszczamy 12,404  $H_3BO_3$  w 100  $cm^3$ , nNaOH i dopełniamy się do 1 L.  $H_2O$  destylowaną i przygotowaną.

V. Fosforan pierwszorzędowy. Rozpuszczamy 9,078  $KH_2PO_4$  (Sörensen) w 1 L.  $H_2O$  destyl. i przygotowanej. Przechowuje się jak poprzednie.

VI. Fosforan drugorzędowy. Rozpuszczamy 11,876  $Na_2HPO_4$  (Sörensen) w 1 L.  $H_2O$ , jak poprzedni.

#### B. Wskaźniki (Sörensen, Clark).

1. Fiolet metylowy 6 B, 1%-owy wodny. Używa się dla Ph 0,1 — 3,2. Przy Ph = 1,0. zmienia barwę z żółtej na zieloną, przy 2,0 z zielonej na niebieską, przy 3,0 z niebieskiej na fioletową.

2. Kongo 1% w 50% alk. Używa się dla Ph 4,0. Zmienia barwę z niebieskiej na czerwoną.

3. Czerwień metylowa 0,2<sup>0</sup>/<sub>00</sub> w alk. 96%-owym. Używa się dla Ph 4,2—6,3. Przy Ph = 5,0 zmienia barwę żółtą na czerwoną.

4. p-Nitrofenol 0,4<sup>0</sup>/<sub>00</sub> w 50% alk. Używa się dla Ph 4,6—6,4. Przy Pp 6,0 zmienia barwę z żółtej na bezbarwną.

5. Nalewka Lakmusowa (Kahlbaum). Zmienia barwę przy Ph = 6,8.

6. Fenolftaleina 0,1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> w 50% alk. Używa się dla Ph 8,3—10,0.

7. Błękit tymolowy 0,4<sup>0</sup>/<sub>00</sub> alkoholowy. Używa się dla Ph 1,2 — 2,8. Zmienia barwę z czerwonej na żółtą.

8. Błękit bromofenolowy 0,4<sup>0</sup>/<sub>00</sub> alkoholowy. Używa się dla Ph 3,0 — 4,6. Zmienia barwę z żółtej na niebieską.

9. Błękit bromotymolowy 0,4<sup>0</sup>/<sub>00</sub> alkoholowy. Używa się dla Ph 6,0 — 7,6. Zmienia barwę z żółtej na niebieską.

10. Czerwień fenolowa 0,2<sup>0</sup>/<sub>00</sub> alkoholowa. Używa się dla Ph 6,8 — 8,4. Zmienia barwę z żółtej na czerwoną.

### S k a l a .

Ustawiamy w statywie serię próbek, możliwie jednakowych (jednakowego przekroju), wygotowanych w HCl i przemytych wodą destylowaną. W próbkach mieszamy płyny według tablicy I-szej. Szereg górny wskazuje Ph mieszanin. Rubryki I, II, III i t. d.—numer roztworu (np. II-ga 0,1 nHCl). Szereg dolny wskazuje na wskaźnik, który należy dodać (po 0,1 do każdej próbki), aby otrzymać skalę.

T A B L I C A I.

Ph	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0	2,2	2,4	2,6	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4,0	4,2	4,4	4,6	4,8	5,0	Ph	Ph	5,2	Ph
I	0,0	1,1	2,0	2,5	2,8	3,1	3,3	3,5	3,7	3,8	4,0	4,3	4,6	4,9	5,2	5,6	6,1	6,8	7,6	8,8	10,0	I	I	8,5	I
II	10,0	8,9	8,0	7,5	7,2	6,9	6,7	6,5	6,3	6,2	6,0	5,7	5,4	5,1	4,8	4,4	3,9	3,2	2,4	1,2	0,0	II	III	1,5	III
Barwik	Błękit tymolowy (7) po 0,1										Błękit bromofenolowy (8) po 0,1					Czerwień metylowa (3) po 0,1					3 po 0,1				

Ph	5,4	5,6	5,8	6,0	6,2	6,4	6,6	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8	8,0	Ph	Ph	8,2	8,4	8,6	8,8	9,0	Ph
VI	0,3	0,5	0,8	1,2	1,9	2,7	3,6	5,0	6,2	7,2	8,1	8,7	9,1	0,6	VI	IV	5,9	6,2	6,7	7,5	8,5	IV
V	9,7	9,7	9,2	8,8	8,1	7,3	6,4	5,0	4,8	3,8	1,9	1,3	0,6	9,4	V	II	4,1	3,8	3,3	2,5	1,5	II
	Czerwień metylowa (3) po 0,1			Błękit bromotymol. (9) po 0,1			Czerwień fenolowa (10) po 0,1						10 0,1	Fenolftaleina (6) po 0,1			Barwik					

Otrzymaną w taki sposób skalę płynów wzorcowych, należy sprawdzić na zawartość  $H^+$ . Korzystamy tu z własności wskaźników wielobarwnych, które, przy pewnej koncentracji  $H^+$ , zmieniają swą barwę.

Fiolet metylowy 6B zmienia barwę z żółtej na ziel przy  $Ph=1,0$   
" " " " z ziel. na niebies. przy  $Ph=2,0$   
" " " " z nieb. na fiolet. przy  $Ph=3,0$   
Kongoz niebieskiej na czerwoną . . . . . przy  $Ph=4,0$   
Czerwień metylowa z czerwonej na żółtą . . . . . przy  $Ph=5,0$   
p-Nitrofenol z bezbarwnej na żółtą . . . . . przy  $Ph=6,0$   
Lakmus z czerwonej na niebieską . . . . . przy  $Ph=6,8$   
Fenoltaleina z białej na czerwoną . . . . . przy  $Ph=9,0$ .

Bierzemy np. mieszaniny o  $Ph$ , które ma być równe 4,8, 5,0, 5,2 i dolewamy do każdej z nich po jednej kropli czerwieni metylowej. Gdy w rurce  $Ph=5,0$  płyn jest czerwonon-żółty, w  $Ph=4,8$ —czerwony, 5,2—żółty, to skala w tych granicach jest dobrą, gdy zaś tak nie jest, to albo roztwory zasadnicze są źle przyrządzone lub źle zmieszane, albo mają tu wpływ inne czynniki (np.  $CO_2$  z powietrza,  $NaOH$  ze szkła i t. d.). Podobnie sprawdzamy całą skalę wymienionemi barwnikami; gdy skala została już sprawdzoną, to sporządzamy drugą, stałą.

Do każdej próbowki skali dolewamy po 0,1 cm. roztworu wskaźnika (objętość buforu wzorcowego w każdej próbowce wynosi 10 cm.). Dla celów naszych najważniejszą była skala o  $Ph$  od 2,0 do 5,0. W skali tej do rurek o  $Ph$  od 2,0 do 2,8 dodajemy roztworu błękitu tymolowego, od 3,0 do 4,0 błękitu bromofenolowego, od 4,2 do 5,0 czerwieni metylowej. Skalę, tak otrzymaną, przechowujemy w probówkach, zakorkowanych korkiem kauczukowym, w ciemnym miejscu, aby promienie światła nie rozkładały nam wskaźników (szczególnie czuła jest czerwień metylowa). Trwałość takiej skali wynosi około  $1\frac{1}{2}$  miesiąca. Po upływie tego czasu trzeba sporządzić nową skalę.

Dla płynów o  $Ph$  od 1,0 do 2,0 używamy, jako wskaźnika, błękitu tymolowego, dla płynów o  $Ph$  5,0—6,0 czerwieni metylowej, dla 6,8—8,4 czerwieni fenolowej, 8,3—10,0 fenoltaleiny. Z płynów o  $Ph$  powyżej 5,0 robimy wzorce do  $Ph$  9,0 i dodajemy odpowiednich wskaźników.

### Przygotowanie płynów buforowych izotonicznych

Jako płyny izotoniczne używano roztworów 7,79% sacharozy i 0,9%  $NaCl$ . W płynach tych starano się, aby ilość innych jonów, prócz  $H^+$ , była jednakową, a amion kwasowy był w stężeniu nie większem, ponad  $1/200$  n. Z buforów używano:

B u f o r w i n j a n o w y.

1. Rozpuszczamy 15,0 gr.  $(CHOHCO_2H)_2$  kryst. w 1000 cm.  $H_2O$  destylowanej i nastawiamy miano 0,1n  $NaOH$ , używając jako wskaźnika lakmusu.

2. Mieszamy 100 cm. normalnego kwasu winnego z 100 cm. n $NaOH$  i dodajemy  $H_2O$  destyl. do litra (kontrolujemy neutralność). Obydwa

płyny mieszamy w stosunkach, wyrażonych na tablicy № 2, w szeregu pierwszym. Szereg pierwszy na tablicy wskazuje na stosunki płynów 1 i 2 w mieszaninach; licznik wskazuje na ilość ccm. 1-szego płynu, mianownik na ilość ccm. płynu 2-iego

T A B L I C A II.

	1/82	1/16	1/8	1/4	1/2	1/1	2/1	4/1	8/1	16/1	32/1	A
Ph	4,5	4,2	3,8	3,6	3,3	3,0	2,7	2,4	2,0	1,7	1,4	$\frac{(\text{CHOHCO}_2\text{H})_2}{(\text{CHOHCO}_2\text{Na})_2}$
Ph	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5	3,2	2,9	2,6	2,3	$\frac{\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{Ha}^1)}{\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{Na}}$
Ph	8,3	8,0	7,7	7,3	7,0	6,7	6,4	6,1	5,8	5,5	5,2	$\frac{\text{KH}_2\text{PO}_4^1)}{\text{K}_2\text{HPO}_4}$
Ph	11,0	10,7	10,4	10,1	9,8	9,5	9,2	8,9	8,6	8,3	8,0	$\frac{\text{NH}_4\text{Cl}^1)}{\text{NH}_4\text{OH}}$

### Sposób przygotowania mieszanin, wyrażonych w rzędzie pierwszym.

Do pierwszych 6-ciu rurek nalano 10po ccm. 01 n. kwasu winnego i mlecznego, fosforanu pierwszorzędowego etc. Do 6-ej i następnych 5-ciu dodano po 10 cm. 01, n odpowiedniej soli. Rurkę 6-tą wstrząsamy i dodajemy 10 cm. do rurki na prawo, a drugie 10 cm. do rurki na lewo. W rurkach 5-ej i 7-ej płyn mieszamy, i znów bierzemy po 10 cm. i rozlewamy, mieszając na prawo ew. na lewo. Ten sposób przelewania i mieszania prowadzimy aż do 1-ej i 11-ej rurki. Płyn w 6-ej rurce otrzymujemy znów po zmieszaniu obu płynów zasadniczych, po 5 cm.<sup>3</sup> każdego.

Do szeregu kolbek, w których każda zawiera po 50 cm. 0,9%-go NaCl (ew. 7,79% sacharozy), dodajemy po 2 ccm. kolejnych mieszanin. Z każdej z kolbek bierzemy po 10 cm. płynu do próbki i dodajemy odpowiedniego indykatora (np. dla Ph 4,3 czerwieni metyl.). Orientując się tem, że mieszanina, złożona z buforu i 0,9% NaCl, zawsze jest alkaliczniejsza od samego buforu (wskutek zmniejszonej dysocjacji), porównujemy barwę płynu ze skalą. Gdy płyn nie odpowiada barwie skali o Ph, o które nam chodzi, to dodajemy (ciągle mieszając) płynu 1-go ew. 2-go, aż do otrzymania barwy jednakowej z pożądaną barwą skali. Do kolbki, z której wzięto płyn, dodajemy poczwórną ilość płynu 1-ego ew. 2-go, wziętą dla zrównania barwy próby z barwą rurki skali. Następnie płyny w kolbce mieszamy i kontrolujemy znów Ph płynu próbką złożoną z 10 cm. ze wskaźnikiem. Podobnie nastawiamy całą skalę od Ph 2,0 do 5,0. Rurki o Ph 1—1,4 nastawiamy bez buforów, wprost n HCl i n (CHOHCO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub>.

UWAGA. Do porównywania barw płynów używamy komparatorów albo wprost porównujemy barwę, patrząc wzdłuż osi próbek na białe tło.

1) Sposób przygotowania buforu mleczanowego, fosforowego i amonowego będzie podany później.

W zupełnie podobny sposób otrzymujemy roztwory o zmiennym Ph w izotonicznej sacharozie.

#### B u f o r m l e c z a n o w y.

1.  $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$  handlowy gotujemy parę minut, celem rozłożenia laktanu, i nastawiamy miano na 0,1 n. przy pomocy NaOH i fenolftaleiny, rozcieńczając kwas, w miarę potrzeby, wodą destylowaną.

2. 100 cm.  $n\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$  mieszamy z 100 cm. n. NaOH i dopełniamy do litra wodą destylowaną, oraz sprawdzamy neutralność.

Mieszamy oba płyny w stosunkach, wyrażonych na tablicy № 2 (rząd drugi). Ph wskazuje na koncentrację  $\text{H}^+$  w mieszaninach.

Metoda otrzymywania płynów buforowych izotonicznych identyczna jest z wyłożoną poprzednio. Nastawiamy tą metodą serję płynów o Ph od 3,0 do 5,0.

#### B u f o r f o s f a t o w y.

Do 50 cm. roztworu izotonicznego (NaCl, sacharozy), dodajemy 0,5 ccm. buforu wzorcowego VI, bierzemy próbkę 10 cm. do próbówki, dodajemy odpowiedniego indykatora i nastawiamy buforem V do pożądanej barwy. Do pozostałego płynu dodajemy poczwórną ilość płynu V, zużytego na zrównanie barwy z kontrolą i kontrolujemy nową 10-ccmową próbkę płynu z wskaźnikiem. Tą metodą nastawiamy płyny o Ph równem 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5. Jako wskaźników używamy: dla płynów o Ph 5,5—6,0 czerwieni metylowej, dla 6,5 błękitu bromatymolowego, dla 7,0—7,5—8,0. czerwieni fenolowej.

#### B u f o r a m o n o w y.

Do 50 ccm płynu izotonicznego dodajemy 1 cm. 0,1  $n\text{NH}_4\text{Cl}$  (5,3492 w jednym L.). Bierzemy próbkę 10 cm. dodajemy 0,1 fenolftaleiny i nastawiamy 0,1n  $\text{NH}_4\text{OH}$  do barwy rurki skali o wysokości Ph, nam potrzebnej. Do pozostałych 40 cm. płynu dodajemy poczwórną ilość zużytego 0,1  $n\text{NH}_4\text{OH}$  i kontrolujemy nową próbką 10-ccmową na ilość  $\text{H}^+$ . Tą metodą nastawiamy płyny o Ph 8,5 i 9,0.

Pierwszym pytaniem do rozstrzygnięcia była kwestja, czy  $\text{H}^+$  mogą wogóle uruchomić system lityczny surowicy świeżej świnki morskiej w stosunku do krwinek barana oraz ew. przy jakim Ph stać się to może. Wynik przedstawia protokół № 1.

### PROTOKUŁ Nr. 1.

W statywie ustawiamy 3 szeregi rurek po 10 w każdym. Do pierwszych 9 rurek każdego szeregu nalano płynu buforowego winjanowego w NaCl o Ph od 1,2 do 5,0, po 1 cm. w każdej. Do ostatniej 1 cm. 0,90/n NaCl (Ph 6,3). Do każdej rurki pierwszego szeregu dodano po 1,0 cm. świeżej surowicy świnki morskiej (miano hemolityczne 1:80). Do drugiego szeregu po 0,1 cm. teje surowicy inaktywowanej w 56° C 1/2h. Do wszystkich rurek dodano po kropli wirowanych krwinek barana. Zawartość rurek zmieszano i wstawiono do termostatu przy 37° C. na 2<sup>h</sup>. (Znaki

d—denaturacja, nh—niezupełna hemoliza, h—zupełna hemoliza, slh—słaba hemoliza, ślh—śląd hemolizy, o—brak hemolizy, + aglutynacja, — brak aglutynacji).

1,2	1,6	2,0	2,6	3,0	3,6	4,0	4,6	5,0	Kontr.	Ph
d	d	d	nh	nh	h	h	nh	ślh	O	Dopelniacz czynny 0,1+ krwinki
d	d	d	nh	nh	O	O	O	O	O	Dopelniacz inaktyw. 0,1+ krwinki
d	d	d	d	ślh	ślh	O	O	O	O	Krwinki same

2<sup>h</sup> 37° C

Okazuje się, że surowica świeża hemolizuje (0,1 na 1 cm.), w płynie o Ph 3,6—4,0, krwinki barana zupełnie, podczas gdy nie czyni tego w płynie o Ph 6,3. Również sam płyn kwaśny, o Ph 3,6—4,0, podobnie, jak tenże płyn, zmieszany z surowicą inaktywowaną, tego nie czynią. W płynach o Ph do 2,6 krwinki barana ulegają denaturacji, wyrażającej się początkowo w hemolizie, a następnie w zbrązowieniu (hemina). Do Ph 3,0 krwinki ulegają hemolizie bez denaturacji. Hemoliza niezupełna, pod wpływem H<sup>+</sup> w szeregu z surowicą świeżą, występuje do Ph 4,6.

Na pytanie, czy istnieje jaki stosunek między wypadalnością globulin w surowicy świeżej pod wpływem H<sup>+</sup>, a jej zdolnościami litycznymi, odpowiada protokół Nr. 2.

### PROTOKUŁ Nr. 2.

Do dwóch szeregów rurek o Ph 1,2—5,0, przy tychże samych płynach, co w doświadczeniu poprzednim, dodano po 0,3 cm. surowicy świnki morskiej, do pierwszego świeżej, a do drugiego inaktywowanej, zachowując ostrożności, przepisane przy precypitacji swoistej. Po 20 minutach w temperaturze pokojowej odczytano (+ precypitacja, — brak precypitacji) wynik.

1,2	1,6	2,0	2,6	3,0	3,6	4,0	4,6	5,0	Kontr.	Ph
±	+	+	±	±	±	-	-	-	-	Surowica świeża świnki morskiej
+	+	+	±	±	±	±	±	-	-	Inaktywowana surowica świnki morskiej.

20' 18° C.

Widzimy, że pierwszy ślad precypitacji surowicy świeżej zjawia się przy Ph 3,6. Surowica inaktywowana jest czulszą, bo wykazuje biały pierścień precypitatu już przy Ph 4,6.

Zależność między hemolizą, a aglutynacją kwaśną, przedstawia protokół Nr. 13.

### PROTOKUŁ Nr. 3.

Do pierwszego szeregu rurek dodano po 1 cm<sup>3</sup> buforu winjanowego w izotonicznej sacharozie o Ph od 2,0—5,0. Do drugiego po 1 cm<sup>3</sup> tegoż buforu w 0,9% NaCl. Do wszystkich rurek dodano po kropli wirowanych krwinek barana. Po 5 minutach. w temperaturze pokojowej odczytano wynik.

2,0	2,2	2,4	2,6	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4,0	4,2	4,4	4,6	4,8	5,0	Ph
-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	±	±	-	-	-	-	Sacharoza
-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NaCl

5'. 13° C.

Widzimy, że aglutynacja kwaśna krwinek barana zaczyna się przy Ph 4,6, osiąga maksimum przy Ph 3,4—3,6—3,8, zanika przy 2,6, lecz tu zamaskowana jest przez wtórną denaturację. W izotonicznym NaCl występuje ślad sklejanania krwinek (dobrze widzialny pod mikroskopem) przy Ph. 3,0, zamaskowany silnie przez wtórną denaturację. Dalsze badania nad aglutynacją kwaśną w sacharozie wykazały, że przebiega ona również w hipertonicznych roztworach sacharozy.

Jony elektrolitów przeszkadzają jej, jak również i białko surowicy (Schutzkolloid).

Na pytanie, jaka dawka komplementu jest najodpowiedniejszą do wywołania zupełnej hemolizy kwaśnej, oraz w jakim stopniu dopełniacz zanika w płynach o Ph 3,6—4,0, odpowiada protokół Nr. 4.

### PROTOKUŁ Nr 4.

Ustawiamy 8 szeregów rurek po 6 w każdym. Do pierwszego szeregu dodajemy po 1 cm. izotonicznego buforu mleczanowego w NaCl o Ph 3,6, do drugiego tegoż buforu o Ph 4,0, do trzeciego o 4,6, do czwartego i piątego zwykłego 0,9% NaCl (Ph—6,3). Do ostatnich trzech—tegoż buforu o Ph 0,4. Do pierwszych rurek wszystkich szeregów dodajemy po 0,2 cm<sup>3</sup> świeżej surowicy świnki morskiej (miano 1/100), do drugiej 0,1, do trzeciej 0,05, do czwartej 0,025, do piątej 0,0125. Do pierwszych czterech szeregów dodajemy po kropli wirowanych krwinek barana. Do piątego i szóstego po kropli uczulonych i wirowanych krwinek barana, do 7-go po kropli wirowanych krwinek, ale dopiero po 1/2<sup>h</sup> w 37° C. Podobnie w 8-y dodajemy po 1<sup>h</sup> w 37° C po kropli krwinek uczulone. Rurki stawiono na 2<sup>h</sup> w 37° C

1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	Kontr.	Rozcieńczenia dopełniacza
h	h	n h	O	O	O	Ph 3,6; krwinki zwykle
h	h	n h	O	O	O	Ph 4,0; krwinki zwykle
sl h	sl h	sl h	O	O	O	Ph 4,6; krwinki zwykle
sl h	sl h	O	O	O	O	Ph 6,3; krwinki zwykle
n h	h	h	h	h	O	Ph 6,3; krwinki uczulone
n h	n h	sl h	sl h	O	O	Ph 4,0; krwinki uczulone
sl h	O	O	O	O	O	Ph 4,0; Po 1/2 <sup>h</sup> 37° C. krw. zwykle
n h	sl h	sl h	sl h	O	O	Ph 4,0; Po 2 <sup>h</sup> 37° C. krw. uczulone

2<sup>h</sup> 37° C.

Protokół wykazuje, że najlepszą dawką dopełniacza dla hemolizy kwaśnej jest 0,1 na 1 cm<sup>3</sup> oraz, że w płynach o Ph 4,6, hemoliza swoista jest silnie zahamowana. Dopełniacz w takim płynie zanika dość wolno tak, że nie zauważamy prawie żadnej zmiany w szeregach 6-tym i 8-ym. Różnica objawia się tylko w czasie występowania hemolizy z krwinkami nieuczulonymi spadek miana jest bardzo silny.

Wpływ hipertoniczności przedstawia nam protokół Nr. 5.

### PROTOKÓŁ Nr. 5.

Do dwóch szeregów rurek, po 3 rurki w każdym, dodano: do każdej pierwszej po 1 cm. 4-o izotonicznego NaCl, o Ph 4,0 (bufor winjanowy), do każdej drugiej 2-u izotonicznego, do każdej trzeciej 1-o izotonicznego. Do pierwszego szeregu dodano po 0,1 świeżej surowicy świnki morskiej (miano 1/100), a do wszystkich po kropli wirowanych krwinek barana.

3,6	1,8	0,9	% NaCl	
O	O	h	Ph 4,0+0,1 Dopełniacza	
O	O	O	Ph 4,0	

2<sup>h</sup> 37° C.

Widzimy, że podobnie, jak przy hemolizie swoistej, hipertoniczność hamuje hemolizę, wywołaną przez H<sup>+</sup>.

Na pytanie, czy H<sup>+</sup> wywołują stałe destrukcje krwinek barana, odpowiada protokół Nr. 6.

### PROTOKÓŁ Nr. 6.

Do dwóch szeregów rurek po 8 w każdej dodano: do pierwszych trzech w każdym szeregu po 1 cm.<sup>3</sup> 0,9% NaCl o Ph 6,3, do każdej czwartej z rurek płynu o Ph 4,0 (bufor winjanowy). Do następnych czterech dodano płynów odpowiadających Ph, ale w sacharozie. Do pierwszego szeregu dodano po 0,1 świeżej surowicy świnki morskiej (miano 1/100). Do każdej 1-szej, 4-ej, 5-ej, i 8-ej rurki obu szeregów dodano po kropli wirowanych krwinek barana. Do każdej drugiej dodano po kropli tychże krwinek, które stały z płynem o Ph 4,0 (bufor winjanowy NaCl), a następnie były wirowane. Do trzecich też same krwinki, ale przemyte zwykłym 0,9% NaCl. Do 6-tych dodano odwirowanych krwinek, które stały w sacharozie o Ph 4,0, do 7-tych, te same przemyte raz zwykłą izotoniczną sacharozą.

0,9% NaCl				7,79% C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>					
6,3	6,3	6,3	4,0	6,3	6,3	6,3	4,0	Ph	
O	n	h	O	h	n	h	sl	h	0,1 Dopełniacza
O	O	O	O	O	O	O	O	O	Bez dopełniacza
Krwinki zwykłe	Krw. Ph 4,0 wirowane	Krw Ph. 4,0 myte	Krwinki zwykłe	Krwinki zwykłe	Krw. Ph 4,0 wirowane	Krw. Ph 4,0 myte	Krwinki zwykłe		

2<sup>h</sup> 37° C.



Z protokołu wynika, że zdolność rozpuszczania się krwinek, wytrawionych płynem o Ph 4,0, w świeżej surowicy świnki morskiej, nie wzrosła zupełnie, czyli stałych zmian w otoczkach krwinek H<sup>+</sup> w takim stężeniu nie wywołuje.

Dopełniacz w płynach o Ph 4,0 nie zanika zupełnie; i po neutralizacji nie łatwo jest dopatrzeć się różnic w jego mianie. Wynik daje protokół Nr. 7.

### PROTOKUŁ Nr. 7.

Do 10 cm<sup>3</sup> buforu mleczanowego w 0,9% NaCl o Ph 4,0 dodano 1 cm<sup>3</sup> świeżej surowicy świnki morskiej (miano 1/80) i wstawiono na 1/2<sup>h</sup> w 37° C. Jako kontrolę wstawiono na 1/2<sup>h</sup> w 37° C. tę samą surowicę w 0,9% NaCl o Ph 6,3. Płyn o Ph 4,0 doprowadzono Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> do Ph 6,8 w obecności lakmusu. Z obu płynów zrobiono serję rozcieńczeń wzrastających z NaCl. Rozcieńczeniami płynu pierwszego napełniono pierwszy i trzeci szereg rurek, drugiego 2-gi i 4-ty. Do szeregu pierwszego i drugiego dodaje ny krwinek uczulonych, do następnych dwóch zwykłych. Ten sam komplet w dawce 0,1 na 1 cm. wywoływał hemolizę zupełną krwinek barana przy Ph 4,0.

1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	Rozcieńczenia dopełniacza
h	h	h	nh	slh	slh	Płyn I + Krwinki uczulone
h	h	h	nh	slh	slh	Płyn II + Krwinki uczulone
O	O	O	O	O	O	Płyn I + Krwinki zwykłe
O	O	O	O	O	O	Płyn II + Krwinki zwykłe

1<sup>h</sup> w 37° C.

Widzimy, że nie można zauważyć spadku miana dopełniacza w szeregach z krwinkami uczulonemi; krwinki nieuczulone, ma się rozumieć, hemolizy nie dają.

Że działają tu tylko jony H<sup>+</sup>, widzimy z protokołu Nr. 8.

### PROTOKUŁ Nr. 9.

Do 5 szeregów rurek dodano buforu izotonicznego mleczanowego w NaCl o Ph 3,0 do 4,6, po 1 cm.<sup>3</sup> w każdej. Do ostatniego rzędu dodano 0,9% NaCl, do 1-go, 2-go, 4-go i 5-go rzędu dodano po 0,1 cm. dopełniacza świnki (miano 1/80), do szeregu 1-go i 3-go dodano po kropli wirowanych krwinek barana. Do 2-go dodano krwinek barana, a po 2<sup>h</sup> w 37° C. odwirowano je i dodano krwinek uczulonych, do 4-go po 1<sup>h</sup> w 37° C. dodano krwinek uczulonych.

3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4,0	4,2	4,4	4,6	Kon.	Ph
d	d	O	slh	h	h	nh	nh	slh	slh	0,1 Kompl. + krwinki barana
d	d	O	O	O	O	O	O	O	h	0,1 Kompl. + krwin. barana po 1/2 <sup>h</sup> 37° K., krwinki uczulone
d	d	d	O	O	O	O	O	O	O	+ krwinki barana
d	d	d	O	nh	nh	nh	h	h	h	0,1 Kompl. + krwinki uczulone
d	O	O	O	slh	nh	nh	nh	h	h	0,1 Kompl. H <sup>+</sup> 1/2 h 37° C., później krwinki uczulone.

2<sup>h</sup> 37° C.

Z protokołu wynika, że przy hemolizie, w mieszaninie złożonej z dopełniacza, buforu i krwinek, jedyną rolę grają  $H^+$ , bo anjon przy buforze mleczanowym i winjanowym jest zgoła inny, a hemoliza odbywa się przy tym samym Ph. Prócz tego wynika, że podczas hemolizy kwaśnej komplement zanika. Hemoliza swoista w płynach tak kwaśnych jest osłabiona; zupełną hemolizę mamy dopiero w rurce o Ph 4,4. Dopełniacz w płynach kwaśnych z biegiem czasu słabnie i to najsilniej w płynach bardzo kwaśnych.

System hemolityczny złożony z  $H^+$  komplementu i krwinek można uruchomić bez ustalenia ilości  $H^+$  w płynach. Dowodem tego jest protokół Nr. 9.

### PROTOKUŁ Nr. 9.

Do 4-ch szeregów rurek, po 7-m rurek w każdym, nalano: do pierwszych 6-ciu geometrycznych rozcieńczeń 1/50 nHCl w 0,9% NaCl po 1-m cm. w każdej, do 7-ej dodano po 1-m cm.<sup>3</sup> 0,9% NaCl. Do szeregów nieparzystych dodano dopełniacza świnki (miano 1/100). Do pierwszych dwóch dodano po kropli wirowanych krwinek barana, do następnych dwóch krwinek uczulonych.

$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$	Kontr.	n HCl.
d	d	nh	h	slh	slh	O	0,1 Kompl. + krwinki barana
d	d	O	O	O	O	O	+ krwinki barana
d	d	nh	nh	nh	nh	h	0,1 Kompl. + krwinki uczulone
d	d	O	O	slh	slh	h	Kompl. $\frac{1}{3h}$ 34 <sup>o</sup> + krwinki uczulone

2<sup>h</sup> 37<sup>o</sup> C.

Z protokołu wynika, że 1/400 nHCl wywołuje hemolizę zupełną w systemie złożonym z dopełniacza świnki morskiej i krwinek barana przy kontrolach ujemnych. (Dwa następne rzędy wykazują, że komplement w kwasie solnym słabnie).

Hemolizę innych krwinek pod wpływem  $H^+$  i dopełniacza świnki przedstawia protokół Nr. 10.

### PROTOKUŁ Nr. 10.

Technika, jak przy protokole Nr. 1. Miano dopełniacza 1/100.

2,7	3,0	3,8	4,0	4,4	4,8	Kontr.	Ph
d	slh	h	h	nh	slh	slh	0,1 Kompl. + krwinki barana
d	slh	slh	O	O	O	O	+ krwinki barana
d	d	d	O	O	O	O	0,1 Kompl. + krwinki świnki
d	d	d	O	O	O	O	+ krwinki świnki
d	d	slh	slh	slh	slh	O	0,1 Kompl. + krwinki króla
d	d	d	O	O	O	O	+ krwinki króla
d	d	O	O	O	O	O	0,1 Komp. + krwinki człowieka
d	d	d	O	O	O	O	+ krwinki człowieka

2<sup>h</sup> 37<sup>o</sup> C.

Widzimy, że prócz barana dają słabą hemolizę prawie przy tym samym Ph=4,0 krwinki królika. Krwinki człowieka i świnki hemolizy nie dają. Zauważyłem tu jednak, że  $\text{CH}_3\text{CO}_2'$  w stężeniu  $1/200$  n w obecności  $\text{H}^+$  w stężeniu poczynając od Ph 5,0 nie hemolizuje krwinek barana, trudniej króla. Z krwinkami człowieka i świnki tego nie czyni, czyli że krwinki te mają swoistą odporność na czynniki chemiczne. Aglutynację kwaśną tychże krwinek w sacharozie przedstawia nam protokół Nr. 11.

### PROTOKUŁ Nr. 11.

Technika, jak przy protokole Nr. 2.

2,0	2,2	2,4	2,6	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4,0	4,2	4,4	4,6	4,8	5,0	Ph
- d	- d	- d	+ d	+ -	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Król
- d	- d	+ d	+ d	+ -	+ -	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Świnka
- d	- d	+ d	+ d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	Człowiek

5' 18° C.

Optimum aglutynacji dla erytrocytów króla leży przy Ph 3,4—3,6, człowieka 3,2—3,4, świnki 3,8—4,0.

Działanie dopełniaczy innych zwierząt przedstawia nam protokół Nr. 12.

### PROTOKUŁ Nr. 12. \*

Dopełniacz króla (miano 1/10). Bufor winjanowy (NaCl). Technika, jak przy protokole Nr. 1. Dawka dopełniacza 0,2 na 1 cm.

2,6	3,0	3,6	4,0	4,6	5,0	Kontr.	Ph.
o d+	o +	o +	h +	h h +	sl h +	sl h +	0,2 Kompl. + krwinki barana
o d	o	o	o	o	o	o	+ krwinki barana
o d	o	o	o	o	o	o	0,2 Kompl. + krwinki króla
o d	o	o	o	o	o	o	+ krwinki króla

37° C. 2h

Surowica królicza silnie aglutynowała krwinki barana; hemoliza zupełna wystąpiła z krwinkami barana przy Ph 4,0, krwinki królika hemolizy nie dały.

Próbę precipitacji kwaśnej tejże surowicy przedstawia nam protokół Nr. 13.

## PROTOKUŁ Nr. 13.

Technika jak w doświadczeniu Nr. 2.

2,6	,0	3,6	4,0	4,6	5,0	Kontr.	Ph
+	+	+	-	-	-	-	0,3 Surowica świeża króla

20' 18° C.

Pierwszy ślad precipitacji zjawia się przy Ph 3,6.

## PROTOKUŁ Nr. 14

Dopelniacz człowieka (miano 1/20), bufor winjanowy z NaCl; dawka dopelniacza 0,2 na 1 cm.

2,6	3,0	3,8	4,0	4,4	4,8	C.	Ph
sl h	sl h	O	h	h	h h	sl h	0,2 Kompl. + krwinki barana
d	d	sl h	O	O	O	O	+ krwinki. barana

2h 37° C.

Hemoliza zupełna z krwinkami barana wystąpiła przy Ph 4,0—4,4

*Georgi* stwierdził, że krwinki w glukozie izotonicznej z surowicą świeżej świnki ulegają hemolizie. Otóż protokół Nr. 15 przedstawia nam stosunek teje hemolizy do koncentracji H<sup>+</sup> w tychże roztworach sacharozy.

## PROTOKUŁ Nr. 15.

Technika jak w doświadczeniu Nr. 1.

Do rurki o Ph 5,0 nalano buforu winjanowego; do rurek o Ph od 5,2 do 8,0 buforu fosfatowego, od 8,2 do 9,0 amonowego. Pierwsze dwa rzędy zawierały bufor w NaCl, następne dwa w sacharozie. Do nieparzystych rzędów dodano po 0,1 dopelniacza świnki morskiej; do wszystkich rurek po kropli wirowanych krwinek barana.

	2,6	3,0	3,6	4,0	4,6	5,0	5,6	6,0	6,6	7,0	7,6	8,0	8,6	9,0	Ph
NaCl	d	O	h	h	nh	sl h	sl h	sl h	O	O	O	O	O	O	0,1 Dopeln. + krwinki barana
	d	d	sl h	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	+krwin. barana
C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	d	d	O	O	O	sl h	sl h	h	h	h	nh	sl h	sl h	sl h	0,1 Dopeln. + krwinki barana
	d	d	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	+krwin. barana

2h 37° C.

(W dwóch rzędach ostatnich krwinki były przemyte w 7,79% sacharozie).

Z protokołu widzimy, że hemoliza nieswoista w sacharozie najlepiej wypada koło punktu obojętnego Ph 6,0—6,6—7,0, czyli to, co się dzieje w 0,9% NaCl przy Ph 3,6—4,0, jest w sacharozie przesunięte do płynów bardziej obojętnych. Wynikałoby z tego, że jony NaCl (prawdopodobnie Cl') zmniejszają zdolność uruchomienia systemu litycznego surowic świeżych pod wpływem H'. Z drugiej strony wiemy, że 0,9% NaCl zmniejsza zdolność wypadania globulin surowicy. Jednym słowem widzimy, że zasadniczej różnicy między hemolizą kwaśną wsoli, a hemolizą w nieelektrolitach (w sacharozie) nie ma, a zjawisko, że hemoliza w NaCl odbywa się w płynach kwaśnych, a w sacharozie w obojętnych, można tłumaczyć własnościami hamującymi jonów NaCl. Z poprzedniego wynikałoby, że hipertonia sacharozy nie powinna przeszkadzać hemolizie kwaśnej. Potwierdza to protokół Nr. 16.

### PROTOKUŁ Nr. 16.

Do dwóch rzędów rurek po 3 w każdej dodano, do pierwszych rurek każdego rzędu 4-ro izotonicznej sacharozy, do drugich 2-u izotonicznej sacharozy, do trzecich jednoizotonicznej sacharozy po 1 cm<sup>3</sup> do każdej (Ph 6, 4). Do 1-go rzędu dodano po 0,1 dopełniacza świnki (miano 1/80); do wszystkich rurek wirowanych i przemitych w sacharozie krwinek barana.

31 16	15,58	7,79		% C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>
n h	h	h		0,1 Dopełn. + krwinki barana
O	O	O		+ krwinki barana

2<sup>h</sup> 37° C.

Widzimy, że hipertonia sacharozy na hemolizę zasadniczego wpływu nie ma.

W roztworach izotonicznych nieelektrolitów hemoliza swoista w zwykłych warunkach nie odbywa się. W roztworach izotonicznych NaCl odbywa się przy koncentracji od Ph 5,0 do 9,0 (Michaelis), najlepiej koło punktu neutralnego. Nasuwałby się teraz wniosek, wynikający z poprzedniego, że hemoliza swoista winna odbywać się w roztworach sacharozy, posiadających dostateczną ilość OH' (a co zatem idzie, dostateczny nabój) do utrzymania globulin dopełniacza w roztworze. Doświadczenie potwierdziło wywód teoretyczny, jak wykazuje protokół Nr 17.

### PROTOKUŁ Nr. 17.

Płyny, jak w doświadczeniu Nr. 15 (2 ostatnie rzędy). Do pierwszego rzędu dodano po 0,05 dopełniacza świnki (miano 1/50), a do wszystkich rurek po kropli uczulonych krwinek barana.

3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0	10,0	Ph
O +	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	slh	h	hh	0,05 Dop +krwin. uczulone
O h	O -	O -	O +	O +	O +	O -	O -	O -	O -	O -	O -	O -	O -	+krwin. uczulone

2<sup>h</sup> 37° C.

Z protokołu widzimy, że hemoliza swoista odbywa się w sacharozie przy Ph 9,0. Aglutynacja kwaśna krwinek baranich uczulonych odbywa się przy Ph 4,5—5,0, czyli w płynie bardziej obojętnym, niż krwinek nieuczulonych.

Pozostaje nam jeszcze do rozpatrzenia stosunek hemolizy kwaśnej do hemolizy, wywoływanej przez koloidalny  $H_2SiO_3$ .

## T e c h n i k a.

### Przygotowanie kwasu krzemowego.

Handlowe szkło wodne gotujemy z stężonym HCl, sączymy, a osad przemywamy gorącym HCl i wodą destylowaną. Zebrany osad topimy w tyglu niklowym z czystym NaOH, stop rozpuszczamy w wodzie destylowanej, sączymy przez watę szklaną, rozcieńczamy  $H_2O$ , dodajemy ślad fenoltaleiny i neutralizujemy  $\frac{1}{50}$  nHCl. Otrzymany płyn wlewamy do dializatora i dializujemy, aż do chwili gdy z  $AgNO_3$  nie będzie dawał osadu AgCl (rp.  $NH_4OH$ ). Płyn sączymy i odmierzamy 10 cm. do prażonego i zważonego poprzednio tygla porcelanowego. Parujemy na łaźni wodnej, następnie prażymy i ważymy. Przyrost wagi tygla, pomnożony przez 10, daje nam procentową zawartość  $SiO_2$  w płynie. Nastawiamy roztwór na 1% zawartości  $SiO_2$ .

Do 50 ccm. buforów winjanowych NaCl, o zmiennych Ph, dodajemy po 0,5 ccm. roztworu kwasu krzemowego. Bierzemy z mieszaniny 10 cm, dodajemy odpowiedniego wskaźnika i określamy jego Ph (ew. nastawiamy żądane Ph) metodami wyłożonymi w technice buforu.

Tą metodą możemy otrzymać płyny o Ph 3,0—8,0, o zawartości  $SiO_2$  0,01%. Stosunek H<sup>+</sup> do hemolizy w mieszaninie dopełniacza świnki z  $H_2SiO_3$  + krwinki barana, daje protokół Nr. 18.

### PROTOKUŁ Nr. 18.

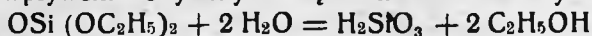
Serją otrzymanych płynów napełniamy 2 szeregi rurek po 1 cm.<sup>3</sup> w każdej; 2 następne szeregi napełniamy płynami o Ph, które odpowiadają poprzednim, ale nie zawierają  $H_2SiO_3$ . Do rzędów nieparzystych dodajemy po 0,1 dopełniacza świnki (miano 1:100), a do wszystkich rurek wirowanych krwinek barana.

3,0	3,6	4,0	4,6	5,0	5,6	6,0	6,6	7,0	7,6	8,0	Ph
0	h	h	slh	0	0	0	slh	slh	slh	slh	0,1 Dopełn. + $H_2SiO_3$ + krwinki barana
0 ±	slh +	slh +	0 +	0 +	0 +	0 +	0 +	0 +	0 +	0 +	$H_2SiO_3$ + krwinki barana
0	h	h	slh	slh	0	0	0	0	0	0	0,1 Dopełn. + krwinki barana
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+ krwinki barana

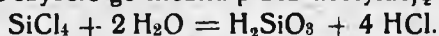
2h 37<sup>o</sup> C.

Z protokołu widzimy, że kwas krzemowy, tą metodą otrzymany, nie wywiera specjalnego wpływu na hemolizę kwaśną. Kwas krzemowy sam w tym stężeniu aglutynował silnie krwinki barana. Białko surowicy świnki aglutyn-

nacji tej przeszkadzało (Schutzkolloid). Następne badania prowadzono nad  $\text{H}_2\text{SiO}_3$ , otrzymanym niejako in statu nascendi w płynach o zmiennym Ph. Taki kwas krzemowy otrzymujemy z estru etylowego kwasu krzemowego, który pod wpływem wody zmydla się na kwas krzemowy i alkohol.



Produkt handlowy zawiera zwykle  $\text{SiCl}_4$ , który przy hydrolizie wytwarza  $\text{HCl}$ . Oczyszczyć go można przez destylację z bezwodnym etylanem sodu.



Do 50 ccm. płynu buforowego o zmiennym Ph dodajemy 0,5 cm.  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{SiO}_3$  i gotujemy płyny po parę minut. Płyny cedzimy, określamy ich Ph (ew. nastawiamy) oraz zawartość  $\text{SiO}_2$ . Tą metodą możemy otrzymać skalę płynów o Ph 3,0—8,0 i  $\text{SiO}_2$  0,01%.

Własności hemolityczne takich płynów przedstawia nam protokół Nr. 19

### PROTOKUŁ Nr. 19.

Technika jak w doświadczeniu poprzednim.

3,0	3,6	4,0	4,6	5,0	5,6	6,0	6,6	7,0	7,6	8,0	Ph
h	h	h	h	h	nh	slh	O	O	O	O	0,1 Dopeln., + $\text{H}_2\text{SiO}_3$ + krwinki barana
h	slh	O	O	O	O	O	O	O	O	O	$\text{H}_2\text{SiO}_3$ + krwinki barana
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

2h 37° C.

Z protokołu widać, że kwas krzemowy, otrzymany w taki sposób, działa specyficznie na hemolizę kwaśną, bo wywołuje hemolizę zupełną przy Ph 3,0, czego poprzedni nie czynił.

Miareczkowanie komplementu przedstawia nam protokół Nr. 20.

### PROTOKUŁ Nr. 20.

Do 2 szeregów rurek, po 6 w każdym, dodano buforu winjanowego w soli z kwasem krzemowym o Ph 4,6 po 1 cm.<sup>3</sup>. Do obydwuch rzędów dodano kolejne dawki dopełniacza świnki (miano 1/100), do pierwszego szeregu dodano wirowanych krwinek barona, do drugiego po 1/2 h 37° C. krwinek uczulonych.

1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	Kontr.	Rozcieńczenie dopełniacza
h	h	nh	slh	slh	O	Krwinki barana
-	-	+	+	+	+	
nh	slh	slh	O	O	O	Po 1/2 h + 37° C., krwinki uczul
					+	

2h 37° C.

Z protokołu widzimy, że najodpowiedniejszą dawką dopełniacza jest 0,1 na 1 cm.<sup>3</sup>, oraz że komplement zanika pod wpływem kwasu krzemowego, jednak nie tak silnie, jak przy kwasie krzemowym, otrzymanym zwykłą metodą. Miareczkowanie kwasu krzemowego przedstawia nam protokół Nr. 21.

Do 2 rzędów rurek dodano kolejnych rozcieńczeń  $H_2SiO_3$  w płynie buforowym winjanowym NaCl, o Ph 4,6 po 1 cm.<sup>3</sup>. Do pierwszego rzędu dodano 0,1 dopełniacza świnki (miano 1/80), a do wszystkich wirowanych krwinek barana.

$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	Kontr.	$SiO_2$ ‰
nh +	h +	h	nh	sl h	sl h	01 Dopełn. + krwinki barana
o +	o +	o +	o +	o +	o	+ krwinki barana

2<sup>h</sup> 37<sup>o</sup> C.

Z protokołu wynika, że najodpowiedniejszą dawką  $H_2SiO_3$  jest 0,01%  $SiO_2$ .

Z pierwszych protokołów wynika, że pod wpływem jonów  $H^+$  przy koncentracji Ph 3,6—4,0 w 0,9% NaCl, zostaje uruchomiony system lityczny świeżej surowicy świnki morskiej. W roztworach hipertonicznych NaCl hemolizata, podobnie jak swoista, zostaje zahamowana. Że działają tu tylko  $H^+$  przemawiają prot 1—8—9. Zastosowano tu trzy bufory o trzech różnych anionach, a hemoliza wypadła przy tym samym Ph. Miareczkowanie dopełniacza wykazało, że najodpowiedniejszą dawką jest 0,1 na 1 cm. co zgadza się z wynikami prac *Giorgi'ego* nad hemolizą w izotonicznej glukozie. Precypitacja kwaśna globulin świeżej surowicy świnki morskiej wykazała, że globuliny zaczynają wypadać przy Ph 3,6. Globuliny surowicy inaktywowanej są czulsze, bo wypadają już przy Ph 4,2. Aglutynacja kwaśna erytrocytów barana odbywa się w nieelektrolitach, w tychże samych granicach, Ph 3,4—3,6—3,8. Przeszkadzają jej jony elektrolitów, co tłumaczyć można hamującym działaniem anionów na  $H^+$ , czego w roztworach nieelektrolitów niema, bo koncentracja tychże jest mała i wskutek tego mogą słabo tylko przeciwdziałać ruchliwym  $H^+$ . Białka mają tu znaczenie koloidu ochronnego (Schutzkolloidu) dla erytrocytów. Dla przyczyn wyluszczonych aglutynacja kwaśna w 0,9% NaCl odbywa się z trudem i tylko koło Ph 3,0 można się dopatrzeć pod mikroskopem sklejanie krwinek. Zrozumiałą jest rzeczą, że hipertonia sacharozy aglutynacji tej przeszkadzać nie może. Aglutynacja kwaśna uczulonych erytrocytów barana w sacharozie, wypada przy Ph 4,8—5,0 z czego wynikałoby, że krwinki te posiadają nabój mniejszy niż normalne. Ciekawą jest tu rzeczą, że dopełniacz w płynach kwaśnych nie zanika zupełnie i jest niejako zakonserwowany, tak że po zneutralizowaniu płynów trudno dopatrzeć się spadku miana dla hemolizy swoistej. Mamy tu pewną analogję z działaniem hipertonicznego NaCl, który również konserwuje dopełniacz, a po doprowadzeniu do izotonji może wywołać hemolizę swoistą. Po hemolizie kwaśnej dopełniacz nie hemolizuje krwinek uczulonych (w roztworze kwaśnym). Hemoliza swoista w płynach kwaśnych jest na ogół zahamowana i, jak stwierdził to *Michaelis*, przebiega jeszcze przy Ph 5,0. Przy silniejszych dawkach dopełniacza przebiega jednak przy Ph 4,0.



Jony  $H^+$  denaturują otoczkę erytrocytów w stężeniu do Ph 3,0. Na-przód występuje hemoliza, następnie rozkład hemoglobiny (hemina). Przy Ph 3,6—4,0 poważniejszych zmian w otoczkce wykryć nie można. Krwinki, wytrawione płynem o Ph 4,0, następnie przemyte 0,9% NaCl, nie wykazują zwiększonej zdolności rozpuszczania się w surowicach świeżych.

Krwinki człowieka i świnki morskiej nie podlegają wogóle hemolizie kwaśnej z dopełniaczem świnki. Krwinki króla dają hemolizę niezupełną. Jednakowoż krwinki człowieka i świnki są wogóle odporne na działanie czynników chemicznych (np.  $CH_3CO_2^+$ ). Krwinki króla są mniej odporne, a najmniej krwinki barana. Optima aglutynacji kwaśnej w sacharozie dla tych krwinek są następujące: człowiek Ph 3,2—3,4, świnka 3,8—4,0, król 3,4—3,6.

Dopełniacze króla i człowieka działają podobnie, jak dopełniacz świnki i prawie w tych samych granicach Ph.

Działanie  $H^+$  na dopełniacza można sobie wyobrazić w taki sposób, że szybciej przeprowadzają dopełniacza w stan trwały nieczynny. Dopełniacz jest niejako zakonserwowany przez  $H^+$  i może być uruchomiony po zobojętnieniu. Należy przypuścić, że czynnik ten wytwarza stan nieczynny dopełniacza, uwarunkowany zmianami fizycznymi w globulinach surowicy.

Następne protokoły wykazują nam stosunek  $H^+$  do znalezionej przez Georgiego hemolizy w izotonicznych nieelektrolitach. Otóż okazuje się, że hemoliza krwinek barana w izotonicznej sacharozie pod wpływem dopełniacza świnki, przebiega najlepiej w granicach Ph 6,0—7,0. Obecność NaCl przeszkadza jej. Tłumaczyć to można tem, że globuliny surowicy mogą istnieć w roztworze tylko wtedy, gdy mają dostateczny nabój cząstkowy, który otrzymują od jonów ( $Cl^-$ ). Gdy ilość anionów jest zbyt mała (a co za tem idzie mały jest nabój), to globuliny wypadają i mogą uruchomić system lityczny surowicy (co się dzieje w sacharozie izotonicznej). Gdy zaś ilość ruchliwych anionów ( $Cl^-$ ), ruchliwszych od Na, jest dostateczna do utrzymania w roztworze globulin, to aby je wytrącić, trzeba doprowadzić pewną ilość bardzo ruchliwych kationów ( $H^+$ ), aby nabój zobojętnić. Tem tłumaczyć można, że hemoliza kwaśna w soli wypada koło Ph 4,0, a w sacharozie koło Ph 7,0. Z poprzedniego wynika, że hipertonia sacharozy w pewnych granicach nie może hamować hemolizy (wskutek małej dysocjacji tego cukru).

Hemoliza swoista w roztworach nieelektrolitów nie odbywa się przy zwykłej kwasocie (Ph 6,8). Jeśli jednak do roztworu nieelektrolitu dodamy odpowiedniej ilości  $OH^-$ , potrzebnych do utrzymania globulin surowicy w roztworze (dzięki naboju, który one posiadają), to hemoliza powinna występować. Rzeczywiście hemoliza swoista odbywa się w izotonicznym roztworze sacharozy o Ph 9,0. Hemoliza swoista w 0,9% NaCl odbywa się przy Ph 5,0—9,0, najlepiej koło punktu obojętnego. Zestawiając dane otrzymane, widzimy, że hemoliza kwaśna w NaCl odbywa się koło Ph 4,0, a w sacharozie koło 7,0; hemoliza swoista odbywa się w NaCl przy 7,0, w sacharozie przy 9,0, jednym słowem to, co się dzieje w NaCl przy Ph mniejszem, to dzieje się w sacharozie przy Ph większem. Zatem, zasadniczej różnicy między hemolizą w NaCl a w sacharozie niema i obie hemolizy są uwarunkowane

Bei stärkeren Anionconcentrationen wird diese Hämolyse herabgesetzt. Verf. führt das auf eine Erhöhung der Dispersion der Globuline durch Absorbtion der gleichsinnig geladenen Anionen.

II In isotonischer Saccharoselösung findet die Complementhämolyse bei Ph 6,0—7,0, also näher dem Neutralpunkt, statt. Die Hypertonie der Saccharose hemmt diese Hämolyse nicht, während die Anwesenheit der freien Ionen die Hämolyse erschwert. Die Tatsache, dass geringere Mengen an H-jonen in physiologischer Lösung der Nichtelektrolyten für Hämolyse notwendig sind, führt Verf. auf die geringeren Mengen der Pufferanionen zurück. In der Tat findet die Hämolyse der nicht sensibilisierten Blutkörperchen in Saccharoselösung fast bei neutraler Reaktion statt. Es ist daher verständlich, dass die Hypertonie der Saccharose diese Hämolyse nicht beeinflusst, wohl aber die Anwesenheit der Elektrolyten,

III. Die spezifische Hämolyse findet auch in Saccharoselösung statt, wenn die Ph 9,0 beträgt. Die spezifische Hämolyse braucht demnach grössere Ph. als die „saure“ Complementhämolyse (Optimum Ph 7,0 in NaCl, Ph 9,0 in Saccharose) gegenüber Ph 3,6—4,0 in NaCl und circa 7,0 in Saccharose ohne Amboceptor. Es geht daraus hervor, dass der für die Hämolyse notwendige Zustand der Globuline in Anwesenheit des Amboceptors durch andere H-Menge regulierbar ist.

IV. Das Complement geht nicht zu Grunde, falls das Serum mit Ph 3,6—6,0 Lösungen eine Stunde steht.

V. Das Meerschweinchenserum-precipitiert bei Ph circa 3,6. Die Globuline des Meerschweinchenserums fallen somit bei Ph aus, wie sie ungefähr für saure Hämolyse notwendig ist. Diese Versuche sprechen dafür, dass die in der Nähe des isoelektrischen Punktes auftretenden neuen Oberflächen für die Hervorrufung der Hämolyse massgebend sind.

VI. Die Hammelerythrocyten agglutinieren in Saccharoselösungen bei Ph 3,4—3,8. Meerschweinchen erythrocyten bei 3,8—4,0 Menschen erythrocyten bei 3,2—3,4 Kaninchen bei 3,4—4,0. Sensibilisierte Hammelblutkörperchen agglutinieren bei 4,8—5,0. Die Elektrolyten hemmen ebenfalls diese Agglutination, was Verf. auf hemmende Wirkung der Anionen zurückführt. Die hypertonsche Saccharoselösung hemmt die Agglutination nicht. Die sensibilisierten Blutkörperchen agglutinieren demnach mit weniger sauren Lösungen, was dafür sprechen könnte, dass ihre Ladung geringer ist.

VII. Die kolloidale Kieselsäurelösung, dargestellt nach Grimaux wirkt in 0,9% NaCl wie hämolytischer Amboceptor bei Ph 3,0—5,0. Die Kieselsäurelösung gewöhnlich dargestellt besitzt diese Eigenschaft nicht und bewirkt eine starke Complementinaktivierung.

Es wird somit bestätigt, wie dies Landsteiner und Nathan hervorgehoben haben, dass der für Hämolyse notwendige Zustand der Kieselsäure von H-jonen abhängt. Bei der Kieselsäure wird die hämolytische Wirkung durch die Methode von Grimaux gewährleistet.

Z Państwowego Zakładu Epidemiologicznego w Warszawie.  
(Dyrektor Dr. L. Rajchman)

Z Kliniki chorób dziecięcych Uniwersytetu Warszawskiego.  
(Dyrektor Prof: Dr. M. Michałowicz).

## Z etiologii i epidemiologii anginy Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa.

Podali

Dr. HENRYK BROKMAN i Dr. HELENA SPARROW.

W ciągu lata roku 1921 mieliśmy możliwość obserwowania epidemii, która wybuchła wśród dzieci przytułku, utrzymywanego przez jedną z instytucyj amerykańskich na przedmieściu Warszawy. Epidemję tę cechowało występowanie objawów zapalnych ze strony gardzieli i jamy ustnej. Badania bakterjologiczne wykazywały stale w nalotach z owrzodzeń krętki i laseczniki wrzecionowate. Schorzenia te należały do dwóch jednostek klinicznych: wrzodziejącego zapalenia migdałków i wrzodziejącego zapalenia jamy ustnej. Epidemja przybrała rozmiary, nie opisywane dotąd w literaturze. Stanowi ona po za tem wyraz znacznego zwiększenia się chorzeń tej kategorii w czasach ostatnich. Z tych więc względów pozwalamy sobie podać opis tej epidemii do wiadomości ogólnej z uwzględnieniem spostrzeżeń własnych, dotyczących bakterjologii i danych z literatury.

Pierwsza wzmianka, dotycząca etiologii *anginy Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa* zjawiła się w piśmiennictwie w roku 1882. W roku tym dentysta Müller opisał pierwszy raz, w swej pracy o drobnoustrojach jamy ustnej, krętki (*spirochatae*) i prątki wrzecionowate (*bacilli fusiformes.*) Plaut wykrył w pięciu przypadkach ciężkiej anginy podobne drobnoustroje i nazwał je prątkami i krętkami Müllera. Plaut, znajdując krętki i prątki zawsze razem, sądził, iż są genetycznie pomiędzy sobą związane czyli, że są to różne postaci jednego drobnoustroju.

W kilka lat po Plaucie, Bernheim znalazł symbiozę krętków i prątków przy *stomatitis ulcerosa*. W roku 1898 Vincent porównał ze sobą dane Plauta i Bernheima i opracował dokładnie morfologję i biologję krętków i prątków, które nazwał wrzecionowatemi.

Vincent wykrył również ich obecność przy zgorzeli szpitalnej.

*Plaut* i *Vincent* pierwsi naukowo dokładnie opracowali tę postać anginy, która na ich cześć została nazwaną *Angina Plaut-Vincent*.

W przebiegu obserwowanej przez nas epidemii wielokrotnie badaliśmy wszystkie przypadki pod względem bakterjologicznym. Morfologię lasecznika wrzecionowanego opracowaliśmy na zasadzie z górą 200 badań.

**Morfologia prątków wrzecionowatych.** *Bacillus fusiformis* jest prątkiem o kształcie wrzeciona, dłuższym od prętka błonniczy (6—12  $\mu$ .), nieco wygiętym, na końcach zaostrowym. W preparacie mikroskopowym prątki wrzecionowate nie układają się grupami, jak prątki błonnicze, a są przeważnie rozrzucone w polu widzenia. Niekiedy dwa prątki leżą połączone cienkimi końcami, tworząc łuk; miejsce ich połączenia jest znacznie cieńsze od reszty łuku. Rzadziej dwa do trzech łuków łączy się razem w postaci łańcuszka. Prątki wrzecionowane, zdaniem większości autorów, są nieruchome (*Mühlens* jednakże opisywał rzęski).

Prątki wrzecionowate barwią się dobrze barwnikami anilinowemi, a szczególnie fuksyną rozcieńczoną i bywają najczęściej gramoujemne. Gramoujemność tych prątków, wraz z kształtem ich i ułożeniem, uniemożliwia wszelką pomyłkę przy badaniu na prątki błonnicze

W literaturze jedynie *Gifford* (J. Of. Bac. 1920), mówiąc o zmienności *bacillus fusiformis*, opisuje formy gromododatnie, które mogą towarzyszyć gramoujemnym. Postacie gromododatnie znajdował często również *Dr. Trzebiński*; spostrzeżenie to możemy potwierdzić. W naszej pracowni badaliśmy niejednokrotnie preparaty z przypadków *anginy Plaut-Vincent* i *stomatitis ulcerosa*, w których prątki wrzecionowate były wybitnie gromododatnie. W innych znów przypadkach formy gromododatnie i gramoujemne leżały obok siebie. Przy barwieniu metodą *Gram* prątki gramoujemne zawierają często gromododatnie ziarenka. Prątki wrzecionowate barwią się nierównomiernie; *Mühlens* na zasadzie obserwacji, odróżnia dwa typy *bac. fus.*, barwiąc je metodą *Giemzy*:

1) o czerwono-fioletowem zabarwieniu, bez ziarenek, lecz z wodniczками,

2) o niebieskiem zabarwieniu, z 1—4 jądrami chromatynowemi.

Różnorodność zachowywania się prątków wrzecionowatych względem barwienia metodą *Giemzy* spostrzegaliśmy również i w naszych preparatach; wyraźnie zaznaczonych jąder chromatynowych stwierdzić nam się jednak nie udało. Zaznaczyć tu trzeba, że obecność jąder w bakterjach nigdzie więcej stwierdzoną nie była; pod tym względem *bac. fus.* zajmują wśród bakteryj zupełnie odrębne miejsce.

**Hodowle.** Hodowlę czystą prątków wrzecionowatych otrzymali *Veillon*, *Zuber*, *Vincent*, *Ellerman* i *Lewkowicz*. *Bac. fusiformes* rosną tylko beztlenuowo; w obecności białka zwierzęcego, niezmienionego, wyrastają po 24—40 godzinach na kilka cm. głęboko. *Bac. fusiformes* można również hodować na agarze skośnym (*Mühlensa*) w warunkach beztlenuowych i na pożywkach płynnych i buljonie z wątroby. Hodowle *bac. fusiformes* odznaczają się charakterystycznym zgnitym zapachem, jaki też można zawsze odczuć przy chorym na anginę *Plaut-Vincent*.

**Morfologia krętków.** W symbiozie z prątkami wrzecionowatymi, w anginie *Plaut-Vincent*, znajdowaliśmy zawsze krętki (*spirochaetae*). Zdaniem Mühlensa i innych, *spirochaeta Plaut-Vincent* nie jest identyczna ze *spirachaeta buccalis*, którą w znacznej mierze przypomina. *Spirochaeta Plaut-Vincent* mierzy 8—20 mm. na długość, posiada zaostrzone końce i 3—4 szerokie zwoje. Jednak w anginie *Plaut-Vincent*, *stomatitis ulcerosa*, *pyorrhoea alveolaris* i w całym szeregu schorzeń, w których bakteriologiczne badanie wykazuje symbiozę *bac. fusiformis* i krętków, typ krętków nie jest jednaki. W anginie częściej występował typ *buccalis*, w *pyorrhoea dentium*, w *stomatitis* przeważał zazwyczaj typ *buccalis*, lecz i *spirochaeta* typu *dentium* występowała w znacznej ilości. Na zasadzie naszego doświadczenia, nie możemy powiedzieć, czy krętki, znajduwane w preparatach, robionych bezpośrednio z nalotów chorych na *angina Plaut-Vincent* lub na *stomatitis ulcerosa*, różniły się od krętków typu *buccalis*. Krętki typu *dentium* znajdowaliśmy często, lecz zawsze w nieznacznej ilości.

**Hodowle.** Próby hodowania krętków jamy ustnej są liczne, a uzyskanie czystej hodowli połączone jest z dużymi trudnościami. *Spirochaeta Plaut-Vincent* otrzymywana była niejednokrotnie w hodowli mieszanej (Mühlens); w czystej hodowli, jak sądzimy na zasadzie dostępnej nam literatury, krętków tych do dziś dnia nie otrzymano.

W hodowlach mieszanych *bac. fusiformis* wyrasta po pierwszych 24 — 28 godz., a krętki dopiero po 5 — 8 dniach. Dawne mniemanie niektórych autorów, że *bac. fusiformis* i krętki pochodzą od jednej formy, obecnie, gdy otrzymano czystą hodowlę *bac. fusiformis*, niema uzasadnienia. Są dwie różne formy — krętki i bakterje, które mają stałą skłonność do symbiozy. Na zasadzie naszych spostrzeżeń, w warunkach normalnych i w sprawach chorobowych, występują one jednocześnie, choć przeważnie nierównomiernie.

**Wzajemny stosunek krętków i prątków w sprawach chorobowych.** Mikroskopowy obraz nalotu lub wydzielin z owrzodzenia nie zawsze był jednakowy. Zazwyczaj znajdowaliśmy ogromną ilość krętków i prątków wrzecionowatych, lecz wzajemny ich stosunek liczbowy wahał się i czasem widzieliśmy dużo krętków, a mniej prątków, lub odwrotnie. W obecności symbiozy inna flora jamy ustnej zanikała; spotykaliśmy zaledwie gdzieniegdzie pojedyncze grupy koków: w hodowli z nalotu, na agarze z surowicą lub na pożywce Löffler'a, wyrastała bardzo nieznaczna ilość gronkowców i paciorkowców. Obraz powyższy wahał się w przebiegu choroby. W początku choroby w nalotach przeważały *bac. fusiformes*, przy następującej później martwicy ilość krętków wzrastała tak, iż obraz mikroskopowy mógł składać się prawie z samych krętków. Częściej jedno i drugie występowały obficie. W dalszym okresie choroby, przy łagodnym jej przebiegu, drobnoustroje symbiozy stopniowo przechodziły na plan drugi, zwykła flora bakteryjna zaczynała się mnożyć, aż wreszcie prątki wrzecionowate i krętki zniknęły. Preparaty mikroskopowe z tego okresu obfitowały w rozmaitego rodzaju drobnoustroje i tylko gdzieniegdzie znajdowaliśmy pojedyncze prątki i krętki wrzecionowate.

**Znaczenie chorobotwórcze drobnoustrojów.** Kwestja zjadliwości krętków i prątków wrzecionowatych nie jest dotychczas rozwiązana. Robione były liczne próby na zwierzętach. Świnie, szczepione czystą hodowlą *bac. fusiformis*, nie chorowały (Mühlens). Podskórne szczepienia zwierząt mieszaną czystą hodowlą krętków (*bac. buccalis*) i prątków wrzecionowatych nie dały wyników dodatnich. Zwierzęta również na szczepienia te nie reagowały (Mühlens, Nogushi).

Zestawiając wyniki, otrzymane z doświadczeń nad zwierzętami, możemy powiedzieć, iż krętki i prątki wrzecionowate, wzięte razem i każde z osobna, nie są chorobotwórczemi dla zwierząt, a tylko z domieszką innych drobnoustrojów mogą spowodować proces chorobotwórczy, w przebiegu którego same się obficie rozmnażają.

Próby inokulacji u ludzi, z owrzodzonego migdałka na zdrowy, na *preputium* i skórę, dały wyniki stosunkowo dodatnie; i w tym wypadku jednak operowano hodowlą mieszaną.

**Rola krętków i prątków wrzec. w etiologii schorzenia** nie jest jasną. Gdy oglądamy preparaty z wydzielin, zawierające prawie czystą hodowlę tych drobnoustrojów, gdy obserwujemy wypadki samozarazania, gdy wreszcie stwierdzamy decydujący i szybki wpływ leczenia salwarsanem na przebieg choroby — etiologiczne znaczenie krętków i prątków wrzec. zdaje się być stwierdzone.

Lecz mamy jednocześnie dane przeciwne, jako to: ujemne wyniki prób zakażenia zwierząt czystą hodowlą i obecność krętków i prątków w jamie ustnej u ludzi zdrowych. *Spirochety* różnych typów i *bac. fus.* można zawsze wykryć w jamie ustnej u ludzi zdrowych, a mianowicie: dookoła trzonów zębów, pomiędzy *papillae* języka i w kryptach migdałków. W naszych próbach badania ludzi zdrowych na obecność symbiozy braliśmy materiał z powierzchni migdałków. Na 30 osób badanych, u 3 wykryliśmy w nieznacznej ilości krętki i prątki — z tych jedna była po błonicy, druga po anginie *Plaut-Vincent*, trzecia w parę dni potem zachorowała na *stom. ulc.* Sądzymy, że krętki i prątki wrzec. w normalnej jamie ustnej mają określone umiejscowienie i pozostają w stanie pewnej równowagi, określającej ich ilość dla danego osobnika. Gdy się wytwarzają warunki odpowiednie, uszkodzenie tkanek przez wpływy natury zakaźnej, termicznej, chemicznej lub mechanicznej, *bac. fus.* wraz z krętkami zaczynają się usilnie rozmnażać i wkrótce dominują nad powszednią florą jamy ustnej. Czy w dalszym przebiegu choroby czynnikiem etiologicznym są krętki i prątki wrzec. razem, czy jedno z nich z osobna, czy też grają one rolę *roztoczy* przy niewidzialnym i nieznanym zarazku — nie wiemy. Gdyby przypuszczenie, uczynione tu, było słusznem, świetne wyniki leczenia salwarsanem dałyby się wytlomaczyć w sposób następujący: wraz z stosowaniem salwarsanu giną roztocze (krętki i prątki), a ich wymieranie daje impuls tkance schorzałej do regeneracji i podnosi jej siłę odporną (Gärtner).

Nietylko w literaturze klasycznej lat dawniejszych, lecz i w piśmiennictwie z czasów wojny, gdy na całym Zachodzie występuje niebываły

wzrost zachorowań na anginę *stom.* i inne formy fusispirochetozy, stopień szerzenia i udzielania się zarazka zawsze uważany jest za bardzo nieznaczny. Największa epidemia, jaką podaje *Fralley*, dotyczyła 9 osób jednego grona. *Brüggemann*, na 58 wypadków *stom. ulc.*, obserwował tylko raz udzielenie się choroby dwum osobom jednej rodziny. Epidemia, obserwowana przez nas, doszła do niesłychanych rozmiarów: z kilkudziesięciu dzieci jednego przytułku, w ciągu paru miesięcy, zachorowało 80%. Wobec tej cyfry musimy przyjąć, iż stopień zakaźności tej choroby jest znacznie większy, niż dotychczas przypuszczać mogliśmy.

**Symbioza w innych sprawach chorobowych.** Opisana postać symbiozy bakteryjnej nie ogranicza się do stałego występowania w schorzeniach jamy ustnej. Znany jest cały szereg cierpień, w których stale, w mniejszej lub większej odsetce wypadków, stwierdzono podobny obraz bakteryjny. Towarzyszy on stale takim cierpieniom, jak rak wodny, *ulcus tropicum* i *ulcus phagodenicum*. W *ulcus phagodenicum* znajdujemy pewną odmianę krętki, zwanego *Spirochaeta Schaudinni*. W ropniu i zgorzeli płuc, *bronchitis putrida*, w gnilcu, w zgorzeli szpitalnej, symbioza ta występuje niestale; często znajduje się też w *otitis media foetida* i owrzodzeniach skóry. W poszczególnych przypadkach wyniki dodatnie otrzymano w zgorzeli spojówki ocznej, w ropniach gruczołów ślinowych, w zastrzale palca, spowodowanym skaleczeniem o zęby, w ropniu szczęki z przerzutami do płuc, w płynie mózgowym dziecka, zmarłego na drgawki, w ropniu mózgu, spowodowanym przerzutem u człowieka, cierpiącego na *bronchitis foetida*. Rola tej symbiozy, we wszystkich tych schorzeniach, jest jeszcze mniej jasna, niż w cierpieniach, interesujących nas tu bezpośrednio. Zaznaczyć jednak należy, że wszystkie te cierpienia cechuje skłonność do tworzenia się owrzodzeń i swoisty zapach gnilny, przypominający zapach czystej hodowli *bac. fus.* We wszystkich opisanych cierpieniach, szczególnie w anginie *Pl.-V.* i *stomatitis ulcerosa*, interesujących nas bezpośrednio, mamy do czynienia z niezwykle stałą skłonnością obydwu drobnoustrojów do symbiozy. Symbioza ta nigdzie nie ma analogji, zarówno w patologji ludzkiej, jak zwierzęcej.

**Klinika.** *Angina Plaut-Vincent* występuje w postaci białawego nalotu na migdałkach, przeważnie jednostronnie, rzadziej obustronnie. Niejednokrotnie sprawa ogranicza się do występowania nalotu przy nieznacznej gorączce; po kilku dniach nalot znika (postać dyfterytyczna). Częściej jednak sprawa prowadzi do owrzodzenia (postać wrzodziejąca), które dopiero po 8—15 dniach ulega zagojeniu. W postaciach lżejszych występują, prócz bólu gardzieli, tylko nieznaczne objawy ogólne; spotykają się jednakże, choć rzadko, przypadki ciężkie z rozległymi owrzodzeniami gardzieli, prowadzące w wyjątkowych razach do zejścia śmiertelnego.

*Stomatitis ulcerosa* nawiedza przeważnie dziąsła, tworząc tu cały szereg drobnych owrzodzeń, pokrytych szarawym nalotem. Niejednokrotnie sprawa sięga głębiej, prowadząc do obnażenia korzenia zęba. Stąd sprawa chorobowa przechodzi czasami na błonę śluzową policzka i języka lub też

występuje wyłącznie na tych organach, tworząc duże owrzodzenia o kilku centymetrach średnicy. Objawy ogólne ustępują zazwyczaj na plan drugi, natomiast można zauważyć ból przy przyjmowaniu pokarmów. Czas trwania choroby jest uzależniony w pierwszym rzędzie od celowego leczenia.

W przypadkach, obserwowanych przez nas, mieliśmy do czynienia bez wyjątku z przebiegiem łagodnym. Występowały natomiast często przypadki przewlekłe, niejednokrotnie z nawrotami, z przechodzeniem sprawy chorobowej z migdałków na dziąsła. Odwrotnego natomiast zjawiska, przechodzenia owrzodzeń z dziąseł na migdałki, nie widzieliśmy ani razu.

**Dane epidemjologiczne.** W latach ostatnich, zewsząd z Europy, dochodzą wiadomości o wybitnem wzmożeniu się zachorowań na anginę *Plaut-Vinc.* i *stom. ulc.* Nasze dane czerpiemy przeważnie z literatury niemieckiej. Ażeby zdać sobie sprawę ze stosunkowej liczebności występujących obecnie przypadków, sięgnęliśmy do dawniejszej literatury statystycznej. *Vincent*, kierując przez czas pewien wszystkie *anginy* do szpitala, stwierdził, iż *angina P.-V.* stanowi 2 do 0,26% wszystkich przypadków anginy wogóle. *Abel* w 1898 roku, na kilkaset badań nalołów z gardzieli, stwierdził *anginę Plauta* 6—8 razy, *Salomon* w 1899 r. na 737 badań—w 3 przypadkach. Zupełnie inaczej przedstawiają się liczby z lat ostatnich. Tak *Brüggemann* w 1919—1920 r., w ciągu roku, miał 58 przypadków, *Scheller* w 1920—1921 w 12,7% znalazł symbiozę, *Birotte* w 1919 r. w 9,26%. Dane statystyczne Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Warszawie wskazują na jeszcze większy wzrost zachorowań na *anginę Plaut-Vinc. i stom. ulc.*, w przebiegu lat 1919, 20, 21. W 1919 odsetek *anginy*, na ogólną liczbę nalołów gardła i jamy ustnej, stanowił 9%, w 20 roku 19%, w 21—31%. Ilość przypadków wzrasta, zarazek się szerzy, powodując powstawanie epidemji.

Zjawisko tak znacznego wzmożenia się *anginy Plaut.-Vinc.* starano się tłumaczyć w różny sposób. Niektórzy autorzy wypowiadali pogląd, iż mamy tu do czynienia z pewną postacią awitaminozy, powstałej na tle niedostatecznego odżywiania pod względem jakościowym. Przeczy temu jednak do pewnego stopnia fakt, iż z największym nasileniem zachorowań mieliśmy do czynienia dopiero w momencie ukończenia działań wojennych, w tym czasie, gdy stan dożywiania ludności poprawił się w znacznym stopniu, gdy krzywa innych schorzeń, powstałych na tle niedostatecznego odżywiania, znajdowała się w stanie spadku. Inni autorzy, przesuwając punkt ciężkości na zaraźliwość danego cierpienia, wyprowadzili pogląd, iż choroba ta została przeniesiona do Europy z Macedonji, przez znajdujące się tam wojska, tam bowiem spotykano znaczną ilość przypadków już w latach 1916—17. Inni znów oskarżają o to samo wojska, znajdujące się w armji generała *Wrangla*.

Według naszego zdania dociekania tego rodzaju są zupełnie zbyteczne, bowiem *angina P.-V.* nie jest chorobą nową w Europie: sporadyczne przypadki spotykane były i poprzednio w każdym środowisku; zbytecznem więc jest szukanie źródła powstania epidemji poza Europą. Mamy tu do czynienia z zagadnieniem zwykłym przy innych cierpieniach zakaźnych, a wymagajacem odpowiedzi na pytanie, dlaczego krzywa epidemjologiczna



nie przebiega równomiernie, dłaczego po latach wznoszenia się fali epidemicznej, następuje jej spadek i odwrotnie. Zagadnienie epidemiologii *anginy P.-V.* powinno być postawione w tej samej płaszczyźnie.

Angina *P.-V.* spotyka się wśród każdej rasy, w każdym klimacie. Chorują przeważnie ludzie młodzi, pomiędzy 18 i 30 rokiem życia, mężczyźni częściej, niż kobiety. W wieku późniejszym, jak również dziecięcym, *angina P.-V.* spotyka się rzadziej. Częściej występuje u ludzi, żyjących niehigienicznie, ze źle utrzymaną jamą ustną, często w okresie zjawiania się zębów. Ludzie źle odżywiani, cierpiący na gruźlicę, kiłę, podobno zapadają częściej. Spostrzegano często występowanie *anginy Pl.-V* u studentów medycyny, zajmujących się robieniem sekcji, jak również u personelu instytutów anatomicznych. W sprawie *stom. ulc.* jest rzeczą wiadomą, iż występuje ona u dzieci dopiero ze zjawieniem się zębów, że bywa cierpieniem rzadkiem przed 6 rokiem życia.

**Opis epidemji.** Epidemja, obserwowana przez nas, wybuchła latem roku 1921 w przytułku, liczącym 57 dzieci i w ciągu trzech miesięcy dotknęła ponad 80% stanu ogólnego. Na krótki czas przed rozpoczęciem przez nas ściślejszych badań, zdarzyło się kilka sporadycznych przypadków zapalenia dziąseł; u trojga dzieci podejrzewano błonnicze zapalenie gardzieli. Badanie bakterjologiczne, przeprowadzone w tym kierunku, dało jednak wynik ujemny. Nasze spostrzeżenia datują się od dnia 23 lipca. Wówczas na plan pierwszy wystąpiło zapalenie migdałków w postaci *anginy Plaut-Vincent*; w ciągu 3-ch tygodni sześcioro dzieci zapadło na tę chorobę. W tym samym czasie zdarzył się tylko jeden przypadek zapalenia dziąseł. W ciągu czwartego tygodnia, w miesiącu sierpniu, mieliśmy maksimum zachorowań: 8 przypadków *anginy*. Jednocześnie zaczęły się pojawiać w znacznej ilości *stomatitis ulcerosa* — w tym tygodniu wypadków takich było 7; od tego czasu postać *stomatitis ulcerosa* zaczęła wybitnie górować nad zapaleniem migdałków. W ciągu następnych 8 tygodni zdarzył się wśród dzieci zaledwie jeden przypadek *anginy*, natomiast wystąpiły 23 przypadki zapalenia jamy ustnej (pewne osłabienie epidemji nastąpiło w ciągu 3-ch tygodni we wrześniu). Zjawiska tego nie można dostatecznie wytłomaczyć, stoi ono może w związku z liczniejszym występowaniem *anginy Plaut-Vincent* w miesiącach letnich.

Dzieci, znajdujące się w przytułku, miały powyżej ośmiu lat; najmłodsze z nich miało siedem miesięcy, jedno było półtoraroczne, pozostałe miały więcej niż dwa lata. Jeżeli podzielimy dzieci na dwie grupy, jedną, mających więcej niż sześć lat i drugą, mających mniej niż sześć lat, uderzy fakt rzucający światło na wrażliwość na epidemję w zależności od wieku. Różnice w wrażliwości są ogólne i dotyczące wrażliwości poszczególnych odcinków jamy ustnej. Wśród dzieci młodszych, na 10 chorych, spostrzegano tylko 1 schorzenie migdałków. Wśród dzieci starszych, na 37 chorych — 14 razy schorzenie migdałków. Ogólna wrażliwość na schorzenie wzrasta wybitnie z wiekiem, jest ona mniejszą w wieku najmłodszym. Wśród 38 dzieci, w wieku powyżej lat 6, zachorowało 37, a więc prawie 100%; wśród 19 dzieci, poniżej lat 6, tylko 10, więc nieco więcej niż 50%.

TABLICA.

Okres czasu	Ilość przypadków anginy Plaut-Vincent.	Ilość przypadków stomatitis ulcerosa
23/VII-1/VIII	0	0
1/VIII-8/VIII	2	1
8/VIII-15/VIII	1	0
15/VIII-22/VIII	3	0
22/VIII-1/IX	8	7
1/IX-8/IX	0	5
8/IX-15/IX	0	1
15/IX-22/IX	0	1
22/IX-1/X	1	1
1/X-8/X	0	5
8/X-15/X	0	10
15/X-22/X	0	1
22/X-1/XI	0	0

Stwierdzenie epidemicznego występowania tych schorzeń upoważniło nas do zastosowania środków zapobiegawczych. W pierwszym rzędzie zwróciliśmy uwagę na możliwość przenoszenia choroby zapomocą szczoteczek do zębów, których zamiana przez właścicieli nie była wyłączona. Usunięcie jednak czyszczenia zębów szczoteczkami i zastosowanie płukania jamy ustnej środkami wyjaławiającymi nie sprowadziło spodziewanego wyniku; w tym czasie ilość zachorowań na *stomatitis ulcerosa* nawet się wzmożła. Zwrócono uwagę na naczynia kuchenne, ich dokładne mycie, gotowanie łyżek, lecz i te zabiegi nie osiągnęły skutku. Dzieci chore były zupełnie izolowane i komunikowały się z innymi dziećmi dopiero po zupełnym zniknięciu objawów chorobowych i ujemnym wyniku badania bakteriologicznego. Codziennie odbywał się przegląd jam ustnych przez lekarza lub pielęgniarkę, a przypadki podejrzane były natychmiast izolowane. Wszystkie te zabiegi okazały się jednak bezskutecznymi, staje się więc rzeczą prawdopodobną, iż mieliśmy tu do czynienia z kropelkowym sposobem przenoszenia się zarazka, przy wybitnej jego zdolności chorobotwórczej. Dzieci zdrowe w ciągu dnia znajdowały się na sali ogólnej, w bliskim z sobą kontakcie, najwidoczniej przed izolowaniem chorego następowało zakażenie otoczenia.

Od listopada nowych przypadków zachorowań wśród dzieci nie było, jednakże jeszcze po Nowym roku nie wszystkie uległy wyleczeniu. Naogół

leczenie *anginy Plaut-Vincent* dawało bardzo szybkie wyzdrowienie; *stomatitis ulcerosa* przebiegało zwykle przewlekłe (dzieci leczyla od listopada p. Dr. A. Hirszfeldowa). Najlepsze wyniki lecznicze dawało stosowanie, zarówno przy postępowaniu dożylnem, jak i miejscowym, Neosalvarsanu i, z równym skutkiem, polskiego przetworu Neosalutanu w 10—20%-ym roztwornie glicerynowym; ujemnych działań ubocznych nie było. Epidemja, opisana tutaj, co do rozmiarów swych przewyższa wszystkie znane z literatury. Przebieg jej potwierdza poglądy tych autorów, którzy już dawniej liczyli się z istnieniem w *anginie Plaut-Vincent* czynnika natury zakaźnej. Możliwy tu wypowiedzieć przypuszczenie, że momentem decydującym w szerzeniu się cierpienia był czynnik natury odżywczej, że schorzenia te powstały na tle niedostatecznego pod względem ilościowym i jakościowym odżywiania. Jednakowoż trzeba stwierdzić, że pod względem ilościowym pokarm był najzupełniej dostateczny; pewne braki pod względem odżywiania jakościowego zostały wyrównane, nie wywołało to pożądanego wpływu na stan zdrowia dzieci. Napewno można powiedzieć, że opisanych przez nas cierpień nie można sprowadzić do żadnej z postaci znanych nam awitaminoz.

Jakkolwiek nie negujemy czynnika odżywczego w występowaniu epidemji, to jednak za decydujący musimy tu uznać czynnik natury zakaźnej.

Jaki będzie dalszy rozwój epidemji *anginy Plaut-Vincent* w Europie, czy krzywa epidemiczna dalej się wzniesie, czy też obniży się do poziomu przedwojennego, przewidzieć trudno. Rokowania tej kategorii w stosunku do innych chorób zakaźnych niejednokrotnie zawodzą, tembardziej muszą być one chwiejne, jeśli chodzi o cierpienie, które po raz pierwszy występuje nagminnie i przy którym nie możemy się opierać na przykładach lat ubiegłych.

## S T R E S Z C Z E N I E.

1. W przytułku dziecięcym na przedmieściu Warszawy, w miesiącach letnich roku 1921, wybuchła epidemja *anginy Plaut-Vincent* i *stomatitis ulcerosa*. Zachorowało w ciągu trzech miesięcy przeszło 80% dzieci (47 dzieci). Jest to największa ze wszystkich znanych z piśmiennictwa epidemij. Z początku przeważało zapalenie migdałków, w późniejszym okresie dzieci chorowały przeważnie na *stomatitis ulcerosa*. Dzieci młodsze chorowały prawie wyłącznie na *stomatitis*, u dzieci starszych znacznie częściej występowała angina, lecz i tu przeważała postać zapalenia jamy ustnej. Niejednokrotnie u tego samego dziecka występowały obydwie postaci jednocześnie. Cały przebieg epidemji upoważnia do twierdzenia, że czynnik decydujący był tu natury zakaźnej.

2. Bakterjoskopowe badania preparatów z nalotów i owrzodzeń stwierdziły we wszystkich przypadkach obecność symbiozy krętków i prątków wrzeczionowatych, charakterystycznych dla *Anginy Plaut-Vincent*.

Wzajemny stosunek ilościowy tych dwobnoustrojów ulegał znacznym wahanom. W okresie początkowym choroby przeważały prątki wrzecionowate, w dalszym przebiegu liczba krętków znacznie się wzmaczała, zwykła zaś flora jamy ustnej zanikała prawie zupełnie. W okresie zdrowienia krętki i prątki ustępowały miejsca poprzedniej florze jamy ustnej.

3. Laseczniki wrzecionowate, zazwyczaj gramoujemne, leżą w polu widzenia preparatów mikroskopowych pojedynczo, nie tworząc grup, czem się różnią zasadniczo od prątków błonicznych. Jednak dość często można spotkać również postacie gramododatnie; towarzyszą one zazwyczaj postaciom gramoujemnym.

4. Krętki, znajduwane w preparatach, należą przeważnie do typu *Spirochaeta buccalis*. Typ *Spirochaeta dentium* występował przeważnie w przypadkach *stomatitis ulcerosa* i to w bardzo nieznacznej ilości, jako domieszka do krętków typu *Spirochaeta buccalis*.

5. Rola opisanych drobnoustrojów, jako czynnika etjologicznego, nie jest zupełnie pewną. Niewątpliwem natomiast zdaje się być ich znaczenie patogenetyczne.

6. Dane statystyczne, zebrane przez nas, stwierdzają znaczne wzmożenie się liczby zachorowań na *anginę Plaut-Vincent* i *stomatitis ulcerosa* w przebiegu lat 1919, 1920 i 1921. Ilość badań, dokonanych w Państw. Zakładzie Epidemiologicznym w Warszawie, stwierdzających obecność krętków i prątków w nalotach gardzieli i jamy ustnej, wynosiła: w roku 1919 9% wszystkich badanych wypadków, w roku 1920 — 19%, w r. 1921 — 31%. Dowodzi to, że epidemia, której powstanie stwierdzono po raz pierwszy na Bałkanach w roku 1917, a która przeszła następnie przez szereg krajów europejskich, w latach ostatnich dotknęła i Polski.

## S O M M A I R E

De l'Institut Epidémiologique d'Etat à Varsovie.  
(Directeur Dr. L. Rajchman).

De la Clinique Pédiatrique de l'Université de Varsovie.  
(Directeur Prof. Dr. Michałowicz).

# Sur l'étiologie et l'épidémiologie d'angine Plaut-Vincent et stomatitis ulcerosa.

P a r

Le Dr. HENRI BROKMAN et le Dr. HÉLÈNE SPARROW.

1) Pendant l'été 1921 il fut observé parmi les enfants d'un asile situé dans un faubourg de Varsovie une épidémie d'angine de Plaut-Vincent et de stomatite ulcéreuse. Pendant trois mois plus de 80% d'enfants (47) contractèrent la maladie. C'est la plus grande épidémie citée jusqu'ici dans la littérature.

D'abord l'amygdalite prédominait et ce fut seulement dans la période ultérieure que les enfants souffrirent de la stomatite ulcéreuse.

Les enfants en bas âge contractèrent presque exclusivement la stomatite, tandis que chez les plus âgés on observait beaucoup plus souvent l'angine; mais chez eux aussi la stomatite prévalait. Souvent les deux formes paraissaient simultanément chez le même sujet.

Tout le cours de cette épidémie nous autorise à reconnaître un facteur de nature infectieuse.

2) Examinées au microscope les fausses membranes et les ulcérations ont permis de constater dans chaque cas une association des spirilles avec les bacilles fusiformes caractéristiques pour l'angine de *Plaut-Vincent*. Le rapport réciproque de ces éléments subissait des oscillations considérables.

Au stade initial de la maladie les bacilles fusiformes prédominaient, plus tard au contraire, le nombre de spirilles augmentait considérablement, la flore buccale habituelle disparaissant, presque complètement. Pendant la convalescence les spirilles et les bacilles fusiformes étaient remplacés de nouveau par la flore normale de la cavité buccale.

3) Dans les préparations examinées les bacilles fusiformes ne prenant pas le gram, restent isolés, ne formant pas d'amas, c'est ce qui les distingue des bacilles de Löffler.

Mais en même temps on peut trouver des bacilles fusiformes, qui prennent bien le Gram et qui accompagnent les bacilles fusiformes Gram négatifs.

4) Les spirilles observés dans les préparations appartiennent surtout au type du spirille buccal. Le type du spirille dentaire se rencontre en quantité négligeable surtout dans les cas de stomatite ulcéreuse en association avec les spirilles buccals.

5) Le role des microorganismes décrits dans l'étiologie de la maladie n'est pas certain, par contre, leur rôle en tant qu'agents pathogènes est incontestable.

6) Les données statistiques recueillies par nous démontrent une augmentation considérable du nombre de cas d'angine de *Plaut-Vincent* et de la stomatite ulcéreuse au cours des années 1919, 1920 et 1921. Le nombre d'examens constatant la présence des spirilles et des bacilles fusiformes montait à l'Institut Epidémiologique de Varsovie de 9% en 1919, à 19% en 1920 et jusqu'à 31% en 1921 de tous les cas examinés d'angine et de stomatite.

Ces données prouvent que l'épidémie, qui a sévit dans certains pays européens et dont l'éclat fut signalé pour la première fois dans les Balkans en 1917, fit également son apparition en Pologne dans le courant des dernières années.

### Bibliografja.

#### PIŚMIENNICTWO POLSKIE.

1. Dobrowolska Z. Przypadek anginy Vincenti Gaz. Lek. X, str. 269 M. X, 200.
2. Raczyński J. O tak zwanym wrzodliwym zapaleniu gardła i jego rozróżnianiu od błonicy. Przeg. Lek. 46, 47, str. 513, 580, r. 1898.
3. Sokołowski A. Pokaz prątków Wincenti'ego. Gaz. Lek. XVIII-M. XI, str. 227.

#### PIŚMIENNICTWO DOBY OSTATNIEJ.

1. Brüggemann A. Prof. M. m. W. 1920 r. Nr. 27.
2. Buschke. Ueber die zunehmenden Phagedenismus. D. m. W. 1921, № 13.
3. Caronini C. i Priesel A. Zur Kenntnis der Baccillus fusiformis Pyemien, zugleich ein Beitrag zur Pseudoaktonomikose. Frankf. Z. f. Path. 1920, № 23, str. 191.
4. Delamure. C. R. de la Soc. de Biol. 1919. Tom 82, № 13, str. 450.
5. FINDER Prof. Die Plaut-Wincetsche Angine. D. m. W. 1920 № 21.
6. Gärtner W. Die Plaut-Vincetsche Angina und ihre Altersverteilung im Vergleich zur Diphtherie, nebst Bemerkungen über die Natürliche Diphtherieimmunität. D. m. W. 1921 r. № 32, str. 950.
7. Gifford S. Notes on the fusiforbacilli of Wincents Angina. Journ. of Bakt. 1920 str. 365.
8. Mayer E. Beitrag zur Angina Plaut-Wincenti. M. Kl. 1921 str. 131.
9. Sachs Mücke. Zum Auftreten der Plaut-Wincetschen Angina. M. Kl. 1920 str. 631.
10. Mühlens. Ueber Bronchialspirochätosis. Arch. für Schiff. Trop. Hyg. 1920, str. 139.

11. **Plaut Alfred.** Ueber fusospirilläre Association in Mittelohr. C. f. B. Bd. 83, str. 537, 1919.
12. **Plaut H.** Lungengangren und Fusospirilläre Symbiose. D. m. W 1920. str. 1384.
13. **Plaut Prof.** Zwei Fälle von Nomaähnlichen Erkrankungen der Haut. D. m. W. 1920, № 8.
14. **Rosenberger F.** Die Zunahme des Phagedänismus. D. m. W. 1920, № 30.
15. **Roubier et Gauthier.** Bronchite sanglante à spirochètes C. r. de la Soc. de Biol. Tom 22, str. 368.
16. **Schelenz Kurt.** Angina Plaut-Vincenti und Ulcus Phagedanicum. B. kl. W. 1921, Nr. 40, str. 1181.
17. **Scheller Robert.** Zur Diagnose der Angina und Stomatitis Ulcerosa. Berl. kl. W. 1921, Nr. 35, str. 1042.
18. **Seitz.** Die Alveolarpyorrhoe. M. Kl. 1919, str. 1283.
19. **Spiegelberg.** Parasyphilis oder Plaut-Vincenti. D. m. W. 1921, № 37.
20. **Stuhl Carl.** Angina Plaut-Vincenti mit Tuberkulin behandelt. D. m. W. 1919, № 47, str. 1351.
21. **Tunicliff.** Journ of Inf. Diseases 1919. Tom 25, str. 132.
23. **Wolffheim Willi.** Parasyphilis und Mundspirochätosa. D. m. W. 1921, № 37.

# Epidemja cholery w Armji Polskiej i wśród jeńców bolszewickich w 1920 — 1921.

Podał

Dr. STEFAN MUTERMILCH.

Epidemja cholery, która się zjawiała w Armji Polskiej w początkach października 1920 r. i wygasła dopiero w kwietniu 1921 r., posiadała pewne cechy charakterystyczne, zasługujące na szczegółowe opisanie. Dotknęła ona zwłaszcza jeńców rosyjskich, wydzierając zaledwie nieznaczną ilość ofiar wśród żołnierzy polskich, a dzięki przedsięwziętym środkom ostrożności, dotykając jedynie zlekka ludności cywilnej.

Należy przedewszystkiem zaznaczyć, że epidemja ta nie przybrała nigdzie charakteru rozlanego, przeciwnie, skoncentrowała się w pewnych nielicznych ogniskach, gdzie jednak wybuchała żywiołowo, poczem tam wygasła, przenosząc się, w niektórych przypadkach, na bliższą lub dalszą odległość.

Drugą cechą tej epidemji stanowiło zjawisko, że we wszystkich przypadkach udało się zauważyć zakażenie naskutek bezpośredniego kontaktu osobnika zdrowego z osobnikiem chorym lub z nosicielem zarazków i że woda i pokarmy ani razu nie odegrały jakiegokolwiek bądź roli w rozprzestrzenianiu się epidemji.

Inną wreszcie cechą epidemji było wykrycie stosunkowo wielkiej ilości zdrowych nosicieli zarazków, którzy odegrali wysoce wybitną rolę epidemiologiczną.

Również wpływ szczepień ochronnych i ogólnego stanu zdrowia armji na przebieg cholery wykazał pewne właściwości, zasługujące na osobną wzmiankę.

Epidemja cholery została zawleczona do Polski z Rosji, gdzie choroba ta panuje endemicznie od szeregu lat, przybierając od czasu do czasu większe rozmiary, co się wydarzyło kilkakrotnie podczas okresu wielkiej wojny.

Przedostatnia epidemja w Polsce była w r. 1919; ograniczyła się wtedy tylko do 3 przypadków, poczem została natychmiast stłumioną.

Inaczej się stało w roku 1920-ym, kiedy epidemja przybrała daleko poważniejsze rozmiary, zagrażając szerokiem rozlaniem się wśród ludności cywilnej. Przyczyn tego zjawiska należy doszukiwać się w odmiennych warunkach bytu, w jakich znalazła się Armja Polska w r. 1920, w porównaniu z rokiem 1919. W samej rzeczy, jeżeli nawet oba te lata upłynęły pod znakiem wojny polsko-bolszewickiej, to jednakże warunki bytu Armji Pol-



skiej w roku 1920 były zgoła inne, niż w roku poprzednim. W roku 1919 front polsko-bolszewicki był mniej więcej stałym, utarczki wojenne odbywały się na stosunkowo niewielkiej przestrzeni, ilość pobranych do niewoli jeńców była nieznaczna, jednym słowem, kontakt żołnierza polskiego z żołnierzem bolszewickim był bardzo ograniczony. Wojna roku 1920 miała zupełnie inny charakter: mieliśmy tu do czynienia z olbrzymimi ruchami wojsk, fala bolszewicka zalała ogromną połać kraju, poczem, pod naciskiem kontrofensywy polskiej, cofnęła się o kilkaset kilometrów wstecz, zostawiając w rękach polskich około 100.000 jeńców. Temu wielkiemu ruchowi wojsk towarzyszył niemięjszy ruch zbiegów i uchodźców cywilnych, jak również znaczne spustoszenie kraju i związany z niem głód i wycieńczenie wojska i ludności cywilnej.

Wszystkie te czynniki odegrały poważną rolę epidemjologiczną, lecz bezpośredni kontakt żołnierza polskiego z żołnierzem armii czerwonej był pierwszą przyczyną wybuchu epidemii w Polsce.

Że tu należy szukać źródła epidemii cholery, dowodzi fakt, iż pierwsze przypadki tej choroby były obserwowane wśród jeńców bolszewickich i że głównie wśród jeńców epidemja przybrała szersze rozmiary.

W sprawozdaniu tem zostaną uwzględnione tylko te przypadki cholery, które wydarzyły się w Armji Polskiej i wśród jeńców na obszarze kraju, gdyż nie posiadamy ścisłych danych co do przebiegu cholery na linii frontów i efałów. Przebieg cholery na linii frontu i na etapach ma być poruszony przez jednego z kolegów naszych z b. Nacz. Dow. W. P., który posiada odpowiednie materiały.

Gdy centralne władze wojskowo-sanitarne w Warszawie zostały powiadomione o zjawieniu się przypadków cholery na obszarze działań wojennych, została natychmiast wykreślona linja demarkacyjna na pograniczu terytorjum kraju. Przebycie tej linii było dozwolone tylko osobom szczepionym, którzy poddali się 5-dniowej kwarantannie, przyczem oddzielni żołnierze lub też zwarte oddziały wojsk, udające się w głąb kraju, miały być w ciągu dłuższego czasu obserwowane jeszcze przez lekarzy na miejscu. Rozkaz powyższy wyszedł jednakże zapóźno, gdyż w tym samym czasie, kiedy granica była jeszcze otwartą, przybył do Warszawy, dn. 5.X.1920, pociąg sanitarny, wiozący chorych i rannych z Lidy i Grodna. Ponieważ transport ten nie był uważany za choleryczny, chorzy zostali umieszczeni w 2 szpitalach warszawskich, gdzie mogli mieć szerszy kontakt z innymi chorymi. Na szczęście, już w 2 dni później, a mianowicie dn. 7.X, w jednym z tych szpitali stwierdzono bakterjologicznie pierwszy przypadek cholery u szeregowca B., przybyłego z tym transportem, a wkrótce potem jeszcze 4 przypadki cholery wśród jeńców i szeregowych z tego samego transportu.

Dn. 12/X, wbrew rozkazowi o 5-dniowej kwarantannie, skierowano do Warszawy z obszaru frontowego jeszcze jeden transport, przewożący wyłącznie jeńców, który został natychmiast w Warszawie zatrzymany i poddany przed wyładowaniem ścisłej obserwacji. Zbadano kał jeńców i wszystkich ludzi z eskorty tego transportu na obecność przeciwciał cholery: jeden z jeńców został przeniesiony do szpitala z rozpoznaniem cholery

klinicznym i bakterjologicznym, prócz tego jeszcze jeden okazał się nosicielem zarazków.

W ten sposób cholera została zawleczona z frontu do Warszawy i zaczęła się rozprzestrzeniać wśród chorych i personelu sanitarnego warszawskich szpitali wojskowych; kilka dni, które upłynęły od czasu przybycia chorych do szpitali do czasu rozpoznania pierwszego przypadku cholery, wystarczyły już, ażeby chorzy z sąsiednich łóżek zarazili się cholera.

Zresztą, nie jest wyłączonej możliwość, a nawet jest rzeczą wielce prawdopodobną, że przed otrzymaniem od frontowych władz sanitarnych wiadomości o wybuchu epidemii cholery na froncie, niektóre transporty chorych i rannych żołnierzy i jeńców, przybyłe do Warszawy, mogły już zawierać nosicieli zarazków; a nawet, jest rzeczą możliwą, że niektóre przypadki śmierci z rozpoznaniem czerwonki dotyczyły nierozpoznanej cholery.

Natychmiast po stwierdzeniu cholery w szpitalach warszawskich przedsięwzięto najsurowsze środki ostrożności: szpitale zostały skontumowane, wszystkich chorych i personel sanitarny zbadano na nosicielstwo i zaszczepiono przeciwko cholercie. Następnie, jeden ze szpitali został przeznaczony wyłącznie do przyjmowania chorych cholerycznych i nosicieli oraz osób podejrzanych o cholera.

Rozkazy centralnych władz sanitarnych zostały wykonane przez lekarzy warszawskich z niezwykłą sumiennością i znajomością rzeczy i temu tylko przypisać należy, że powyższe ognisko epidemii zostało jak najściślej skoncentrowane i że nie wydarzył się ani jeden przypadek zakażenia pozaszpitalnego.

Jednakże wkrótce wybuchło inne ognisko cholery w Warszawie Mianowicie, z jednego z baonów wartowniczych, umieszczonych w Cytadeli Warszawskiej, przeniesiono do szpitala cholerycznego w Warszawie chorego z klinicznymi objawami cholery, u którego bakterjologiczne badanie kału potwierdziło rozpoznanie.

Baon powyższy został natychmiast skontumowany, a wysłany na miejsce bakterjolog zbadał wszystkich żołnierzy z tego baonu na nosicielstwo: wykryto w ten sposób 2 nosicieli zarazków, z których jeden jednocześnie zapadł na cholera. Na tem zakończył się przebieg cholery w Cytadeli Warszawskiej. Nie udało się z całą pewnością wykryć źródła tego ogniska cholery; najprawdopodobniejszym jest przypuszczenie, że zarażenie się nastąpiło na skutek kontaktu z jeńcami bolszewickimi, którzy wtedy pracowali na terytorjum Cytadeli.

Więcej przypadków cholery na terytorjum miasta Warszawy wśród żołnierzy i jeńców nie stwierdzono, jednakże zaznaczyć należy, że szpital choleryczny w Warszawie otrzymywał jeszcze w przeciągu pewnego okresu czasu ze Stacji Zbornej dla chorych w Warszawie i ze Stacji Koncentracyjnej dla jeńców w Rembertowie pod Warszawą chorych podejrzanych o cholera; część tych chorych okazała się nosicielami, a niektórzy z nich zapadli na cholera kliniczną.

Nowy alarm wszczął się z powodu otrzymania meldunku z twierdzy Modlina (Okr. Gen. Warszawski) w końcu października 1920 r. o ukaza-

niu się wśród znajdujących się tam jeńców bolszewickich przypadków podejrzanych o cholereę.

Wysłany natychmiast na miejsce bakterjolog z Warszawy ustalił następujący stan rzeczy: pierwsze przypadki, podejrzane o cholereę, zdarzyły się w porcie nad Wisłą dn. 24/X; zachorowało wówczas 6 pracujących tam jeńców bolszewickich z kompanji robotniczej — wszyscy z objawami wymiotów, biegunki i kurczów w nogach; w nocy z dn. 25/X na 26/X zachorowało jeszcze 4 jeńców z analogicznymi objawami. Wszystkich chorych przewieziono do szpitala, gdzie 5 z nich zmarło, jednakże sekcja zwłok nie wykazała r z e k o m o żadnych zmian typowych dla cholery. Jednocześnie zachorowało 2 jeńców z tej samej kompanji, pracujących w korpusie kadetów; jeńcy ci, w przeddzień zachorowania, byli przysłani, w ogólnej liczbie 30, do korpusu kadetów. Prócz wyżej wymienionych, w przeciągu następných dni, zachorowało w tej samej kompanji jeszcze kilku jeńców, tak że ogólna liczba zasłabnięć podejrzanych o cholereę dochodziła do 15.

Badania bakterjologiczne, przeprowadzone w miejscowym szpitalu, dały wynik ujemny, który nasuwa jednak poważne wątpliwości, gdyż pracownia szpitalna była źle zaopatrzona, a bakterjolog był zmuszony do wysiewania kału nie na wodę peptonową, lecz na zwykły buljon. Prócz tego stwierdzonem zostało, że materiał pobierano na Oddziałach szpitalnych w sposób wadliwy, gdyż przychodził on do pracowni, zmieszany z moczem, i czerpano go wprost ze stojących na sali basenów.

Wysłany z Warszawy do Modlina bakterjolog, w meldunku swym dla Departamentu Sanitarnego, słusznie też, wobec powyższych przesłanek, wypowiada zdanie, że wszystkie powyższe przypadki budzą silne podejrzenie o cholereę azjatycką, że za ognisko cholery należy uważać kompanię robotniczą jeńców (która niedawno przybyła z frontu) i że ujemny wynik badania bakterjologicznego jest niemiarodajny, wskutek błędów technicznych w pobieraniu i wysiewaniu materiału (brak peptonu). Zresztą próbki kału, pobrane przez tegoż bakterjologa od 3 jeńców z tej samej kompanji robotniczej, którzy w chwili oględzin znajdowali się w izbie chorych z objawami schorzenia żołądkowo-jelitowego, przywiezione do pracowni bakterjologicznej przy Szpitalu Ujazdowskim w Warszawie, wykazały u jednego z nich obecność prątków cholery. Również próbka kału, pobranego w Szpitalu Modlińskim od jednego z ozdowieńców, po podejrzanem zasłabnięciu, wykazała obecność prątków cholerycznych.

Wobec powyższego cholereę azjatycką w Modlinie należało uważać za ostatecznie stwierdzoną. Przedsięwzięte środki zapobiegawcze, analogiczne do zastosowanych w Warszawie, przyczyniły się do natychmiastowego stłumienia tego ogniska.

Ogółem ilość chorych cholerycznych i nosicieli wśród żołnierzy i jeńców w Okręgu Generalnym Warszawskim przedstawiała się w sposób następujący:

		Razem
Chorzy żołnierze . . . . .	24	41
Chorzy jeńcy . . . . .	17	
Nosiciele żołnierze . . . . .	38	105
Nosiciele jeńcy . . . . .	67	
Zmarło . . . . .	12	20
Zmarło jeńców . . . . .	8	

Tymczasem wybuchło nowe ognisko cholery w twierdzy Dęblinie (Okr. Gen. Lubelski), w przybyłej tam kompanji robotniczej jeńców ze Stacji zbornej Siedleckiej. Stacja zborna w Siedlcach stworzona była dla przyjmowania jeńców, pobranych do niewoli przez jedną z armji, operujących na froncie. Ponieważ pomieszczenie tej stacji było nieodpowiednie pod względem higienicznym, w dniu 15/X postanowiono stację zwinąć, jeńców rozdzielić na oddziały i kompanje robotnicze i rozesać na roboty do rozmaitych miejscowości. Miejscowe władze sanitarne nie oparły się wprowadzeniu w czyn tego zarządzenia, gdyż do tego czasu nie stwierdzono wśród jeńców ani jednego przypadku cholery, w przeciągu zaś kilkunastu dni, poprzedzających likwidację stacji, na 4 przypadki śmierci wśród jeńców, 3 były na czerwonkę i jeden na zapalenie płuc.

Jeden z tych transportów, w sile 400 jeńców, został skierowany w dn. 19/X z Siedlec do Dęblina, a w 3 dni później, t. j. 22/X, dwaj jeńcy z tego transportu zachorowali przy ciężkich objawach klinicznych cholery. Bakterjologiczne badanie kału chorych, wykonane przez kierownika Okręgowej Pracowni bakterjologicznej w Lublinie, potwierdziło to rozpoznanie.

Za źródło więc zarazy w powyższym wypadku należy uważać Stację Rozdzielczą jeńców w Siedlcach, w której znajdowali się jeńcy nosiciele zarazków; przybyli oni z frontu, i albo przebyli cholere jeszcze przed dostaniem się do niewoli, albo też byli zdrowymi nosicielami zarazków. Podkreślić należy szczęśliwy zbieg okoliczności, że inne kompanje robotnicze jeńców, rozesałe z tejże stacji w Siedlcach po całej Polsce, nie zawierały nosicieli zarazków, gdyż w ten sposób uniknięto powstania licznych innych ognisk epidemji. Jednakże jedna z tych partyj jeńców, wysłana w sile 1500 ludzi do Rembertowa pod Warszawą, dała prawdopodobnie kilka przypadków nosicielstwa i klinicznej cholery u jeńców, wysłanych z Rembertowa do szpitala cholerycznego w Warszawie, o czem powyżej była mowa.

Epidemja cholery w Dęblinie, która nie wyszła poza obręb pomieszczenia, przeznaczonego dla jeńców, trwała od 22/X do 7/XI, przyczem w prze-

ciągu tego okresu czasu zachorowało na cholere 29 jeńców, z których zmarło 9, co stanowi 31%. Z tych 29 przypadków cholery było ciężkich form 22, czyli 75,8%, zaś lekkich 7, czyli 24,2%. Niektóre przypadki zakończyły się śmiercią w przeciągu 2—3—4 dni.

Wszyscy jeńcy tej kompanji, po ścisłem ich skontumowaniu, zostali zbadani na nosicielstwo zarazków, przyczem wykryto 16 zdrowych nosicieli; kiedy i czy przebyli oni przedtem cholere, nie udało się stwierdzić.

W ten sposób, w związku z zastosowaniem innych zarządzeń zapobiegawczych, ognisko cholery w Dęblinie, które wybuchło nagle z wielką siłą, zostało dzięki energicznej i umiejętnej akcji miejscowych władz wojskowo-sanitarnych w krótkim przeciągu czasu (16 dni) zlikwidowane.

Kilka dni przeminęło spokojnie, centralne władze sanitarne przestały otrzymywać meldunki o nowych przypadkach cholery, gdy naraz, prawie jednocześnie, wybuchły dwa nowe ogniska epidemji, a mianowicie: w Okr. Gen. Poznańskim, w Obozie dla Jeńców w Strzałkowie i w Okr. Gen. Krakowskim, w Obozie dla Jeńców w Wadowicach.

Obóz dla jeńców w Strzałkowie przedstawiał się w owym czasie ujemnie pod względem sanitarno-higienicznym.

Wielka ilość jeńców, wziętych do niewoli podczas kontrofenzjwy polskiej, nie znalazła w Strzałkowie odpowiedniego pomieszczenia; prócz tego jeńcy ci byli tak niedostatecznie odziani i tak wycieńczeni, że z nastaniem chłodnej pory roku zaczęli zapadać gromadnie na rozmaite choroby przewodu pokarmowego i oddechowego, jak również na dur plamisty i powrotny.

Armja Polska była podówczas również wyniszczona z powodu wielkiego wysiłku, jaki uczyniła podczas ostatnich działań wojennych. Kraj był spustoszony i wynędzniały, tak że Rząd Polski, pomimo najlepszych chęci, nie mógł przyjść z natychmiastową akcją celem poprawy stanu materialnego jeńców bolszewickich. W ten sposób obóz w Strzałkowie, gdzie znajdowało się do 20.000 jeńców, przedstawiał nader podatny grunt do rozwoju wszelkiego rodzaju epidemij.

Z powyższego wynika, że wobec znacznej ilości chorych i wielu przypadków śmiertelnych z rozpoznaniem czerwonki, zabyrzeń kiszkiowych, charłactwa i t. p., trudno ustalić ścisłe daty co do genezy i co do przebiegu epidemji. Niepodobna stwierdzić, kiedy cholera się zaczęła, zwłaszcza, że wobec nawału chorych, badania bakterjologiczne były wykonywane nader nieściśle; datę też 12 listopada, kiedy nadszedł do Warszawy pierwszy meldunek o pojawieniu się kilkunastu przypadków cholery w obozie Strzałkowskim, jako datę wybuchu epidemji, należy przyjąć za bardzo problematyczną.

Co się tyczy źródła tej epidemji, to i tu trudno orzec z całą pewnością, gdyż transporty jeńców, przysyłane do tego obozu, przychodziły z rozmaitych punktów frontu; przytem, chociaż przechodziły one 2-tygodniową kwarantannę na linii etapów, mogli jednakże znajdować się w nich nosiciele zarazków; również jest rzeczą możliwą, że źródłem zarazy była wyżej wspomniana Stacja Rozdzielcza jeńców w Siedlcach, skąd kilka transportów przybyło do Strzałkowa. Epidemja cholery w Strzałkowie trwała dłużej, niż w innych miejscowościach, gdyż zakończyła się dopiero 1 marca,

czyli że trwała bez mała 4 miesiące. Ilość przypadków, stwierdzonych bakterjologicznie, wyniosła 435 na ogólny stan liczbowy 20.000 jeńców, czyli że chorobowość równała się 2,2%; zmarło 264 jeńców, czyli że śmiertelność równała się 60%; do liczb tych należałoby dodać jeszcze pewną niewiadomą ilość przypadków nierozpoznanych.

Ilość zdrowych nosicieli zarazków okazała się stosunkowo mniejszą, niż w innych ogniskach, co przypisać należy temu, że badania bakterjologiczne były wykonywane z początku nadzwyczaj powolnie, tak że prawdopodobnie wielu osobników, którzy byli tylko nosicielami, z biegiem czasu zapadało na cholere kliniczną, albo też przestało wydzielać zarazki z kałem. Dopiero gdy wysłany z Warszawy energiczny bakterjolog, z ruchomą pracownią bakterjologiczną, przybył do Strzałkowa w dn. 22/I 1921 r., rozpoczęto badania na nosicielstwo „en masse“ i wykryto, badając dziesiątkami, w przeciągu krótkiego okresu czasu, 88 dziesiątków z nosicielami, czyli conajmniej 88 nosicieli. Tych 88 dziesiątków zbadano w przeciągu 2 tygodni; wykryto wśród nich jednak tylko 17 nosicieli, co przypisać należy temu, że część nosicieli przestało tymczasem wydzielać prątki choleryczne.

W Okręgu Krakowskim cholera również wybuchła wśród jeńców bolszewickich, a mianowicie w Obozie Wadowickim. Obóz ten, pod względem sanitarno-higienicznym, przedstawiał się nader pomyślnie; ze wszystkich obozów był on jednym z najlepiej utrzymanych; ilość też przypadków chorób zakaźnych była tu minimalną. Jednakże zauważyć należy, że chociaż sam obóz był prawie bez zarzutu pod względem budowlanym, gospodarczym i sanitarnym, to jednakże partje jeńców, nadchodzące do tego obozu, znajdowały się w stanie wielkiego osłabienia i wycieńczenia i przedstawiały nadzwyczaj podatny grunt do rozwoju epidemji.

Pierwsze przypadki cholery w Obozie Wadowickim były stwierdzone przez miejscowego Kierownika Pracowni Szpitalnej w dn. 30/X 1920 r.; jest jednak rzeczą bardzo możliwą, że już poprzednio zaszły nierozpoznane przypadki cholery; wynika to z dochodzeń, przeprowadzonych przez bakterjologów wojskowych z Krakowa i Warszawy, które wykazały, że już na kilka tygodni przedtem zdarzyło się w obozie kilka przypadków śmierci po kilkunastogodzinnej chorobie z objawami biegunki i zapadu.

Również trudno orzec, z jakiej miejscowości epidemja cholery została zawleczona do Wadowic, gdyż obóz ten otrzymywał wciąż nowe partje jeńców z rozmaitych innych obozów, stacyj koncentracyjnych dla jeńców i t. p; najprawdopodobniejszym jednak będzie przypuszczenie, że powodem wybuchu cholery było przybycie do obozu Wadowickiego nosicieli zarazków. Ogólny stan obozu wynosił wówczas około 6.000 jeńców, z których zachorowało na cholere 164, czyli 2,7%; z tych zmarło 77, co stanowi 47% śmiertelności. Ostatnie przypadki cholery w obozie zaszły dn. 21/XI, czyli że epidemja trwała około 3 tygodni. To szybkie stłumienie epidemji należy przypisać ściśle przeprowadzonym zarządzeniom zapobiegawczym, polegającym na kontumacji, dezynfekcji, na ogólnych zarządzeniach sanitarnych, szczepieniach ochronnych, a wreszcie badaniom na nosicielstwo cholery. Wszystkich jeńców z tego obozu zbadano na nosicielstwo, a wy-

nikiem tych badań było wykrycie 67 nosicieli zarazków, co stanowi 1,1% ogólnego stanu obozu i 40,9% ogólnej ilości zachorowań.

Pomimo tak rozległych zarządzeń, mających na celu stłumienie i zlokalizowanie epidemji w Obozie Wadowickim, nie udało się uniknąć przedostania się epidemji po za obręb obozu; roznieciła ona kilka nowych ognisk, na szczęście, nieznacznych, które bardzo szybko zostały stłumione.

I tak, jedna z praczek, zajętych w szpitalu, zapadła na cholereę i zmarła; praczka ta usunęła się samowolnie od szczepienia. W rodzinie zmarłej, zamieszkałej w mieście, w Wadowicach, zapadły na cholereę jeszcze 4 osoby, z których również jedna zmarła; dzięki surowym zarządzeniom sanitarnopolicyjnym i absolutnemu odosobnieniu tego domu, więcej przypadków cholery w mieście Wadowicach nie było.

Jeżeli powyższych 5 przypadków cholery wśród ludności cywilnej można poniekąd przypisać winie niedostatecznego nadzoru sanitarnego nad służbą cywilną obozu, to inne ogniska cholery w Okręgu Krakowskim powstały absolutnie bez wszelkiej winy ze strony władz. Mianowicie, między 25-m a 30-m października, t. j. jeszcze przed stwierdzeniem pierwszych przypadków cholery w Obozie Wadowickim i przed ogłoszeniem kontumacji obozu, rozesłano stąd kilka robotniczych partyj jeńców do rozmaitych miejscowości, a mianowicie: do Krakowa, do Zarządu wodociągowego miejskiego, do Obozu dla jeńców w Dąbiu pod Krakowem, do Eksploatacji Leśnej w Zakopanem i do m. Niska.

W pierwszej z tych partyj zachorował dn. 30/X jeden z jeńców na cholereę, a ponieważ jeńcy stykali się tutaj z ludnością cywilną, w kilka dni później zaszyły jeszcze 2 przypadki cholery wśród jednej z rodzin wiejskich, złożonej z 10 osób. Chorzy ci zmarli, reszta rodziny została natychmiast odosobniona i zbadana na nosicielstwo, przyczem okazało się, że z tych 8 osób — wszystkie były roznosicielami zarazków. Do tych trzech przypadków cholery ograniczyła się epidemja w tej miejscowości.

Z powodu niebezpieczeństwa, jakie zakażona partja jeńców stanowiła dla miejscowej ludności, została ona natychmiast ściągnięta do Obozu dla jeńców w Dąbiu; tam odosobniono ją wraz z innymi partjami, przybyłymi już to z Wadowic, już to z innych miejscowości. Wśród izolowanych oddziałów, w przeciągu przeszło 2 tygodni, nastąpiło kolejno 19 przypadków cholery, z tego śmiercią skończyło się 9; ponadto wykryto 2 nosiciele zarazków. Takie szczęśliwe zlikwidowanie ogniska cholery w takim obozie jak Dąbie, w którym znajdowało się wtedy kilka tysięcy jeńców i internowanych należy przypisać ściślejszej kontumacji przybyłych tam partyj podejrzanych i całemu szeregowi rozumnych zarządzeń epidemjologicznych.

Trzecie ognisko cholery, mające źródło swe również w Wadowicach, powstało w Zakopanem, wśród jeńców, wysłanych z Wadowic dn. 28/X. Jak donosi w swem sprawozdaniu referent higieny Okr. Gen. Krakowskiego, już w drodze, w transporcie, który przedstawiał bardzo nieszczególny stan odżywienia i stan zdrowotny, zachorowało 7 jeńców wśród objawów podejrzanych, z tych 4 zmarli w 2 dni po przybyciu do Zakopanego. Z powodu

niebezpieczeństwa, jakie zakażony oddział cholery w Wadowicach i złych warunków zamie-

szkania i odżywiania, w jakich znaleźli się jeńcy w Zakopanem, oddział ten, na wniosek miejscowych władz i na skutek interwencji centralnych władz sanitarnych, został ściągnięty z Zakopanego pociągiem sanitarnym do Dąbia i tamże skontumowany. Ogółem, wśród tego oddziału, zachorowało 16 jeńców, z tego zmarło 8. Dla ścisłości należy wspomnieć jeszcze o jednym śmiertelnym przypadku cholery, tym razem u żołnierza W. P., który pełnił wartę przy jednej z kompanij robotniczych, wysłanych z Wadowic. Oddział robotniczy jeńców, wysłany z Wadowic na roboty do Niska, nie wykazał ani jednego przypadku cholery.

Ogółem więc, w całej epidemii w Okr. Gen. Krakowskim, było 200 przypadków cholery z 95 przypadkami śmiertelnymi, t. j. z 47,75% śmiertelności.

W końcu stycznia 1921 roku wybuchło nowe ognisko cholery, również wśród jeńców, a mianowicie w Obozie Tucholskim na Pomorzu. Epidemja ta trwała do połowy marca, czyli niecałe 2 miesiące.

Nie można ustalić z całą pewnością punktu wyjścia tej epidemji; dwie są możliwości:

1) albo jeńcy przysłani z frontu nie byli przed wysłaniem należycie zbadani na nosicielstwo i znaleźli się wśród nich nosiciele, którzy stali się źródłem zarazy dla innych;

2) albo, co jest rzeczą prawdopodobniejszą, bezpośrednią przyczyną tej epidemji było przybycie do Tucholi, w połowie grudnia, transportu jeńców z Obozu w Strzałkowie, pomimo że obóz ten, wobec panowania w nim cholery, był wtedy skontumowany i nie miał prawa wysyłania jakichkolwiek transportów. Obóz dla jeńców w Tucholi przedstawiał się pod względem higieniczno-sanitarnym nieco lepiej, niż Obóz w Strzałkowie, lecz, niestety, i tutaj dalecy byliśmy od dobrych warunków zdrowotnych. Obóz Tucholski był przepełniony, jeńcy byli źle odziani i wyniszczeni, baraki i ziemianki były podniszczone, opał był niedostateczny i t. p. To też jeńcy z Obozu Tucholskiego stanowili również doskonały grunt do rozwoju epidemji.

Ogólna ilość przypadków cholery doszła do 174, zakończonych śmiercią w 102 wypadkach, czyli prawie w 59%. Liczebność obozu wynosiła wówczas do 10,000 jeńców, czyli że chorobowość na cholere wynosiła 1,74%.

Co się zaś tyczy badań na nosicielstwo, były one z początku wykonywane nadzwyczaj niedbale i ospale, a to z powodu braku odpowiedniej pracowni bakterjologicznej na miejscu w obozie; materiał podejrzany trzeba było posyłać do Pracowni okręgowej w Grudziądzu, która nie była wówczas odpowiednio zaopatrzona pod względem personalnym i materjalnym.

Dopiero bakterjolog, wysłany z Warszawy, wraz z ruchomą pracownią bakterjologiczną, dokonał masowego badania na nosicielstwo, jednakże wobec tego, że badania były rozpoczęte już w końcowym okresie epidemji, wykryto tylko 4 przypadki nosicielstwa.

Dzięki ściśle przeprowadzonej kontumacji obozu, epidemja cholery nie przedostała się po za jego obręb.



Reasumując wszystkie dane, dotyczące epidemji cholery w Polsce w r. 1920 — 1921, okazuje się, że:

Ogólna ilość przypadków cholery wyniosła — 991.

Ilość przypadków śmiertelnych — 547, czyli 55%.

Nosiciele zarazków wykryto 268, czyli że stosunek procentowy nosicieli do ilości zachorowań wyniósł 27%.

Z liczby 991 przypadków cholery przypada na:

jeńców — 835,

żołnierzy W. P. — 42,

ludność cywilną—114, z tego—85 przypadków na ludność w Małopolsce i 29 przypadków w Warszawie, w Płocku, Sochaczewie i Koninie.

Przy rozważaniu powyższych cyfr i wszystkich wyżej przytoczonych danych o przebiegu epidemji **nasuwają się następujące refleksje:**

1) Wszystkie przypadki zakażenia powstały na skutek bezpośredniego kontaktu osobników zdrowych z osobnikami chorymi lub z nosicielami zarazków, podczas gdy woda, która we wszystkich ogniskach cholery była ściśle badana pod względem bakterjologicznym, nie odegrała żadnej roli epidemjologicznej.

2) Uderza stosunkowo wielka ilość nosicieli zarazków, dochodząca do 27% w stosunku do ogólnej chorobowości, a w niektórych miejscowościach, jak np. w Okręgu Warszawskim, dochodząca do 56%, w Dęblinie—do 62%. Wogóle ilość nosicieli okazała się tem większą, im ściślej zostały wykonane badania na nosicielstwo i im wcześniej zostały one rozpoczęte. Jest to zresztą zupełnie zrozumiałe, gdyż im później i im powolniej przeprowadza się podobne badania, tem mniejsze stają się szanse wykrycia nosicieli, wobec tego że pewna ilość nosicieli przestaje tymczasem wydzielać zarazki, lub też niektórzy nosiciele zapadają na cholere kliniczną. Doświadczenie wykazało, że badania na nosicielstwo mogą być przeprowadzone niezmiernie szybko, bez względu na liczebność oddziałów, jeżeli dokonywa się ich setkami lub dziesiątkami, w zależności od większego lub mniejszego stanu liczebnego danego oddziału: kał każdej setki lub każdego dziesiątka zostaje posiany na pożywcę peptonowej i, w razie wyniku ujemnego, ludzie ci zostają puszczeni na wolność, w przeciwnym zaś razie przeprowadza się wśród danej setki (ew: dziesiątka) posiewy indywidualne. Celem skrócenia czasu, można nawet nie czekać, aż dany osobnik odda stolec, lecz, jak to zaproponował jeden z bakterjologów warszawskich, można dokonywać posiewów zapomocą drucianych pręcików, owlniętych watą, które wprowadza się do odbytnicy i następnie zanurza się je w wodzie peptonowej.

Jak długo trwa okres nosicielstwa zarazków?

W ostatniej epidemji okres ten trwał od 1 do 5 tygodni, przeciętnie 2 — 3 tygodnie; rozumie się, że cyfry te mogą być uważane za ściśle tylko dla tych przypadków, gdzie badano okres trwania wydzielania przecinkowców cholery, od czasu ustąpienia objawów klinicznych aż do zaniku przecinkowców w stolcu. U zdrowych nosicieli trudno określić ściśle ten okres, gdyż nigdy nie wiadomo, od jakiego czasu dany osobnik wydzielał swoje bakterje.

W przeważnej ilości przypadków, podczas ostatniej epidemii, wydzielanie przecinkowców kończyło się z dniem ustąpienia objawów klinicznych. Różne metody leczenia, jak również szczepienia ochronne, okazały się bezskutecznymi w walce z nosicielstwem.

W niektórych przypadkach u ozdowieńców po cholercie, u których, po upływie pewnego okresu czasu, prątki choleryczne przestały się wydzielać, przy ponownym badaniu, znaleziono znowu prątki choleryczne; wobec tego, należy uważać za rzecz wskazaną przeprowadzanie dwu lub trzykrotne badanie kału i, jeżeli wyniki będą ujemne, można ze spokojnem sumieniem uważać ozdowieńca za nieprzedstawiającego niebezpieczeństwa dla otoczenia.

Dodajemy wreszcie, że przypadki nosicielstwa zdarzają się również dobrze wśród osobników szczepionych, jak wśród nieszczepionych.

3) Epidemja ostatnia daje wskazówki co do wpływu szczepień ochronnych na chorobowość i śmiertelność cholery.

Nie posiadamy ścisłych danych cyfrowych co do tego punktu, gdyż w niektórych ogniskach cholera wybuchała nagle, po przybyciu świeżych transportów jeńców, którzy nie posiadali żadnych dokumentów, stwierdzających, czy i kiedy podlegli szczepieniom. Ponieważ jednak wszyscy jeńcy, po przybyciu do obozów, byli naogół szczepieni w terminie możliwie najkrótszym, można twierdzić, że znaczna większość chorych cholerycznych była szczepioną.

W obozie dla jeńców w Strzałkowie udało się określić dość ściśle, jaka ilość przypadków cholery przypada na szczepionych i jaka na nieszczepionych.

	Ogółem	Nieszczepionych	1 raz szczepion.	2 razy szczepion.	3 razy szczepion.
Zachorowało . . .	435	135	96	121	83
Zmarło . . . . .	264	96 (71 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> )	52 (54 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> )	63 (52 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> )	53 (64 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> )

Jak widać z powyższej tablicy, 300 przypadków cholery ujawniło się wśród szczepionych, jednakże śmiertelność wśród nieszczepionych była większa niż wśród szczepionych.

W obozie Tucholskim na 174 przypadków cholery 143 przypada na szczepionych, 7 — na nieszczepionych i 24 — na szczepionych dawniej, niż przed 6 miesiącami.

Czy z powyższych danych należy wnioskować o bezskuteczności szczepień ochronnych w cholercie? Zdaniem naszym, dane te nie upoważniają bynajmniej do wyprowadzania tak daleko idącego wniosku; przeciwnie, fakt że np. w Strzałkowie stwierdzono tylko 435 przypadków cholery na 20.000 obecnych jeńców, czyli około 2,2% stanu liczebnego, w Wadowicach — 1,1% stanu liczebnego, w Tucholi — 1,7% stanu liczebnego i t. p., należy położyć na karb nie tylko takich ogólnych zarządzeń zapobiegawczych, jak odosobnienie, odkażanie, badanie na nosicielstwo i t. p., lecz

z pewnością także w znacznym stopniu na karb szczepień ochronnych. Wobec tego, że z powodu braku miejsca w barakach obozowych odosobnienie przypadków podejrzanych o cholere nie było wszędzie przeprowadzane z wielką ścisłością, można z całą pewnością twierdzić, że gdyby ogólne szczepienia ochronne nie były przeprowadzone, prawdopodobnie większość obecnych w obozach jeńców padłaby ofiarą epidemii.

Co się tyczy przypadków cholery wśród osobników szczepionych, to zjawisko to, zdaniem naszym, należy objaśnić niesłuchanie zmniejszoną odpornością organizmu jeńców, którzy byli krańcowo wychudzeni, źle odżywiani, źle ubrani i osłabieni pod względem psychicznym i nerwowym. Jest rzeczą bardzo prawdopodobną, że takie organizmy szczepione nie mogą wytworzyć odpowiedniej ilości swoistych przeciwciał lub też, że, pomimo obecności tych przeciwciał, tkanki ustroju, a zwłaszcza białe ciała krwi, są w takim stanie osłabienia, że nie są zdolne do obrony i nie mają dostatecznej energii dla pochłonięcia i strawienia zarazków chorobotwórczych; zarazki te swobodnie się też rozwijają i zarażają organizm.

Powyższe przypuszczenie wydaje się tem prawdopodobniejsze, jeżeli zważymy, jak nieliczne przypadki cholery zaszły wśród żołnierzy W. P., którzy wszyscy bez mała byli szczepieni, lecz którzy jednocześnie znajdowali się w lepszych warunkach sanitarnych, niż jeńcy.

Podobne zjawisko zostało zauważone podczas ostatniej wojny, wśród wojska Serbskiego, ewakuowanego na wyspę Korfu, które chociaż szczepione ochronnie, padło w wielkiej ilości ofiarą cholery. Epidemja ta ustała, jak tylko ogólny stan odżywiania poprawił się. Fakt ten został mi zakomunikowany ustnie przez D-r Roux, Dyrektora Instytutu Pasteur'a w Paryżu i D-r Pottevin'a, dyrektora Międzynarodowego Biura Higjeny w Paryżu.

Doświadczenie, jakie wynieśliśmy z powyżej opisanej epidemii cholery, upoważnia nas do wypowiedzenia następujących wniosków **co do sposobów walki z cholera**.

1) Chociaż zarażenia się na skutek zanieczyszczenia wody (rzek, źródeł, studni) zdarzają się niewątpliwie, jak tego pouczają nas obserwacje, dokonane w dawniejszych epidemjach w Hamburgu, gdzie znajdowano przecinkowce cholery w Elbie, w niektórych epidemjach rosyjskich, gdzie znajdowane te same bakterje w Newie, w Wołdze), jednakże zarażanie się przez bezpośredni kontakt osobników zdrowych z osobnikami chorymi lub z nosicielami zarazków w niektórych epidemjach stanowi najważniejszą i czasami jedyną drogę zakażenia.

Wobec powyższego, o d o s o b n i a n i e chorych cholerycznych i podejrzanych o cholere, jak również kontumacja zbiorowisk ludzkich, wśród których wydarzyły się przypadki cholery, stanowią środki zapobiegawcze niezmiernie ważne.

Ostatnia epidemja w Polsce poucza nas ponadto, że im bardziej ułatwiona jest komunikacja pomiędzy rozmaitemi częściami kraju, tem większe istnieją szanse rozwleczenia zarazy; istotnie, wszystkie ogniska cholery, powstałe wśród jeńców i w armji, wybuchły na skutek wysyłania transportów jeńców do obozów położonych w rozmaitych częściach kraju. To też, gdy tylko okazało się to rzeczą możliwą, centralne władze wojskowe, na

# MONOGRAFJE.

## Gorączka (febra) żółta<sup>1)</sup>.

Podał

Dr. LUDWIK ANIGSTEIN.

Nauka o chorobach zakaźnych krajów podzwrotnikowych posiada, pomimo egzotycznego swego charakteru, znaczenie pośrednie dla badań nad chorobami zakaźnymi, panującymi u nas, nad ich istotą i epidemiologią.

Warunki etnograficzne i społeczne krajów podzwrotnikowych powodują, że szerzenie się chorób zakaźnych nie napotyka tam zazwyczaj na silniejszy opór ze strony kultury; dzięki temu łatwiej odtworzyć obraz bardziej naturalny rozwoju epidemji.

Zdobycze nauki o chorobach podzwrotnikowych mogą mieć znaczenie szczególnie w badaniu etjologii tych chorób, panujących u nas, które pod względem przebiegu oraz właściwości epidemiologicznych zbliżają się do podzwrotnikowych.

Gorączka żółta do niedawna jeszcze należała do chorób zakaźnych, których zarazek nie był znany. *Rocha-Lima* (1914, 1920) zalicza gorączkę żółtą do jednej grupy wraz z gorączką *papatacci*, *dengue*, dudem plamistym, gorączką plamistą gór skalistych (Rocky Mountain Spotted fever) i chorobą japońską — *Tsutsugamushi*. Czyni to na zasadzie niektórych wspólnych objawów klinicznych i właściwości epidemiologicznych tych chorób. Jako cechy, charakteryzujące przebieg wspomnianych chorób, wymienić należy: ściśle określony dla każdej z nich czas trwania okresu gorączkowego oraz raptowne znikanie zarazka z krwiobiegu w określonym dniu choroby. Jak wiemy, zjawiska te są typowe dla chorób, wywołanych przez pierwotniaki, szczególnie zaś dla krętkowic. Również uderzającą właściwością tej grupy chorób zakaźnych jest wyłączny sposób przenoszenia zarazków przez pasorzyty zewnętrzne — owady i pajęczaki (komary, wszy, kleszcze). Ta właściwość upoważnia nas do przypuszczenia, że nieznanne jeszcze zarazki wspomnianej grupy chorób zbliżone są prawdopodobnie bardziej do pierwotniaków, aniżeli do bakteryj.

Stwierdzenie pokrewieństwa między wymienionymi chorobami posiada też jeszcze znaczenie praktyczne, mianowicie, że doświadczenie, metody badania i wyniki, zdobyte przez wyświetlenie etjologii jednej z nich, mogą się okazać pomocnymi w badaniach nad etjologią reszty.

---

<sup>1)</sup> Termin „gorączka żółta“ przyjęty został przez „Słownik Lekarski Polski“, Kraków, 1905.

**Rozpowszechnienie geograficzne gorączki żółtej.** Dwa przeciwległe wybrzeża oceanu Atlantyckiego — brzegi Ameryki i Afryki — są oddawna stałymi siedliskami gorączki żółtej.

Europa złożyła pierwsze ofiary tej chorobie z pośród uczestników wyprawy Kolumba. Według danych historycznych gorączka żółta czyniła wówczas szalone spustoszenia wśród ludności wybrzeża Meksykańskiego (*Clarac*). To pierwotne ognisko gorączki żółtej rozsiewa odtąd zarazę na inne części kuli ziemskiej. W Afryce pierwsza epidemia wybuchła w w. XVI. W drugiej połowie w. XVIII. francuzi, którzy zajęli Senegal, doznali tam ciężkiej porażki z powodu gorączki żółtej.

Europa również niejednokrotnie była nawiedzana przez gorączkę żółtą; szczególnie panowała ona w Hiszpanji, gdzie np. w Kadyksie trwała endemicznie od r. 1730—1830 i pochłonęła około 80.000 ofiar (*Marchoux i Simond*). Oprócz endemicznych ognisk gorączki żółtej, we wszystkich większych miastach Hiszpanji zdarzały się sporadyczne przypadki; stąd gorączka żółta zawleczona została do Marsylii, Bordeaux i Saint Nazaire (1908). W połowie w. XIX. pojedyncze przypadki obserwowano również w Anglii (wyspa Wight, Southampton, Londyn, Swansea).

Wszystkie ogniska endemiczne oraz epidemie mniej lub więcej długotrwałe, powstające w świecie starym, traktować należy jako ogniska wtórne, przeniesione z Ameryki.

Cechą charakterystyczną ognisk gorączki żółtej jest umiejscowienie ich na wybrzeżach; przypadki, zdarzające się w głębi lądu, są importowane, zazwyczaj wzdłuż rzek.

Na zasadzie danych historycznych oraz obecnych wiadomości epidemiologicznych uznawano jeszcze do niedawna za strefę o największym nasileniu endemicznem wybrzeże Meksykańskie, Wielkie Antyle oraz Rio de Janeiro. W strefie tej endemja gorączki żółtej nie wygasa w ciągu całego roku. Naogół wschodnie wybrzeża Ameryki są najbardziej atakowane przez gorączkę żółtą, podczas gdy na brzegu zachodnim nasilenie jej jest znacznie słabsze. Endemja jest przerywana czasem kilkakrotnymi okresami zupełnego wygaśnięcia.

W nowszych już czasach stwierdzono, że rozpowszechnienie gorączki żółtej ściśle się wiąże ze sposobem życia i granicami rozsiedlenia komara *Stegomyia fasciata*.

**Sposób przenoszenia gorączki żółtej.** W r. 1848 lekarz amerykański *Nott* wyraził pierwszy raz przypuszczenie, że gorączkę żółtą przenoszą owady kolące. W kilka lat później *Beaupertuis* uznał komara „*Culex fasciatus*“ za przenosiiciela zarazki gorączki żółtej. Przypuszczenia te potwierdzone zostały przez obserwacje *Finlay'a* w r. 1881. Niezbite dowody doświadczalne w tej sprawie zgromadziła w r. 1901 Komisja amerykańska, składająca się z *Reeda*, *Carroll'a*, *Agramonta* i *Lazeara*. Komisja ta wykonała badania nad gorączką żółtą na Kubie i doszła do wniosku, że zarazek zaszczepiony zostaje człowiekowi przez komara *Stegomyia calopus (fasciata)*.

Wszelkie próby, czynione w kierunku stwierdzenia innych dróg zakażenia, bez udziału *Stegomyia*, dały wyniki ujemne. Nie udawało się zaka-

zić ludzi zapomocą ukąszeń przez 10 innych gatunków *Stegomyia* lub też przez gatunki innych rodzajów komarów.

*Stegomyia calopus* należy do rodziny komarów *Culicinae*. Wkrótce po zakończeniu metamorfozy, t. zn. po wyskrzydleniu się, samica zostaje zapłodniona. Ażeby jajka mogły się następnie rozwijać, konieczne jest po zapłodnieniu odżywianie się samicy *Stegomyia* krwią ludzką. Dlatego też instynkt samicy zapłodnionej zmusza ją do kąsania człowieka, którego *Stegomyia* napastuje we dnie i w nocy. Zazwyczaj samice składają jajka kilkakrotnie, przyczem zdarza się często, że komar ginie po pierwszym złożeniu jajek. Przed każdorazowym złożeniem jajek samica musi się napić krwi ludzkiej.

Ten ścisły związek między rozmnażaniem się komara a człowiekiem odgrywa w epidemiologii gorączki żółtej rolę pierwszorzędną. *Stegomyia* kłuje ludzi przeważnie w nocy; stoi to w związku z jej trybem życia, który w okresie składania jajek zmienia się z dziennego na nocny. Prawdopodobnie osłabienie, spowodowane przez produkcję jajek, wpływa na zachowanie spokoju podczas upału dziennego.

Okres przekształcania się *Stegomyia* wraz z jej dojrzewaniem trwa w krajach podzwrotnikowych około 3 tygodni, podczas gdy okres ten dla samicy *Anopheles* wynosi w naszych warunkach klimatycznych około 6 tygodni.

Długość życia *Stegomyia* waha się w zależności od płci (samce żyją krócej); samica żyje na wolności około miesiąca. W pracowni hodowano samice w ciągu 3-ch, samce około 2-ch miesięcy.

Życie i rozwój komara *Stegomyia* wymagają warunków podzwrotnikowych, a więc przedewszystkiem temperatury wysokiej i atmosfery wilgotnej. *Stegomyia* zamieszkuje strefę, w której średnia temperatura roczna waha się od 22—35° C. Jednakowoż rozpowszechnienie geograficzne tego komara jest znacznie szersze; żyje on od 40° szerokości północnej i do 40° szerokości południowej. Według *Howarda* przypadki gorączki żółtej, które zdarzają się w krajach, leżących poza strefą rozpowszechnienia *Stegomyia*, objaśnić należy przez import okrętami komarów zakażonych (np. z wysp Antylskich do Nowego Yorku). Dlatego też w portach, gdzie jedynie temperatura letnia jest odpowiednią dla życia *Stegomyia*, komary importowane zimą giną. W miejscowościach górskich *Stegomyia* zazwyczaj nie znajdujemy. Przykładem tego posłużyć może miasto Petropolis, położone na wysokości 800 mtr. ponad poziomem morza, a odległe od Rio de Janeiro zaledwie o 40 klm. Jak wiadomo, gorączka żółta panuje w Rio endemicznie, natomiast w Petropolis miejscowych przypadków tej choroby niema (*Simond*). Europejczycy, z obawy przed gorączką żółtą, ułożyli swój tryb życia w ten sposób, że przebywają w Rio do godz. 4-ej ppoł., spędzają wieczór i noc w Petropolis, zaś rano, zjawiają się w Rio. W ten sposób unikają zakażenia nawet podczas silnych epidemii gorączki żółtej.

Badania misji amerykańskiej na Kubie (1901) oraz misji Pasteura w Brazylii dowiodły, że *Stegomyia* nie jest mechanicznym przenosicielem zarazka gorączki żółtej, lecz że zarazek, wessany wraz z krwią człowieka

chorego, w ciągu dni 12 przechodzi w komarze cykl ewolucyjny. W ciągu tego czasu komar nie jest dla ludzi zdrowych szkodliwy, dopiero po upływie tego okresu inkubacji w komarze zarazek, zaszczerpiony człowiekowi, przez ukąszenie *Stegomyia*, wywołuje atak cboroby.

**Nagminne powstawanie gorączki żółtej.** Powyższy przegląd rozpozszechnienia geograficznego gorączki żółtej oraz jej przenosiciela *Stegomyia fasciata* ilustruje zależność szerzenia się tej choroby od warunków klimatycznych. Odpowiednie warunki (ciepłota i wilgoć) doprowadzają do znacznego wzmożenia się liczby komarów; obecność nawet niewielkiej liczby chorych na gorączkę żółtą doprowadzić może do nagminnego szerzenia się tej choroby

Misja *Gorgasa* w Panamie oraz misja francuska w Brazylii stwierdziły zależność epidemji gorączki żółtej od ilości *Stegomyia*, mianowicie wraz ze wzmożeniem się ilości komarów, wzmagą się również liczba zachorowań. Według *Gorgasa* aby nastąpiła epidemja, liczba *Stogomyia* osiągnąć musi t. zw. punkt epidemiczny, t. zn. ilość komarów musi pozostać w określonym stosunku do liczby mieszkańców. Zjawisko to stwierdził poprzednio *Ross* dla malarji.

*Carter* (1920) ilustruje twierdzenie *Gorgasa* w sposób następujący. Jeżeli w miejscowości, zamieszkałej przez ludność nieodporną na gorączkę żółtą, zdarzy się 100 przypadków tej choroby, zaś ilość *Stegomyia* jest taka, że mogą one zakazić 100 ludzi, wówczas stałe panowanie gorączki żółtej jest zapewnione. Jest to t. zw. „liczba krytyczna“ dla *Stegomyia*. Jeżeli zaś część mieszkańców nabywa odporności, wówczas dla podtrzymania tego samego nasilenia choroby, ilość komarów musi się wzmóc. Dlatego też akcja sanitarna w kierunku zmniejszenia ilości komarów w miejscowościach, zamieszkałych przez ludność nieodporną, winna być bardziej energiczna.

Wzmożenie się ilości komarów wpływa nietylko na liczbę zachorowań, lecz przebieg choroby staje się wówczas cięższy; prawdopodobnie zjadliwość zarazka wzmaga się wskutek częstego przeszczepiania jadu.

W zależności od czynników, wpływających na stopień szerzenia się gorączki żółtej, powstają ogniska jej stałego panowania lub też przypadki sporadyczne. Przebieg gorączki żółtej w obrębie ognisk endemicznych wskazuje na pewnego rodzaju okresowość jej nasilenia, wiążącą się z porą roku. W ciągu drugiej połowy wieku XIX gorączka żółta panowała w Rio-de Janeiro co rok, podczas gorącego i wilgotnego okresu, od stycznia do lipca, podczas, gdy od lipca do grudnia notowano jedynie przypadki sporadyczne. Podobne zjawisko obserwowano na Martynice i w Hawanie. Pod tym względem można przeprowadzić analogję z przebiegiem nagminnego szerzenia się malarji w podzwrotnikowych ogniskach endemicznych, gdzie nasilenie tej choroby wiąże się również z porą roku.

Charakterystyczną właściwością endemji gorączki żółtej są ponadto jej przerwy, trwające czasami kilka lat. Przerwy te oznaczają jednak jedynie pozorne wygaśnięcie choroby, która tli się pod lekką postacią, niezawsze dostępną dla jej rozpoznania. Chodzi więc tu prawdopodobnie o czasowe osłabienie zarazka, który pod wpływem warunków sprzyjających w pewnej

chwili niespodziewanie staje się znowu zjadliwym. W tym momencie wchodzi w grę nowy czynnik epidemjologiczny, mianowicie wpływ obcokrajowców.

Wszyscy badacze gorączki żółtej zauważyli, że tubylcy są dziwnie oszczędzani przez tę chorobę, że śmiertelność wśród nich jest znikoma w porównaniu z liczbą zejść śmiertelnych wśród przybyszów. Wśród tubylców przypadki typowej gorączki żółtej z wynikiem śmiertelnym należą do rzadkich wyjątków i zjawiają się dopiero po ukazaniu się ciężkich przypadków wśród obcokrajowców. Oprócz tego zauważono, że dzieci tubylców przechodzą g. ż. w sposób bardzo łagodny, niekiedy nawet, ze względu na nietypowe objawy choroby, trudny do rozpoznania. Ta łagodna forma g. ż. nie wytwarza jednak w tubylcach bezwzględnej odporności przeciwko ponownym zakażeniom. *Clarac* i *Simond* opisali w ogniskach endemicznych cały szereg różnych postaci g. ż., poczynawszy od najłżejszych, do najbardziej typowych. Wśród tych postaci niesłusznie wyodrębniono lekką formę, jako „fièvre inflammatoire”. Europejczycy, którzy przechodzili tę lekką postać g. ż., są zabezpieczeni od zachorowania na ciężką, dla nich przeważnie śmiertelną. Ci zaś, którzy przechodzili ciężką formę g. ż., zapadali po raz drugi już tylko na t. zw. „fièvre inflammatoire”, byli więc w znacznym stopniu uodpornieni.

Wpływ obecności obcokrajowców na ciężkość przebiegu epidemji g. ż. jest dowiedziony, rzecz można, drogą doświadczalną. Jeżeli z miejscowości zakażonej nagminnie g. ż., a zamieszkaną przez tubylców i przybyszów, usunąć przybyszów, wówczas przebieg epidemji staje się łagodniejszy, jednak epidemja nie znika w zupełności. Z chwilą powrotu elementu obcego epidemja ponownie się wzmacnia i pierwsi zapadają znów przybysze. Zjawisko to porównać można ze sposobem szerzenia się ospy, która wybucha wraz z nagromadzeniem się pewnej liczby osobników nieszczepionych.

Przypadki g. ż., lekkie i nietypowe, są źródłem stałego kontyngentu komarów zakażonych w okresie pozornego wygaśnięcia endemji. Na przebieg epidemji znaczny wpływ wywiera też położenie danej miejscowości w stosunku do środków komunikacyjnych. W sprawie tej *Juan Guiteras* (1921) pisze, że w miejscowościach, zamieszkałych przez luźno rozrzuconą ludność, istnieje możliwość stopniowego powstawania ognisk, jednego za drugim; wskutek tego endemja zostanie utrzymana w postaci przypadków o przebiegu lekkim. W większych miastach z ożywionym ruchem ludności powstawać mogą wielkie epidemje; podczas nich zmniejsza się w szybkim tempie ilość osobników wrażliwych, wskutek czego dalsze szerzenie się epidemji staje się niemożliwe. W tym wypadku epidemja posiada tendencję do samoistnego wygaśnięcia. Podobnie w naszych warunkach przebiegają epidemje odry, ospy i płonicy. Epidemje g. ż. w miastach, zaopatrzonych w obfitą sieć środków komunikacyjnych, posiadają nieco odmienny charakter (jak np. w Hawanie), gdzie wskutek ciągłego napływu ludzi wrażliwych na g. ż., endemja tej choroby jest stale podsykana przez element obcy.

Badania ekspedycji, wysłanej z ramienia Fundacji Rockefellera w r. 1920 na wybrzeża Afryki zachodniej, nie stwierdziły ani jednego przypadku g. ż., pomimo że do tego czasu endemja panowała tam od wielu lat i że



komar *Stegomyia fasciata* występuje w znacznej ilości. Na wygaśnięcie g. ż. w Afryce w znacznej mierze wpłynęło osłabienie epidemji w Ameryce, skąd zaraza na zachodnim brzegu Afrykańskim zawsze była podsykana oraz zwiększenie się odporności nabytej przez miejscową ludność czarną.

**Etjologia.** Poszukiwania zarazka g. ż., datujące się od lat 70-ych ubiegłego stulecia i trwające do roku 1918, pozostawiły w piśmiennictwie mikrobiologicznem opisy najbardziej różnorodnych drobnoustrojów, jakoby swoistych dla tej choroby. Pod względem swej różnorodności wyniki badań do r. 1918 nad etjologią g. ż. porównać można z poszukiwaniami zarazka tyfusu plamistego. Przeszło 20 badaczy przypuszczało, że kwestja etjologii g. ż. została przez każdego z nich rozwiązana.

Opisano cały szereg bakteryj, a nawet grzybków, znajdujących rzekomy związek z etjologią tej choroby. Przez długi czas omawiany był w literaturze bakterjologicznej prątek, wyhodowany w r. 1917 przez *Sanarelliego* i nazwany przez autora tego *Bac. icteroides*. Wyniki późniejszych badań *Agramonta*, *Otto* i *Neumanna* przeczą roli etjologicznej prątka tego w g. ż. Okazało się bowiem, że *Bac. icteroides* znajduwany był w krwi chorych na g. ż. w okresie, gdy krew nie była zjadliwą, natomiast w ciągu pierwszych 3-ech dni, gdy krew chorych zawiera jad gorączki żółtej, prątka tego nigdy nie znajdowano. Oprócz tego, *Bac. icteroides* wyhodowany został przez *Agramontę* z chorych, którzy g. ż. nie przechodzili. Prawdopodobnie chodzi tu o bakterję, która w przebiegu g. ż. stosunkowo często wywołuje zakażenie wtórne. *Reed* i *Carroll* stwierdzili, że prątek ten posiada wszelkie cechy prątków z grupy paratyfusowej i utożsamili go ze szczepem Hog-cholera.

Najmniej uwagi zwrócono wówczas na badania *Stimsona* (1907), który w skrawkach nerki człowieka, zmarłego na gor. żółtą, w preparatach srebrzonych metodą *Levaditiego*, zauważył krętki długości 14  $\mu$ . Krętki te najczęściej przybierały kształt znaku zapytania, wskutek czego *Stimson* nazwał je *Spirochaeta interrogans*. Spostrzeżenie to zgadzało się z przypuszczeniem *Schaudinna*, który na zasadzie objawów klinicznych g. ż. (gwałtowny atak, określony czas trwania choroby), epidemiologii (przenoszenie przez komary), oraz fizycznych własności zarazka (przesączalność) przepowiadał, że zarazek g. ż. należy zapewne do krętków.

Nie przebrzmiały jeszcze odgłosy „odkrycia“ *Sanarelliego*, gdy w r. 1911 *Seidelin* opisał twory, które obserwował w czerwonych ciałkach chorych na g. ż. Twory te opisane są przez *Seidelina*, jako drobne ziarenka, barwiące się na czerwono metodą Giemzy, otoczone niekiedy wąskim pasemkiem niebieskiej zarodzi. Wyglądem swym przypominają one *Babesia*; do tej grupy zostały też zaliczone pod nazwą *Paraplasma flavigenum*. Najślabszą stroną tego „odkrycia“ było, że opisywane twory znajdowane były w czerwonych ciałkach krwi chorych na g. ż., w okresie, gdy zjadliwość krwi oddawna zniknęła, a nawet u ozdowieńców. Prace *Schillinga-Torgau* (1912) dowiodły, że twory te znaleźć można we krwi chorych na różne choroby zakaźne i że traktować je należy, jako produkty, tworzące się w erytrocytach w różnych stanach chorobowych.

Wiadomości gruntowniejsze, dotyczące zjadliwości krwi chorego i własności zarazka g. ż., zawdzięczamy badaniom komisji amerykańskiej (*Reed, Carroll, Agramonte i Lazear*), która pracowała na wyspie Kubie (1901). Badacze ci stwierdzili przedewszystkiem, że zarazek g. ż. krąży we krwi człowieka; do tej pory *Sanarelli* twierdził, że we krwi krążą tylko toksyny. Zakazili oni doświadczalnie człowieka, którego krwią szczepili osobę trzecią; ta zachorowała wśród objawów o wiele cięższych, niż poprzednie. Wstrzykując człowiekowi zdrowemu 1 ccm. krwi chorego na g. ż., badacze ci stwierdzili, że doświadczone wywołanie choroby możliwe jest jedynie wówczas, gdy pobieramy krew w ciągu pierwszych trzech dni choroby. Te same próby powtórzone zostały następnie z wynikiem dodatnim przez *Marchoux* i *Simond*, którzy wstrzykiwali ludziom  $\frac{1}{10}$  ccm. krwi, oraz przez *Parkera, Beyera i Pothiera*, wstrzykujących 0,003 surowicy chorego. Misja amerykańska wyjaśniła też w znacznej mierze własności niewidzialnego zarazka. Dowiedziono, że zarazek nie jest związany z ciałkami krwi (jak np. zarazek duru plamistego), lecz że surowica chorego jest również zjadliwą. Przekonano się również, że wielkość zarazka pozwala na przesączenie go przez filtry porcelanowe Berkefelda (*Parker, Beyer i Pothier*, 1903). Zarazek g. ż. nie przechodzi jednak przez filtry Chamberlainda B, o ile przesączamy surowicę nierozcieńczoną; mianowicie, surowica ta, po przejściu przez filtr, traci swą zjadliwość. Wiadomo, że zarazki przesączalne przechodzą łatwiej przez filtr, o ile ich środowisko płynne zostanie rozcieńczone; dlatego też próby zakażenia ludzi zapomocą surowicy zjadliwej rozcieńczonej (1 : 2 w soli fizjolog.), przesączonej przez świecę Chamberlainda B, wypadły dodatnio (*Rosenau, Parker, Francis i Beyer*, 1905). Z doświadczeń tych wynika, że zarazek g. ż. jest mniejszy od por. świecy Chamberlainda B. Nie wypływa z tego, że nie może on być widzialny, gdyż drobnoustrój obdarzony ruchami czynnymi, przy odpowiedniej budowie, może przenikać przez pory filtrów porcelanowych, będąc przytem widzialnym (np. krętki).

Wspomnieliśmy już, że zarazek g. ż., wessany z krwią chorego do stroju komara *Stegomyia*, potrzebuje do swego rozwoju w tym żywicielu przejściowym dni 12, po którym to okresie staje się zjadliwym dla człowieka. Fakt ten stwierdzony został niejednokrotnie przez szereg doświadczeń i obserwacyj. *Guiteras* zakażał człowieka zapomocą ukąszeń komarów, które poprzedniossały krew chorych na gorączkę żółtą.

Podczas, gdy ten sam człowiek nie uległ zakażeniu po ukąszeniu przez kilka komarów, w których zarazek gorączki żółtej znajdował się tylko w ciągu 5-iu dni, zapadł on na g. ż. po ukąszeniu przez komara, któryssał krew chorego 20 dni przedtem. Dane epidemiologiczne potwierdzają również istnienie okresu inkubacji dla zarazka w komarze. Już w r. 1898 *Carter* stwierdził, że po wprowadzeniu się do miejscowości, dotąd zdrowej, jednego chorego na g. ż. następny przypadek zjawia się po upływie 2—3 tygodni. Okres ten składa się z okresu inkubacji zarazka w komarze oraz z czasu wylegania się jego w człowieku. Ten okres niezbędny, w ciągu którego drobnoustrój przechodzi w swem żywicielu część cyklu ewolucyjnego jest, jak wiadomo, bardzo charakterystyczny dla pierwotniaków chorobotwórczych. Dlatego też przypuszczenia niektórych badaczy (*Schaudinn*

1904, Rocha-Lima 1914, Novy i Knapp, Marchoux i Simond) o przynależności zarazka g. ż. do pierwotniaków albo do grupy, do nich zbliżonej (do krętków) posiadają głębokie podstawy.

Zależność rozwoju zarazka g. ż. w komarze od temperatury zewnętrznej posiada również analogje w właściwościach niektórych pierwotniaków chorobotwórczych. Rozwój sporozoitów zimnicy odbywa się w komarze w temp. 20° C o wiele wolniej, aniżeli w ciepłocie 30° C; w temp. 14° C rozwój jest zahamowany całkowicie (Rocha-Lima). Kleszcze z rodz. *Argas*, które, jak wiadomo, są przenosicielami krętkowicy kur, trzymane w ciepłocie 20° C, tracą zdolność zakażenia 1).

Badaczom francuskim nie udało się wywołać g. ż. u ludzi, ukąszonych zakażeniami komarami, o ile owady te przebywały w temp. 20°. W innych doświadczeniach (w Brazylii) ukąszenia komarów zakażonych, trzymanyh w ciepłocie pokojowej, wywoływały co prawda zakażenie, lecz w stopniu znacznie słabszym, niż w tym wypadku, gdy komary przebywały w temp. 27° C. Doświadczenia tei obserwacje wskazują, że okres cyklu ewolucyjnego zarazka g. ż., jaki przechodzi on w komarze, ściśle wiąże się z odpowiednią temp. zewnętrzną, co wśród wielu innych czynników epidemjologicznych odgrywa znaczną rolę.

Niewątpliwie również okres wylęgania zarazka w człowieku stanowi fazę jego cyklu ewolucyjnego. Wskazują na to badania autorów francuskich, którym nie udało się zakazić *Stegomyia* krwią chorego, nawet pobraną na 3 godz. przed atakiem g. żółtej. Przypuszczalnie zarazek, zaszczipiony człowiekowi zdrowemu, rozpoczyna swój rozwój w pewnych tkankach, skąd zostaje raptownie wyrzucony do obiegu krwi, powodując gwałtowny atak. Doświadczenia nad zarazkiem g. ż., przechowywanym we krwi in vitro, wskazują na jego nieznaczną odporność wobec ciepłoty wyższej: ginie on przy 55° C w ciągu 10 min. Pozostawiony w tem. 24—30° w ciemności ginie w ciągu 48 godz. W warunkach beztlenowych żywotność jego może być przedłużona do 5 dni, o ile surowica zjadliwa pokryta zostanie w próbkach parafiną płynną.

Większość badaczy gorączki żółtej posługiwała się w doświadczeniach swych ludźmi, ponieważ zakażenie g. ż. zwierząt nie dawało dotychczas wyników miarodajnych. Po wielu nieudanych próbach szczepienia zwierząt laboratoryjnych autorom francuskim powiodło się wywołać zakażenie szympansa i orangutanga zapomocą ukąszeń komara zakażonego. Thomas (1909) potwierdził te dane zapomocą analogicznych doświadczeń, przerobionych na szympansach i na *Macacus rhesus*. Autor ten robił również doświadczenia nad śwink. morsk.; u świnek tych, po 4—13 dniach od chwili ukąszenia przez komary, zakażone g. ż., następowała zwyżka temp. o 1—2° C. Jednakowoż nie można z całą pewnością twierdzić, czy choroba świnek była w tym wypadku w rzeczywistości gor. żółtą. Podobne niepewne wyniki otrzymali Macfie i Johnston (1914) wstrzykując świnkom, szczurowi i psom po 1—2 kropl. krwi ludzi chorych na g. ż., nawet z 8-go dnia cho-

---

1) Według Rocha-Limy (1914) krętkowica kur jest chorobą bardzo zbliżoną do gorączki żółtej.

roby. Pomimo, że doświadczeń na zwierzętach nie można interpretować w sposób zupełnie pewny, ze względu na nietypowy obraz chorobowy, jednakowoż *Rocha-Lima* (1914) nie rezygnuje z prób zakażenia zwierząt laboratoryjnych.

Problemat etjologii g. żółtej wstąpił na nowe tory, poczynając od 1918 r., dzięki pracom *Noguchiego*. Badacz ten delegowany został w drugiej połowie r. 1918 z ramienia Międzynarodowego Urzędu Zdrowia (Fundacji *Rockefeller*), do Guayaquilu (w Equadorze) celem przeprowadzenia badań bakterjologicznych nad panującą tam wówczas febrą żółtą.

Do doświadczeń swych użył *N.* 74 świnek, którym wstrzykiwał krew chorych na gorączkę żółtą. Krew pobrał z 27 chorych; wynik dodatni osiągnął tylko z krwią 6 chorych, przeszczepioną na 8 świnek. Niektóre z tych prób wywołały nieznaczne zaledwie objawy u świnek w 1-ym i 2-im pasażu, dopiero 3 pasaż doprowadzał do typowych objawów i zmian. Czasami świeża krew chorego nie wywoływała żadnych objawów u świnek, dopiero po dodaniu do krwi cytrynianu sodu i po 3-dniowym trzymaniu krwi w cieplarni, można było zakazić nią świnki. Objawy chorobowe występują u świnek, po upływie 48 — 72 godz., w postaci raptownej zwyczajki ciepłoty wraz z ukazaniem się w moczu białka w znacznej ilości. Z objawów, które *Noguchi* uważa za typowe w gorączce żółtej u świnek wymienić należy: przekrwienie spojówek, uszu i skóry pięt, żółte zabarwienie skóry i organów wewnętrznych oraz leukopenję. W skórze, w błonach śluzowych jamy ustnej i nosa oraz w organach wewnętrznych występują wybroczyny krwawe; wątroba staje się żółtą i przetłuszczoną, nerki przekrwione. Oprócz świnek morskich *Noguchi* szczepił krwią chorych na gor. żółtą króliki, psy, koty, osły i małpy (*Midas*) oraz papugi. U królików czwartego lub piątego dnia temp. dochodziła do 40 — 41°, gorączka trwała 48 godzin, poczem opadała do normy. Osły wykazały zupełną odporność. Psy zapadały wśród objawów typowych przekrwienia spojówek, wymiotów z żółcią (czasami czarnych), żółtego zabarwienia skóry i błon śluzowych. Małpy okazały się również wrażliwe na szczepienie krwią, choć naogół reagują one słabiej niż świnki. Najbardziej czułymi zwierzętami okazały się: świnka, pies i małpy *Midas*.

Krew świnek szczepionych staje się zakaźną czasami już po 48 godz., zawsze po 72 godz. Badając krew świnek w ciemnym polu, poczynając już od 5-go dnia choroby, *Noguchi* wykrył krętka, który pod względem morfologicznym zbliżony jest bardzo do *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Najczęściej krętek ten jest widoczny u świnek 6, 7-go dnia choroby i znika na dobę przed śmiercią świnki. Bardzo rzadko znaleźć można *Leptospira* w parę godzin po sekcji świnki, natomiast częściej, o ile sekcję wykonać nazajutrz po śmierci. W niektórych przypadkach krew świnki była zjadliwą, pomimo że krętków ultramikroskopowo nie wykryto.

Takie same krętki, jak te, które znalazł *Noguchi* u świnek, obserwował on we krwi ludzi, chorych na g. żółtą, lecz znacznie rzadziej. Na 27 chorych zaledwie w trzech przypadkach udało się *Noguchiemu* wykryć krętka. Krew innych 4-ech chorych, wstrzyknięta świnkom, wywołała w nich cho-

robę typową z wynikiem śmiertelnym, pomimo, że badania ultramikroskopowe krwi chorych krętków nie wykryły.

W organach (wątrobie i nerkach) oraz we krwi jednego ze zmarłych w 4-y m dniu choroby, *Noguchi* również wykrył *Leptospira*. Cechy morfologiczne *Leptospira* ze krwi chorych na gorączkę żółtą oraz ze świnek, tą krwią szczepionych, są identyczne.

Jest to nadzwyczaj delikatny krętek długości od 4—9  $\mu$ , grubości 0,2  $\mu$ . Odległość między sąsiednimi bardzo regularnymi zwojami wynosi stale 0,25  $\mu$ . Krętek ten w świetle przenikającym jest niewidoczny, natomiast można go dojrzeć w ciemnym polu; widać wtedy jego ruch obrotowy i postępowy w obydwu kierunkach. Zwykłymi barwnikami anilinowymi *Leptospira* barwi się trudno, najlepiej barwnikiem *Giemsy*, po utrwaleniu kwasem osmowym.

Potraktowany metodą srebrzenia według *Fontana*, krętek ten ukazuje się w postaci falistej nitki, układającej się przeważnie w postaci litery C lub S. Drobnoustrój ten nazwany został przez *Noguchiego* *Leptospira icteroides*; w porównaniu z *Lept. icterohaemorrhagiae* jest on nieco drobniejszy.

Hodowlę leptospir otrzymał *Noguchi* zarówno ze krwi ludzi, chorych na g. ż., jako też ze świnek szczepionych. Specjalna pożywka składa się ze środowiska płynnego (1 część surowicy ludzkiej z 3 częściami roztworu *Ringera*) i półstałego (ten sam płyn z 0,3% agaru). Hodowlę trzyma się w długich i wąskich probówkach. Dolną część próbówki zajmuje pożywka półstała, do której, przy 42° C., dodaje się 0,5 ccm. odwłóknionej (*Natr. citr.*) krwi chorego na gor. żółtą. Po ostygnięciu nalewa się na tę warstwę 8 ccm. pożywki płynnej, również z 0,5 ccm. tej samej krwi. Na powierzchnię dodaje się ciekłą warstwę parafiny płynnej. Pewna ilość tlenu jest dla hodowli *L. icteroides* niezbędna. Ciepłota optymalna wynosi 37°, lecz w temperaturze 25°, zarazki pozostają przy życiu dłużej. Środowisko, w którym odbywa się wzrost leptospir, nie zostaje zmienione, a w miejscach, gdzie wzrost jest najbardziej obfity, tworzą się lekkie obłoczki.

Pierwsze dwie hodowle, jakie otrzymał *Noguchi*, wyrosły po 3—5 dniach w temp. 26° — 30° C. i okazały się śmiertelne dla wszystkich szczepionych świnek. Następna hodowla pochodziła ze krwi chorego, pobranej w 5-tym dniu choroby. Posiewy krwi zwierząt laboratoryjnych, zakażonych krwią chorych, również dawały wzrost leptospir *in vitro*.

Wrażliwość różnych świnek na zakażenie hodowlą *L. icteroides* jest bardzo zmienna. Niektóre z nich zabite zostają 0,0001 ccm. hodowli, podczas gdy inne giną dopiero po dawkach 0,01, 0,1, a nawet 1,0 tego samego szczepu. Zdarzają się wśród świnek wyjątkowo wrażliwe zwierzęta, które ulegają zakażeniu hodowlą osłabioną, nieszkodliwą dla innych świnek. Niektóre świnki wykazują dość znaczną odporność, zarówno względem krwi chorych, jako też wobec szczepienia hodowlą (z 74 świnek szczepionych 66 nie zachorowało). Świnki, które po szczepieniu krwią chorych, chorowały nietypowo, z objawami żółtaczk i lekką gorączką, pozostawały odporne wobec jadu pasażowego, który przechodził przez hodowlę *in vitro*. Tak samo świnki, po przebyciu zakażenia hodowlą, nabywają odporności wobec szczepienia ich zawiesiną organów z leptospirami. Zmiany anatomo-

patologiczne w świnkach zakażonych hodowlą *L. icteroides* są identyczne ze zmianami w świnkach, szczepionych krwią chorych na g. ż.

Fakty, dotyczące przesączalności jadu g. ż., o których wspominaliśmy poprzednio, potwierdzone zostały próbami *Noguchiego* nad przesączaniem leptospir. Emulsja wątroby świnki zakażonej, przesączona przez filtry *Berkefelda V i N* i wstrzyknięta śwince, zabija ją po 8-dniowej chorobie. W przesączu oraz we krwi padłej świnki stwierdzano krętki ultramikroskopowo. W niektórych starych hodowlach obecności krętków nie stwierdzono, natomiast znaleziono znaczną ilość drobnych, silnie załamujących światło, ziarenek. Takie hodowle wstrzykiwał *Noguchi* świnkom, z których bardziej wrażliwe chorowały i umierały. We krwi i w organach świnek padłych wykryto krętki. *Noguchi* przypuszcza, że ziarenka te są stadjami rozwojowymi leptospiry. Oczywiście, można tu *Noguchiemu* zarzucić, że w hodowlach tych nie można wyłączyć obecności chociażby nieznacznej ilości pozostałych w nich krętków normalnych.

Podobne zjawisko rozpadu krętków na ziarenka obserwowano również w hodowlach krętka choroby *Weila* (*L. icterohaemorrhagiae*). Istota tych ziarenek była w rozmaity sposób tłumaczona; podczas gdy niektórzy badacze (*Martin i Pettit*) przypisują ziarenkom znaczenie w cyklu rozwojowym krętków, inni znów (między nimi *Gieszczykiewicz*) upatrują w ziarenkach jedynie produkt zwyrodnienia.

Jak wiadomo, podobny spór toczy się wśród licznych badaczy co do innych krętków chorobotwórczych. Tworzenie się analogicznych ziarenek („infections granules“, „spore formes“) obserwowano u *Spironema gallinarum*, *Spir. Duttoni*, *Sp. Obermeiri* oraz *Treponema pallidum*. Badacze angielscy (*Balfour, Breinl, Fantham, Hindle, Leishman*) opisują ziarenka te jako formy rozwojowe krętków, podczas gdy *Prowazek, Gonder i Kleine* zapatrują się na wnioski te bardzo sceptycznie.

Dalszy bieg prac *Noguchiego* nad zarazkiem g. ż. polegał na przeniesieniu *L. icteroides* przez *Stegomyia fasc.* na ludzi oraz na zwierzęta laboratoryjne. W tym celu larwy komarów hodowano w pracowni i wylęgłe z nich samice używano do doświadczeń. Pierwsza serja tych doświadczeń miała na celu przeniesienie zarazka g. ż. z człowieka chorego na świnkę za pośrednictwem *Stegomyia fasciata*. Z 6 prób tego rodzaju tylko jedna wypadła dodatnio, mianowicie, świnka kłasnana przez 8 *Stegomyia*, które 23 dni przedtem ssaly krew chorego na g. ż., w 3-im dniu choroby zachorowała wśród typowych objawów i padła. We krwi i organach jej krętków nie wykryto, lecz zawiesina wątroby, wstrzyknięta śwince zdrowej, zabiła ją w ciągu 7 dni. Inna świnka, ukąszona przez komary, które 5 dni przedtem ssaly krew chorego na gorączkę żółtą, nie zachorowała.

Druuga serja doświadczeń polegała na przenoszeniu zarazka gorączki ze świnki zakażonej na świnkę zdrową. Próby te powiodły się lepiej, gdyż z 7-iu — 3 wypadły dodatnio. Komary okazały się zakażne dla świnek już po 8 dniach ssania krwi świnki chorej. W nerkach świnki padłej wykryto krętki (*L. icteroides*). Komary, które ssaly krew świnki zakażonej a po 10 dniach zostały roztarte i w postaci zawiesiny wstrzyknięte śwince zdrowej, zakaziły świnkę.

Doświadczenia te dowodzą, że przenoszenie zarazka gorączki żółtej z człowieka na świnkę udaje się rzadko i że *Stegomyia* staje się zakaźną dla świnek pręcej po ssaniu krwi świnki chorej, niż po ssaniu krwi człowieka. Różnica polega prawdopodobnie na tem, że komary, ssąc krew świnki, pobierają większą ilość krętków, aniżeli ssąc krew chorego.

Dalsze badania nad g. ż. przeprowadzał *Noguchi* w 1919 w mieście Meridzie (Meksyk), gdzie po 4-letniej przerwie powtórzyły się przypadki g. ż. Na nawrót epidemii złożyło się nagromadzenie *Stegomyia* oraz przybycie elementu obcego — wojsk Stanów Zjednoczonych. W ciągu kilku miesięcy zdarzyło się 100 przypadków, z których 50 z wynikiem śmiertelnym.

*Noguchi* opisuje tylko 2 przypadki, zbadane przez niego. Krwią i zawiesiną organów (nerka, wątroba) szczepiono 6 świnek, z których jedna tylko zachorowała wśród objawów typowych i padła. Zmiany anatomo-patologiczne w tej śwince odpowiadają obrazowi g. ż. Ogółem zużyto w przypadku pierwszym 30 świnek (3 pasażę), z których 4 zachorowały. Jednakowoż w żadnej śwince *Noguchi* leptospir nie wykrył.

Krwiał drugiego chorego szczepiono świnki kilkakrotnie, mianowicie 2-go, 3-go, 5-go, i 7-go dnia choroby. Dwie świnki, szczepione krwią z drugiego dnia choroby, wykazały objawy i zmiany anatomo-patologiczne mało typowe, jednakowoż jedna z 10 świnek, szczepionych ich krwią, zachorowała typowo; w preparatach z nerek, srebrzonych według *Levaditiego*, *Noguchi* wykrył leptospiry. Obraz sekcyjny świnek, padłych wskutek zakażenia *L. icteroides*, przedstawia się według protokołów *Noguchiego* następująco: silna żółtaczką, krwotoki podskórne; płuca zawierają liczne ogniska krwotoczne; wątroba brunatno-żółta z plamami krwawymi, nerki obrzękłe, przekrwione i zwyrodniałe; nadnercza przekrwione; śledziona normalna.

Szczepienie świnek krwią z trzeciego dnia choroby człowieka wywołało zmiany swoiste tylko u jednej świnki, lecz leptospir w niej nie wykryto. Natomiast posiewy krwi tego chorego wykazały wzrost leptospir in vitro.

Próby zakażenia krwią z piątego i siódmego dnia choroby wypadły ujemnie, lecz posiewy krwi in vitro wykazały wzrost leptospir. Ten ostatni wynik znajduje się w sprzeczności z faktem oddawna doświadczalnie ustalonym, że zarazek g. żółtej znika ze krwi 4-ego dnia choroby.

Badania porównawcze nad szczepem *L. icteroides* z Meridy oraz szczepem z Guayaquilu dowiodły identyczności tych krętków. Surowica anti-*icteroides*, przygotowana zapomocą szczepu z Guayaquilu, posiada własności ochronne dla świnek, zakażonych szczepem z Meridy: 0.1 ccm. surowicy odpornościowej chroni świnkę od zakażenia 5.000 minimalnymi dawkami śmiertelnymi szczepu Merida, o ile zastosować je podczas okresu inkubacji. W stosunku do *L. icterohaemorrhagiae* własności ochronne surowicy są bardzo nieznaczne.

Zjawisko *Pfeiffera* z surowicą ozdrowieńców z Meridy i ze szczepem homologicznym oraz ze szczepami z Guayaquilu wypadło dodatnio, natomiast z *L. icterohaemorrhagiae* (szczep amerykański) ujemnie. •Dodać należy, że już poprzednio w Guayaquilu *Noguchi* obserwował w 85% przypadków zjawisko *Pfeiffera* z surowicą ozdrowieńców.

Z doświadczeń tych wynika, że surowica odpornościowa *anti-icteroides* posiada własności ochronne swoiste.

Dalsze szczepy *L. icteroides* wyhodowane zostały przez *Noguchiego* w r. 1920 w Peru. Epidemia g. ż. wybuchła w Peru w połowie r 1919 i trwała przez rok; zarejestrowano 600 przypadków. Śmiertelność nie przekraczała 10%, podczas gdy w Guayaquilu i Merydzie umierało 50% chorych.

Pierwsze próby zakażenia świnek wypadły wszystkie ujemnie; 34 świnki, szczepione krwią 9 chorych na g. ż. z 2-ego i 3-ego dnia choroby, pozostały zdrowe lub też chorowały nietypowo. *Noguchi* zaznacza, że używał on świnek miejscowych; wyniki ujemne tych doświadczeń *Noguchi* przypisuje odporności rasy peruańskiej świnek. Następne próby na świnkach, sprowadzonych z Nowego Jorku, rzeczywiście dowiodły, że odporność świnek względem zarazka g. ż. jest cechą indywidualną i może być właściwością rasową. Na 5 przypadków, badanych przez *Noguchiego*, z 4-ech udało się wyhodować, z 2-ego dnia choroby, *L. icteroides*. Hodowle szczepiono świnkom, z których 50% chorowało; w organach świnek stwierdzono mikroskopowo leptospiry, a temi drogą pasażu zakażano zdrowe świnki. Szczepy, izolowane w Peru, okazały się identycznymi ze szczepami, wyosobnionymi poprzednio w Guayaquilu i Meridzie.

Pod względem zjadliwości szczep z Peru nie różni się od szczepów z Meridy i Guayaquilu; minimalna dawka śmiertelna dla świnek wynosiła 0.0001 zawiesiny nerki świnki zakażonej. Surowica odpornościowa *anti-icteroides* działała ochronnie nawet w tych przypadkach, gdy świnkom szczepiono od 2.000—20.000 dawek śmiertelnych hodowli lub jadu świnek. Podczas, gdy w okresie inkubacji wystarczy wstrzyknąć śwince 0.001 ccm. surowicy odpornościowej, by nie dopuścić do objawów chorobowych, to w okresie gorączkowym ilość surowicy wynosić musi 0.01—0.1 ccm., zaś w okresie żółtaczk 1.0 ccm.

Stosunek *L. icteroides* do *L. icterohaemorrhagiae* *Noguchi* starał się wyjaśnić zapomocą prób odpornościowych, a mianowicie: aglutynacji krętek, zjawiska *Pfeiffera*, odchylenia dopełniacza i sprawdzenia odporności krzyżowej.

Surowice aglutynacyjne *L. icteroides* (3 szczepy) próbowano na ich własności zlepne dla *L. icterohaemorrhagiae* (szczep europejski, japoński oraz 4 amerykańskie). Odczyn zlepnny surowicy *anti-icteroides* występował najsilniej z homologicznymi szczepami *L. icteroides* (+ + + +), podczas gdy próby krzyżowe ze szczepami *L. icterohaemorrhagiae* wypadały przeważnie ujemnie. Jednakże szczep japoński i amerykański zlepiały się z surowicą *anti-icteroides* (+ + do +). Zaznaczyć należy, że te właśnie szczepy pod względem serologicznym są do siebie bardziej zbliżone, niż do szczepów europejskich.

Próby wiązania dopełniacza jeszcze wyraźniej zaznaczają pokrewieństwo szczepów amerykańskich i japońskich krętka choroby *Weila* z *L. icteroides*. Zahamowanie hemolizy wobec surowicy *anti-icterohaemorrhagiae* (dla szczepu amerykańskiego) z *L. icteroides* jako antygenem, występuje w tym samym stopniu (+ +), co wobec surowicy *anti-icteroides* oraz szczepów jej odpowiadających.



Na zasadzie wyników powyższych doświadczeń dochodzimy do wniosku, że istnieją różnice pod względem swoistości serologicznej między *L. icteroides* i *L. icterohaemorrhagiae*, lecz że pokrewieństwo między niektórymi szczepami tych gatunków jest tak znaczne, że ich własności serologiczne nie różnią się zasadniczo.

Dalsze badania nad stosunkiem zarazka choroby *Weila* do *L. icteroides* *Noguchi* przeprowadzał zapomocą uodpornienia biernego i czynnego świnek surowicami odpornościowymi oraz różnemi szczepami leptospir.

Surowice wieloważne anti-*icteroides* chroniły świnki nietylko od zakażenia *L. icteroides*, lecz i do pewnego stopnia od zakażenia *L. icterohaemorrhagiae*. Wśród świnek uodpornionych czynnie zapomocą *L. icteroides* i zakażanych różnemi szczepami *L. icterohaemorrhagiae* część chorowała, podczas gdy inne świnki zachowywały się, w stosunku do szczepu japońskiego oraz amerykańskiego, odpornie. *Noguchi* tłumaczy to zjawisko wrodzoną odpornością niektórych świnek wobec *L. icterohaemorrhagiae*. Argument ten nie jest przekonujący, przeciwnie wynik krzyżowej odporności potwierdza jeszcze bardziej próby *in vitro*.

Wyniki prac *Noguchiego* nad etiologią g. ż. streścić możemy w sposób następujący.

W roku 1918 wykrył *Noguchi* we krwi i wątrobie chorych na gor. żółtą krętka, którego zaliczył do rodzaju *Leptospira*. Tego samego krętka znalazł *Noguchi* również we krwi i w organach świnek, które szczepione były krwią i zawiesiną wątroby ludzi chorych; otrzymał go również w hodowli *in vitro*. Hodowlą *L. icteroides* *Noguchi* zakażał świnki; zmiany anatomo-patologiczne były identyczne z obrazem sekcyjnym świnek, padłych wskutek bezpośredniego zakażenia krwią chorych. Świnki, które wyzdrowiały po zakażeniu krwią chorych, nabywały odporności względem hodowli *L. icteroides*. Krętek znajduje się zazwyczaj we krwi człowieka chorego w tak nieznacznej ilości, że niezawsze jest widoczny bezpośrednio.

Drobnoustrój ten ginie w ciągu 5 min. w temp. 55° C., przenika przez pory filtrów porcelanowych, przenoszony być może przez *Stegomyia fasciata*, po pewnym okresie inkubacji w komarze.

Własności serologiczne szczepów *L. icteroides* oraz kilku szczepów *L. icterohaemorrhagiae* dowodzą o swoistości tych dwóch rodzajów krętek, lecz jednocześnie wskazują na szczególnie bliskie pokrewieństwo między niektórymi odmianami gatunku *icterohaemorrhagiae* z jednej strony, zaś *L. icteroides* z drugiej. Nie jest zatem rzeczą niemożliwą, że niektóre szczepy krętka choroby *Weila* (japoński i amerykański) stanowią odmiany gatunku *icteroides*. W artykule o żółtacze zakaźnej (p. Przegl. Epidem. 1921, I, 55) podkreśliłem różnice zarówno morfologiczne, jako też patogenetyczne, istniejące między szczepami europejskimi oraz japońskimi *L. icterohaemorrhagiae*.

Po bliższem zbadaniu wyników prac *Noguchiego* wykryć można w nich pewne sprzeczności z faktami, do których doszli badacze dawniejsi.

Przedewszystkiem, stwierdzono doświadczalnie, jak wiemy, że zarazek g. ż. znika z krwiobieg człowieka chorych po upływie pierwszych trzech dni choroby. Fakt ten dowiedziony został nietylko drogą bezpośredniego

szczepienia krwi, lecz również zapomocą przenoszenia krwi przez komary. Na tych danych opierają się zasady profilaktyki gorączki żółtej. Z protokółów zaś *Noguchiego* widzimy, że udało mu się wyhodować leptospiry ze krwi chorego w 5-tym dniu choroby. Posiewy krwi chorych w Guayaquilu z 4-go, 5-go i 6-go dnia choroby wykazały wzrost leptospor *in vitro*, a także w świnkach, tą krwią szczepionych (*Noguchi*, 1919).

Drugi punkt, niezgodny z wynikami prac badaczy poprzednich, tyczy się wrażliwości świnek na jad g. ż. Niemal każdy z badaczy próbował wywołać g. ż. u zwierząt laboratoryjnych, lecz bez powodzenia. Dodatnie wyniki zakażenia świnek omawiane są w literaturze jako nieswoiste dla g. ż. Dla tego też panowało przekonanie, że zarazek g. ż. jest chorobotwórczy wyłącznie dla człowieka oraz być może dla niektórych małych człękoksztalnych. Trudno przypuścić, aby wszyscy badacze przeprowadzali badania na świnkach wyjątkowo odpornych, jakimi się okazały np. świnki z Peru, z którymi *Noguchi* również otrzymał wyniki ujemne. *Guiteras* (1921) w swym sprawozdaniu z ekspedycji afrykańskiej zaznacza, że gdyby zwierzęta były tak wrażliwe na g. ż., jak względem *L. icteroides*, to podczas epidemii tej powstawałyby epizootje i zwalczanie g. ż. napotykałoby na trudności nie do przewyciężenia. Według *Guiterasa Lebrede* próbował zakazić świnki jadem g. ż., pochodzącym z 25 przypadków z Yacatanu oraz z 5 chorych z Hawany, lecz wszystkie próby wypadły ujemnie.

Wyniki *Noguchiego* po raz pierwszy potwierdził *Perez Grovas* (1921) w Vera Cruz. Jadem g. ż. *Perez Grovas* zakaził świnki, które chorowały typowo i posiadały zmiany anatomo-patologiczne, opisane przez *Noguchiego*. Autorowi udało się też wyhodować ze świnek zakażonych szczep *L. icteroides*, który przeprowadził przez szereg pasaży. Szczep *L. icteroides*, identyczny ze szczepem *Noguchiego*, wyosobniony został z chorego na g. ż. również przez *Le Blanca* (1921) w Vera Cruz.

Niedawno ogłoszona praca *Hoffmanna* (1922) z Hawany zawiera nader ciekawe dane, dotyczące badań porównawczych nad obrazem anatomo-patologicznym doświadczalnej choroby *Weila* u świnek oraz obrazem sekcyjnym choroby, wywołanej przez *L. icteroides*.

Już w 1921 *Lebrede* dowiódł, że przebieg kliniczny choroby świnek, zakażonych *L. icteroides*, nie różni się od zakażenia *L. icterohaemorrhagiae*. *Hoffmann* zasadniczo potwierdził spostrzeżenia *Lebrede* na podstawie badań histo-patologicznych 300 świnek, zakażonych szczepem *L. icteroides*, wyosobnionym przez *Noguchiego* w Meridzie. Jednocześnie *Hoffmann* badał przebieg choroby świnek, zakażonych *L. icterohaemorrhagiae*, pochodzącej ze szczurów w Hawanie, dzięki czemu mógł obie choroby równolegle kontrolować.

Sekcje świnek, zakażonych *L. icteroides*, wykazywały stale bardzo znaczne uszkodzenia wątroby, bez martwicy i zwyrodnienia. Natomiast zmiany w śledzionie były bardzo znaczne, mianowicie silna fagocytoza erytrocytów (objaw w g. ż. nietypowy). Autor obserwował stale krwotoki we wszystkich organach, szczególnie w przewodzie pokarmowym, płucach i naderczach. Jako objaw szczególnie charakterystyczny w chorobie *Weila*, autor podkreśla ostre zapalenie nerek oraz szkliste wyrodnienie mięśni.

*Hoffmann* dochodzi do wniosku, że obie leptospiry, zarówno *icteroides* (Merida), jako też *icterohaemorrhagiae* (Hawana), wywołują w świnkach identyczne zmiany histo-patologiczne, odpowiadające obrazowi choroby *Weila* u świnek. Na zasadzie tych wyników autor kwestjonuje nawet znaczenie etjologiczne *L. icteroides* w g. ż.

Podczas Zjazdu, zwołanego w końcu r. 1919 w Hawanie, *Lebrede* — uczestnik ekspedycji do Guayaquilu w 1918 — zwrócił uwagę na istniejące niektóre sprzeczności między wynikami badań *Noguchiego* a epidemiologią g. ż. Twierdzi on, że skuteczność szczepień ochronnych, przeprowadzanych w Ameryce środkowej, na którą powołuje się *Noguchi*, nie jest miarodajną w kwestji etjologii g. ż., gdyż jednocześnie prowadzono tam energiczną akcję sanitarną według systemu *Gorgas-Finlay'a*. Inni najwybitniejsi znawcy g. ż., jak *Agramonte* i *Guiteras*, wypowiedzieli się na Zjeździe w tym kierunku, że odkrycie *Noguchiego* nie rozstrzyga etjologii gorączki żółtej.

W przeglądzie historycznym badań nad etjologią g. ż. wymieniłem obserwacje *Stimsona* (1907), który w skrawkach nerki człowieka, zmarłego na g. ż., wykrył metodą srebrzenia krętki, nazwane przez *Stimsona Spirochaeta interrogans*. *Noguchi* (1921), porównyując swoje mikrofotografie *L. icteroides* w tkankach świnek z rysunkami *Stimsona*, dochodzi do wniosku, że podobieństwo między krętkami jest uderzające. Położenie topograficzne krętków *Stimsona* w organach w zupełności odpowiada układowi leptospir.

Womimo, że *Stimson* nie przypisywał roli etjologicznej *Sp. interrogans* w g. ż., jednakowoż *Noguchi* dochodzi do wniosku, że krętek ten winien być nazwany *Leptospira interrogans*, zaś *Stimsona* uważać należy za odkrywcę zarazka g. r.

**Przebieg kliniczny gorączki żółtej** <sup>1)</sup>. Gorączka żółta należy do tej kategorii chorób, które, po stosunkowo krótkotrwałym okresie inkubacji, występują w postaci gwałtownych objawów, trwających czas określony i następnie raptownie ustępujących. Jak było to już wspomniane we wstępie, są to charakterystyczne cechy chorób zakaźnych, wywoływanych przez pierwotniaki, szczególnie zaś krętkowic.

Okres wylegania gorączki żółtej u człowieka waha się od 3—6 dni, co stwierdzono zapomocą zakażeń sztucznych przez komary. Bezpośrednie wstrzyknięcie krwi chorego skraca okres inkubacji u człowieka, zakażonego w ten sposób.

Objawy kliniczne gorączki żółtej są zmienne, w zależności od osobnika i od stadium choroby. Naogół choroba rozpoczyna się bez objawów wstępnych; w niektórych przypadkach odczuwać się dają bóle ogólne, apatja, dreszcze, bóle głowy i mdłości. Objawy te zjawić się mogą na kilka godzin do 3 dni przed atakiem.

Najczęściej osobnik, zupełnie zdrowy, podczas zajęć dziennych lub podczas snu, nagle odczuwa silny ból głowy i krzyża. Ciepłota ciała podnosi

<sup>1)</sup> Na podstawie opisów *Otto* (1913) *Claraca* (1912) i *Azevedro Sodré* (1921).

się do 39,5°—41°, tętno 100—130. Pierwszego już dnia zjawiają się objawy najbardziej uderzające, t. j. silne przekrwienie twarzy i skóry na piersi.

Do tych objawów przyłączają się bóle w okolicy epigastrium, mdłości z wymiotami i zaburzenia żołądkowe. W 3 lub 4-ym dniu choroby następuje krótkotrwały okres przełomowy: ciepłota opada do 37°, tętno staje się wolne (70—80), bóle głowy i krzyża ustają, twarz blednie; samopoczucie chorego poprawia się znacznie. Ten okres przejściowy trwać może tylko w ciągu kilku godzin, czasami brak go zupełnie. Poczynając od 4-go dnia choroby rozpoczyna się okres drugi, którego objawem dominującym jest żółtaczką ogólna. Zaburzenia żołądkowe trwają dalej, wymioty stają się coraz częstsze, zawierają czarną płynną masę, przypominającą wyglądem swym czarną kawę (vomito negro). Zabarwienie skóry i śluzówek może być barwy żółtej aż do brązowo-zielonkawej. Równocześnie występują krwotoki: z jamy ustnej, nosa, jelit, oraz wybroczyny krwawe w skórze. Wątroba, poczynając od 5-go dnia choroby, jest zazwyczaj zwiększona i bolesna na dotyk. Ciepłota utrzymuje się na wysokości 38°. Mocz zawiera znaczną ilość białka. Wszystkie objawy wymienione zaczynają słabnąć 7-go lub 9-go dnia choroby i znikają dnia 12-go; rozpoczyna się okres zdrowienia.

Opis powyższy dotyczy typowego przebiegu ciężkich przypadków gorączki żółtej.

Największe nasilenie występuje między 6-ym a 10-ym dniem choroby, dlatego też na okres ten przypada najwięcej zejść śmiertelnych.

Obraz chorobowy g. żółtej przedstawiony został w formie literackiej przez *Żeromskiego* w „*Popiołach*“, gdzie autor, opisując wyprawę legionów polskich na San-Domingo (1802), przedstawia nieszczęśliwy los żołnierzy, którzy prawie doszczętnie wyginęli wskutek tej choroby. Opis przebiegu g. ż., choć przedstawiony nie przez lekarza, tak ściśle odpowiada obrazowi klinicznemu, że pozwolę sobie przytoczyć go tu dosłownie.

„....Okropne choroby zaścielały pole, a przedewszystkiem straszliwa „*ciotucha*“—żółta febra. Dziwna to była słabość. Jednych zabijała na miejscu, jak piorun, bez żadnych poprzednich oznak, a dla innych była długim, bezlitosnym konaniem. Tak było z przewlekłą chorobą: Żołnierz czuł w marszu, jakoby cios od kuli. Nieraz przysięgały się stare wiarusy, że ich kula przebiła, gdy naokół było cicho, a nieprzyjaciela nigdzie. Zaraz następowało wielkie osłabienie, dochodzące aż do omdleń. Ręce i nogi przeszywał ból, jakby były połamane. Trzęsące zimno. Wszczywał się wielki trzask w czole, potem we wszystkich stawach i w krzyżu. Nieszczęśliwi słyszeli uderzenia pulsu w skroniach, oczy im wysadzało na wierzch i przemieniało w ślup. Straszliwa bojaźń i tęsknota nie daje spocząć biednej myśli. Nigdzie ulgi. Dech pędzi, jakoby ci murzyn piersi zgniótł kolanami. Już po upływie dnia twarz nabrzmiewa i zaczyna czerwienić się, jak u człowieka mocno spitego winem. Wnet skóra żółknie, a białka oczu staną się jak szafran. Na trzeci dzień zdaje się choremu, że już lepiej. Duch mężniejszy, oddech wolniejszy. Ale oto zaczyna ustami, nosem, uszami, a nieraz wprost ze skóry, na szyi, na policzkach ciec krew rzadka, czerwono-ruda. Nogi zimne jak marmur; oczy ze szkła. Pot zimny, czarne womity, gangrena rąk, nóg — i wreszcie już upragniona śmierć.

...Często wprost z balu, z bezcennych kobierców, podjęliśmy trupa-tancerza, wynieśli za ogrody pałacu i zakopali w ziemię.

Pierwszy bataljon, walczący pod Cap-Français uległ zarazie. Z tysiąca ludzi, którzy weszli do miasta, w przeciągu jednego miesiąca zostało osiemdziesięciu kilku. Z 3700 chłopów, którzy wysiedli w San-Domingo, zostało żywych trzysta, a oficerów kilkunastu...." (*Żeromski*, „Popioły“, II, str. 243.)

Uderzającym jest w opowiadaniu starego wiarusa impet, z jakim choroba się rozpoczyna i przebiega, na co zresztą zwracają uwagę wszyscy badacze.

Z objawów chorobowych, żółtaczką ogólną jest zjawiskiem najbardziej stałym; brak żółtaczki zauważono jedynie w przypadkach lekkich, poronnych oraz u dzieci. Najczęściej żółte zabarwienie zjawia się 3-ego lub 4-ego dnia choroby i stopniowo, poczynając od spojówek, pokrywa powierzchnię całego ciała. Przypadki wyjątkowo ciężkie, kończące się szybką śmiercią, pozbawione są niekiedy żółtaczki, lecz zjawia się ona wówczas po śmierci. Ozdrowieńcy pozostają czasami żółci jeszcze przez szereg tygodni. Pochodzenie żółtaczki jest ściśle związane z uszkodzeniem tkanki wątrobowej. Badania histo-patologiczne *Rocha-Limy* wykazały, że zwyrodnienie tkanki wątrobowej jest podłożem, wystarczającym dla powstania żółtaczki, wobec czego wszelkie hipotezy o czynnikach hemolitycznych zdają się być w danym wypadku zbyteczne.

Oprócz żółtaczki, objawem, być może jeszcze bardziej stałym, jest przekrwienie skóry, które najbardziej widoczne staje się na silnie zaczerwienionej i obrzękłej twarzy.

Na podstawie opisu autorów, gorączka żółta niezawsze przebiega według przytoczonego wyżej typu.

W miejscowościach, gdzie występuje ona endemicznie, zdarzają się, przeważnie wśród dzieci tubylców, przypadki poronne, które kończą się wyzdrowieniem po pierwszym okresie choroby. Zdarzają się też przypadki, w których wysypka na ciele maskuje gorączkę żółtą. *Clarac* opisuje przebieg choroby z wysypką typową dla szkarlatyny; z tem połączona była wyraźna angina — obrzmienie i zaczerwienienie migdałków. Na drugi dzień wysypka i angina zniknęły, natomiast twarz się zaczerwieniła; inne objawy odpowiadały gorączce żółtej. Chory ten zmarł w 7-ym dniu choroby. Był to pierwszy przypadek gorączki żółtej na Martynice, który po długiej przerwie zapoczątkował ciężką epidemję. O przypadku tym wzmiankuje dlatego, ponieważ *Miller*, badając jamę ustną chorych i zmarłych na chorobę *Weila*, również znajdował stale obrzmiałe i zaczerwienione migdałki.

*Clarac*, *Simond* i *Gral* obserwowali bardzo często, w początkowym okresie gorączki żółtej, anginę gardła. Podczas powstawania epidemji gorączki żółtej pierwsi chorzy nadsyłani są do szpitali z rozpoznaniem „angina“.

**Śmiertelność.** Na zasadzie danych statystycznych dochodzimy do wniosku, że śmiertelność z g. ż. jest bardzo zmienna i zależy między in-

nemi od szeregu poprzednio wymienionych czynników epidemiologicznych. Podczas niektórych epidemij wymierało 50% Europejczyków w danej miejscowości. Na okrętach ginęło od 30 — 60% załogi. Według statystyki *Bérenger-Féraud* śmiertelność z g. ż., na Wielkich Antylach, podczas epidemii w w. XVIII-ym, sięgała 72%. Według *F. Roux* śmiertelność w Senegalu wynosiła aż 94%.

**Chemoterapia, seroterapia i szczepienia ochronne.** Ze środków chemoterapeutycznych zastosowany został przez *Noguchiego* przedewszystkiem salvarsan. Wobec ujemnych wyników prób leczenia salvarsanem choroby *Weila* można było i tu nie spodziewać się efektów dodatnich. Próby leczenia świnek, zakażonych *L. icteroides*, różnymi dawkami neosalvarsanu i salvarsanu, dowiodły, że istotnie środek ten nie posiada żadnego wpływu na przebieg, ani na wynik choroby (*Noguchi, 1920*). Niektóre zwierzęta, leczone salvarsanem, ginęły nawet wcześniej od zwierząt kontrolnych, według przypuszczenia *Noguchiego*, z powodu uszkodzenia tkanki nerkowej przez salvarsan.

Próby *in vitro* wykazały jednak własności trujące salvarsanu w stosunku do *L. icteroides*; w rozcieńczeniach 1 : 200.000 krętki ginęły w ciągu 18 godzin, pozostawały natomiast żywe w ciągu 1 godz. w rozc. 1 : 1000.

W przeciwstawieniu do działania salvarsanu, surowica końska *anti-icteroides* w dawce 0,0001 ccm., czyli 1 ccm. w rozc. 1 : 10.000, zastrzyknięta jednocześnie z 5.000 minimalnymi dawkami jadu, działa ochronnie. Ta sama surowica nie wywiera szkodliwego wpływu na leptospiry *in vitro* w rozcieńczeniu 1 : 2000. Uszkodzenie krętków *in vitro* następuje dopiero w surowicy odpornościowej 1 : 200.

Zachęcony dobrymi wynikami seroterapii u świnek, *Noguchi* zaczął stosować swoistą surowicę w przypadkach g. ż. u ludzi. Do roku 1921 leczono przez różnych lekarzy 170 przypadków g. ż. zapomocą wieloważnej surowicy *anti-icteroides*. Surowicę tę otrzymano przez wstrzykiwanie koniom do żyły żywych hodowli różnych szczepów *L. icteroides*. Konie znoszą uodpornienie bardzo dobrze, pomimo że zastrzykują im w ciągu kilku miesięcy do 2,5 litra hodowli.

Stosowanie surowicy u ludzi winno się odbywać w możliwie wczesnym okresie choroby, w dawkach od 20 ccm., powtarzając wstrzykiwanie, w razie potrzeby, kilkakrotnie. Seroterapia swoista posiada tu, podobnie jak w chorobie *Weila*, znaczenie pierwszorzędne. Z 95 przypadków, leczonych w 3-im dniu choroby, 8 skończyło się wyzdrowieniem, zaś z leczonych po 3-im dniu choroby, wyzdrowiało na 75 tylko 36, czyli w pierwszej grupie śmiertelność wynosiła 13,6%, zaś w drugiej 52%. Naturalna śmiertelność z g. ż. wynosiła przeciętnie 50%.

Oprócz leczenia swoistego metodą odpornościową *Noguchi* prowadził też na szeroką skalę stosowanie szczepień ochronnych w ogniskach endemicznych. Szczepionkę przygotowywano z mieszaniny zabitych hodowli kilku szczepów *L. icteroides*. Ilość krętków w 1 ccm. wynosiła 2 miljardy. W Guayaquilu, wśród ogólnej liczby mieszkańców 80.000, przypadało śród przypadków g. ż. szczepionych 110/00, podczas gdy śród nieszczepionych 1100/00. W Salvadorze, w 60 zakażonych miejscowościach, 1/4 część lud-

ności była szczepiona ochronnie; wśród szczepionych nikt nie zachorował, podczas gdy pośród nieszczepionych notowano 181 przypadków; z 3000 osób szczepionych dwukrotnie żadna nie zachorowała, zaś z 4000 tysięcy osób szczepionych jednokrotnie zachorowało 5. Statystyka, podana przez *Noguchiego*, nie wykazuje ani jednego przypadku g. ż. na 8000 osób szczepionych, zaś w miejscowościach, gdzie szczepienie nie było przeprowadzane, 700 zachorowań.

**Zmiany anatomo-patologiczne i patogeneza.** Ze szczególną wyrazistością występuje po śmierci żółte zabarwienie skóry, błon śluzowych i organów wewnętrznych. Objaw żółtaczkowy jest tak stały, że, w razie braku jego, rozpoznanie g. ż. może być kwestjonowane (*Dutroulau, Clarac i Simond*). Tkanki i organy, z wyjątkiem gruczołów chłonnych podskórnych i jelitowych, już w pierwszym okresie choroby ulegają silnemu zwyrodnieniu tłuszczowemu. W zależności od stopnia tego zwyrodnienia działalność wątroby i nerek staje się słabszą lub też zupełnie się wstrzymuje. Zastój, szczególnie w narządach, należących do układu żyły wrotnej, krwotoki, zwyrodnienie mięśnia sercowego, wątroby, nerek i naczyń włoskowatych, stanowią zespół zjawisk, typowych dla grupy chorób posocznicy krwotocznej. Analogiczne zmiany: podskórne wylewy krwi, krwawe wybroczyny w osierdziu, w wątrobie i w nerkach, również charakteryzują chorobę *Weila*.

Patogeneza g. żółtej sprowadza się więc do posocznicy, trwającej w ciągu pierwszych trzech dni, poczem zarazek znika z krwiobiegu, umiejscawiając się przeważnie w narządach mięszzowych, a więc w wątrobie i w nerkach. Analogiczne zjawisko obserwujemy znowu w przebiegu żółtaczkowej, z tą tylko różnicą, że zarazek *Leptospira icterohaemorrhagiae* krąży we krwi w ciągu dni siedmiu. Umiejscowienie się zarazków w wątrobie charakteryzuje, jak wiemy, nie tylko te dwa gatunki leptospir, lecz krętki chorobotwórcze wogóle. Raptowne znikanie zarazka ze krwi, powtarzające się we wszystkich przypadkach g. ż. stale po 3-im dniu, nasuwa przypuszczenie, że z okresem tym związany jest cykl ewolucyjny krętków, którego pierwsza faza odbywa się w krwiobiegu, zaś dalszy rozwój w narządach wewnętrznych.

Wątroba i nerki, jako narządy najsilniej przez krętki g. ż. napastowane, oraz jako filtry, przez które sączą się toksyny, wytwarzane w przebiegu choroby, ulegają najbardziej typowym i zarazem ciężkim zmianom.

Prawie stale, z wyjątkiem tych przypadków, gdy śmierć następuje w 3—4 dniu choroby, wątroba zmarłych na g. ż. jest zwiększona i zabarwiona na żółto w różnych odcieniach; pod względem barwy przypomina ono wątrobę w chorobie *Frerichsa*. W chorobie *Weila* natomiast wątroba zachowuje stale swą barwę normalną (*Martin i Pettif*), lecz najczęściej bywa zwiększona. Na powierzchni i na przekroju wątroby w tych trzech chorobach widzimy wybroczyny i plamy krwotoczne.

Badanie histologiczne wątroby gorączki żółtej wskazuje, że zmiany dotyczą wszystkich elementów składowych tego narządu. Daleko sięgające zniszczenie wątroby polega przedewszystkiem na zatraceniu normalnego układu komórek; są one jakby zmacerowane i chaotycznie rozsypane. W drugim okresie gorączki żółtej występuje zwyrodnienie tłuszczowe

i martwica komórek wątrobowych; w przypadkach o przebiegu wolnym wątroba przekształca się w „kawał tłuszczu“ (*Sodré*). Ten obraz zniszczenia tkanki wątrobowej przypomina bardzo zmiany patologiczne „żółtego zaniku wątroby“, gdzie pod wpływem zwyrodnienia tłuszczowego oraz martwicy, z komórek wątrobowych pozostają jedynie resztki jąder. Zasadnicza różnica między obrazem histologicznym tych dwóch chorób polega na tem, że zwyrodniałe komórki wątrobowe w chorobie *Frerichsa* zachowują swój pierwotny układ (*Garnier i Reilly*), podczas gdy w g. ż. następuje przewrót w architektonicznej strukturze wątroby (*Clarac*). Pod tym względem zmiany histologiczne wątroby w g. ż. przypominają zmiany, jakie zachodzą w wątrobie pod wpływem *L. icterohaemorrhagiae*. Pomimo, że komórki wątroby w chorobie *Weila* podlegają zmianom tłuszczowym w słabym tylko stopniu, jednakowoż układ ich jest całkowicie zmieniony, jak się wyrażają *Martin i Pettit* (1919) „l'architecture du lobule est bouleversée“...

W sprawie patogenezy żółtaczki w przebiegu g. ż. zdania badaczy są podzielone. *Sodré i Couto* przypuszczają, że wskutek zwyrodnienia komórek wątroby wytwarzanie żółci jest wstrzymane, z drugiej zaś strony wskutek zahamowania czynności wątroby z hemoglobiny powstają barwniki żółciowe. Zaznaczają oni wyraźnie, że żółtaczka w gorączce żółtej jest krwiopochodna. Pogląd ten poparty został przez *Marchoux, Salimbeniego i Simonda*.

Badania histopatologiczne *Rocha-Limy* dowiodły, że wskutek martwicy komórek wątroby powstają połączenia między kanalikami żółciowymi oraz otaczającymi je naczyniami chłonnymi, a co za tem idzie następuje wchłanianie żółci i żółtaczka. Wyniki badań *Rocha-Limy* potwierdzone zostały przez *Eppingera*, który spostrzegł analogiczne zmiany w wątrobie zmarłych na chorobę *Weila* oraz w przypadkach t. zw. „icterus catarrhalis“.

W tych trzech chorobach ulega wszędzie w różnym stopniu zniszczeniu miąższ wątroby, wytwarza się połączenie między kanalikami żółciowymi oraz naczyniami chłonnymi, przyczem przerwy w ściankach kanalików żółciowych powstają z zewnątrz, odwrotnie jak w przypadkach żółtaczki zastoinowej, gdzie tworzą się od wnętrza.

Ze wszystkich organów najmniejszym zmianom ulega śledziona, która zazwyczaj zachowuje wielkość normalną. Według *Sodré* zauważyć można niekiedy przekrwienie, uszkodzenie śródbłonna naczyń oraz ogniska krwotoczne. Te stosunkowo nieznaczne zmiany patologiczne w śledzionie wskazują, że udział tego organu w zakażeniu ogólnem jest niewielki; świadczyć to mogłoby jednocześnie przeciwko teorii o przetwarzaniu się bezpośrednim z hemoglobiny barwników żółciowych.

Nerki zmarłych na g. ż. są nieco zwiększone, przekrwione, barwy żółtawej (*Sodré*). Obraz histologiczny wykazuje przedewszystkiem tłuszczowe zwyrodnienie nabłonka kanalików moczowych, które najbardziej jest zaznaczone w istocie korowej, daje się też zauważyć w pętłach *Henlego* oraz w kanalikach wyprowadzających (*Otto*). Często kanaliki wypełnione są wałeczkami ziarnistymi, czasami krwią. Zmiany w kłębkach nie należą widocznie do stałych, gdyż *Sodré* uważa, że kłębki pozostają nietknięte, podczas gdy *Otto* opisuje w nich zjawiska zapalne. Widzimy więc, że zwy-



rodnienie dotyczy przede wszystkim mięszu nerek, do czego przyłączyć się może zapalenie kłębków.

Najbardziej stałe i charakterystyczne zmiany zachodzą w narządach trawienia. Żołądek, najczęściej rozszerzony, zawiera stale ciecz gęstą i czarną, krew ze śluzem. Śluzówka żołądka jest obrzmiała, silnie przekrwiona, z wybroczynami krwawymi. To samo tyczy się śluzówki jelit, gdzie oprócz tego występuje tłuszczowe zwyrodnienie komórek gruczołowych (*Sodré, Couto, Havelburg*).

**Profilaktyka.** Walka z g. ż. opiera się na danych epidemjologicznych, zdobytych dzięki pracom doświadczalnym całego szeregu badaczy.

W stosowaniu środków ochronnych i zaradczych kierować się musimy dwiema zasadami, mianowicie, że jad g. ż. w naturze przebywa wyłącznie w komarze *Stegomyia* oraz w człowieku chorym. Ponieważ przeniesienie zarazka g. ż. z człowieka chorego na zdrowego odbyć się może jedynie przez pośrednictwo komara, przeto celem przerwania łańcucha epidemicznego wystarcza usunięcie jednego z czynników (człowieka chorego lub komara). Widzimy, że zwalczanie g. ż. opiera się na podstawach analogicznych do zasad zwalczania zimnicy. Różnica wiązać się może jedynie z tem, że w g. ż. człowiek po upływie 3 dni staje się nieszkodliwym. O ile więc chory będzie izolowany od komarów w ciągu tego pierwszego okresu, przestaje być źródłem zarazy dla ludzi zdrowych. W tym celu umieszcza się chorego w oddzielnym pokoju, szczelnie zabezpieczonym zapomocą siatek od dostępu komarów. W tych miejscowościach podzwrotnikowych, gdzie panuje stale g. ż., szpitale posiadają specjalnie urządzone kabiny, kryte ze wszystkich stron gęstą siatką. Chorzy przebywają w ten sposób izolowani do piątego dnia choroby.

Zwalczanie gorączki żółtej, w porównaniu z profilaktyką zimnicy, jest o tyle łatwiejsze, że zabezpieczenia chorego od komarów, ze względu na długotrwały przebieg zimnicy, praktycznie przeprowadzić nie można, podczas gdy izolacja chorego na gorączkę żółtą może być stosowana. Do roku 1919 wyżej wymieniony sposób postępowania z chorymi na gorączkę żółtą był jedynym środkiem w stosunku do ludzi. Dzięki ostatnim zdobyczom *Noguchiego* posiadamy obecnie środek profilaktyczny (o wiele potężniejszy niż chinina w zwalczaniu zimnicy), mianowicie szczepionkę z *L. icteroides*. Wyniki stosowania tej szczepionki przez *Noguchiego* i innych badaczy, podane poprzednio, w każdym razie są bardzo zachęcające. Niezależnie od masowego uodpornienia ludzi, od izolacji chorych, akcja sanitarna winna dążyć do systematycznego niszczenia komarów *Stegomyia*. Oczywiście nikomu nie udało się doprowadzić do zupełnego wyniszczenia komarów. Redukcja liczby komarów poniżej t. zw. „point épidémigène“, o którym wspomnieliśmy poprzednio, doprowadzić może jednak do wygaśnięcia epidemji.

Najprawdopodobniej znaczną rolę w zjawisku tem odgrywa osłabienie jadu gorączki żółtej, wskutek rzadszego przeszczepiania go przy zmniejszonej ilości komarów i chorych. Prawdopodobnie to osłabienie zjadliwości zarazka, wraz z uodpornieniem ludności tubylczej, doprowadziło na zachodnim wybrzeżu Afryki do zupełnego wygaśnięcia gorączki żółtej.

Walka ze *Stegomyia* opiera się na niszczeniu komarów dorosłych oraz ich młodego pokolenia. Tryb życia dorosłej *Stegomyia*, mianowicie jej masowe przebywanie w mieszkaniach, znacznie ułatwia akcję. Oprócz spalania siarki w mieszkaniach, *Clarac i Simond* zalecają niszczenie komarów za pomocą dymu tytoniowego. W niszczeniu larw komarów pierwszorzędne znaczenie ma osuszanie terenów wilgotnych, drenaż bagien i wód stojących oraz polewanie naftą powierzchni tych zbiorowisk wody, których osuszanie nie jest możliwe.

W zarysie ogólnym organizacja walki z g. ż. w przebiegu epidemji odbywa się według *Clarac i Simond* na zasadach następujących. Personel sanitarno-techniczny składa się ogółem ze 100 osób na 30.000 mieszkańców. Na czele stoi kierownik lekarski, któremu podlega kilku lekarzy-szefów sekcji oddziału. Do oddziału należy inżynier wraz z niższym personelem technicznym. Cały oddział podzielony zostaje na poszczególne sekcje, z których każdej powierza się odrębne czynności. Jedna sekcja zajmuje się wyszukiwaniem chorych, ich transportem do szpitali, izolacją w mieszkaniach pod siatką. Sekcja druga niszczy larwy komarów w miejscowości zakażonej oraz w okolicy ją otaczającej. Trzecia sekcja prowadzi prace asanizacyjne, kontrolując zbiorniki wody stojącej, przeprowadzając drenaże, rowy i t. p. Wreszcie czwarta niszczy komary dorosłe i kontroluje okręty, przybywające do portu.

Najważniejszą zasadę w tego rodzaju akcji jest sprężystość działania oraz jednoczesne przeprowadzenie wszystkich wymienionych środków zaradczych.

Jako przykład realny, przytoczę tu w skróceniu sprawozdanie *Connora*, dyrektora Międzynarodowego Urzędu Zdrowia Republiki Equadoru z czerwca 1920.

Gorączka żółta panowała w Equadorze endemicznie od r. 1842, przy czem podczas jednej epidemji w Guayaquilu wyginęła połowa ludności miasta. Zorganizowana przez *Connora* walka z g. ż. polegała na zastosowaniu wszystkich wymienionych środków zaradczych, przy czem szczególną uwagę zwrócono na niszczenie larw *Stegomyia*. Zapomocą hermetycznego zamknięcia zabezpieczono od komarów kilkadziesiąt tysięcy zbiorników wody, które zasilają miasto. Od chwili zastosowania tego sposobu liczba zachorowań na g. ż. zaczęła opadać. Miasto Guayaquil podzielono na 10 okręgów sanitarnych, w których obrębie co tydzień odbywał się przegląd sanitarny każdego domu.

Ludność Equadoru, która znacznie cierpiała wskutek g. ż., zrozumiała celowość i korzyść tej akcji, gorliwie pomagając jej kierownikom.

Dzięki doskonałej organizacji i współdziałaniu ludności, osiągnięto tak niezwykły rezultat, że od maja r. 1919 nie notowano ani jednego zachorowania na g. ż.

Na zasadzie danych statystycznych angielskiego Ministerstwa Zdrowia Publicznego (1920) oraz sprawozdania Fundacji *Rockefellera* (1920), dochodzimy do wniosku, że nasilenie gorączki żółtej podczas wojny ostatniej znacznie opadło. Zaznaczyć można było jedynie nieznacznie stosunkowo epidemie w ogniskach pierwotnych, Meksyku i Peru. Ilość przypadków

w Ameryce środkowej w ciągu lat 1915—1920 wynosiła ogółem około 1000 ze śmiertelnością dochodzącą do 60%.

W ciągu tego okresu na wybrzeżu zachodnio-afrykańskim notowano 86 zachorowań, oprócz tego w Kongo Belgijskim wybuchła epidemia w r. 1917, którą wkrótce opanowano.

Wyniki, uzyskane dzięki olbrzymiemu nakładowi sił i środków materialnych przez Amerykanów, którzy doprowadzili do zupełnego wygaśnięcia gorączki żółtej w wielu ośrodkach, gdzie panowała ona endemicznie od wielu stuleci (Hawana, przesmyk Panamski, Rio de Janeiro), wskazują, że walka z tą chorobą nie jest beznadziejna.

## PIŚMIENNICTWO

Spis ten obejmuje prace z lat ostatnich. Dawniejszą literaturę podaje *Otto* (1913) oraz *Clarac i Simond* (1912).

1. Bruce Low R. Yellow Fever. Annual Report of the Chief Medical Officer 1919/20. Ministry of Health London, 1920, 354.
2. Carter H. R. The mechanism of the spontaneous elimination of Yellow Fever from endemic centres. (Ref. Trop. Dis. Bull. 1921, 17, 384).
3. Clarac et Simond. Fièvre Jaune. Traité pratique de Pathologie Exotique. 1912, III, 21—176. Paris.
4. Connor M. E. Yellow Fever control in Ecuador. Journ. Amer. Med. Assoc. 1920, 74, 550, 75, 1184.
5. Eppinger H. Allgemeine und Pathologie des Icterus. Kraus-Brugsch, Pathologie u. Therapie. VI, 2, 98.
6. Garnier M. et Reilly J. Les ictères graves primitifs. Presse Med. 1919. № 64.
7. Gorgas, Carter & Lyster. Yellow Fever: Its distribution and Control 1920. (Ref. Trop. Dis. Bull. 1921, 17, 384).
8. Guiteras Juan. Observations on Yellow Fever, in a recent visit to Africa. (Ref. Bull. Inst. Pasteur 1921, 19, 401).
9. Hoffmann W. H. Ueber die Organveraenderungen bei der experimentellen Infektion mit *Leptospira icteroides*. (Arch. f. Schiffs—u. Tropen Hygiene. 1922, 26, 66).
10. Martin L. et Pettit A. La spirochétose ictérohémorragique. Paris, 1919, Masson, p. 284.
11. Noguchi H. Etiology of Yellow Fever (I, II, III). The Journ. of experim. Medicine. (1919, 29, 547, 565, 585).
12. Noguchi H. Etiology of Yellow Fever (IV, V, VI). The Journ. of experim. Medicine. (1919, 30, 1).
13. Noguchi H. Etiology of Yellow Fever. (VII, VIII, IX). The Journ. of exper. Med. 1919. 30, 87, 95, 401.
14. Noguchi H. Etiology of Yellow Fever (X, XI). The Journ. of experim. Medicine. (1920, 31, 135, 159).
15. Noguchi H. Etiology of Yellow Fever (XII). The Journ. of experim. Medicine. 1920, 32, 381.

16. Noguchi H. and Kligler I. Experimental studies on Yellow Fever occurring in Merida, Yucatan. The Journ. of experim. Medicine. 1920, 32, 601, 627.
  17. Noguchi H. and Kligler I. Experimental studies on Yellow Fever occurring in northern Peru. The Journ. of experim. Med. 1921, 33, 239, 253.
  18. Noguchi H. Recent experimental Studies on Yellow Fever. Amer. Journ. of Hygiene. Baltimore. 1921, I, 118.
  19. Noguchi H. Prophylaxis and serum therapy of Yellow Fever. The Journ. of Amer. Med. Assoc. 1921, 77, 181.
  20. Noguchi H. Researches on Yellow Fever. The Lancet. 1922. I, 1185.
  21. Otto M. Gelbfieber. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Kolle—Wassermann. 1913. VIII. 523.
  22. Perez Grovas P. Experimental transmission of Yellow Fever Journ. Amer. Med. Assoc. 1921, 76, 362.
  23. Rocha-Lima H. Zur pathologisch.-anatomischen Diagnose des Gelbfiebers. Arch. f. Schiffs u. Tropenhyg. 1912, Beiheft I, 192.
  24. Rocha-Lima H. Gelbfiebergruppe und verwandte Krankheiten. Handbuch der pathogenen Protozoen von Prowazek—Nöller. 1920, II, 780, 980.
  25. Rockefeller Foundation. Annual Report 1920, p. 87. New York.
  26. Schilling-Torgau. Zur Frage des Gelbfiebereerregers Arch. f. Sch. u. Tropenhygiene. 1912. 16, 376.
  27. Sodré Azevedo. La fièvre jaune. Nouveau traité de Médecine. Paris. Masson. 1921, III, 313.
-

## REFERATY.

C. Prausnitz i H. Kuestner. Studja nad nadwrażliwością. (Studien über die Überempfindlichkeit). *Centralb. f. Bakter.* 1921. T. 86. str. 160—169.

Obaj autorzy cierpią na idjosynkrazję: pierwszy względem pyłku nasiennego kwiatów (gorączka sienna), drugi względem gotowanego mięsa ryb kościstych; surowe mięso, narządy wewnętrzne ryb, ikra i t. p. nie działają wcale; mięso ryb chrząstkowych działa znacznie słabiej. Po spożyciu najmniejszej ilości mięsa ryb kościstych następuje swędzenie skóry w różnych okolicach ciała, obrzęk i zaczerwienienie spojówek, wzmożenie sekrecji błony śluzowej dróg oddechowych, kichanie, kaszel, chrypka aż do bezgłosu i duszność. Potem skóra na całym ciele, a zwłaszcza na twarzy, ulega przekrwieniu i pokrywa się bąblami pokrzywki, wypukłymi, mocno swędzącymi, o średnicy 1—2 ctm., zlewającymi się pomiędzy sobą. Po dwóch godzinach występuje gwałtowny ślinotok i wymioty, poczem chory zaczyna powoli wracać do normy. Ciepłota, serce i nerki normalne. Napad trwa do 12 godzin i ustępuje wśród objawów osłabienia ogólnego. Po napadzie wydzielanie moczu jest zmniejszone i występuje zaparcie stolca. Idjosynkrazja jest tak wielka, że na wargach występują bąble lokalne po dotknięciu ich klejem rybim. Wpływy psychiczne nie grają żadnej roli: pacjent dostał raz napadu po spożyciu rzekomo mięsnej potrawy, która w rzeczywistości była rybą; innym razem napad wywołała pietruszka, posiekana na desce, użytej poprzednio do przyrządzenia kanapek z ryby. Autorzy wzięli do swoich badań 10% wyciąg z mięsa rybiego na wodzie przekrojonej wyjałowiony w autoklawie. Wyciąg ten na spojówkę nie działa wcale, natomiast 0,1 ccm. zastrzyknięta śródskórnice wywołuje bąble mocno swędzące, które po 10 min. mają do 3 cctm. średnicy, są wypukłe i otoczone jaskrawo czerwoną obwódką. Po 20 min. do objawów miejscowych przyłączają się ogólne, trwające po kilka godzin. Atropina (0,001) usuwa objawy ze strony dróg oddechowych, suprarenina (0,0005) usuwa pokrzywkę. Objawy miejscowe ustępują po 48 godz. Jeszcze rozcieńczenie 0:1000, t. j. 0,00001 mięsa, wywołuje wyraźny odczyn. Wyciąg przyrządzony na zimno nie działa wcale; niezbędne jest ogrzanie co najmniej do 60°. Idjosynkrazja ta różni się od idjosynkrazji na pyłek nasienny kwiatów o tyle, że ten ostatni działa nie tylko śródskórnice (0,1 cctm. 1% roztworu specjalnego ciała białkowego, które Dunbar otrzymał z pyłku żytniego), ale i na spojówkę (w roztworze 2000 razy słabszym); bąble na skórze dochodzą do 45 m.  $\times$  23 m.; obrzęk twarzy,

duszność i kaszel trwają przez kilka dni. Substancja czynna mięsa rybiego nie rozpuszcza się w alkoholu; natomiast osad powstały po ekstrakcji działa w dawce 35.10<sup>-5</sup>. Substancja czynna ginie pod działaniem kwasów, natomiast ług 3%, trypsyna i pepsyna nie niszczą jej. Wyciągi z narządów wewnętrznych ryby, ikra, surowica krwi zachowują się obojętnie. Mięso wieloryba nie działa również.

Badanie surowicy krwi pacjenta nie wykryło żadnych przeciwciał. Surowica nie posiada zdolności zobojętniania wyciągu podczas iniekcji śródskórnej. Nie udało się również wywołać anafilaksji biernej u morskiej świnki. Natomiast u człowieka zdrowego wystąpił wyraźny odczyn miejscowy, gdy wstrzyknięto śródskórnie w jednym i tem samym miejscu z początku surowicę chorego, a po upływie 24 godz. wyciąg z mięsa rybiego. Metoda ta zasługuje na zastosowanie w innych przypadkach idjosynkrazji, chociaż zawiodła autorów względem tuberkuliny i w przypadku nadwrażliwości na surowicę końską oraz w gorączce siennej. Próby zapobiegania napadowi za pomocą szczepionki dały częściowo wynik dodatni, zauważono bowiem, że po kilku tygodniach prób, robionych na jednym i tem samym przedramieniu, bąble zmniejszyły się wyraźnie, gdy tymczasem na drugim przedramieniu wystąpiły w wielkości początkowej. Świadczy to o niewątpliwem uodpornieniu miejscowem.

Dr. Z. Szymanowski.

**W. Fieber.** O powstawaniu indolu i o odczynach indolowych oraz przyczynki do znajomości bakterij nie wytwarzających indolu. (Beiträge zur Frage der Indolbildung und der Indolreaktionen, sowie zur Kenntnis des Verhaltens indolnegativer Bakterien). *Centrbl. f. Bakter. Origin.* 1921 **LXXXVII.** 154 — 277.

Na wstępie autor konstatuje rozbieżność w wynikach pomiędzy odczynami *Salkowskiego* i *Ehrlicha*: pierwszy wykazuje często obecność indolu tam, gdzie drugi nie wykrywa go wcale, np. w hodowlach prątka duru brzuszego. Autor posługuje się pożywką syntentyczną, zawierającą tryptofan jako jedyną substancję macierzystą indolu. Hodowla *b. coli matabile* i odmienia dały wybitnie dodatni odczyn podług *Salkowskiego*, natomiast odczynnik *Ehrlicha* nie wykrył ani śladu indolu. Autor wnosi przeto, że ciało reagujące z odczynnikiem *Salkowskiego* nie może być indolem. W dalszym ciągu autor zestawia i omawia krytycznie 5 rodzajów odczynu indolowego: *Ehrlicha* (aldehyd paradwumetylo-amidobenzolowy), *Salkowskiego* (azotyn potasowy w hodowli zakwaszonej), *de Graafa* (1,4—β naftochinon i dwusiarkan potasu), *Legala-Weyla* (nitroprussydek sodu) i odczyn wanilinowy. Wszystkie te metody zostały wypróbowane zarówno z indolem, jak i z szeregiem syntentycznych produktów podstawienia w pozycji α i β lub w obu razem. Okazało się, że 1) reakcja *Ehrlicha*, *de Graffa* i wanilinowa wymagają wolnego węgla β, obecność grupy metylowej α nie stanowi przeszkody. 2) reakcje *Salkowskiego* i *Legala-Weyla* wymagają wolnego węgla α; nadto próba *Legala-Weyla* wymaga wolnego węgla β, natomiast reakcja *Salkowskiego* udaje się w obecności rodnika kwasu octowego lub piroglikuronono-

wego w pozycji  $\beta$ . Reakcja *Legala-Weyla* jest najbardziej wymagająca i ma tę wadę, że potrzeba do niej aż trzech składników, reakcja *de Graafa* wymaga destylacji, reakcja wanilinowa nie daje dość wyraźnego zabarwienia. Pozostają więc do wyboru próba *Ehrlicha* i znacznie mniej od niej wymagająca próba *Salkowskiego*; pierwsza wykrywa tylko indol, druga oprócz niego także szereg pochodnych. To tłumaczy całkowicie różnice, otrzymywane z hodowlami rozmaitych szczepów. Autor zastanawia się w dalszym ciągu nad charakterem ciała, powstającego z tryptofanu, które daje odczyn *Salkowskiego*, a które nie jest indolem, gdyż nie daje odczynu *Ehrlicha*. Na drodze bardzo subtelnej analizy chemicznej określa je jako kwas indolowo-octowy. Prawie wszystkie bakterje, nie wytwarzające indolu, produkują kwas indolowo-octowy z tryptofanu: jedne w mniejszym stopniu (dur rzekomy A), inne w większym (czerwonka *Shiga-Kruse*). W hodowlach takich próba *Salkowskiego* jest dodatnia, a próba *Ehrlicha* — ujemna. Fakt ten tłumaczy dostatecznie różnice charakterystyki poszczególnych gatunków bakteryj w redakcji rozmaitych autorów. Autor przeprowadził również badania z pożywką, w której zastąpił tryptofan przez  $\alpha$ -metyltryptofan. Próba *Salkowskiego* wypadła tu ujemnie (patrz wyżej). Ciekawą jest bardzo rzeczą, jak rozmaite bakterje rozszczepiają tryptofan. Zdaniem autora istota różnicy pomiędzy bakterjami wytwarzającymi a nie wytwarzającymi indolu polega na ich stosunku do łańcucha bocznego (alaniny): pierwsze odszczepiają cały węgiel w nim zawarty, a drugie tylko część. Fakt ten znajduje poparcie w zjawisku następującem: dodając do pożywki inne źródło węgla łatwo przyswajalnego można pozbawić bakterje zdolności wytwarzania indolu. Do doświadczeń takich nadaje się zwłaszcza cukier. Bakterje, wytwarzające zwykle indol, dają na takiej pożywce odczyn *Salkowskiego*, bakterje, nie wytwarzające zwykle indolu, nie zmieniają swego zachowania. Z wniosków podanych przez autora na zakończenie, zasługuje na szczególną uwagę co następuje: 1) Wszystkie bakterje rozszczepiają tryptofan, tworząc zeń prawdopodobnie kwas indolowodotowy, jako pierwszy etap rozkładu. Bakterje, nie produkujące indolu, zatrzymują się w tem miejscu. Bakterje, wytwarzające indol, produkują go przez rozszczepienie kwasu indolowo-octowego. Jest to drugi etap reakcji. 2) Odczyn *Salkowskiego* nie nadaje się do różniczkowania bakteryj; do tego celu służy tylko odczyn *Ehrlicha* (aldehyd p-dwumetylo benzolowy 5 gr. rozpuszczony w 50 ccm. wysokoku 96% z dodatkiem 50 ccm. stężonego kwasu solnego; we flaszkiach z korkiem szklanym trzyma się dość długo). Jako podłoże nadaje się zwłaszcza buljon trypsynowy, rozcieńczony 3 częściami fizjol. rozc. soli. Oto przepis: 1 litr buljonu zwykłego słabo alkalicznego (7 ccm. sody norm.) zadaje się 0,2 gr. trypsyny *Grüblera* i pozostawia się z chloroformem i toluolem na 24 — 48 godz. w cieplarni, poczem sączy się przez bibułę. 3) Bakterje wytwarzające indol barwią się ujemnie metodą *Grama*.

Dr. Z. Szymanowski.

E. Burow. Badania porównawcze zdolności fermentacyjnej prątków rzekomodurowych A i B oraz prętka okrężnicowego. (Vergleichende Untersuchungen über die fermentativen Leistungen der Bakterien Paratyphi A und B Sowie des *Bacterium coli commune*). Cntrlbl. f. Bakter. etc. Origin. 1921. T. 86. Zesz. 7/8 str. 517 — 564.

Praca zawiera szereg cennych szczegółów natury metodologicznej. Autor rozważa, czy różnice zdolności fermentacyjnej prątków podanych w tytule zależą od braku pewnej kategorii fermentów, czy też od szybkości wzrostu i obumierania. Autor odróżnia, wraz z *Rubnerem*, dwa momenty w procesie życiowym wszelkich tworów żywych, a więc i bakteryj: odżywianie czyli wzrost i dysymilację czyli przeróbkę materji. Oba te procesy mogą mieć źródło wspólne i wówczas mamy do czynienia z tworem monotroficznym, albo też źródła są różne i wtedy twór należy do kategorii ditroficznych. Wzrost bakterji wymaga koniecznie związków azotowych, przeróbka odbywa się przeważnie kosztem związków bezazotowych. Prątki rzekomodurowe i okrężnicowy należą niewątpliwie do kategorii drugiej. Zdolność ich do przerabiania z jednej strony ciał białkowych, a z drugiej wodzianów węgla, nie jest jednakowa. Autor rozróżnia typ proteofilowy i glukozofilowy, chociaż oba te procesy zachodzą obok siebie w różnym stopniu natężenia. Rozszczepienie białka prowadzi do alkalizacji, przeróbka wodzianów węgla do zakwaszenia podłoża. Fermentacja pod wpływem bakterji proteofilowych musi być słabsza niż pod wpływem glukozofilowych, chociaż z tego nie wynika bynajmniej brak u pierwszych jakichkolwiek czynników. Z drugiej strony bakterje proteofilowe muszą być trwalsze od glukozofilowych, gdyż łatwiej zubożniają kwasy hamujące ich rozrost. Zdaniem autora prątek Para A jest bardziej proteofilowy od Para B i okrężnicowego, ale nie różni się od tamtych ani powolniejszym wzrostem ani brakiem jakichkolwiek fermentów. Badania oparte są na obliczeniu ilości bakterji w hodowli płynnej, na analizie jakościowej produktów fermentacji i na oznaczaniu całkowitej kwasoty hodowli. Autor wysiewał zawsze te same ilości bakterji w 300 ccm. 1% roztworu peptonu Wittego z dodatkiem 0,5% cukru gronowego i 0,5% soli kuchennej. Do liczenia autor posługiwał się zarówno metodą płytkową (obliczanie kolonii po 48 godz.) jak i liczeniem bezpośrednio w komorze *Thoma-Zeissa* po odpowiednim rozcieńczeniu hodowli. Pierwsza metoda daje cyfry za małe, gdyż nie wszystkie bakterje żywe i rozszczepiające cukier w hodowli płynnej są zdolne do rozwoju po przesianiu na płytkę. Druga metoda daje cyfry zbyt wysokie, gdyż oblicza się bakterje martwe, które się jeszcze nie rozpadły, na równi z żywymi. Metodą płytkową autor ocenia energję wzrostu, metodą komorową energję fermentacyjną. Wprowadza nadto pojęcie szybkości podziału, t. j. czasu podwajania się liczby bakterji w jednostce objętości. Autor rozumuje tu w sposób następujący. Ilość bakterji liczona jest co 6 godzin. Za podstawę przyjmuje ilość, otrzymaną metodą płytkową. Przyrost w ciągu 6 godzin oznacza z różnicy dwu obliczeń metodą komorową. Przyrost ten jest  $2^n$  razy większy od ilości podstawowej. Stąd łatwo obliczyć wielkość  $n$ , która jest właściwą miarą energii wzrostu. Miarą energii fermentacyjnej jest ilość kwasu, wyprodukowana przez 10 milionów bakterji w jednostce czasu. Wiel-



kość tą uzyskuje autor zapomocą całkowania, uwzględniając zarówno przyrost kwasoty, jak i przyrost bakteryj. Doświadczenia wszystkie zrobione są podwójnie; wielki nacisk kładzie autor na kontrolę i rozmaite szczegóły metodyki. Okazuje się ostatecznie, że ani wzrost, ani siła fermentacyjna nie są słabsze u prątko Para A niż u Para B i okrężnicowego. Autor zauważył przytem jeden szczegół ciekawy. Oto hodowle mniej więcej po 30 godz. wykazywały pewne zmiany: płyn się wyjaśniał, a jednocześnie obliczanie w komorze robiło się niemożliwe wskutek zlepiania się bakteryj: Okazało się, że była to poprostu aglutynacja kwaśna *Michaelis'a*. Zjawisko to występowało w hodowlach Para A później, niż w Para B. Autor wnioskuje stąd, że prątek Para A wytwarza odczyn bardziej zasadowy niż Para B, dlatego, że jest bardziej proteofilowym i energiczniej rozszczepia białko. W dalszym ciągu autor przechodzi do części chemicznej swej pracy, omawiając szczegółowo i krytycznie sposoby oznaczania rozmaitych składników hodowli bakteryj badanych. Pod względem jakościowym analiza nie wykazuje żadnych niemal różnic. Nie może więc być mowy o braku jakichkolwiek funkcji zaczynowych. Inaczej nieco przedstawia się analiza ilościowa. Przedewszystkiem ilość kwasu ogólna jest prawie dwa razy większa dla prątko okrężnicowego niż dla Para A; Para B zajmuje miejsce pośrednie, ale stoi znacznie bliżej prątko okrężnicowego niż Para A. To samo dotyczy i kwasów lotnych i nielotnych. Nadto ilość sfermentowanego cukru jest przeszło dwa razy większa dla prątko okrężnicowego, niż dla Para A. Ponieważ zaś natężenie procesu fermentacyjnego w komórce bakteryjnej nie wykazuje w pierwszych fazach procesu różnic, któreby usprawiedliwiały taki bilans ostateczny, przeto autor uważa się za uprawnionego do wniosku, że istotną cechą prątko Para A jest jego bardziej proteofilowy charakter.

Dr. Z. Szymanowski.

---

**Weil, E. Breinl, F. Gruschka Th.** Badania nad zakażeniem doświadczalnym i odpornością w durze plamistym. (Untersuchungen über die experimentelle Fleckfieber-Infektion und Immunität). Wiener klinische Wochenschr. 192, —, 459.

Możliwość przenoszenia zarazku duru plamistego na świnki morskie nie podlega obecnie żadnej wątpliwości; dowodem pośrednim jest tu powstawanie we krwi królików, zaszczipionych mózgiem świnek zakażonych, aglutynin dla odmięńca  $X_{12}$ .

Autorzy podają fakty, dotyczące długości okresu wylegania i czasu trwania choroby u 330 świnek. Po zakażeniu  $1/10$ — $1/20$ -tą częścią mózgu, okres wylegania trwał: u 12% świnek 5 dni, u 64% 6 dni, u 24% 7 dni, zaś okres gorączkowy u 10% — 5 dni, u 24% — 6 dni, u 28% — 7 dni, u 21% — 8 dni, u 8% — 9 dni, u 5% — 10 dni, u 2% — 11 dni, i u 2% — 12 dni. Temperatura podnosiła się naogół o 1—0,5<sup>0</sup> powyżej normy. Krzywe wyglądały zupełnie typowo, a objawy chorobowe były nieznaczne. Wyników śmiertelnych nie było. Ilość zarazka w organizmie zakażonym zwiększa się szybko natychmiast po zakażeniu i znika stopniowo w okresie pochorobowym. Po

wewnątrztrzewnowem zakażeniu świnki ( $\frac{1}{20}$ -tą częścią mózgu świnki, zabitej w okresie nasilenia choroby), mózg świnki zakażonej, według obliczeń autorów, zawiera:

w 2 dni po zakażeniu	10 dawek zakaźnych		
„ 3 „ „	1.000	„	„
w 6 dni (pierwszy dzień choroby)	10.000	„	„
„ 10 dni (4-y dzień choroby)	100.000	„	„
w ostatnim dniu choroby	10.000	„	„
w 4 dni po spadku ciepłoty	1.000	„	„
w 5, 6, 7, 9 d. „ „	1.000	„	„

We krwi świnek zakażonych ilość zarazka przedstawia się inaczej: po upływie 4-ch dni od zakażenia 1 ccm.<sup>3</sup> krwi zawiera 10 dawek zakaźnych dla świnki, w 4-ym dniu choroby zawiera 100 dawek zakaźnych; tyleż powstaje w 1-ym i 2-im dniu po spadku ciepłoty. Stąd wysnuwamy wniosek, że krew nie jest miejscem rozmnażania się zarazka, i że znajduje się on przeważnie w organach chorych zwierząt.

Odporność czynna świnki, nawet w rok po zakażeniu, jest najzupełniej wyraźną: po powtórnem zakażeniu świnek uodpornionych wzmożonemi dawkami jadu, mózg tych świnek nie nabiera właściwości zjadliwych.

Mózg króli zakażonych zawiera jadu mniej, niż mózg świnek. Króle nabywały również zupełnej odporności po roku. Jadobójcze właściwości surowic świnek, które przeszły dur plamisty, występują wyraźnie dopiero w 7 dni od spadku ciepłoty i zachowują się w równej mierze jeszcze po 4-ch tygodniach, poczem powoli zanikają.

Biernie uodpornienie świnek wpływa na przedłużenie okresu wylegania, skrócenie okresu gorączkowego i na niższą krzywą ciepłoty. Często ciepłota wcale się nie podnosi.

Surowica ochronna, zdaniem autorów, składa się z dwóch czynników: 1) jadobójczego, przedłużającego krzywą ciepłoty i 2) przeciwgorączkowego, obniżającego tę krzywą.

Czynnik jadobójczy, według dotychczasowych doświadczeń autorów, nigdy nie bywa dość silny, aby jad całkowicie zniszczyć, albowiem wszystkie świnki, biernie uodpornione, okazały się, wobec zakażenia, czynnie odporne, nawet te świnki, które nie wykazywały najmniejszego podniesienia ciepłoty.

W 10 dni po zakażeniu świnek, biernie uodpornionych, mózg ich jadu nie zawierał. W poronnej formie duru mózg zawierał po 10 dniach 10.000 dawek zakaźnych. Surowica biernie uodpornionych świnek, nawet wobec ponownego zakażenia, nie nabywa właściwości jadobójczych. Surowice króli szczepionych nigdy własności takich nie posiadają. Normalna surowica kóz posiada w znacznej mierze właściwości jadobójcze. Mieszanina mózgu świnki zakażonej z surowicą normalną kozy nie wywołuje choroby u świnek. Małe dawki surowicy kozy, wstrzyknięte świnie, przedłużają okres wylegania, sam zaś przebieg choroby pozostaje niezmienny. Stąd wniosek, że

surowica kozy zawiera jedynie składniki jodobójcze bez przeciwo-rączkowych.

Po stosowaniu małych dawek, oraz mieszaniny jadu z surowicami ochronnymi występują „Infections inapparentes“. Surowica zwierząt, które przebyły tego rodzaju zakażenie, zawiera mało przeciwciał.

Autorzy przypuszczają, że rozwiązania sprawy szczepień ochronnych u ludzi szukać należy w połączeniu uodpornienia biernego i czynnego.

Dr. H. Sparrow.

---

**M. Kuczyński. Hodowle zarazka duru plamistego in vitro. (Die Kultur des Fleckfiebertvirus ausserhalb des Körpers). Berl. Klin. Woch. 1221 N. 51 Str. 1439.**

Wychodząc z założenia, że *Rickettsiae Prowazekii* zawsze są obecne w tkankach zwierząt, chorych na dur plamisty, autor, w celu otrzymania hodowli tego zarazka *in vitro*, stosuje metodę hodowania tkanek.

Do hodowli używano kawałków śledziona świnki morskiej, chorej na dur plamisty; za podłoże służyła surowica świnki morskiej z osoczem króla. Wzrost tkanki, już po upływie 5 — 4 dni, był obfity. Po upływie 4 do 19 dni używano hodowli do zarażania świnek morskich i robiono z nich preparaty histologiczne. Zjadliwość tkanek hodowanych okazała się większą, niż tychże tkanek przed hodowaniem. Okres wylęgania duru plamistego trwał najczęściej 4 dni, przebieg choroby był typowy; w narządach i w mózgu stwierdzano swoiste ogniska dookołanaczyniowe; króle, szczepione mózgiem tych świnek, dawały zawsze dodatni odczyn *Weil-Felixa*, a po przebyciu choroby świnki stawały się odporne na zakażenie ponowne. W barwionych skrawkach z hodowli, struktura śledziona była zachowana, a obecność zarazka duru plamistego można było stwierdzić z łatwością. Komórki śródbłonkowe naczyń śledziona i ich jądra były napęczniałe, jądra zmieniały stopniowo swój kształt i stosunek do barwników. Plazmę komórek śródbłonka wypełniały twory o kształcie ziarenek i prątków gramoujemnych, barwiących się metodą *Giemzy* na czerwono.

Twory te były najzupełniej identyczne z *Rickettsiae Prowazekii*, opisanymi przez *Rocha-Lima* wewnątrz komórek nabłonkowych jelit wszy.

Takich zmienionych, wypełnionych *R.-P.*, komórek śródbłonkowych *Kuczyński* z n a j d o w a ł po kilka w jednym polu widzenia. W okresie późniejszym komórki podlegały rozpadowi i zanikowi, *R.-P.* wypadały z nich nazewnątrz, rozmnażając się w dalszym ciągu i wypełniając przestrzenie, uformowane przez zanik komórek nabłonka.

W zarazkach z hodowli śledziona świnki normalnej żadnych tworów, podobnych do *Rickettsiae Prowazekii*, autor nie znajdował. Zdaniem *Kuczyńskiego*, doświadczenia powyższe, oraz z dawnej otrzymaną przez niego hodowlą *R.-P.* z zawiesiny mózgu świnki, usuwają wszelkie wątpliwości co do znaczenia *Rickettsiae Prowazekii* w etiologii duru plamistego.

Jednak, wobec procesów nekrotobotycznych obraz histologiczny w hodowlach tkanek nie jest miarodajnym, przytem określenie autora o wzmożeniu się zjadliwości tkanek hodowanych jest zbyt ogólnikowe; trudno więc

wnioski *Kuczyńskiego* przyjąć bez zastrzeżeń. Z doświadczeń autora widzimy jedynie, że jad duru plamistego, w warunkach hodowania tkanek, przechowuje się znacznie dłużej (19 dni), niż w warunkach zwykłych *in vitro* (48 g.)

*Dr H. Sparrow.*

**Besredka.** Szczepienia drogą skórną. **Wąglik:** infekcja skórna, odporność skórna, szczepienie skórne. (Vaccination par voie cutanée. **Charbon:** cutti-infection, cutti-vaccination, cutti-immunité). *Ann. Pasteur* 1921. **XXXV**, 421.

Autor starał się zastosować spostrzeżenia swoje, o lokalnym uodpornieniu jelit i płuc, do innych narządów, a mianowicie do skóry. Celem przeprowadzenia badań autor użył zakażenia wąglikiem. Dotąd nigdy nie udało się zabezpieczyć przeciwko infekcji wąglikowej małych zwierząt laboratoryjnych (świnek morskich i królików), pomimo stosowania szczepionki. Kilkakrotne wstrzykiwania śwince morskiej szczepionki wąglikowej Nr. 1 nie zabezpieczają zwierzęcia od śmierci przy zastrzyknięciu minimalnej dawki śmiertelnej szczepionki Nr. 2. To samo zjawisko obserwowano w doświadczeniu nad królikiem, przyczem używano, zamiast szczepionki Nr. 2, jadu żywego w minimalnej dawce. W doświadczeniach, o których obecnie mowa, autor, w celu uodpornienia, wcierał wacikiem w ogoloną skórę szczepionkę wąglika Nr. 1. Otrzymana reakcja miejscowa polegała na podrażnieniu zapalnym, ustępującem w ciągu 4 — 6 dni; po upływie tego czasu śwince wtarto szczepionkę Nr. 2; świnka przeżyła. Równocześnie druga świnka, której wtarto bezpośrednio szczepionkę Nr. 2, padła na 4-ty dzień. W dalszym ciągu świnka, której wtarto pierwszą i drugą szczepionkę, okazała się odporną na wcieranie jadu wąglika, a wszystkie świnki kontrolne (nieszczepione poprzednio), padły na 4 — 6 dzień. To samo obserwował autor u królików, z tą tylko różnicą, że uodpornianie rozpoczynał od 2-giej szczepionki. W ten sposób zwierzęta szczepione okazały się odporne nie tylko na wcieranie jadu, ale nawet na wprowadzenie go pod skórę i do narządów w dużych dawkach.

Autor proponuje stosować zastrzykiwanie w skórę zamiast wcierania. Metoda ta jest o tyle dogodniejsza, że pozwala przeprowadzić ściśle dawkowanie. Większe dawki wywołują duże zmiany lokalne na skórze, w postaci odmy, strupa; mniejsze zaś dawki mogą prawie żadnej reakcji nie dawać.

Doświadczenia wykazały, że krew świnek, uodpornionych w ten sposób, nie posiada własności prewencyjnych, a więc uodpornienie nie polega na obecności przeciwciał swoistych. Autor tłumaczy zjawisko to w ten sposób, że świnka posiada narząd specjalnie czuły na bakterje wąglika; tym narządem jest skóra, w innych narządach zaś bakterje zostają zabijane od razu. Świnki i króle, które autor zakażał z pominięciem skóry (np. zastrzykując świnkę dootrzewnowo po nacięciu skóry albo królika dożylnie, wypalając miejsce zastrzyku), nie mogą być zarażone

wąglikiem. Uodporniona skóra czyni zwierzę odpornem, gdyż: 1) wszystkie inne narządy są same przez się odporne na zakażenie i 2) raz uodporniona skóra zamyka jedyną drogę do wtargnięcia bakteryj.

Jako rezultat tych badań, autor podkreśla, że mając przed sobą czynnik infekcyjny i toksyczny, należy wziąć pod uwagę nie tylko wrażliwość zwierzęcia, lecz również, czy nie posiada ono narządu specjalnie czułego, oraz czy, szczepiąc w ów narząd, nie uodporni się całego organizmu.

*Dr. Fł. Przesmycki.*

---

✓ Dr. Stanisław Sierakowski: Badania nad pożywkami. Doniesienie I. Zależność wzrostu bakterij chorobotwórczych na podłożach agarowych od czynników fizycznych.—Recherches sur les Milieux. I. Rapport. Influence des différents agents sur la croissance des bactéries pathogènes dans les milieux gélosés, str. 1.

Dr. Stanisław Laskownicki: Działanie dezynfekcyjne jodyny.—De l'action desinfectante de l'iode, str. 29.

✓ J. Supniewski: Badania nad istotą dopełniacza. O działaniu jonów wodorowych na własności lityczne surowic świeżych.—Les études sur la nature du complément. Influence des ions d'hydrogène sur les propriétés lityques du sérum frais, str. 55.

✓ Dr. Henryk Brokman i Dr. Helena Sparrow: Z etiologii i epidemiologii anginy Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa.—Sur l'étiologie et l'épidémiologie d'angine Plaut-Vincent et stomatitis ulcerosa, str. 79.

Dr. Stefan Mutermilch: Epidemja cholery w Armji Polskiej i wśród jeńców bolszewickich w 1920 i 1921 r.—Description de l'épidémie du cholera dans l'Armée Polonaise en 1920—1921, str. 92.

Dr. Ludwik Anigstein: Gorączka (febra) żółta.—Fièvre jaune, str. 106. Referaty—Analyses, str. 131.

Za redakcję: Dr. Henryk Raabe. Zeszyt wykończono 15. VII. 1922.

V a r s o v i e.

Institut Epidémiologique de l'État  
Chocimska (ci-devant Langnerowska) 2b.

(Distribué le 15. VII. 1922).

Z Państwowego Zakładu Badania Surowic  
(Dyrektor Dr. L. Hirszfeld).

## O własnościach zlepnych szczepów durowych, rzekomodurowych i szczepów odmieńca.

Podali

LUDWIK HIRSZFELD i JULJA SEYDEL.

W Zesz. 6. Tomu I. „Przeгляdu Epidemjologicznego” opisaliśmy szereg doświadczeń nad własnościami aglutynacyjnymi szczepów *para B*, *para C* i *Aertryke*. Uwzględniliśmy w naszej pracy nie tylko pokrewieństwo, wyrażające się w istnieniu współaglutynin, ale i formę, w jakiej wypadają zaglutynowane bakterje rozmaitych typów, jako też ciepłotałość substancyj aglutynacyjnych. Wprowadzenie tych sprawdzianów wydało się nam niezbędnem ze względu na prace *Weila* i *Felixa*, które dowiodły istnienia rozmaitych form aglutynacji u szczepów *Para β (Para C)* i *Para B*. Autorzy obserwowali tę różnicę po raz pierwszy wśród biologicznych odmian odmieńca: rozróżniają oni formy H (*mit Hauch*), zasnuwające powierzchnię agaru, aglutynujące się z surowicą odpornościową w postaci lekko opadającego obłoczka, dającego się łatwo rozbić, i formy O (*ohne Hauch*), rosnące w postaci oddzielnych kolonij, aglutynujące się w postaci spoistych grudek. Należy dla dokładności historycznej podkreślić, że spostrzeżenia nad rozmaitemi formami aglutynacji zrobił po raz pierwszy *Porges* jeszcze w 1905 r., w badaniach nad aglutynacją gotowanych prątków durowych. Zasługą *Weila* i *Felixa* jest rozszerzenie tego spostrzeżenia na różne gatunki bakteryj. *Weil* i *Felix* zauważyli, że odmieniec typu H po nagraniu aglutynuje się w formie grudek, podobnie jak szczepy typu O nienagrzane. Nasunęło to przypuszczenie, że forma aglutynacji zależna jest od istnienia o d r ę b n y c h c h w y t n i k ó w o rozmaitej ciepłotałości. Zdaniem autorów forma obłoczkowata, jaką dają prątki durowe oraz odmieniec  $X_{10}H$  polega na istnieniu ciepłochwiejnego chwytника „H”, aglutynacja zaś grudkowata, jaką dają  $X_{10}O$  i prątki gotowane polega na istnieniu specjalnego chwytника

O. Jakie jest podłoże fizykalne tych dwóch aglutynacji, autorzy nie badali. Forma aglutynatu, zdaniem ich, zależy przedewszystkiem od istnienia tych dwóch rozmaitych chwytników. Pogląd swój opierają na następujących spostrzeżeniach. Surowica, wytworzona przez zastrzyk bakterij żywych, posiadających chwytniki H i O, aglutynuje w formie mieszanej (obłoczkowato, dzięki obecności H i grudkowato dzięki O). Z tego wnoszą autorzy, że w surowicy tej czynne są dwa zlepniki H i O i przypuszczenie to potwierdzają badaniami absorbcyjnymi. Jeżeli bowiem dodamy bakterij gotowanych, zawierających jedynie chwytnik O, do surowicy, wywołanej przez bakterje żywe, posiadającej zatem aglutyniny H i O, to związany zostanie zlepnik O i w surowicy pozostanie jedynie zlepnik H, który aglutynować będzie bakterje żywe H nie w formie mieszanej, a czysto obłoczkowatej, albowiem grudkowaty chwytnik O nie będzie mógł działać wobec braku w surowicy odpowiedniego przeciwciała anti-O.

Podług *Weila* i *Felixa* otrzymamy odmienne rezultaty z surowicami, wywołanemi przez zastrzyk bakterij gotowanych, te zawierają bowiem jedynie chwytnik O, wywołują zatem surowice jedynie z anti-O. Surowica taka różni się podług autorów od surowicy pierwszego typu tem: 1) że daje nawet z bakterjami żywemi aglutynację grudkowatą i 2) że surowice takie, absorbowane bakterjami gotowanemi, nie mogą aglutynować szczepów żywych, gdyż nie posiadają one, jak surowice pierwszego typu, zlepników H.

Twierdzenia te, poparte całym szeregiem subtelných doświadczeń, doprowadziły autorów do niezmiernie ciekawych wniosków biologicznych. Surowica chorych będzie posiadała inne własności aglutynacyjne, będzie aglutynowała odmiany biologiczne H lub O w zależności od szczepów, krążących we krwi; forma tej aglutynacji będzie grudkowata lub obłoczkowata i t. d. W badaniach bakterjologicznych musimy również uwzględnić biologiczne różnice między formami O i H. W ustroju zakażonym dudem plamistym mogą, zdaniem *Weila* i *Felixa*, występować zmiany; wtedy szczepy, posiadające chwytniki H i O przemieniają się samoistnie w O.

Przemiana formy H w O odbywać się może prócz tego samorzutnie, jak to stwierdzili liczni autorzy (*Braun* i *Schäffer*, *Weltmann* i *Seufferheld*, *Seifert* i inni) pod wpływem różnych warunków dysgenetycznych, jako to: hodowli na agarze wysuszonym, dodatku karbolu i t. d. Niektórzy badacze (*Weil* i *Felix*, *Braun* i *Salomon*, *Sachs*, *Braun*, *Büchner* i *Zollner*), uważają, że chwytniki O lub H stanowią znamiona zupełnie odrębnego powinowactwa między szczepami; tak np.  $X_{19}$  i  $X_2$  posiadają wspólne chwytniki H i odrębne O. Surowica, wywołana formą H jednego szczepu, aglutynuje formę H drugiego, tymczasem gdy użycie odmian O wykazuje odrębność serologiczną tych typów. *Weil-Felix* i *Mitzenmacher* przeprowadzili podobną analizę ze szczepami tyfusu, *para A, B* i *Gärtnera*. Nie można, co prawda, w grupie tyfusowej odróżnić typu H od O, gdyż bakterje te nie zasnuwają powierzchni agaru (mit Hauch). Badanie szczepów gotowanych wykazało zdaniem autorów, że posiadają one również dwojakiego rodzaju chwytniki, podług szematu omówionego powyżej. Swoistym jednak jest tu chwytnik H, tymczasem gdy chwytnik O wykazuje pokrewieństwo między typami *Gärtnera* i tyfusu.



Reasumując te badania widzimy, że według *Weil-Felixa* bakterje mogą posiadać dwa chwytniki, ciepłostały i ciepłochwiejny i że przeciwko każdemu z nich można wywołać odrębne przeciwciała. Otoż jeżeli pominiemy chwilowo subtelną analizę pokrewieństwa na mocy jednego tylko chwytnika a zwrócimy uwagę na jednoczesną obecność dwóch chwytników, to okaże się, że teoria ta nie jest nową, a była dyskutowana już przed 19 laty. *Joos* w r. 1903 twierdził, że bakterje tyfusu posiadają dwie substancje aglutynogenne i nawet sądził, że przeciwciała, powstałe przeciwko nim, posiadają odrębną ciepłostałość. Wyników tych nie potwierdziły jednak badania *Krausa* i *Jochima*, a uzyskały one inną interpretację dzięki głębokim pracom *Porgesa*. Badania *Porgesa* posuwały się w dwóch kierunkach. Przedewszystkiem kwestja ciepłostałości została ujęta w sposób odmienny. Podczas gdy *Joos* twierdził, że już w temp.  $65^{\circ}$  substancja zlepna zostaje zniszczona, *Porges* wykazał, że bakterje tyfusu przechodzą jedynie przez fazę, gdzie zawieszalność bakteryj jest zwiększana przez wytworzenie lepkiej, śluzowatej masy. Bakterje nagrzane do  $80^{\circ}$  związane są ze sobą w formie śluzowatego splotu. Jeżeli jednak gotujemy te bakterje w temp.  $100^{\circ}$ , sploty zanikają, bakterje uzyskują swą dawną zawieszalność i aglutynują się.

Opierając się na pracach *Bechholda*, *Neissera* i *Friedemanna*, *Porges* objaśnia zawieszalność bakteryj obecnością ciał białkowych, mianowicie nukleoproteidów. Wskutek nagrzania nukleoproteidy przechodzą w nukleiny, mające formę śluzowatą i nie dają się w ten sposób oddzielić od otaczającego płynu. Dopiero podczas dalszego nagrzewania nukleiny podlegają hydrolizie. *Porges* nie uznaje zatem istnienia ciepłochwiejnych chwytników. Przypuszczenie co do ich istnienia polegało na nieuwzględnianiu przez *Joosa* środkowej sfery zahamowania, wytwarzającej się nieraz już w  $65^{\circ}$ . Pod wpływem *Paltaufa*, *Porges* skłonny jest jednak uznać serologiczną swoistość bakteryj gotowanych. *Obermeyer* i *Pick* stwierdzili, że białko nagrzane wytwarza inne precypityny, niż białko świeże: denaturacja białka jest związana ze zmianą swoistości serologicznej. Podobnie sądził *Porges*, że bakterje zmieniają przez gotowanie swoją swoistość serologiczną, a zatem odrzuca on preegzystencję dwóch grup, jak to czynią *Joos*, a później *Weil-Felix*. *Porges* sądzi, że pod wpływem gotowania powstają nowe ugrupowania serologiczne, stwierdził bowiem, że surowica, wywołana przez bakterje żywe, aglutynuje bakterje żywe kilkadziesiąt razy mocniej, niż bakterje gotowane, tymczasem gdy różnice te nie są takie wybitne w razie użycia surowic, wywołanych zastrzykiem bakteryj gotowanych. Protokołów *Porgesa* nie można jednak interpretować w sposób tak prosty. Surowice, wywołane zastrzykiem bakteryj żywych, są bowiem o wiele mocniejsze, i dlatego nasuwa się podejrzenie, że różnice w mianie dla bakteryj gotowanych i żywych polegają na pewnych czynnikach wtórnych, np. na tem, że bakterje zabite nie mogą być aglutynowane przez surowice zbyt rozcieńczone, nawet jeśli posiadają wysokie miano i t. p. Podejrzenie takie nasuwa się tem silniej, że badania absorbcyjne żadnych różnic między chwytnikami bakteryj żywych a gotowanymi nie wykazały. Pod tym względem *Porges* potwierdza spostrzeżenia *Eisenberga* i *Volka*. Do tego samego wniosku doszedł *Dreier*

(który niezależnie, a jednocześnie z *Porgesem*, wykazał ciepłotałość substancji zlepnej), *Hirsfeld* i inni.

Widzimy zatem, że zachodzą różnice między dawnymi pracami, hipotezą *Porgesa* i twierdzeniami *Weila* i *Felixa*. Prace *Weila* i *Felixa* spowodowały już powstanie obszernej literatury; pod ich też wpływem zaczyna się odbywać rewizja ustalonych dotąd pojęć serologicznych o pokrewieństwie szczepów, o mozaice antygenowej i t. d. Badania te nie zawsze jednak stoją na należytej wysokości. Ustaliło się bowiem przekonanie, że aglutynacja grudkowata *m u s i* polegać na obecności chwytника odrębnego od tego, który powoduje aglutynację obłoczkowatą. Autorzy, widząc aglutynację grudkowatą ze szczepami gotowanymi, wysnuwają wniosek, że chwytник „O” *m u s i a l* istnieje poprzednio w bakterjach świeżych. Wniosek ten nie zawsze można uzgodnić z protokołami autorów, zaś nasze własne badania wykazały niesłuszność tego poglądu.

W pracy o *Para C* w t. I z. 6 „*Przeglądu Ep.*” mogliśmy potwierdzić, że szczepy B i C aglutynują się odmiennie. Obecna praca dotyczy istoty aglutynacji obłoczkowatej i grudkowatej. W tym celu wykonaliśmy badania, mające wykazać:

1. Jaka jest ciepłotałość szczepów, dających aglutynację obłoczkowatą i grudkowatą.
2. Jakie są antygenne i absorbcyjne własności szczepów gotowanych i niegotowanych.
3. Jakie jest pokrewieństwo serologiczne między gotowanymi i świeżymi szczepami X<sub>10</sub>, H i O.
4. Jak trzeba zapatrywać się na odczyn *Weila* i *Felixa* z punktu widzenia istnienia tych dwóch odmian odmienca.
5. Jakie jest fizykalne podłoże aglutynacji obłoczkowatej i grudkowatej.

### **Wpływ ogrzewania na zdolności aglutynacyjne bakteryj.**

Badania *Porgesa* wykazały, że bakterje tyfusu, nagrzane do 80°, nie aglutynują się. *Porges* objaśnia to wytwarzaniem się śluzowatych mas, nasiąkniętych wodą, które z trudnością można oddzielić od wody i strącić. Chemiczne podłoże tego zjawiska stanowi hydroliza nukleoproteidów i wytworzenie się nukleinów. Podczas dalszej hydrolizy, pod wpływem gotowania w wodzie lub dodania kwasów, aglutynacyjność wraca. Bakterje gotowane różnią się zatem od niegotowanych przede wszystkim stopniem denaturacji białka. Ponieważ forma aglutynacji szczepów gotowanych, a zatem z daleko posuniętą denaturacją białka, jest grudkowata, nasuwało się przypuszczenie, że s t a n f i z y k a l n y szczepów O będzie po części zbliżony do gotowanych szczepów H i że szczepy typu O nie będą posiadały tej środkowej sfery zahamowania, tak charakterystycznej dla licznych bakteryj. W tym celu ogrzewaliśmy szereg bakteryj do 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 100°. Podajemy wyciąg z licznych protokołów, nadmienając, że badaliśmy rozmaite szczepy jednego i tego samego gatunku.

PROTOKUŁ Nr. 1.

T e c h n i k a: 24-g. hodowle agarowe zmyto 15 cm<sup>8</sup>. fizjol. rozc. NaCl. Zawiesinę ogrzewano w ciągu 1/2 godz. Aglutynację odczytano po 24 godz., trzymając statywy w temperaturze pokojowej. Do aglutynacji odmienca użyto surowicy chorego na dur wysypkowy<sup>1)</sup>.

Bakterje	Ogrzane w temp.	Rozcieńczenie surowicy				
		1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200
Tyfus Konrad	Kontrola	+++ O	+++ O	+++ O	++ O	++ O
	50°	+++ O	+++ O	+++ O	++ O	++ O
	60°	+++ OM	+++ OM	+++ OM	++ OM	+ OM
	70°	sploty	sploty	sploty		
	80°	sploty	sploty	sploty		
	90°	—	—			
	100°	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+ gr	
Para A Tarko	Kontrola	+++ M	+++ M	+++ M	++ M	+ M
	50°	+++ M	+++ M	+++ M	++ M	± M
	60°	+++ M	+++ M	++ M	+ M	—
	70°	sploty	sploty	sploty	sploty	
	80°	sploty	sploty	sploty		
	90°	sploty	—			
	100°	+++ gr	++ gr	+ gr		
Para B Fuks	Kontrola	+++ O	+++ O	+++ O	++ O	+ O
	50°	+++ O	+++ O	++ O	++ O	+ O
	60°	+++ O	+++ O	++ O	O	O
	70°	sploty	sploty	sploty		
	80°	sploty	sploty			
	90°	+ gr	+ gr	—		
	100°	+ gr	+ gr			

1) Uwaga: O — oznacza aglutynację obłoczkową („grobflöckig“ autorów niemieckich); gr. — aglutynację grudkową („kleinflöckig“); O M — obłoczkowato-mieszana; M — mieszana.

Bakterje	Ogrzanie w temp.	Rozcieńczenie surowicy				
		1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200
Para C 5888	Kontrola	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+ gr
	50°	++ M	++ M	++ M	±	
	60°	+++ gr	++ gr	++ gr	±	
	70°	+++ gr	++ gr	++ gr	±	
	80°	—	—			
	90°	+++ gr	++ gr	++ gr	+ gr	±
	100°	+++ gr	++ gr	++ gr	+ gr	
Shiga Werda	Kontrola	+++ M	++ M	++ M	±	
	50°	+++ gr	++ gr	±		
	60°	+++ gr	++ gr	±		
	70°	—	—			
	80°	—	—			
	90°	++ gr	++ gr	+ gr		
	100°	++ gr	+++ gr	++	±	
Flexner 1041	Kontrola	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr
	50°	+++ gr	+++ gr	++ gr	++ gr	++ gr
	60°	+++ gr	+++ gr	++ gr	++ gr	—
	70°	+++ M	+ M	±		
	80°	+++ gr	++ gr	++ gr	+ gr	±
	90°	+++ gr	++ gr	++ gr	+ gr	±
	100°	+++ gr	+++ gr	++ gr	—	

Bakterje	Ogrzane w temp.	Rozcieńczenie surowicy				
		1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200
Cholera II	Kontrola	+++ M	+++ M	++ M	++ M	±
	50°	+++ M	+++ M	++ M	++ M	±
	60°	+++ M	+++ M	++ M	++ M	±
	70°	+++ M	++ M	+ M	±	
	80°	+ M	+ M	—		
	90°	—	—			
	100°	++ gr	+ gr	±		
X <sub>19</sub> O	Kontrola	+++ gr	+++ gr	+++ gr	++ gr	±
	50°	+++ gr	+++ gr	++ gr	+ gr	
	60°	+++ gr	+++ gr	++ gr	+ gr	
	70°	+++ gr	+++ gr	+ gr		
	80°	+++ gr	++ gr			
	90°	+++ gr	++ gr			
	100°	+++ gr	++ gr	+ gr		
X <sub>19</sub> H	Kontrola	+++ O	+++ O	+++ O	++ O	+ O
	50°	—	—			
	60°	+++ gr.	+++ gr.	++ gr.	+	
	70°	+++ gr.	+++ gr.	+ gr.		
	80°	+++ gr.	++ gr.	+ gr.		
	90°	+++ gr.	++ gr.	+ gr.		
	100°	++ gr	++ gr			

Protokół wykazuje, że szeroką sferę zahamowania z wytworzeniem śluzu posiadają głównie bakterje o aglutynacji obłoczkowatej. *Para C*, dające aglutynację mieszaną lub grudkowatą, wykazują dopiero po nagraniu do 80° zahamowanie. Typ zaś  $X_{19}O$ , badany z surowicą chorych, nie dał zupełnego zahamowania, tymczasem gdy dla  $X_{11}H$  sfera zahamowania powstaje już w temp. 50° (co znane jest z prac *Csepai'ego, Bauch'a i Hamburgera, Brauna i Salomona, Braun-Sachsa*).

Nie chcemy jednak twierdzić ogólnie, że bakterje, aglutynujące grudkowato, nie wykazują wcale sfer zahamowania. Szczepy *Flexnera* i  $X_{19}O$  wykazują również zahamowanie w temp. 70-80°, ale jedynie w słabszym stopniu.

### O własnościach aglutynogennych szczepów gotowanych.

Jak wspomnieliśmy na wstępie, bakterje ogrzewane posiadają, podług *Weila-Felixa* i *Mitzenmachera*, jedynie chwytник O, to znaczy, że przeciwciała, wywołane bakterjami ogrzanymi, aglutynują nawet bakterje nieogrzone w formie grudek. Własności aglutynogenne nie są jednak zmniejszone. Powoływaliliśmy się już na dawniejsze prace *Porgesa*, wykazujące, że surowice, wywołane szczepami ogrzanymi, aglutynują szczepy ogrzone i nieogrzone w równym stopniu, tymczasem gdy surowice, skierowane przeciwko szczepom nieogrzany, aglutynują bakterje nieogrzone mocniej (Patrz prot Nr. 2, str. 147).

Protokół № 2 wykazuje, że: 1) Bakterje ogrzane są gorszym antygenem, zgodnie z tem, jak to przyjmowano w pracach dawnych. Miano aglutynacyjne w surowicach królików, uodpornionych szczepami nieogrzany, wynosi 1600 do 6400; uodpornionych szczepami ogrzanymi, waha się od 200—3200. Po odrzuceniu typów  $X_{19}O$  i 5888, dających aglutynację grudkowatą, różnice te są jeszcze widoczniejsze. 2) Forma aglutynacji z daną surowicą nie zależy w tym stopniu od ogrzewania antygeny, jak to podają *Weil i Felix*. Tak np. surowica, wywołana zastrzykiem ogrzewanego szczepu  $X_{19}H$  daje z bakterjami żywymi aglutynację obłoczkowatą. Surowica *Para B*, wywołana bakterjami gotowanymi, daje rzeczywiście z bakterjami żywymi aglutynację mieszaną, tymczasem gdy surowica, skierowana przeciwko bakterjom nieogrzany, daje z żywymi aglutynację obłoczkowatą. Ale w innym doświadczeniu, np. wobec *Para β 5*, widzimy, że surowice, wywołane bakterjami niegotowanymi, dają aglutynację grudkowatą, zaś wywołane bakterjami ogrzewanymi, przeciwnie, aglutynację mieszaną. Zależności formy aglutynacyjnej od gotowania zastrzykniętego antygeny nie sp o s t r z e g l i ś m y i pod tym względem nie możemy potwierdzić zasadniczego twierdzenia *Weila i Felixa*.

## PROTOKUŁ Nr. 2.

**T e c h n i k a:** 24-godz. hodowle agarowe zmyto 15 cm<sup>3</sup> fizyol. Nacl. Zawiesinę nieogrzewaną zabijano przez dodanie fenolu. Zawiesinę ogrzewaną trzymano 1 godz. w 100°. Zwierzęta szczepiono dożylnie po 0,2 cm<sup>3</sup>, trzykrotnie lub pięciokrotnie, w przerwach sześciodniowych.

	Surowice odpornościowe, wywołane zawiesiną			
	Nieogrzewaną		Ogrzewaną	
	Aglutynacja z zawiesiną			
	Nieogrz.	Ogrzew.	Nieogrz.	Ogrzew.
Tyfus Hiura			400 M	100 Mgr
Para C 5888	3200 gr	3200 gr	3200 gr	1600 gr
Para C 775	3200 gr	1600 gr	1600 gr	400 gr
Para B 665	6400 O	—	800 M	100 gr
Para β 1 Wołyń	1600 gr	100 gr	200 gr	50 gr
Para β 5 Albanja	1600 gr	200 gr	400 M	100 gr
Proteus X <sub>10</sub> O	3200 gr	800 gr	3200 gr	400 gr
Proteus X <sub>10</sub> H	3200 O	800 gr	800 O	400 gr

### Badania nad absorbcją surowic, wywołanych bakterjami ngrzanemi i nienagranemi.

*Weil i Felix* podają, że surowice odpornościowe, otrzymane przez zastrzyk prątków nieogrzanymi, posiadają 2 rodzaje przeciwciał. Absorbacja prątkami ogrzanymi pozostawia jeszcze aglutyniny dla nieogrzanymi, które aglutynują się prawie do wysokości miana. Jedyna różnica polega na tem, że mieszana forma aglutynacji, po usunięciu aglutynin, skierowanych przeciwko chwytnikom ciepłostalym, staje się bardziej obłoczkowatą. Surowice zaś, wywołane bakterjami ogrzanymi, posiadają tylko jeden rodzaj aglutynin i można je wyabsorbować zupełnie bakterjami ogrzanymi.

Badania absorbcyjne, zdaniem *Weila* i *Felixa*, dowodzą zatem zasadniczej różnicy między surowicami, wywołanemi prątkami żywemi lub gotowanemi.

W celu sprawdzenia tego faktu, przystąpiliśmy do bardzo licznych doświadczeń, protokoły których załączamy (Patrz prot. № 3, 4 i 5).

### PROTOKUŁ Nr. 3.

T e c h n i k a: 24-godz. hodowle z butelki Roux zmyto 10 cm. fizjol. NaCl. Do adsorbcji użyto 2,5 cm. tej zawiesiny z taką ilością surowicy swoistej, w rozcieńczeniu  $\frac{1}{12,5}$ . Adsorbowano 1 godz. w temp. pokojowej; po tym czasie wirowano  $\frac{1}{2}$  godz.

	Surowice nieabsorb.		Surowice absorbowane bakterjami			
			Nieogrz.		Ogrz.	
Surowice	a g l u t y n u j ą b a k t e r j e					
	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.
Ty Hiura ogrzew.	3200 O	1600 gr	—	—	1600 O	—
Para C 775 ogrzew.	3200 Mgr	800 gr	—	—	800 M	—
Para C 775 nieogrzew.	3200 Mgr	800 gr	200 M	—	1600 M	—
Para B 665 nieogrzew.	6400 O	800 gr	200 O	50 gr	3200 O	400 gr

Na pozór dane nasze potwierdzają wyniki, otrzymane przez *Weila-Felixa*. Rzeczywiście absorbcja, robiona z bakterjami gotowanymi, zabiera wszystkie aglutyny dla bakteryj gotowanych, zostawiając znaczną część dla bakteryj żywych, tymczasem gdy absorbcja bakterjami żywemi wyczerpuje surowicę zupełnie. Bliższa jednak analiza ilościowa naszych protokołów wykazuje, że podobne tłumaczenie byłoby nieściśle. Widzimy bowiem, że siła absorbcyjna bakteryj gotowanych, jak to jest rzeczą znaną z prac dawnych, jest znacznie zmniejszona. Gęsta zawiesina bakteryj ogrzanych zabiera z surowicy mniej więcej  $\frac{1}{2}$  —  $\frac{3}{4}$  przeciwciał, tak że surowica z bakterjami gotowanymi, których aglutynacyjność jest wielokrotnie słabsza, nie daje odczynu aglutynacyjnego w wyższych rozcieńczeniach surowic. Bakterje żywe są jeszcze aglutynowane, miano surowicy po absorbcji jest jednak stale mniejsze. Sądząc, że różnice między *Weilem* i *Felixem* a nami wynikają z własności szczepu, powtórzyliśmy badania z  $\beta$  I i  $\beta$  5, przesłanymi nam przez *Weila*. Wynik naszych prób był ujemny (Protokuł Nr. 5).



PROTOKUŁ Nr. 4.

T e c h n i k a: 24-godz. hodowle z buf. Roux zmyto 10 cm<sup>3</sup> NaCl; surowicę rozcieńczano 1/12.5.

	Surowice nieabsorbow.		S u r o w i c e a b s o r b o w a n e z a w i e s i n a m i									
			Stężonemi ogrzewan.		Stężonemi nieogr.		Nieogr. w rozcieńcz. 1:20		Nieogrz. w rozcieńcz. 1/30		Nieogrz. w rozcień. 1/40	
Surowice	A g l u t y n a c j a b a k t e r j a m i											
	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.
Para B Ermang ogrzewan.	12800 O	400 gr	3200 O	—	200 O	—	3200 O	50 Mgr	3200 O	100 Mgr	3200 O	100 Mgr
Para B 665 ogrzew.	200 O	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para B 665 nieogrzew.	6400 O	—	800 O	—	—	—	50 O	—	200 O	—	400 O	—
Para C 775 nieogrzew.	6400 M	100 gr	3200 M	—	—	—	3200 M	—	3 00 M	—	3200 M	50 gr

PROTOKUŁ Nr. 5.

T e c h n i k a : 24-godz. hodowle z but. Roux zmyto 30 cm<sup>3</sup> Nacl fizjol.; surowice rozcieńczano 1/25.

	Surowice nieabsorbow.		S u r o w i c e a b s o r b o w a n e b a k t e r j a m i									
			Stężonemi ogrzewan.		Stężonemi nieogr.		Nieogr. w rozcieńcz. 1:20		Nieogrz. w rozcieńcz. 1:30		Nieogrz. w rozcieńcz. 1:40	
Surowice	A g l u t y n a c j a z b a k t e r j a m i.											
	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.	Nieogr.	Ogrz.
Para B 665 nieogr.	3200 O	—	800 O	—	—	—	1600 O	—	1600 O	—	1600 O	—
Para B 665 ogrz.	200 O	—	50 O	—	—	—	—	—	—	—	50 O	—
Para β 1 nieogr.	1600 M	200 gr	50 M	—	—	—	400 M	50 gr	800 M	50 gr	1600 M	50 gr.
Para β 1 ogrz.	100 M	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para β 5 nieogr.	800 gr	400 gr.	100 gr	—	—	—	400 Mgr	200 Mgr	400 Mgr	200 Mgr	800 Mgr	200 gr
Para β 5 ogrz.	200 M	50 gr	—	—	—	—	100 gr	—	100 gr	—	100 gr	—
Para C 775 nieogr.	6400 M	100 gr	1600 M	—	50 M	—	1600 M	50 Mgr	3200 M	100 Mgr	3200 M	100 Mgr
Para C 775 ogrz.	800 Mgr	—	400 M	—	—	—	200 M	—	200 M	—	200 M	—

Z protokołów Nr. 3, 4 i 5 wynika, że: a) Surowice, wywołane zarówno bakterjami gotowanymi jak niegotowanymi, aglutynują bakterje żywe w sposób jednakowy.

b) Szczepy gotowane wiążą mniej niż żywe. Siła wiązalna szczepów gotowanych jest mniej więcej 20 do 30 razy słabsza, niż szczepów żywych. Używając do absorbcji stosownie rozcieńczonych szczepów żywych, uzyskujemy takie same wyniki absorbcyjne, jak przez użycie gotowanych zawiesin stężonych.

c) Nie znaleźliśmy różnic między surowicami, wywołanymi przez zastrzyk bakteryj gotowanych i niegotowanych pod względem ich własności wiązalnych. Forma aglutynacji z bakterjami żywymi, po absorbcji z bakterjami gotowanymi, nie zmienia się.

Wobec tych zupełnie sprzecznych wyników naszych badań w zestawieniu z badaniami *Weila* i *Felixa* nad prątkami durowymi i rzekomodurowymi, zbadaliśmy zachowanie się odmieńca  $X_{10}$  H i O. Surowica odpornościowa przeciwko szczepom O aglutynuje, podług *Weila* i *Felixa*, zarówno szczep O, jak i szczep H; szczep H jedynie w formie grudkowatej. Badania nasze, przeprowadzone na szczepach oryginalnych *Weila* i *Felixa*, dały odmienne wyniki.

PROTOKUŁ Nr. 6.

Surowica, wywołana przez $X_{10}$ O nieogr., aglutynuje								
	$X_{10}$				$X_2$			
	O nieogr.	O ogr.	H nieogr.	H ogr.	O nieogr.	O ogr.	H nieogr.	H ogr.
1:100	+++ gr	+++ gr	—	—	—	—	—	—
1:200	+++ gr	+++ gr	—	—	—	—	—	—
1:400	+++ gr	++ gr	—	—	—	—	—	—
1:800	+++ gr	—	—	—	—	—	—	—
1:1600	+++ gr	—	—	—	—	—	—	—
1:3200	++ gr	—	—	—	—	—	—	—
1:6400	+ gr	—	—	—	—	—	—	—



Surowica, wywołana przez zastrzyk X <sub>10</sub> H ogrz., aglutynuje								
	X <sub>10</sub>				X <sub>2</sub>			
	O nieogr.	O ogr.	H nieogr.	H ogr.	O nieogr.	O ogr.	H nieogr.	H ogr.
1:100	+++ gr	±	+++ O	+++ gr	+	+	+++ O	+++ gr
1:200	+++ gr	—	+++ O	+++ gr	±	±	+++ O	±
1:400	+		++ O	±			±	
1:800	±		+					
1:1600								
1:3200								
1:6400								

Protokół wykazuje zatem, że szczep H wywołuje przeciwciała, skierowane przeciwko H i O, tymczasem gdy surowica *anti-O* jest swoista i zlepia jedynie szczep O. Badania absorbcyjne zestawione są w protokole Nr. 7 (Patrz str. 154 i 155).

Z protokołu tego wypływa, że surowica, wywołana szczepem H, posiada odrębne przeciwciała dla H i dla O. Ilość antygenu O w szczepach H wystarcza co prawda aby wywołać przeciwciała dla O, nie jest jednak wystarczająca, by powodować aglutynację szczepu H przez surowicę *anti O*, jak to podają *Weil i Felix*. Ponieważ nie możemy przypuścić istnienia błędu w tak zasadniczych doświadczeniach u *W.-F.*, wnioskujemy, że ilość antygenu O w szczepach H jest różna, w zależności od czasu i warunków hodowlanych i że *Weil i Felix* operowali hodowlami H, posiadającymi daleko więcej antygenu O, niż nasze szczepy.

*Weil-Felix* twierdzą, że surowica chorych na dur plamisty zlepia szczepy H grudkowato, w przeciwieństwie do surowic królików uodpornionych, że zatem w ustroju chorych na dur plamisty krąży odmiana odmienca O. Protokół Nr. 8, przedstawiający zestawienie z 39 badań, wykazuje, że dane *Weil-Felixa* nie są słuszne.



K U Ł Nr. 7.

fizjol. rozczyn NaCl. Surowicę odpornościową rozcieńczono  $\frac{1}{50}$ .

		A b s o r b o w a n a									Surow. nieadsorbow.		
		zawiesiną X <sub>19</sub> H nieogrz.			zawiesiną X <sub>19</sub> H ogrzew.			zawiesiną X <sub>19</sub> O nieogrz.					
		A g l u t y n u j e											
		H nieog.	H ogrz.	O nieog.	H nieog.	H ogrz.	O nieog.	H nieog.	H ogrz.	O nieog.	H nieog.	H ogrz.	O nieog.
Surowice przeciwko X <sub>19</sub> H nieogrz.	1:200	-	-	-	+++ O	-	++ gr	+++ O	-	-	+++ O	++ gr	+++ gr
	1:400	-	-	-	+++ O	-	+ gr	+++ O	-	-	+++ O	+ gr	+++ gr
	1:800				+++ O		-	+++ O	-	-	+++ O	-	+++ gr
	1:1600				+ O			+ O		-	+++ O		±
	1:3200				±			-		-	+ O		
Surowice przeciwko X <sub>19</sub> H ogrzewan.	1:200	-	-	-	+++ O	-	-	+++ O	-	-	+++ O	+ gr	+++ gr
	1:400	-	-	-	±	-	-	±	-	-	+++ O	-	+++ gr
	1:800										±		±
	1:1600												

ona fa  
w surow  
stwierdz

PROTOKUŁ Nr. 8.

Odczyn *Well-Felix'a* z surowicami chorych na dur plamisty.

№ NG	X <sub>19</sub> O nieog.	X <sub>19</sub> O ogrz.	X <sub>19</sub> H nieog.	X <sub>19</sub> H ogrz.	№	X <sub>19</sub> O nieog.	X <sub>19</sub> O ogrz.	X <sub>19</sub> H nieog.	X <sub>19</sub> H ogrz.
470	± 3200 gr		++ 3200 O		60	± 800 gr		± 400 O	
471	+++ 3200 gr		+ 3200 O		61	+ 1600 gr		1600 O	
783	+ 12800 gr	± 1600 gr	+ 6400 O	± 1600 gr	62	+ 200 M		+ 200 O	
794	± 6400 gr	+ 800 gr	± 1600 O	+ 800 gr	M <sub>3</sub>	+++ 6400 gr		+ 6400 O	
1242	+ 800 gr	+ 200 M	+ 400 O	+ 400 gr	384	± 800 gr		± 200 O	
1243	+ 800 gr	--	+ 200 O	+ 800 gr	M <sub>4</sub>	++++ 12800 gr		± 6400 O	
1247	+ 1160 gr	± 400 gr	+++ 400 O	--	1	+ 6400 gr		± 6400 O	
4888	+++ 3200 gr M	+++ 800 M gr	--	--	2	± 12800 gr		+ 12800 O	
4904	+++ 3200 gr M	+++ 800 M gr	--	--	3	+ 6400 gr		+ 3200 O	
4889	+ 400 M	--	--	--	4	+ 6400 gr		+ 3200 O	
4946	+++ 800 M	+++ 200 gr M	+ 200 M	± 800 Mgr	5	± 6400 gr		± 3200 O	
4998	+++ 1600 M	+ 800 M	± 800 O	--	6	+ 6440 gr		+ 1600 O	
5004	± 1600 M	+ 400 M	--	--	7	+ 800 gr		+++ 400 O	
5038	+++ 1600 M	+ 400 M	--	--	R.	+ 1600 gr		+ 400 O	
M <sub>1</sub>	± 3200 gr		+ 3200 O		5644	± 800 gr		+ 400 O	
M <sub>2</sub>	+ 3200 gr		+ 3200 O		5645	+++ 3200 gr		+ 3200 O	
56	± 3200 gr		± 1600 O		5646	+++ 1600 gr		± 1600 M	
37	± 3200 gr		+ 3200 O		5647	+ 400 gr		± 200 O	
58	+ 6400 gr		+++ 1600 O		800	+ 3200 gr		± 3200 O	
59	± 6400 gr M		+ 1600 O						

gr



Z surowicami chorych otrzymaliśmy: ze szczepem H 32 razy aglutynację obłoczkowatą i 2 razy mieszaną, ze szczepem O 30 razy grudkowatą, 5 razy mieszaną i 3 razy grudkowato-mieszaną. Jeżeli używamy dostatecznie czystej hodowli, nie widzimy zatem aglutynacji grudkowatej szczepu H.

Aglutynacja z surowicami chorych nie różni się więc od aglutynacji z surowicami odpornościowymi. W kwestji tak zasadniczej, dotyczącej antygeny  $X_{19}$ , w tyfusie plamistym, spostrzeżenia *Weil-Felixa*, zrobione w r. 1917 i 1918, nie mogą być rozciągnięte na epidemje tyfusu plamistego z innych okresów.

Protokół Nr. 7 wykazał, że szczepy O absorbują aglutyniny *anti-O* z surowicy, wywołanej zastrzykami  $X_{19}$  H, zostawiają w niej jednak aglutyniny *anti-H*. Z surowicy odpornościowej, wywołanej przez  $X_{19}$  H, przeciwciała dla H i O można zatem wyodrębnić za pomocą swoistej absorbcji, jak to podali *Weil-Felix*. Przedsięwzięliśmy podobne badania z surowicami chorych na tyfus plamisty (Patrz prof. Nr. 9).

Protokół wykazuje, że surowice chorych na tyfus plamisty, absorbowane ze szczepem O, zarówno jak i z H, nie zawierają żadnych aglutynin, że zatem w surowicach odrębnych z lepników dla O stwierdzić nie można. Spostrzegamy przytem zjawisko, które zasadniczo przeczy pojęciu antygeny w pojęciu *Weil-Felixa*. Skoro szczepy H absorbują przeciwciała *anti-O*, to posiadają widocznie chwytniki O. Pomimo obecności tego chwytnika i skierowanych przeciwko niemu aglutynin, aglutynacja szczepów H jest obłoczkowata, a zatem istnienie chwytnika O niekoniecznie powodować musi aglutynację grudkowatą.

Widzieliśmy, że przeciwciała *anti-O* i *anti-H* można było w surowicy odpornościowej oddzielić, tymczasem, w zbadanych przypadkach, w surowicach chorych na tyfus plamisty, przeciwciała te są z sobą związane. Zjawisko to przypomina spostrzeżenia amerykańskich autorów nad meningokokami. W surowicach wieloważnych, wywołanych wieloma szczepami meningokoków, można drogą swoistej absorbcji wyodrębnić i wykazać rozmaite przeciwciała, aglutynujące tylko poszczególne grupy meningokoków. Surowica, wywołana zastrzykiem niewielu zaledwie szczepów meningokokowych, posiada jak gdyby przeciwciała związane z sobą i absorbcja jednym szczepem wyczerpuje zwykle surowicę. Moglibyśmy podobnie przypuścić, że chwytniki H i O u chorych na tyfus plamisty są złączone w jednym antygenie, tymczasem gdy w hodowli typy te rozszczepiają się tak, że królik, uodporniony szczepem H, otrzymuje jednocześnie dwa niezależne od siebie antygeny i daje wobec tego częściowo odrębne przeciwciała.

Jeśli analogję tę można zastosować do szczepów  $X_{19}$ , tłumaczyłaby ona fakt, że aglutyniny H i O można wyodrębnić u królików, tymczasem gdy w surowicach chorych na tyfus plamisty, podobnego wypadku nie mogliśmy stwierdzić.

Ogrzewane szczepy H, pomimo że z surowicami zlepiają się zawsze grudkowato, nie wykazywały w żadnym przypadku własności serologicznych O, t. zn. nie wywoływały przeciwciał anti-O i nie absorbowały nigdy zlepników O.

### PROTOKUŁ Nr. 9.

Absorbcja z surow. chorych na dur plamisty.

	Miano zlepne dla X <sub>19</sub> O	Miano zlepne dla X <sub>19</sub> H	Absorbcja z za- wiesiną X <sub>19</sub> O		Adsorbcja z za- wiesiną X <sub>19</sub> H	
			A g l u t y n a c j a			
			X <sub>19</sub> O	X <sub>19</sub> H	X <sub>19</sub> O	X <sub>19</sub> H
R.	200 gr	100 O	-	-	-	-
5644	+ 800 gr	+ 400 O	-	-	-	-
5545	++ 3200 gr	+ 3200 O	-	-	-	-
5546	+ 1600 gr	± 1600 M	-	-	-	-
5647	+ 400 gr	± 200 O	-	-	-	-
55	± 3200 gr	+ 1600 O	-	-	-	-
60	± 800 gr	± 400 O	-	-	-	-
800	+ 3200 gr	± 3200 gr	-	± 200 O	± 100 gr	-
M <sub>2</sub>	+ 3200 gr	± 3200 O	-	-	-	-
M <sub>3</sub>	++ 6400 gr	± 6400 O	± 100 gr	± 100 O	± 400 gr	+ 100 O
2	+ 6400 gr	+ 3200 O	-	-	-	-
3	+ 6400 gr	+ 3200 O	-	-	-	-
7	+ 800 gr	++ 400 O	-	-	-	-

Protokół Nr. 6 wykazuje, że ogrzewane H  $X_1$ , wywołują przeciwciała zarówno dla O, jak i dla H. Pogląd *Weila-Felixa* objaśniamy, jak wspomnieliśmy tem, że szczepy *W.-F.* H posiadały znaczną domieszkę O, która jest więcej ciepłostała. Gotowanie hodowli osłabiło zatem antygen H w większym stopniu, niż antygen O, tak że powstałe przeciwciała siłą rzeczy były skierowane więcej przeciwko O.

Spostrzeżenia *Sachsa*, *Weil-Felixa* i innych, dotyczące się większej swoistości odmian O rozmaitych rodzajów odmienca potwierdza protokół Nr. 6.

Zgodnie z *Weil-Felix'em* i *Sachsem* znajdujemy większą swoistość używając surowicy O. Widzimy, że surowica  $X_1$  H zlepia szczep  $X_2$  H dwa razy słabiej, niż szczep homologiczny. Używając szczep  $X_1$ , O do zastrzyku, otrzymaliśmy surowicę, która zlepia jedynie szczep homologiczny. A zatem widzimy rzeczywiście większą swoistość szczepu O, tymczasem gdy chwytник H jest wspólny dla grupy  $X_1$ , i  $X_2$ , co zgadza się z danymi *Weila-Felixa*.

*Sachs* twierdzi również, że można różniczkować serologicznie szczepy  $X_2$  i  $X_1$ , przez aglutynację bakterij w stanie gotowanym z surowicami swoistymi. Protokół *Sachsa* wykazuje, że surowice  $X_2$  i  $X_1$ , zlepią obie odmiany tych prątków w stanie żywym. Po ogrzaniu zaś, surowica  $X_2$  zlepia tylko szczep  $X_2$ , jak również surowica  $X_1$ , tylko szczep homologiczny.

Protokół nasz nie wykazuje większej swoistości przy użyciu szczepów gotowanych.

Badania powyższe potwierdzają zasadniczo istnienie odrębnych form aglutynacji w szczepach H i O, nie potwierdzają zaś poglądu:

1) że surowice anti-O a glutynują odmianę H grudkowato,

2) że surowice chorych na tyfus plamisty aglutynują odmianę H grudkowato,

3) że szczepy ogrzewane w doświadczeniach absorbcyjnych wykazują inne chwytniki, niż nieogrzewane i że surowice, wywołane szczepami ogrzanymi, różnią się jakościowo od surowic, wywołanych szczepami nieogrzewanymi.

## Podstawy fizyko-chemiczne aglutynacji obłoczkowatej i grudkowatej.

Opisane spostrzeżenia wykazały, że chwytniki bakterij nieogrzewanych, zbadanych przez nas, nie różnią się pod względem serologicznym od chwytników bakterij ogrzewanych. Postać aglutynatu nie może zależeć od indywidualności chemicznej chwytników, wchodzących w grę, a jedynie od własności fizyko-chemicznych, związanych przypadkowo z tą lub inną budową serologiczną bakterij. By zbadać podłoże tych różnic w formie aglutynacji, zastąpiliśmy surowicę swoistą solami aglutynującymi i koloidami. Podłoże

fizykalne tej aglutynacji jest wyraźniejsze: chodzi tu albo o wysalanie, spowodowane zabraniem rozpuszczalnika, lub o wytworzenie nierozpuszczalnych związków metalowo-białkowych, albo o zubożenie ładunku elektrycznego (jak podczas strącania przez koloidy lub jony wodorowe). i t. p.

## PROTOKUŁ Nr. 10.

### Aglutynacja bakterij z elektrolitami.

	Para B		Para C		Ty		X <sub>19</sub> O		X <sub>19</sub> H	
	nieogr.	ogr.	nieogr.	ogr.	nieogr.	ogr.	nieogr.	ogr.	nieogr.	ogr.
CaCl <sub>2</sub> 8 n . .	—	—	—	—			gr	gr	gr	gr
BaCl <sub>2</sub> 2 n . .	—	—	—	—			—	—	—	—
ZnCl <sub>2</sub> 4 n . .	MO	M	MO	O(?)	M	—	M	M	M	M
CuCl <sub>2</sub> n . . .	M	—	M	Mgr	gr	gr	—	±	gr	gr
AlCl <sub>3</sub> 1/3 n . .	—	Mgr	—	Mgr			—	gr	gr	gr
HgCl <sub>2</sub> 1/2 n . .	—	—	—	—			—	—	gr	—
UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 1/2 n	—	—	—	gr			gr	gr	gr	gr
KCr (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> n .	—	—	—	—			—	—	—	—

Protokół wykazuje, że sole metali aglutynują X<sub>19</sub> H, zarówno ogrzewane, jak i nieogrzewane, w sposób jednakowy, a mianowicie w formie mieszanej lub grudkowato-mieszanej. Tak np., miedź daje czyste grudki, cynk daje grudki trochę mniej spoiste, wobec czego zanotowaliśmy aglutynację jako mieszaną. Podobne wyniki daje aglutynacja szczepów grupy durowej, przyczem niejednokrotnie stwierdzić można większą zlepność z bakterjami ogrzewanymi, wbrew temu, co znajdujemy w surowicach swoistych. Szczepy X<sub>19</sub>, O i H aglutynują się z CaCl<sub>2</sub> grudkowato, z miedzią zaś H aglutynuje się grudkowato, O nie aglutynuje się wcale. Żelazo koloidalne i aluminium koloidalne aglutynują zarówno szczepy H i O ogrzewane, jak i nieogrzewane, w formie lekkiego obłoczka, przyczem badania mikroskopowe wykazują, że większość strąconej masy składa się z cząsteczek wypadniętego wodzianu. Jak widzimy, aglutynacja chemiczna daje inne wyniki, niż aglutynacja swoista: różnic w formie zlepnej między bakterjami ogrzewanymi a nieogrzewanymi często wykryć nie można. Aglutynacja zależy jednak w wysokim stopniu od czynnika aglutynującego, np. z miedzią bakterje aglutynują się grudkowato, z żelazem

koloidalnem obłoczkowato. Ponieważ nie możemy przypuścić, żeby bakterje posiadały rozmaite chwytники dla tych ciał chemicznych, wniosku jemy, że podłoże fizyko-chemiczne w tych aglutynacjach jest częściowo różne. Wobec tego zbadaliśmy, w jakiej postaci zostają strącane koloidy o bardziej znanych własnościach fizykalnych. Jako koloidów ujemnych użyliśmy kwasu krzemowego, trójsiarczku arsenu, srebra koloidalnego, jako koloidów dodatnich wodzianu żelaza i aluminium. Wszystkie koloidy strącaliśmy przez dodanie elektrolitu, zaś koloidy ujemne prócz tego przez dodanie wodzianu aluminium. Do jednego rzędu prócz tego zwykle dodawaliśmy 0,1 (1:100) surowicy.

### PROTOKUŁ Nr. 11.

T e c h n i k a: Jako koloidu dodatniego użyto 0,5 ccm wodzianu aluminium. Koloidu ujemnego wzięto w podanych rozcieńczeniach w ilości 0,5 ccm. Surowicę ludzką 0,1 (1%).

		R o z c i e ń c z e n i e					
		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Koloidalne srebro	Bez surowicy	+++ gr	++ gr				
	Z surowicą ludzką 0,001	+++ gr	+++ gr				
Kwas krzemowy	Bez surowicy	+++ żel.	++ żel.				
	Z surowicą ludzką 0,001	++ żel.	++ żel.	++ 0	+++ 0	++ 0	+ -
Trójsiarczek arsenu	Bez surowicy	+ 0	-				
	Z surowicą ludzką 0,001	+++ 0	+++ 0	++ 0	-		

Protokół ten wykazuje, że kwas krzemowy i trójsiarczek arsenu wypadają w postaci obłoczka. W większych stężeniach cały płyn jest wypełniony strąconym koloidem, co robi wrażenie żelatynowej masy<sup>1)</sup>. W mniejszych ilościach obłoczek przypomina zupełnie aglutynację szczepu H.

Zupełnie w innej formie aglutynuje się srebro koloidalne: wytwarzają się małe regularne grudki, szybko osadzające się na dnie. Ze zbadanych koloidów jedynie zawiesina koloidalna srebra wypada grudkowato.

Wiadomo, że koloidy dzielą się na liofilne (kwas krzemowy, trójsiarczek arsenu, wodziany metali), posiadające większe powinowactwo do wody i liofobne (do których zaliczają się koloidalne zawiesiny metalu), które powinowactwa tego nie posiadają.

1) W protokule notujemy „żel“.

Koloidy liofilne otoczone są jak gdyby osłonką wodną, wobec czego nie mogą zupełnie oddzielić się od płynu i przy strąceniu cząsteczki takiego koloidu nie mogą się ze sobą zespolić. W ten sposób otrzymujemy obraz lekko zawieszonoego obłoczka, który łatwo można rozproszyć. W koloidach liofobnych takich osłonek wodnych niema, cząsteczki mogą zbliżyć się do siebie i wytworzyć spoiste grudki. W związku z tym poglądem forma aglutynacji zależałaby od większego lub mniejszego powinowactwa do wody.

Przeniesienie tych punktów widzenia na aglutynację chemiczną objaśniłoby, dlaczego aglutynacja przez metale jest grudkowata. Podczas łączenia się białka z jonami metalu następuje denaturacja, a zatem zmniejszenie się powinowactwa białka bakteryjnego do wody. Dodanie metalu zmniejsza zatem stopień liofilności bakteryj, warunkując aglutynację grudkowatą. Aglutynację obłoczkową z wodianem żelaza i aluminium objaśniamy przedewszystkiem tem, że strątki składają się głównie z samego koloidu, który, jak wspomnieliśmy, wypada obłoczkwato.

Podobne punkty widzenia można zastosować do aglutynacji bakteryj ogrzewanych. Podczas ogrzewania białko bakteryjne się denaturuje i zatracą swoją rozpuszczalność, t. j. powinowactwo do wody. Nic też dziwnego, że gotowane bakterje aglutynują się podobnie jak liofobne zawiesiny koloidów<sup>1)</sup>.

Różnice w uwodnieniu bakteryj uważa *Eisenberg* za przyczynę różnic w barwieniu gramowem. Wobec tego zbadaliśmy szczepy H i O, barwione metodą *Gram*, w ciągu rozmaitego okresu czasu, przypuszczając, że znajdziemy różnice w zdolnościach wchłaniania lub oddawania barwnika. Doświadczenia jednak żadnych różnic nie wykazały. Podług *Klingera* bakterje lepiej uwodnione absorbują się gorzej przez drzewnik, a temsamem wznoszą się wyżej po bibule. Pogląd ten sprzeciwia się hipotezie postawionej przez nas, mianowicie, że szczepy H są lepiej uwodnione, niż O, ponieważ, jak wykazują nasze badania, szczepy H wznoszą się do wysokości 1 cm., tymczasem gdy szczepy O można było znaleźć jeszcze na wysokości 6-ciu cm.

Stosunek uwodnienia do absorbcyjności przez drzewnik nie jest jednak dość jasny, żeby na mocy tych doświadczeń budować teorię. Podobne próby, przerobione z koloidami, wykazały np., że srebro koloidalne, źle uwodnione, wznosi się z łatwością po bibule do wysokości kilku cm. tymczasem gdy żelazo koloidalne, lepiej uwodnione, nie podnosi się prawie wcale.

O ile nie chodzi w tym przypadku o silniejszą absorbcję elektryczną przez drzewnik, zjawisko to przemawiałoby wprost przeciw hipotezie, że małe uwodnienie jest przyczyną gorszego wnoszenia się.

---

<sup>1)</sup> Uwaga: Różnice fizykalne między szczepami H i O można wykazać np. obserwując wnoszenie się bakteryj po bibule, metodą *Friedbergera* i *Püttera*. Typ O wznosi się z łatwością do 5–6 cm, typ H najwyżej do 1 cm., daje się łatwiej odwirować, wypada przy innych Ph. etc. Szczepy H można łatwiej strącić przez  $(NH_4)_2SO_4$ , posiadają zatem więcej lub łatwiej strącalne białko.

Zrozumiałą jest rzeczą, dlaczego nagrzane szczepy H posiadają strefę zahamowania, której nie mają szczepy O: posiadają one mianowicie—według tego poglądu—więcej białka hydrofilnego, które po nagrzeniu staje się śluzowatym i wstrzymuje silnie wodę pęcznienia.

Bakterje, dające aglutynację obłoczkowatą, musielibyśmy zatem uważać za posiadające większą ilość łatwo rozpuszczającego się białka, które po nagrzeniu do 60°—70° C pęcznieje; dopiero przez dalsze ogrzewanie denaturacja białka doprowadzona zostaje tak daleko, że zatracą się powinowactwo do wody i bakterje wypadają w postaci grudek. Bakterje, dające aglutynację grudkowatą, jak szczepy O lub *Para C*, posiadają według tego poglądu białko, którego własności fizykalne zbliżają się do białka gotowanego.

Nadmienić musimy, że aglutynat obłoczkowaty zajmuje na dnie próbówki wirówkowej zawsze więcej miejsca, niż aglutynat grudkowaty. Podług naszej hipotezy bakterje zaglutynowane oddzielone są cząsteczkami wody. Hipotezę powyższą spróbowaliśmy wyjaśnić przez określenie ilości zawartej wody w aglutynacie H i O.

#### PROTOKUŁ Nr. 12.

T e c h n i k a : 10 cm<sup>3</sup> zawiesiny wiano do dużej próbówki wirówkowej i wirowano ją 1 godz. Waga próbówki była znana. Po tym czasie wylano płyn z nad osadu. Probówkę umieszczono na bibule do góry dnem i, po ścisłym odważeniu, umieszczono w eksykatorze: ważono codziennie, aż do otrzymania stałej wagi.

Zawiesina nieaglutynowana	Wody	Zawiesina aglutynowana z surowicami homologicznymi	Wody
X <sub>10</sub> O nieogr. zawierała	80.3%	X <sub>10</sub> O nieogr. zawierało	81.4%
X <sub>10</sub> O ogrz. zawierała	73.3%	X <sub>10</sub> O ogrz. zawierało	81.2%
X <sub>10</sub> H nieogr. zawierała	83.8%	X <sub>10</sub> H nieogr. zawierało	84.9%
X <sub>10</sub> H ogrz. zawierała	79.9%	X <sub>10</sub> H ogrz. zawierało	81.0%

Różnice okazały się dość małe; ciekawą jest jednak rzeczą, że żywe szczepy H stale zawierają więcej wody, niż żywe szczepy O, tymczasem, po nagrzeniu, ilość wody w H jest taka sama, jak w O.

Przyczynę odrębnej formy aglutynacji upatrujemy zatem nie w odrębnych chwytниках, warunkujących różne powinowactwo do przeciwciała, a w różnym powinowactwie rozmaitych bakteryj do wody.

## PIŚMIENNICTWO.

1. Bauch i Hamburger. Deut. Med. Woch. 1917 Nr. 36.
2. Bechhold. Zeit f. phys. Chemie 1904. Nr. 48.
3. Bechhold, Neisser i Friedemann. Münch. Med. Woch. 1904  
Nr 11 i 19.
4. Braun. Berl. Klin. Woch. 1918 Nr. 27.
5. Brauni Schaeffer. Berl. Klin. Woch. 1919 Nr. 18.
6. Brauni Salomon. Deut. Med. Woch. 1918 Nr. 3.
7. Büchner i Zollner. Zeit f. Imm. 1921 t. 33 Nr. 2.
8. Csepai. Wien. Klin. Woch. 1917 Nr. 38 i 40.
9. Dreyer. British. Med. Jour. 1904 (cyt. podl. *Porgesa*).
10. Eisenberg. Centr. f. Bact. 1902 (cyt. podl. *Porgesa*).
11. Eisenberg. Przegląd Epidemj. 1920 tom I zeszyt 3.
12. Eisenberg i Volk. Zeit f. hyg. 1902 (cyt. podl. *Porgesa*).
13. Eissler i Silberstein. Zeit f. Hyg. 1921 t. 93 Nr. 2/3.
14. Friedberger. Münch. Med. Woch. 1919 Nr. 66.
15. Felix i Mitzenmacher. Wien. Kl. Woch. 1918 Nr. 36.
16. Hirszfild. Arch. f. Hyg. 1907 t. LX.
17. Joos. Centr. f. Bact. 1903 t. 33 Nr. 10.
18. Kraus i Joachim. Centr. f. Bact. 1904 t. 34 Nr. 5 i t. 37 Nr. 1.
19. Klinger. Münch. Med. Woch. 1920 Nr. 67.
20. Neisser i Friedemann. Münch. Med. Woch. 1904 Nr. 11 i 19.
21. Obermeyer i Pick. Wien. Kl. Woch. 1903 Nr. 22 1904 Nr. 10.
22. Paltauf. Deut. Med. Woch. 1903.
23. Porges. Centr. f. Bact. 1905 t. 39 Nr. 3 1906 t. 41 Nr. 4.
24. Porges. Wien. Kl. Woch. 1905 Nr. 26.
25. Sachs. Deut. Med. Woch. 1918 Nr. 17.
26. Seifert. Zeit f. Imm. 1920 t. 30 Nr.  $\frac{5}{6}$ .
27. Weil-Felix. Wien. Kl. Woch. 1917 Nr. 48.
28. Weil-Felix. Wien. Kl. Woch. 1918 Nr. 23 i Nr. 36.
29. Weil-Felix i Mitzenmacher. Wien. kl. Woch. 1918 Nr. 46.
30. Weltman i Seufferheld. Wien. Kl. Woch. 1918 Nr. 52.



Aus dem Institut für Serumforschung in Warschau  
Direktor Dr. L. Hirszfeld.

### ZUSAMMENFASSUNG

## Ueber die antigenen Eigenschaften der Typhus, Paratyphus und Proteusstämmе.

von L. HIRSZFELD und J. SEYDEL.

Im Gegensatz zu *Weil* und *Felix* konnten Verff. keinen qualitativen Unterschied zwischen den antigenen Eigenschaften der gekochten und ungekochten Bakterien finden (es wurden Typhus, Paratyphus B, Paratyphus C, X<sub>1</sub>, (H und O) und X<sub>2</sub> O) geprüft. Die mit gekochten Stämmen hervorgerufenen Sera waren zwar schwächer, gaben aber keine andere Form der Agglutination, als die mit lebendigen Bakterien hergestellten. Durch Absorbtiionsversuche konnte das Vorhandensein von zwei Receptoren bei den ungekochten Stämmen und von zwei besonderen gegen sie gerichteten Antikörpern nicht erwiesen werden. Die gekochten Bakterien absorbieren ungefähr 20 bis 30 mal schwächer, als die ungekochten, agglutinieren auch schwächer. Es kann daher vorkommen, dass nach Absorbtiion mit gekochten Bakterien die gekochten nicht mehr, die ungekochten aber noch weiter agglutiniert werden. Die genaue Titrierung ergibt aber stets auch für lebendige Bakterien eine Abnahme des Titers, die Form des Agglutinats bleibt dabei dieselbe.

Die von *Porges* beobachtete Hemmungszone bei auf 80° erhitzten Bakterien zeigen hauptsächlich grobflockig agglutinierende Bakterien, bei kleinflockig agglutinierenden, wie *Para C*, oder Stämme X<sub>1</sub>O, ist die Hemmungszone nur wenig ausgesprochen.

Das Anti X<sub>1</sub> H Immunserum, hergestellt durch dreimalige Injektion von H Kulturen, agglutiniert sowohl H als O Stämme. Die Antikörper gegen O lassen sich durch O Kulturen absorbieren, wobei der Titer für H Stämme um ca. 50% abnimmt. Das Anti H Immunserum besitzt demnach besondere, durch Absorbtiion trennbare, Antikörper gegen O. Das Anti O Serum agglutinierte nur den O Stamm und beeinflusste nicht im geringsten die H Kultur.

In den Versuchen von *Weil-Felix* agglutinierte das O Serum die H Stämme kleinflockig. Verff. nehmen daher an, dass die H Stämme, selbst wenn sie kulturell gleich aussehen, bereits serologische Differenzen aufweisen. Die den Verff. von *Weil* zugeschickten Kulturen waren offenbar serologisch reiner, als während der Versuche von *Weil-Felix*. Die in ihnen enthaltene O Menge konnte zwar die Antikörperbildung veranlassen, genügte aber nicht, um eine Agglutination zu bewirken.

Untersuchungen mit diesen „reinen“ H Kulturen ergaben, dass Flecktyphussera die H Stämme fast immer grobflockig agglutinieren. Auf 39 untersuchten Flecktyphussera mit H Kulturen war in 32 Fällen die Agglutination rein grobflockig, in 2 Fällen gemischt und in 5 Fällen negativ, während die O Stämme immer kleinflockig agglutiniert wurden. Das Vorhandensein eines reinen „O Antigens“ in Krankenkörper ist somit sehr selten.

Während bei Anti H Immunseren die mitentstandenen O Agglutinine von H Agglutininen durch Absorbition getrennt werden konnten, gelang dies bei Flecktyphusseren nicht. Der Unterschied zwischen dem Flecktyphus- und Immunserum bestand also nicht in der Form des Agglutinats, sondern in der Nichtigkeit der Trennbarkeit der Anti H und Anti O Agglutinine. Verff. diskutieren die Möglichkeit, dass bei den Kulturen eine Trennung der Antigene stattfindet, die eine Bildung von 2 besonderen Antikörpern veranlasst, während die „H“ und „O Antigene“ bei Flecktyphuskranken vereinigt sind.

Trotzdem die H Stämme die O Agglutinine aus dem Flecktyphusserum absorbieren, agglutinieren sie rein grobflockig. Die Anwesenheit in einer Kultur des O Receptors und eines entsprechenden Antikörpers braucht somit keine kleinflockige Agglutination zu bewirken.

Gekochte H Stämme veranlassten bei Kaninchen Antikörper sowohl gegen H wie gegen O.

Die Salze der Schwermetalle agglutinieren alle Bakterienarten (gekochte wie ungekochte) gemischt oder kleinflockig, nur Eisen und Aluminium-Hydroxyd agglutinieren die Bakterien grobflockig. Kieselsäure, Arsentsulfid (negative Kolloide), Eisenhydroxyd und Aluminiumhydroxyd (positive Kolloide) fallen sowohl bei gegenseitiger Fällung wie bei Fällung durch Elektrolyte grobflockig, während kolloidales Silber kleinflockig ausfällt. Da die ersten den liophilen, das kolloidale Silber den liophoben Kolloiden gehört, stellen sich Verff. vor, dass das mit den Teilchen der liophilen Kolloide verbundene Wasser eine engere Aneinanderlagerung verhindert. Die H Bakterien agglutinieren demnach wie liophile, die O Bakterien wie liophobe Kolloide. Dieser Befund erklärt, warum gekochte Bakterien kleinflockig agglutiniert werden: durch Koagulation der Eiweisskörper beim Kochen wird die Affinität zum Wasser herabgesetzt; die gekochten Bakterien werden dann wie liophobe Kolloide ausgefällt. Die Schwermetallsalze agglutinieren kleinflockig, da sie eine Denaturierung der Eiweisskörper und dadurch eine Herabsetzung der Affinität zum Wasser bewirken.

Während also *Weil* und *Felix* die kleinflockige Form der Agglutination bei gekochten Bakterien auf Vorhandensein eines besonderen thermostabilen Receptors zurückführen, sind nach Verff. die Antigene der gekochten und ungekochten Bakterien serologisch gleich und lediglich physikalisch verschieden, indem bei gekochten Bakterien die Affinität zum Wasser herabgesetzt ist und sie daher wie andere liophobe Kolloide in kleinen kompakten Flocken ausfallen.

Physikalische Unterschiede zwischen H und O Stämmen werden schon beim Zentrifugieren festgestellt: die H Stämme lassen sich schwerer abzentrifugieren. In dem von *Friedberger* und *Pütter* angegebenen Steigversuch <sup>1)</sup> auf Filtrirpapier steigen die O Stämme fast 8 mal höher als die H Stämme, auch fallen sie bei anderen H Concentrationen aus.



<sup>1)</sup> Der Einwand, dass die leichtere Steigbarkeit der O Stämme gegen die Annahme einer schwächeren Lyophilie spricht, lässt sich experimentell widerlegen, indem das lyophobe kolloidale Silber höher steigt, als das Eisenhydroxyd. Offenbar spielen hier nach andere Momente eine Rolle.

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Warszawie.  
(Dyrektor Dr. Ludwik Rajchman).

## Badania doświadczalne nad durem plamistym.

Podał

Dr. H. SPARROW.

DONIESIENIE I-sze.

### Przebieg duru plamistego u zwierząt laboratoryjnych.

Nikomiu dotąd nie udało się wyhodować zarazka duru plamistego *in vitro*. W badaniach nad durem plamistym musimy się narazie zadowolnić materiałem, pobieranym od chorego człowieka lub hodowlą w zwierzętach doświadczalnych. Zwierzęta te, zakażone, przechodzą dur plamisty, w formie więcej bądź mniej ciężkiej. Z używanych powszechnie zwierząt laboratoryjnych do hodowli zarazka duru plamistego służyć mogą jedynie małpy i świnki morskie. Wobec kosztów i trudności sprowadzania małp, świnki stały się najczęściej używanym materiałem w pracach doświadczalnych nad durem.

Zarazek duru plamistego, przeszczepiany ze świnki na świnkę, przechodził niejednokrotnie szereg pasażów w ciągu kilku lat. *Da Rocha Lima* hodował go w 34 pasażach w ciągu roku, *Nicolle* w 103 pasażach w ciągu 3 lat, *Olitzki* hodował szczep duru plamistego przez 5 lat.

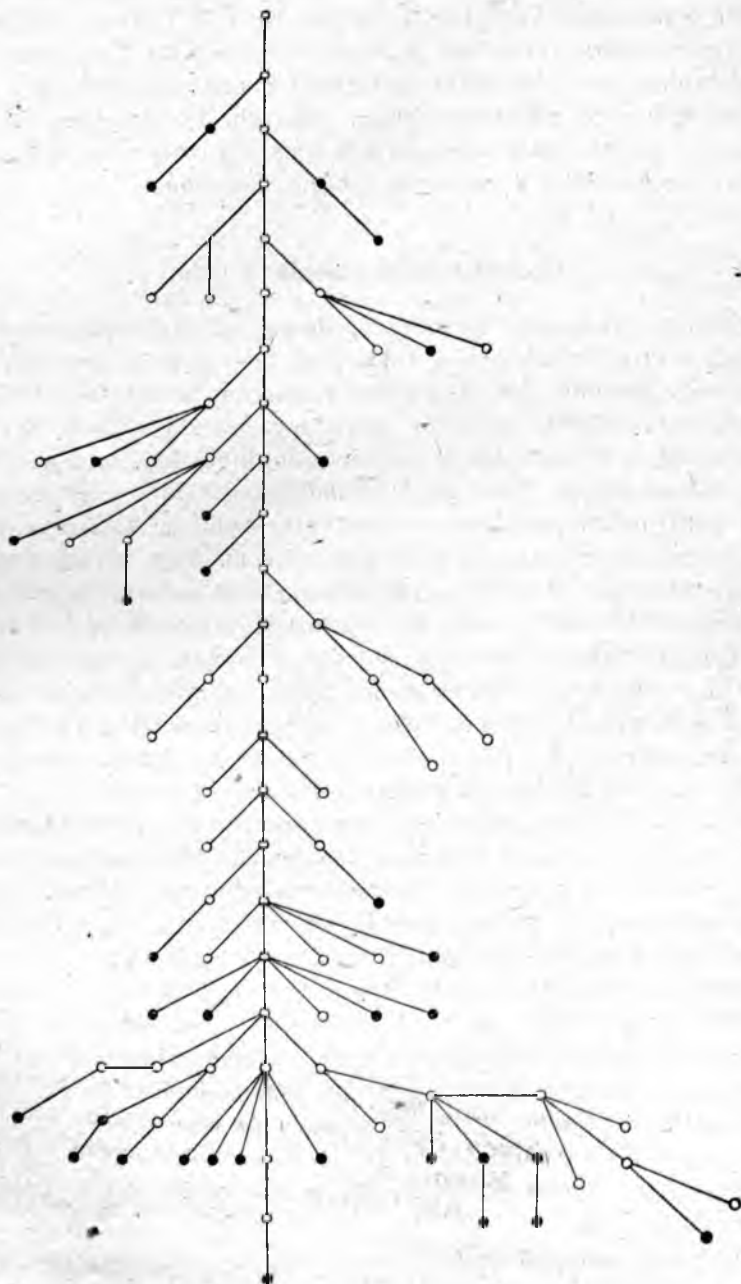
Celem otrzymania szczepu duru plamistego do naszych badań, użyto krwi 19 chorych na dur plamisty; krew tę wstrzyknięto, bezpośrednio po pobraniu, do otrzewnej 10 świnkom, po 5 cm.<sup>3</sup> każdej. Chorzy, których krew użyto, stanowili przypadki duru średniej ciężkości, bez komplikacji, o wybitnej wysypce i znajdowali się w okresie największego nasilenia choroby (9—12 dzień).

Z liczby świnek, zaszczepionych krwią chorych, w 9 dni po szczepieniu jedna (świnka Nr. 5) dała nieznaczne, lecz stałe podniesienie ciepłoty o 0,5°C powyżej normy. W 7-ym dniu gorączki świnka została zabita. Normalny obraz sekcyjny nie wskazywał na możliwość postronnego zakażenia. Z mózgu tej świnki przygotowano zawiesinę i zakażono nią świnki następnego pasażu, wprowadzając zawiesinę do otrzewnej. Szczep, pochodzący z tej świnki (św. Nr. 5) przeszedł w ciągu roku 23 pasáže, użyty

został do doświadczeń i przechowywany był stale w świnkach. Na tabl. I podajemy schemat pasaży szczepu.

### TABLICA I.

Schemat pasaży szczepu duru plamistego w świnkach morskich od 25/I 1921 r. do 15/XII 1921 r.



Inna z zaszczepionych świnek (Nr. 6) dała także, na 10-ty dzień, stałe podniesienie ciepłoty o  $0,7^{\circ}\text{C}$  powyżej normy. W 11-ym dniu świnka ta padła;

sekcja wykazała zapalenie płuc. Zawiesiną jej mózgu zakażono nową świnkę (Nr. 14); i u tej świnki obserwowano następnie typowy przebieg duru plamistego.

Z pozostałych 8 świnek, 4 padły na 5-y, 9 y, 10-y dzień po wstrzyknięciu. Sekcja wykazała zakażenia wtórne: wysięk w jamie brzusznej i zapalenie płuc. Krzywe ich temperatury nie odpowiadały typowi właściwemu dla duru plamistego. Pozostałe 4 świnki (Nr. 1, 4, 7, 8) nie zachorowały wcale. Temperatura, mierzona w ciągu 6 tygodni do 2 miesięcy, nosiła charakter stały i nie przekraczała poziomu temperatury normalnej. Świnki te nie podległy więc zakażeniu krwią chorych. Po upływie 8 miesięcy 2 z nich (Nr. 4 i 8) zostały zakażone jadem pasażu (zawiesiną mózgu świnki chorej na dur plamisty) z wynikiem wybitnie dodatnim.

### Technika przeszczepiania jadu.

Technika, używana celem przeszczepiania jadu, była następująca. Mózg świnki, chorej na dur plamisty i zabitej w 5 — 8 dniu choroby, wyjęty jałowo (waga średnia 3,5—4 gr.), był rozcierany w roztworze fizjologicznym soli tak, aby 1 cm.<sup>3</sup> tej zawiesiny zawierał 0,3—0,25 gr. mózgu; zawiesinę tak sporządzoną zlewano do kieliszka jałowego i przykrywano go jałową płytką *Petrie'go*. Po opadnięciu błonek i większych cząsteczek tkanki na dno, zawiesinę wstrzykiwano świnkom do otrzewnej (1—2 cm.<sup>3</sup>), dezynfekując poprzednio skórę spirytusem. Waga świnek używanych niezawsze wynosiła 250—300 gr., jak zalecają inni badacze; wśród użytych były świnki od 200—500 gr. wagi. Nie zauważyliśmy jednak, by przy dawkach, które się wahały od 0,25 do 0,6 gr. substancji mózgowej, a najczęściej stanowiły 0,3 gr., świnki o większej wadze były mniej wrażliwe od najmniejszych. Z 4 świnek, które w przebiegu naszych doświadczeń nie zachorowały, jedna ważyła 250 gr., dwie 350 i jedna 450 gr. Sądzę, że waga w tym wypadku nie miała wpływu na ujemny wynik doświadczenia.

Świnkom zdrowym, które były przeznaczone do doświadczeń, mierzono uprzednio, w ciągu tygodnia, codziennie temperaturę, aby mieć większą pewność, że używamy do szczepienia zwierzęta zdrowe. Temperatura normalna naszych świnek wahała się od 37,5°—38,5°. Temperatura normalna świnki morskiej podawana jest przez rozmaitych autorów w różnej wysokości. *Otto, Dietrich* i *Friedberger* notują 37,5°—38,5°, *Doerr* i *Pick* 38°—38,5°, *Nicolle* 38,5°—39,5°. Okazuje się, że normalna temperatura świnki morskiej zależy w wysokim stopniu od temperatury zewnętrznej, od klimatu danej miejscowości i od pory roku. Latem ciepłota świnki jest wyższa, niż w zimie. Według *Kraussa* i *de la Barrera* temperatura świnki w Sant Jago de Chili wynosi 37° do 38°, a po przewiezieniu jej do Buenos Aires 39°—39,9° i jest taką samą, jak temperatura świnek, urodzonych w Buenos Aires.

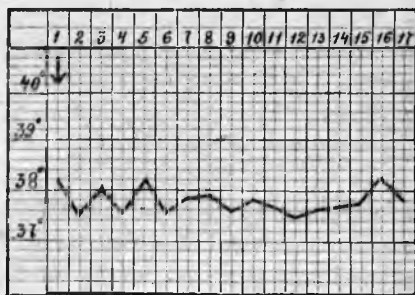
Aby wyłaczyć wpływy postronne na wahania mierzonej temperatury, należy ustalić metodę mierzenia: mierzyć zawsze o tej samej porze dnia, powierzając tę czynność stale tej samej osobie, odpowiednio wyszkolonej. Temperaturę świnek mierzyć należy *per rectum*, wprowadzając termometr

na głębokość 3 cm. i pozostawiając przez 3—5 minut; termometr przed każdym użyciem należy dezynfekować spirytusem i zanurzyć koniec w oliwie lub w płynnej parafinie. Świnę trzymamy w lewej dłoni, nogami do góry, z podniesionym tyłem tułowia. Przy takim sposobie mierzenia temperatury, żadnej ze 100 użytych świnek ani razu nie uszkodzono odbytnicy, co stwierdzono na sekcjach.

W kilku doświadczeniach świnek nie zabijano, lecz brano 2—3 cm.<sup>8</sup> krwi z serca chorej świnki i natychmiast zakażano następną świnkę, wstrzykując krew do otrzewnej. Zazwyczaj, przenosząc szczep na świnki następnego pasażu, zakażano zawieszoną mózgu równocześnie 2—3 świnki, aby zapewnić zachowanie szczepu w razie, gdyby jedna ze świnek padła wskutek zakażenia postronnego. Wszystkim szczepionym świnkom mierzono temperaturę i dla dalszych przeszczepów zabijano tę świnkę, której krzywa temperatury w przebiegu choroby okazała się najbardziej typową dla duru plamistego. Za każdym razem

TABLICA II.

Temperatura świnki normalnej.



świnki dokładnie sekowano. Jeżeli obraz sekcyjny był normalny, wyjmowano jałowo mózg, robiono posiew ze krwi i zawiesiny mózgu i tą zawieszoną zakażano świnki następnego pasażu.

Ze 100 użytych świnek, 36 padło z objawami wtórnego zakażenia; z nich u 13 stwierdzono zapalenie płuc, u 5 wysięk krwawy lub surowiczny, który okazał się jałowym, u 4 stwierdzono pseudo-tuberculosis, u 1 zapalenie opłucnej i włókniste zapalenie osierdzia; u jednej tylko znaleziono ropne zapalenie otrzewnej, spowodowane niedostateczną aseptyką podczas roboty. W niektórych przypadkach (5 razy) zmuszeni byliśmy użyć do dalszych przeszczepów świnki chorej na dur plamisty, u których sekcja stwierdziła objawy wtórnego zakażenia. Szczep oczyszczał się w następnych już pasażach i świnki, zakażone szczepem zanieczyszczonym, chorowały tylko na dur plamisty.

Pierwszy szereg doświadczeń wykazał reakcję świnek na wstrzykiwanie zawiesiny mózgu świnki normalnej. Jak widzimy z krzywej (tablica Nr. III) wstrzykiwanie to jakichkolwiek wahań ciepłoty nie wywołuje; świnki znoszają je zupełnie obojętnie.

### Przebieg duru plamistego u świnek.

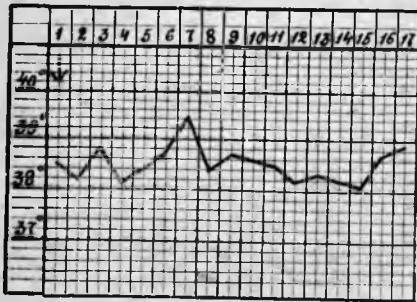
Wstrzykiwanie zawiesiny mózgu świnki, chorej na dur plamisty, nie wywołuje zazwyczaj u świnki szczepionej bezpośredniej reakcji cieplnej. Dopiero po upływie okresu wylęgania, temperatura zaczyna się podnosić. Dur plamisty u świnek przejawia się jedynie w podniesieniu ciepłoty i obni-

zeniu wagi ciała. Świnki przechodzą dur lekko, zachowują normalny, zdrowy wygląd, apetytu nie tracą.

Na tablicy IV podajemy zestawienie okresu wylęgania i okresu choroby u ludzi i u świnek. Dla świnek podajemy dane *Nicolle'a*, *Weila* i nasze, obliczone w odsetkach. Przy zestawieniu porównawczem widzimy, że liczby te nie są jednakowe.

TABLICA III.

Świnka szczep. mózgiem świnki normalnej.



Różnice i odchylenia powstają prawdopodobnie wskutek różnic w technice pracy w poszczególnych laboratorjach i indywidualnych właściwości szczepów, którymi operowano (Patrz tabl. IV).

Według *Weila* okres wylęgania duru plamistego u świnek trwa od 5—7 dni bez odchyłeń (obliczone na 330 świnkach). Według *Nicolle'a* wylęganie trwa dłużej; świnki zachorowują najczęściej w 8—11 dniu, lecz okres ten trwać może także od 5 do 21 dni. Liczby te zbliżają się do odpowiednich liczb z okresu wylęgania duru u ludzi, podanych przez *Hamdie'go* i obliczonych zupełnie dokładnie z doświadczeń *D-ra O. H.*

W doświadczeniach moich okres wylęgania, obliczony na zasadzie danych, dotyczących 50 świnek, trwa od 4—14 dni; najwięcej świnek zachorowało w okresie między 5—9 dniem po zakażeniu. Ponieważ dawki stosowane były mniej więcej jednakowe, więc wielkość dawki nie miała wpływu na okres wylęgania. Wahania w trwaniu tego okresu zależęć mogły od indywidualnych właściwości świnek, od okresu choroby, w którym mózg był pobrany i od przypuszczalnej zmienności jadu.

Z 50 świnek, które zachorowały na dur plamisty, 29 użyto kolejno do przeszczepiania, 21 przebyły chorobę. Na zasadzie więc 21 przypadków możemy obliczyć długość okresu gorączkowego u świnek. Okres ten trwał od 3 do 12 dni, w jednym przypadku 15 dni; najczęściej świnki chorowały od 6 do 10 dni. Według *Weila* liczby, odpowiadające okresowi gorączki oraz wylęgania, podlegają mniejszym wahaniom (Patrz tabl. V).

Ażeby otrzymać przeciętne podniesienie się ciepłoty dla każdego przypadku, zestawiano najwyższą temperaturę świnki chorej z temperaturą normalną tejże świnki. Wyniki tych zestawień są następujące. Temperatura świnek podnosiła się o 0,5° — 2,3°, najczęściej od 1° — 2° (82% wszystkich świnek). U świnek pierwszego pasaży, szczepionych krwią chorych, to podniesienie ciepłoty było bardziej nieznaczne, niż u świnek zakażonych jadem pasaży w postaci zawiesiny mózgu. Temperatura podnosiła się zwykle stopniowo, w ciągu 2—3 dni dochodziła do maksimum, pozostawała na tej wysokości bez wahań znaczniejszych w ciągu kilku dni, następnie stopniowo się obniżała i w ciągu 2—3 dni spadała do normy. Krzywa temperatury świnek przypomina krzywą temperatury ludzi, chorych na dur plamisty, jest tylko znacznie niższa i krótsza. Podajemy



TABLICA IV.

Dni wylęgowe . . . . .	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Ludzi zachorowało w/g Hamdiego w ‰			1	2	6	7	10	12	11	18	6	4	6	3	3	2	2	3	1	2	1
Świnek zachor. w/g Nicolle'a w ‰ (182 św.)			2	7	6	16	20	18	11	6	3	3	1,5	2	1,5	1	1		1		
Świnek zachor. w/g Weila w ‰ (330 św.)			12	64	24																
Świnek zachorowało w naszych doświadczeniach w ‰ (50 św.)		4	10	12	20	14	16	8	6	2	2	6									

TABLICA V.

Dni gorączki u świnek . . . . .	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
W/g Weila w ‰ (ze 100 św.) . . . . .			10	24	28	21	8	5	2	2											
W naszych doświadczeniach (z 20 św.) .	5			15	10	20	10	15	5		5		5								

dla porównania typowe krzywe: chorego na dur plamisty człowieka (tablica VI) i świnki (tablica VII).

TABLICA VI.

Świnka Nr. 14, szczepiona mózgiem świnki Nr. 6 (0,4 do otrzewnej) — typowy dur plamisty. Po trzech miesiącach świnka została zakażona powtórnie mózgiem świnki Nr. 21 — okazała się odporną.



TABLICA VII.

Dur plamisty u człowieka.



Odchylenie od tego typu krzywej widywaliśmy dość często. Do nietypowych form duru zaliczamy przypadki o krzywej ze znacznymi wahaniami temperatury, przypadki o krótkim przebiegu i nieznacznym podniesieniu ciepłoty, a także o niezwykle długim okresie wylęgania i długo trwającej gorączce (Patrz. tabl. VIII, IX, X, XI).

Na 42 przypadki typowe było 9 nietypowych, lecz i w tych przypadkach dur plamisty można było stwierdzić zapomocą dalszych przeszczepów i zjawisk odpornościowych. W 4 przypadkach świnki zakażone nie chorowały wcale. Obliczając cyfry wspomniane w odsetkach otrzymamy:

- 78% świnek zakażonych jadem pasaży zachorowało typowo
- 14<sup>1</sup>/<sub>2</sub>% świnek zakażonych jadem pasaży zachorowało nietypowo
- 7<sup>1</sup>/<sub>2</sub>% świnek zakażonych jadem pasaży nie chorowało wcale.

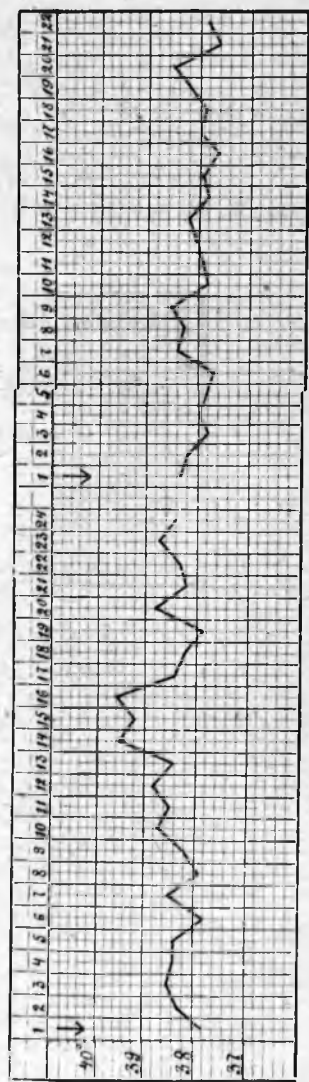
W przebiegu choroby waga ciała świnki zawsze się obniża. Świnki tracą na wadze od kilkunastu do kilkudziesięciu gramów (10, 15, 20, 40 gr.). Największe obniżenie przypada na okres gorączkowy, lecz i w okresie wylegania waga ciała świnki obniża się o kilka gramów.

Zmiany anatomo - patologiczne w durze plamistym u świnek morskich uwidoczniają się makroskopowo jedynie w przekrwieniu narządów wewnętrznych, przyczem śledziona jest powiększona; mózg i opony są przekrwione w każdym przypadku. Obraz sekcyjny tego typu wyłącza istnienie zakażenia wtórnego, co potwierdzają też ujemne wyniki badań bakteriologicznych krwi i zawiesiny mózgu. Wśród świnek, zbadanych pod względem anatomo-patologicznym, zanotowaliśmy zaledwie dwie, u których znaleźliśmy włókniste zapalenie osierdzia ze zwyrodnieniem mięśnia sercowego i jeden przypadek wylewu krwi do opłucnej; niejednokrotnie można było zauważyć drobne krwawe wybroczyny na wewnętrznej stronie skóry świnek.

Rozpoznanie duru plamistego za życia świnki, jak widzimy z opisu klinicznego choroby, opieramy jedynie na zasadzie typowej ciepłoty po odpowiednim okresie wylegania. Objaw ten nie jest zupełnie pewny i zakażenie wtórne może go również spowodować.

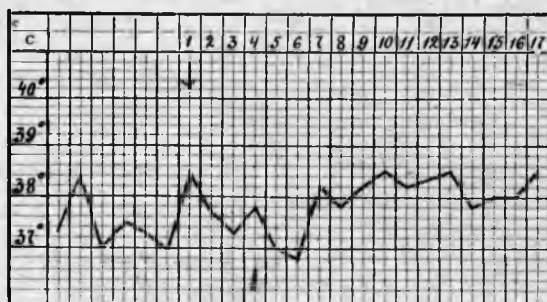
TABLICA VIII.

Świnka Nr. 24, zakażona 0,4 gr. mózgu świnki Nr. 21; wyleganie trwało 13 dni, choroba 3 dni, temperatura podniosła się o 0,7°. Niezwykle krótki przebieg gorączki nasuwał wątpliwości co do swoistości choroby. Po upływie 5 miesięcy świnkę szczepiono po raz drugi; świnka okazała się zupełnie odporną.



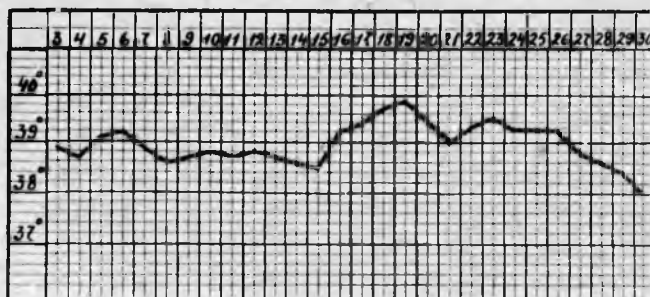
TABLICA IX.

Świnka Nr. 5, zakażona krwią chorego; od niej pochodzi nasz szczep laboratoryjny.  
Temperatura podniosła się tylko o 0,5°.



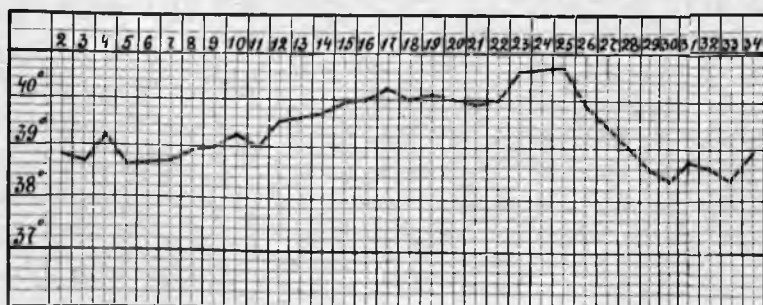
TABLICA X.

Świnka Nr. 82, zakażona mózgiem świnki Nr. 72; bardzo długi okres wylegania  
(14 dni).



TABLICA XI.

Świnka Nr. 77, zakażona mózgiem świnki Nr. 72; bardzo długi okres gorączkowy  
(15 dni).



Aby badaniom laboratoryjnym nadać ścisłości, a otrzymanym wynikiom pewności, konieczną jest rzeczą stwierdzenie, poza okresem wylegania i typową krzywą ciepłoty, jeszcze całego szeregu danych. Dane te muszą dotyczyć: obrazu anatomicznego (jest on normalny), hodowli krwi (z wynikiem ujemnym), obrazu histologicznego mózgu (swoiste schorzenia drobnych naczyń krwionośnych), zjawisk odporności na zakażenia ponowne i wywołania odczynu *Weila-Felixa* u króli, szczepionych mózgiem świnek, chorych na dur plamisty (p. Doniesienie II).

W skrawkach mózgu zawsze stwierdzaliśmy obecność znanych i dla duru plamistego swoistych schorzeń ogniskowych drobnych naczyń krwionośnych.<sup>1)</sup>

### Odporność.

Zjawiska odpornościowe u świnek, zarówno jak i u innych zwierząt laboratoryjnych, które przebyły dur plamisty, nie zostały jeszcze zupełnie wyświetlone. Liczne dane epidemjologiczne wykazały, że dur plamisty u ludzi wytwarza trwałą odporność. W przebiegu tej choroby ustrój człowieka nabywa odporności niezależnie od tego, czy przebieg był ciężki, średni lub poronny. Przypadki powtórnego zakażenia należą do nadzwyczajnych wyjątków (*Curschmann i Jürgens*). Szereg badaczy stwierdza, że ozdowieńcy po durze plamistym mogą żywić na sobie przez czas dłuższy wszy zakażone, nie podlegając ponownemu zakażeniu, a w kilka lat po chorobie znoszą bez najmniejszej reakcji 0,5—0,7 mózgu świnki, chorej na dur plamisty (*Doerr i Starkenstein*).

Dur plamisty doświadczalny u zwierząt (u świnek morskich i u małą) wytwarza, tak samo jak u człowieka, zupełną i długo trwającą odporność, lecz zdaniem *Nicoll'e'a, Andersona i Goldbergera, Kirschnera i Russa*, tylko po typowym przebiegu choroby. Formy poronne (*formes abortives*), według wspomnianych autorów, zwierząt nie uodporniają. Odmienny pogląd w tej sprawie wypowiadają: *Doerr, Pick, Schnabel, Vöchting*, a także *Weil, Breinl i Gruschka*, którzy, na zasadzie licznych doświadczeń, dowodzą, że nie tylko formy poronne duru plamistego, lecz i postaci ukryte (*infections inapparentes*), uodporniają zwierzęta tak samo, jak ludzi. *Weil* i jego współpracownicy twierdzą, że odporność po jednokrotnym zakażeniu można zawsze stwierdzić nie tylko u świnek, lecz i u króli, u których dodatni odczyn *Weila-Felixa* jest jedynym objawem choroby. Odczynu tego nie udaje się wywołać ponownie, drogą wielokrotnego wstrzykiwania jadu zjadliwego.

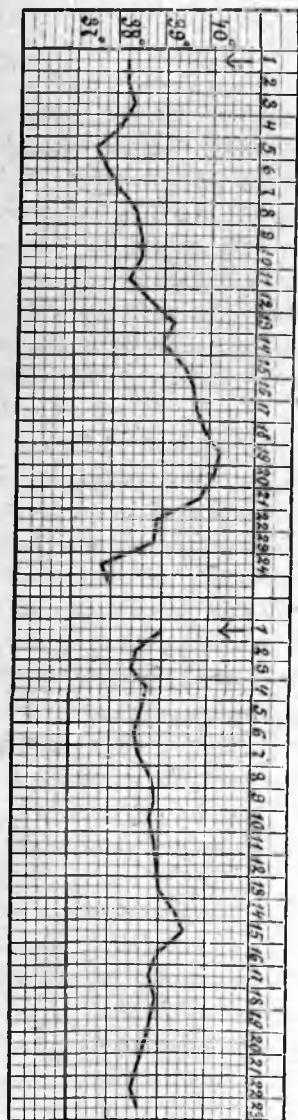
Zdaniem *Weila, Doerra* i innych, zarazek duru plamistego, wprowadzony do organizmu wrażliwego (świnki) w ilości niedostatecznej, lub do organizmu zwierząt mało wrażliwych (jak król i szczur), nawet w znacznej ilości, nie może spowodować choroby z całokształtem objawów. Jednak zarazek w tych warunkach nie ginie, a rozmnaża się i przechodzi pewien cykl rozwojowy; organizm zakażony choruje bez podniesienia ciepłoty

<sup>1)</sup> Histopatologia duru plamistego, doświadczalnego dokładniej będzie omówiona w Doniesieniu III.

i bez widocznych objawów chorobowych; krew i narządy w przebiegu *infection inapparente* stają się zakaźnymi dla zwierząt wrażliwych. Wskutek tej ukrytej formy duru powstaje trwała i długo trwająca odporność.

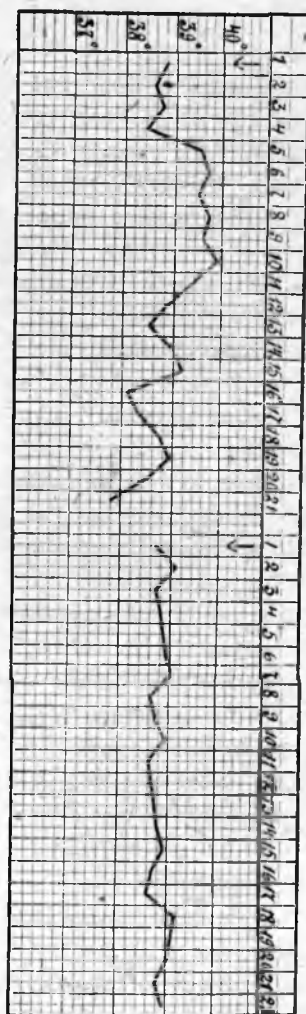
TABLICA XII.

Świnka Nr. 51, zakażona mózgiem świnki Nr. 47 (0,6 do otrzewnej) — typowy dur plamisty; po dwóch miesiącach zakażona powtórnie mózgiem świnki Nr. 72 (0,4 do otrzewnej) — odporna.



TABLICA XIII.

Świnka Nr. 54, zakażona mózgiem świnki Nr. 50 (0,4 do otrzewnej) — typowy dur plamisty; po trzech miesiącach zakażona powtórnie mózgiem świnki Nr. 72 — odporna

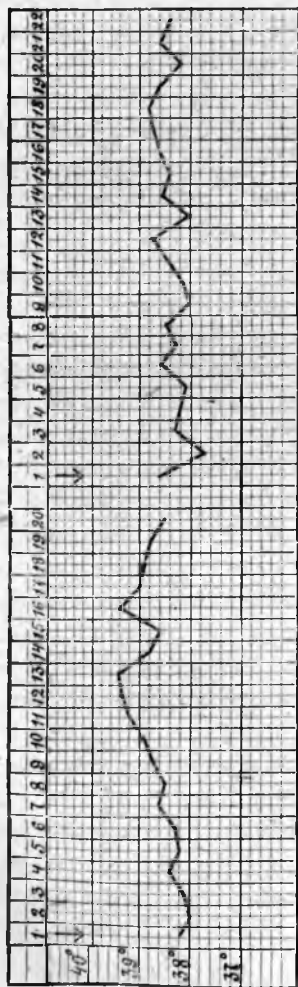


Doświadczenia nasze dają możność poznania odporności świńek względem powtórnego zakażenia jadem duru plamistego. Podajemy wy-

kresy krzywych ciepłoty 3 świnek (świnki Nr. 14, 51, 54), które po pierwszym szczepieniu (pr. tabl. VI XII i XIII) przeszły typową dla duru plamistego gorączkę, a po upływie 6 tygodni do 3 miesięcy okazały się odpornymi.

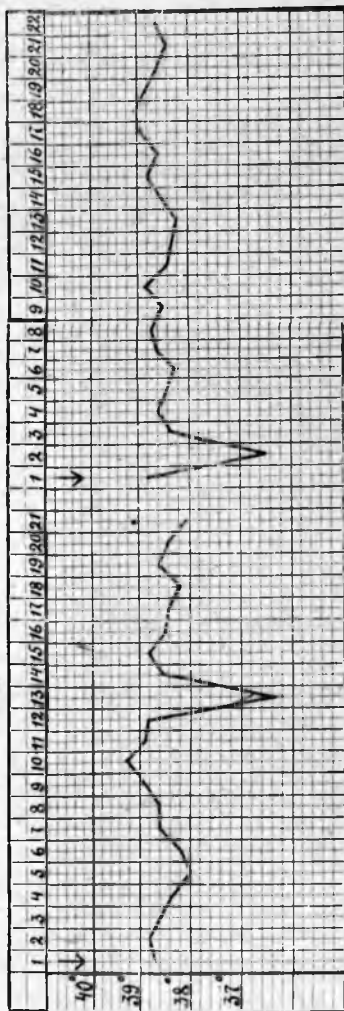
TABLICA XIV.

Świnka Nr. 49, zakażona mózgiem świnki Nr. 45 (0,4 do otrzewnej) — przebieg gorączki nietypowy. Świnka pozostaje odporna na ponowne zakażenie.



TABLICA XV.

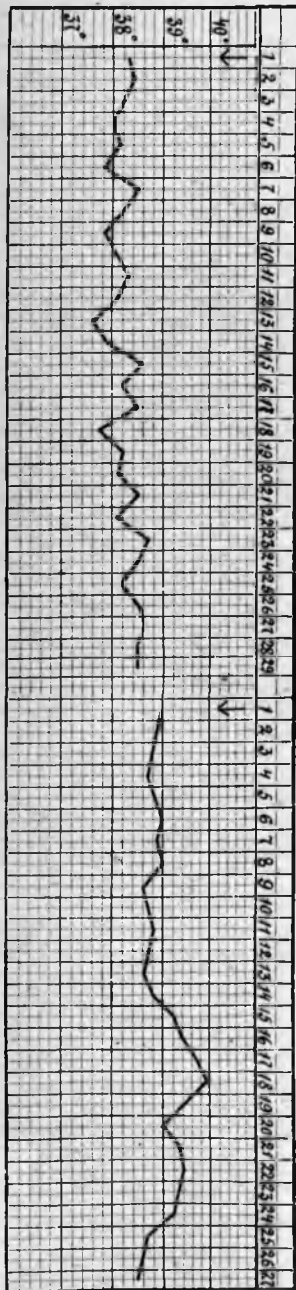
Świnka Nr. 53, zakażona mózgiem świnki Nr. 50 (0,4 do otrzewnej) — przebieg choroby nietypowy. Po trzech miesiącach zakażona ponownie mózgiem św. Nr. 72 — odporna.



Jak widzimy z krzywych, świnki nabywają odporności również po nietypowym durze plamistym z długim<sup>o</sup> okresem wylegania i krótko trwającą gorączką (patrz wyżej tabl. VIII, św. Nr. 24), o krzywej z wahaniami i nieznacznym podniesieniem ciepłoty (Świnki Nr. 49 i 53).

TABLICA XVI.

Świnka Nr. 67, zakażona mózgiem świnki Nr. 62 (0,25 do otrzewnej) — nie zachorowała. Po 6 tygodniach, zakażona powtórnie mózgiem świnki Nr. 66, przeszła dur poronny.



Z 4 świnek, które po jednokrotnym szczepieniu wcale nie zachorowały, jedna dała, w 15 dni po wtórnym zakażeniu, nieznaczne podniesienie ciepłoty o 0,6° (*forme abortive*, świnka Nr. 67).

Poza przytoczonymi krzywymi mieliśmy jeszcze dwie o przebiegu odmiennym. Nie podajemy ich jednak, ponieważ materiały, użyte do pierwszego szczepienia, pochodził od świnek z infekcją wtórną. Te dwie świnki (Nr. 36 i 52), zaszczepione po raz pierwszy materiałem zanieczyszczonym, po upływie 3—5 miesięcy zakażono ponownie; obie zachorowały. W sumie ogólnej, z 8 prób na odporność otrzymaliśmy dwie ujemne, 6 dodatnich. Możemy więc powiedzieć, że dur plamisty, niezależnie od nasilenia i przebiegu choroby, uodpornia świnki morskie.

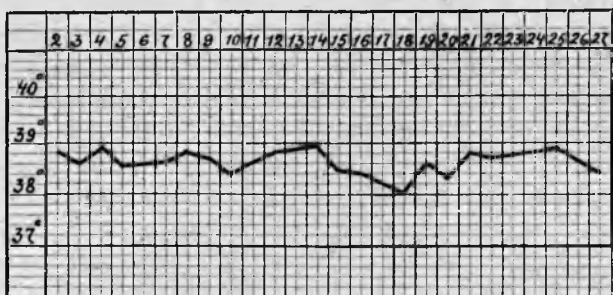
Wrażliwość świnek morskich w stosunku do jadu duru plamistego ludzkiego (krwi chorego) jest słabszą, niż w stosunku do jadu laboratoryjnego. Według *Anderson'a* 44% świnek morskich nie podlega zakażeniu krwią ludzką, a tylko 4,7% zachowuje się odpornie podczas stosowania jadu laboratoryjnego. Odsetek tej kategorii według *da Rocha-Limy* wynosi 10 — 20%. Odporność ta może być czasową i ustępuje podczas powtórnych prób zakażenia większymi dawkami jadu zjadliwego. W doświadczeniach *Weila* i *Felixa*, obejmujących kilkaset świnek, wszystkie bez wyjątku reagowały typowym podniesieniem ciepłoty. Zdaniem *Weila* i *Felixa* nie spotyka się świnek odpornych na dur plamisty.

Z 7 świnek, zakażonych krwią chorych w naszym laboratorium, zachorowały tylko 2. Na zasadzie tych prób odsetek świnek, niewrażliwych na krew chorego, zdaje się być jeszcze większym, niż według *Anderson'a*. W przebiegu pracy, na 50 świnek, wrażliwych na jad laboratoryjny, tylko 4 okazały się niewrażliwe. Tym samym mózgiem, którym były szczepione świnki niewrażliwe, zakażono inne — i te zachorowały typowo (św. Nr. 83 i 84).



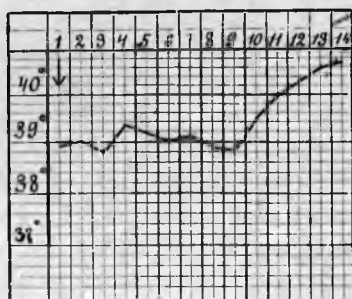
## TABLICA XVII.

Świnka Nr. 83, zakażona mózgiem świnki Nr. 76 (0,3 do otrzewnej)—nie zachorowała.



## TABLICA XVIII.

Świnka Nr. 84, zakażona mózgiem świnki Nr. 76 (0,3 do otrzewnej) — zachorowała typowo.



Według tych danych, około 7-8% świnek jest niewrażliwych na jednokrotne zakażenie jadem pasaży. Powtórnych prób na tych świnkach nie dokonano wskutek nagłej przerwy w pracy.

Z innych zwierząt, używanych do doświadczeń nad durzem plamistym, małpy są więcej wrażliwe na dur plamisty, niż świnki i mniej wrażliwe, niż człowiek. Według *Nicollé'a* podskórne wstrzykiwanie krwi chorego, zazwyczaj skuteczne u człowieka, u małp często chybia. Dawka, zakażająca człowieka, jest dostateczną dla zakażenia małpy, jednak tylko przy wstrzykiwaniu do otrzewnej. Z małp jedynie szympansy można łatwo zakażać podskórnie. Zazwyczaj rozporządzamy w pracowni małpami z gatunku *Macacus sinicus*, *Macacus cynomolgus*, *Macacus rhesus*. *Mac. rhesus* jest mniej odpowiedni ze względu na znaczny odsetek jednostek odpornych (25%). Małpy chorują na dur plamisty na skutek szczepienia jadem, pobranym bezpośrednio od człowieka (z krwią chorego), zarówno jak i jadem pasaży (zawiesziną mózgu świnki morskiej).

Wrażliwość człowieka na jad duru plamistego zależy od zjadliwości i ilości zarazka, a także od sumy indywidualnych właściwości danego organizmu. Zjadliwość zarazka może się wahać w szerokich granicach. Podczas

gdy łagodna forma duru plamistego w Ameryce (choroba *Brylla*) daje od 0,5 do 1% śmiertelności, dur plamisty w Serbji, w roku 1915, dawał śmiertelność 60 — 80% (*Gitsblicht*). Spostrzeżenia z lat ubiegłych wskazują, że z osób, przez czas dłuższy narażonych na zakażenie się dudem plamistym (lekarzy, pielęgniarek), a niektóre na chorobę tę nie zapadają (*Złotogorow*); inne znów bardzo szybko w tych samych warunkach podlegają zakażeniu. Jednak, na podstawie spostrzeżeń *Jurgens'a* (w obozach dla jeńców) i obfitych danych z epidemij lat ostatnich na wschodzie, sądzić należy, że niema jednostek zupełnie niewrażliwych na zarazek duru plamistego; w odpowiednich warunkach każdy człowiek podlega zakażeniu.

Wrażliwość ludzi na zakażenie doświadczalne krwią chorych nie jest zupełna. W 1915 r., w armji tureckiej, z 310 ludzi, sztucznie zakażonych krwią chorych, zachorowało 56%, a 44% było niewrażliwych. Ten znaczny procent osób niewrażliwych został prawdopodobnie spowodowany tem, że w wielu przypadkach upłynęło dość dużo czasu od chwili pobrania krwi do chwili zakażenia. Pojedyncze próby zakażenia ludzi krwią chorych także nie dają stałych wyników. *Moczutkowski* (1876 r.) zakaził się krwią chorego i zachorował. *Otero* (Meksyk 1907 r.) zakaził 4 osoby, z których tylko jedna, szczepiona krwią dożylnie, zachorowała. *Yersin* i *Wassal* (1908, Indochiny) zakazili 2 osoby — obie zachorowały.

Stwierdzono, że mniej więcej stałą wrażliwość posiadają, prócz człowieka, świnki morskie, mały, króliki i szczury. Nie dało się zakazić dudem plamistym psa, świni, krowy, osła (*Gavino* i *Gérara*), myszy, konia, barana, kozy, koguta (*Nicolle*). Szczur i król na zakażenie dudem plamistym podniesieniem ciepłoty nie reagują, lecz, po okresie wylęgania, odpowiadającym takiemuż okresowi u świnek (*Nicolle*), krew i narządy tych zwierząt stają się zakaźne dla świnek morskich; powodują one zwykłe objawy duru plamistego laboratoryjnego, podobny do występującego przy zakażeniu jade n pasaży, pochodzącym od świnki. Jad rozwija się w ustroju króla i szczura, nie wywołując objawów chorobowych. Zjawisko to jest jednym z przykładów *Infection inapparente*. Dokonaliśmy prób na 3 szczurach. Szczury Nr. 1 i 2 zostały zakażone mózgiem świnki 18-go pasażu, zabitej w 8-ym dniu choroby, po 0,25 do otrzewnej. Po upływie 14 i 16 dni zawiesinę mózgu (0,3 gr.) i krwią szczura (1,5 cm.<sup>3</sup>) zakażono 2 świnki. Żadna z nich, w ciągu 28 dni, jakiegokolwiek wahania ciepłoty nie wykazała. Przypuszczając, iż ujemny wynik mógł być spowodowany dłuższym okresem wylęgania u szczurów, niż u świnek, wykonano próbę następującą: zakażono nowego szczura (Nr. 3) mózgiem świnki 20 pasażu do otrzewnej (0,3 gr.); po 25 dniach mózgiem tego szczura zakażono 2 świnki. Obie zachorowały typowo (patrz tabl. XIX i XX).

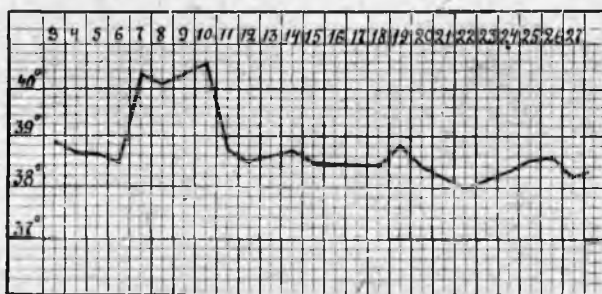
Ogółem, z 4 prób zakażenia świnek mózgiem zakażonego szczura, 2 wypadły dodatnio, 2 ujemnie.

*Nicolle'owi* udawało się zakażać dudem plamistym króliki tylko przy dożylnem wstrzykiwaniu zawiesiny organów. Wylęganie trwa, według *Nicolle'a*, 33 — 34 dni, króliki gorączkują typowo, a krew ich staje się zakaźną dla świnek. W jednym z przypadków dokonano pasażu z królika na królika. Dane te nie są zgodne z wynikami późniejszych badań *Weila*, *Felixa*

i moich własnych. Reakcję na zakażenie durem plamistym u króli można było stwierdzić zawsze drogą badania serologicznego na odczyn zlepnny z prątkami odmiana X<sub>10</sub>. W doświadczeniach moich odczyn ten wystąpił u 10 z 11 króli szczepionych w 8 10 i 14 dniu po zakażeniu. *Weil i Felix* w każdym wypadku szczepienia króli durem plamistym obserwowali dodatni odczyn zlepnny. Podniesienie ciepłoty ciała u króli w tych szczepieniach nie następowało. Co prawda, króle zakażane były jedynie przez wstrzykiwanie zawiesiny mózgu świnki do otrzewnej, a nie dożylnie, jak czynił to *Nicolle* i temperatura była mierzona zaledwie przez 33—35 dni.

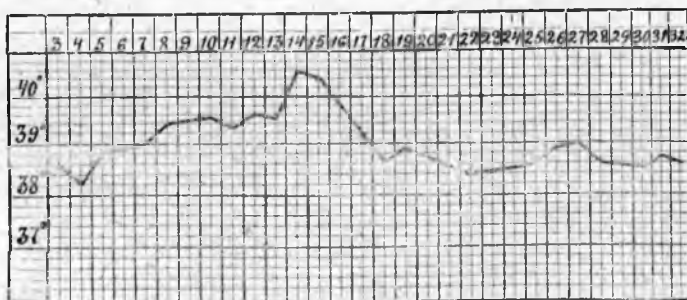
TABLICA XIX.

Świnka Nr. 98, zakażona mózgiem szczura. Po 6 dniach temperatura podniosła się odrazu, po 4 dniach krytycznie spadła i pozostawała na poziomie normalnym przez następne 3 tygodnie.



TABLICA XX.

Świnka Nr. 99, zakażona mózgiem szczura. Po 7 dniach gorączka przez 8 dni, następnie temperatura normalna.



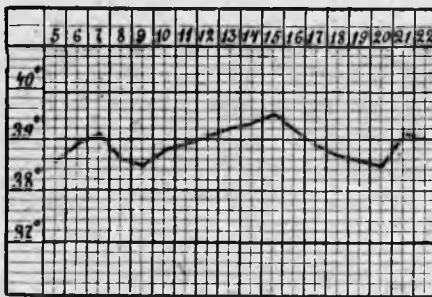
Odczyn zlepnny *Weila-Felixa* u człowieka, chorego na dur plamisty, jest objawem bardziej stałym, niż podniesienie ciepłoty; odczyn ten u króla występuje po zakażeniu w okresie nieco wcześniejszym, niż u człowieka. Różnica w czasie zależeć może od krótszego okresu wylęgania po zakażeniu jadem pasażu, w porównaniu z zakażeniem drogą zwykłą przez ukąszenie wszy. Sądzić należy, że odczyn *Weila-Felixa* u króli, tak samo jak u człowieka, jest objawem duru plamistego. Według naszych danych, w okresie 33—34 dni po wstrzyknięciu, kiedy zdaniem *Nicolle'a* króle

zachorowują na dur plamisty, odczyn *Weila-Felixa* już się znacznie osłabia. Gdyby zdanie *Nicolle'a* było słuszne, wówczas odczyn *Weila-Felixa* u króli, występując niezależnie od choroby i znacznie ją poprzedzając, miałby całkiem odmienne znaczenie, niż u człowieka.

Próby zakażenia świnek mózgiem króli, zakażonych durem plamistym, dały następujące dodatnie wyniki: królik (Nr. 30), zakażony mózgiem świnki 20-ego pasażu (0,3 do otrzewnej), w ciągu 25 dni nie gorączkował. Już w 10-ym dniu po zakażeniu dodatni odczyn *Weila-Felixa* podniósł się z 1:40 na 1:320 i pozostawał na tej wysokości do 25-ego dnia, kiedy królik został zabity. Zawiesina jego mózgu (po 0,3 gr.) zakażono świnki, które przeszły dur plamisty.

TABLICA XXI.

Królik Nr. 30, zakażony mózgiem świnki chorej, na dur plamisty — nie zachorował.



TABLICA XXII.

Świnka Nr. 96, zakażona mózgiem króla Nr. 30, zachorowała.



Reasumując dane powyższe, dotyczące wrażliwości na dur plamisty rozmaitych zwierząt, powiedzieć możemy, że chorują, t. zn. gorączkują, tracą na wadze i t. d., tylko ludzie, mały i świnki. Króle i szczury nie chorują, lecz zarazek w nich się rozwija, a obecność jego można stwierdzić drogą badań serologicznych i dalszych doświadczeń nad zwierzętami. Wrażliwość człowieka, mały, świnki i króla jest stałą, lecz siły niejednakowej. W durre plamistym u ludzi przeważają objawy zatrucia; zwierzęta na te toksyny

prawie nie reagują i przebieg choroby przybiera u nich odmienny, łagodny charakter. Jak powiedzieliśmy, niema niewrażliwych ludzi, tak samo prawdopodobnie niema zupełnie niewrażliwych świnek i króli. Przypuszczać należy, że jad duru plamistego może się rozwijać i w innych zwierzętach, co do których odpowiednie próby dokonane jeszcze nie były.

### Stwierdzenie swoistości szczepu.

Szczep, używany do opisanych doświadczeń, jak już wspomnieliśmy, przeszedł w ciągu roku 23 pasaże przez świnki morskie, nie zmieniając przez cały czas zjadliwości swej dla tych zwierząt i zachowywał się, jak *virus fixe*. Nieliczne odchylenia od ogólnego typu krzywej widzimy zarówno na początku, jak i w końcu roku; zależały one prawdopodobnie od indywidualnych właściwości poszczególnych świnek. Używając stale do doświadczeń świnek i króli, nie zauważyliśmy, aby szczep nasz podlegał jakiegokolwiek zmienności. W przebiegu dalszych doświadczeń, aby stwierdzić zjadliwość naszego szczepu dla małp, zaszczepiliśmy zawieszoną móżgu świnek, chorych na dur plamisty (17-go i 18-go pasażu), dwie małpy (*Macacus sinicus*).

Ciepłota małp, mierzona w ciągu 4 tygodni, nie wykazała zwyżki, odpowiadającej durowi plamistemu. Ogólny stan małp był dobry, apetytu nie utraciły, napięcie mięśni było normalne, waga ciała pozostała bez zmiany. Odczyn *Weila-Felixa*, dodatni przed szczepieniem, w rozcieńczeniu 1 : 40—1 : 80 (aglutynoskop), pozostał w ciągu 4 tygodni bez zmiany. Po upływie 2 miesięcy małpy zakażono powtórnie, tym razem odwłóknioną krwią ludzi, chorych na dur plamisty, pobraną w okresie wysypkowym. Krew, w ilości 5 ccm zastrzyknięto do otrzewnej. Dalsze obserwacje w ciągu miesiąca jakichkolwiek wahań ciepłoty ciała nie wykazały, a odczyn *Weila-Felixa* nie zmienił swego miana (Patrz tabl. XXXIII).

Nieoczekiwane wyniki tych doświadczeń nasunęły przypuszczenie, że użyty szczep duru plamistego (mózg świnki morskiej), stale zjadliwy dla świnki, utracił swą zjadliwość dla małp i że ten osłabiony szczep, nie wywołując zachorzenia, może uodpornić małpę przeciwko zakażeniu jadem, pochodzącym bezpośrednio od człowieka.

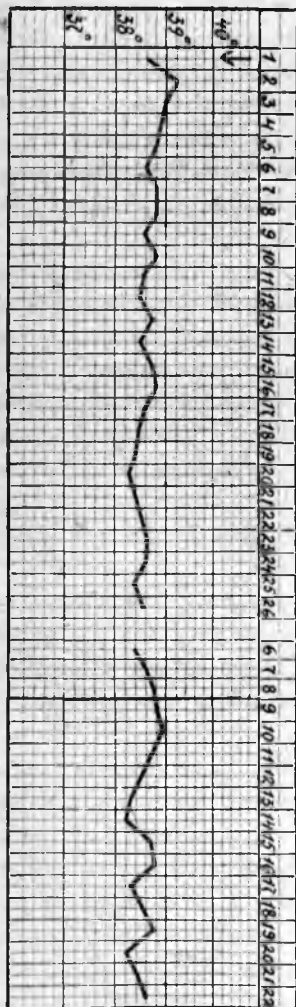
Powstała również kwestja, czy mamy do czynienia ze szczepem duru plamistego. Wyżej opisany przebieg choroby u świnek morskich, zjawiska odporności, swoiste schorzenia drobnych naczyń mózgowych i t. d. najzupełniej odpowiadają analogicznym danym innych badaczy, dotyczącym duru plamistego u świnek i lekkiej formy duru plamistego u ludzi. Niewątpliwie mieliśmy do czynienia, tak samo, jak *Doerr, Nicolle, Weil i inni*, ze szczepem duru plamistego. Powstało jednak pytanie, czy zarazek duru plamistego w świnkach pozostaje tem, czem był w człowieku, czy nie ulega zasadniczym zmianom, czy nie utraci swej zjadliwości dla człowieka, przystosowując się do organizmu odmiennego, stając się *virus fixe* dla świnki morskiej.

Gdy przenosimy jad człowieka na świnkę, spotykamy pewne trudności, musimy stosować stosunkowo ogromne dawki (3 — 5 cm<sup>3</sup>), zaka-

żenie nie zawsze się udaje, świnki reagują po długim okresie wylęgania znacznie słabiej, niż na jad pasaży. Czy, przenosząc jad z powrotem ze świnki na człowieka, nie spotkamy się z tym samym zjawiskiem osłabienia zjadliwości, tembardziej że już małpy (bardziej zbliżone do człowieka, niż

### TABLICA XXIII.

*Macacus sinicus*, zakażony mózgiem świnki Nr. 62 (0,6 do otrzewnej) — nie zachorował. Po dwóch miesiącach zakażony krwią chorego (5 cm.<sup>3</sup> do otrzewnej) — okazał się odpornym.



świnki) w naszym doświadczeniu nie zachorowały? Zagadnienie to ma dla nas nietylko znaczenie akademickie, ale, wobec grożącej nam ze Wschodu epidemii, staje się aktualnym. Problem at immunizacji w przebiegu badań naukowych wysuwa się na pierwszy plan. Już to, że świnki zakażone nie dają odczynu *Feila-Welixa*, że u króli, u których ten odczyn otrzymujemy, miano surowicy jest wielokrotnie niższe, niż u człowieka chorego, nasuwa pewne przypuszczenia co do zmienności jadu, tembardziej, że wysokość odczynu u człowieka nie zależy od ciężkości choroby, a w przypadkach poronnych odczyn ten jest najpewniejszym wskaźnikiem dla diagnozy duru plamistego. Kwestja zjadliwości jadu laboratoryjnego dla człowieka zajmowała szereg badaczy, lecz tylko teoretycznie. Niektórzy (*Friedberger*) z góry wykluczali możliwość zakażenia człowieka jadem pasaży.

Wyniki wyżej opisanych doświadczeń zachęciły mię do wypróbowania zjadliwości laboratoryjnego jadu duru plamistego na człowieku. W tym celu zastrzyknęłam sobie pod skórę 0,3 gr. mózgu świnki morskiej 22-go pasaży, zabitej w 5-y m dniu choroby.

Reakcja ogólna bezpośrednio nie wystąpiła. Miejscowe niewielkie obrzmienie, nieco bolesne przy ucisku, pozostało przez 3 tygodnie. W 20 godzin po zastrzyknięciu mózgu wprowadzono pod skórę 10 ccm inaktywowanej surowicy ozdrowieńca po durze plamistym. Po upływie 10 dni nastąpiło nieznaczne podniesienie się ciepłoty, bóle głowy, bóle mięśniowe, bezsenność, podniecenie.

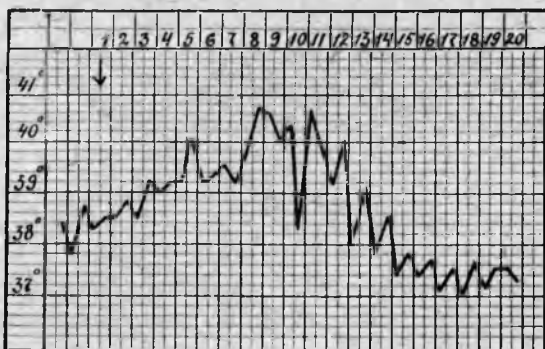
Na 3-ci dzień choroby ciepłota podniosła się do 38,3°, tętno do 90. Na 5-ty dzień wystąpiła drobniutka wysypka, znikająca pod uciskiem, na piersiach, plecach i brzuchu

i bardzo niewyraźna na kończynach górnych. Następnego dnia wystąpiła wysypka znacznie wyraźniejsza na stronie zginaczy kończyn górnych. Wysypka ta, nieobfita

i dość błada, utrzymywała się w ciągu tygodnia, nie przechodząc nigdzie w wybroczyny.

## TABLICA XXIV.

Dur plamisty u Dr. H. Sparrow.



Ciepłota w ciągu 8, 9, 10 i 11 dnia choroby osiągnęła wysokość powyżej 39°, poczem, w ciągu trzech dni, spadła litycznie. Tętno przez cały czas choroby przeważnie poniżej 90 uderzeń na minutę; jedynie w dniach największego nasilenia choroby tętno osiągnęło około 100 uderzeń, przy czem stale było miarowe, równe, o napięciu obniżonem. Nieznaczne powiększenie śledziny można było stwierdzić w 6-y m dniu choroby.

Odczyn *Weila-Felix*a, w 4-y m i 6-y m dniu choroby ujemny, w 9-y m dodatni, jeszcze w rozcieńczeniu surowicy 1:6400; posiew krwi z wynikiem ujemnym.

W 15 dni po spadku ciepłoty miano zlepne surowicy zachowywało swą siłę 7-ego dnia choroby chora została przeniesiona do Szpitala Wojskowego przy ul. Pokornej. Rozpoznanie kliniczne duru plamistego stwierdzone zostało przez lekarzy szpitala. Po spadku ciepłoty nastąpił szybki powrót do zdrowia. 14-dniowy okres gorączkowy, wysypka, dodatni odczyn *Weila-Felix*a w wysokim rozcieńczeniu surowicy, a także histologiczne właściwości różyczki dowodzą, że przypadek ten zaliczać należy do zupełnie typowych form duru plamistego. Doświadczenie opisane dowodzi, że:

1) choroba świnek, szczepionych krwią ludzi, chorych na dur plamisty, jest rzeczywiście drem plamistym,

2) szczep w ciągu roku, przeszczepiany przez świnki 22 razy, zachował w świnkach swą zjadliwość dla ludzi.

Przypadków zakażenia ludzi jadem pasaży dotychczas nie opisywano.

## Odczyn Weila-Felixa u króli, szczepionych jadem duru plamistego.

U zwierząt, szczepionych jadem duru plamistego, nie można było wykazać przez czas dłuższy objawu najbardziej stałego w chorobie tej u ludzi, mianowicie odczynu *Weila-Felixa*. Surowica świnek morskich, zwierząt zawsze wrażliwych na dur plamisty, w przebiegu choroby nie nabywa własności zlepnych względem szczepu odmieńca  $X_{19}$ . Normalne, bardzo niskie miano zlepne tej surowicy wynosi zaledwie 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20 i nie wzmaga się pod wpływem zakażenia durem plamistym.

*Otto* i *Winkler* u świnek, zabitych podczas choroby, a szczepionych wielokrotnie zawiesiną mózgu chorych na dur plamisty, otrzymywali aglutynację najwyżej w rozcieńczeniu 1 : 10, 1 : 20, *Doerr* w rozcieńczeniu 1 : 20. Brak odczynu W.-F. u świnek, zakażonych jadem duru plamistego, nie dałby się wytłumaczyć małą zdolnością świnek do wytwarzania przeciwciał. Świnki, szczepione zawiesiną odmieńca  $X_{19}$  do otrzewnej, wytwarzają aglutyniny swoiste w znacznej ilości, chociaż zawsze w ilości mniejszej, niż w tych samych warunkach otrzymujemy je u królika. Surowic małąp, zakażonych durem plamistym, na odczyn zlepny nie badano wcale (o ile mogą sądzić z dostępnej mi literatury). Badano natomiast w tym kierunku surowice zwierząt hiperimmunizowanych. Tak więc, *Otto* i *Winkler* stwierdzili u barana, uodpornionego wielokrotnem wstrzykiwaniem jadu duru plamistego, odczyn W.-F. w rozcieńczeniu 1 : 25 i 1 : 50. *Russ* i *Kirschner*, badając surowicę kozy uodpornionej, znaleźli mniej aglutynin względem szczepu  $X_{10}$ , niż u kozy normalnej. Ścisłe mówiąc, wszelkie poszukiwania odczynu W.-F. u zwierząt, zakażonych durem plamistym, dokonywane w ciągu ostatnich kilku lat, wypadają ujemnie.

Przez pewien czas panowało też w nauce zdanie, że aglutyniny dla odmieńca  $X_{19}$ , wytwarzane w organizmie ludzi, chorych na dur plamisty, nie powstają pod wpływem jadu duru plamistego, a wytwarzają się jedynie pośrednio, w związku ze specyficznymi właściwościami organizmu ludzkiego. Opinia rozmaitych autorów różnie ten odczyn zlepny określa: jako współaglutynację, wzmożoną normalną aglutynację, aglutynację wskutek wtórnej infekcji prątkami odmieńca i t. d.

Zasadnicza zmiana w tych poglądach musiała nastąpić z końcem roku 1920 r., kiedy *Weil-Felix* ogłosił prace, w których, na zasadzie licznych doświadczeń, dowiedli, że odczyn zlepny z prątkami odmieńca  $X_{19}$ , występuje stale u króli, szczepionych zawiesiną mózgu świnki, chorej na dur plamisty i zabitej w okresie największego nasilenia choroby. Odczyn ten, zdaniem autorów, jest jedynym objawem zakażenia organizmu królika jadem duru plamistego.

Agulutyniny dla szczepów odmieńca  $X_{19}$ , występują w surowicy króli po upływie 8—10 dni od chwili zakażenia; w największej ilości stwierdzamy



je w okresie dnia 14-ego. Okres 8—10—14 dniowy odpowiada okresowi nasilenia duru plamistego u świnek i u małąp po zakażeniu zawiesiną mózgu albo innych organów (jadem pasaży). Po upływie 4—6 tygodni odczyn zlepnny u króli stopniowo zanika. Ponowne wstrzykiwania wzmożonych dawek jadu, zjadliwego dla świnek, nie powodują u króli wzmożenia się aglutynin.

Zdaniem *Weila* i *Felixa* w organizmie króla, zakażonego wstrzykiwaniem jadu duru plamistego, wytwarza się odporność tak samo, jak u świnek morskich. Zarazek duru plamistego, wprowadzony ponownie do organizmu uodpornionego, nie może się w nim rozwijać i nie wytwarza aglutynin. Ilość zarazków w zawiesinie mózgu, przy największych nawet dawkach, nigdy nie bywa dostateczną, aby zarazki te mogły spowodować, same przez się, bez rozmnożenia się, wystąpienie ciał zlepnnych. Stwierdzają to samo *Weil* i *Felix*, wstrzykując zawiesinę mózgu, ogrzewaną w ciągu pół godziny do 58°. Ogrzewanie zabija zarazek, a antygeny nie niszczy: ilość antygeny w zawiesinie jest jednak niedostateczną, aby w organizmie króla wywołać odczyn zlepnny. Po wprowadzeniu do ustroju nieogrzonej zawiesiny mózgu, chociażby w minimalnej ilości 0,001, zarazek duru plamistego rozmnaża się i po pewnym czasie aglutyniny się wytwarzają. Stąd wniosek, że przeszkodą do otrzymania odczynu *W.-F.* u króli może być: odporność organizmu (zakażenie ponowne) i niezdolność jadu do rozmnażania się (jad ogrzany). *Weil* i *Felix* stwierdzają dalej, że zawiesina mózgu świnki normalnej nie wytwarza w organizmie króla aglutynin dla prątków  $X_{19}$ , i że u króli, szczepionych dorem plamistym, ilość normalnych aglutynin dla rozmaitych, łatwo aglutynujących się szczepów, nie wzmagają się — dowodzi to swoistości odczynów zlepnnych z  $X_{19}$ .

U króli, tak samo jak u człowieka, miano aglutynacyjne surowicy dla typu  $OX_{19}$  jest znacznie wyższe, niż dla typu  $HX_{19}$ , a charakter aglutynacji jest stale drobno grudkowaty. Najwyższe miano aglutynacyjne surowicy króli, szczepionych dorem plamistym, rzadko wynosi 1:50, znacznie częściej jest wyższe, 1:100, 1:500, i dochodzi czasami do 1:1000 i 1:2000, zawsze jednak pozostaje niższe, niż u człowieka, chorego na dur plamisty.

Powyżej przytoczone dane *Weila* i *Felixa* potwierdza *Kuczyński* i *Eisenberg*, a poniekąd *Otto* i *Winkler*. *Otto* i *Winkler* u połowy króli szczepionych otrzymali odczyn dodatni, w rozcieńczeniach nie wyżej 1:40—1:80. *Russ*, *Kirschner* i *Doerr* wyników *Weila-Felixa* nie potwierdzają. *Kraus* i *de la Barera*, u nieznacznej części badanych królików, otrzymali dodatni odczyn *W.-F.* w rozcieńczeniu surowicy 1:100.

Do naszych badań użyliśmy szczepu duru plamistego pochodzenia ludzkiego, przeprowadzonego przez świnki morskie, z 17-ego i 21-ego pasaży. Szczep ten był zupełnie stały: okres wylegania wahaniom nie-podlegał, krzywe temperatury były typowe, świnki po chorobie nabywały odporności, a zmiany naczyniowe w mózgu stwierdzono w każdym badanym przypadku.

Technika badań polegała na wstrzykiwaniu królom do otrzewnej zawiesiny mózgu świnki morskiej, zabitej w okresie nasilenia choroby. Zawiesinę przygotowywano w soli fizjologicznej i wstrzykiwano do otrzewnej w ilości 1—2 cm<sup>3</sup>; zawierała ona 0,3—0,5 gr. substancji mózgu. Surowica

króli pobierana była zazwyczaj przed wstrzykiwaniem i co 3 dni po wstrzykiwaniu. Do próby aglutynacji służyły szczepy odmienia OX<sub>19</sub>, HX<sub>19</sub>, prątków tyfusu i paratyfusu. Surowicę króliczą używano w rozcieńczeniu od 1:5 do 1:640 i wyżej; do rozcieńczeń dodawano w równej ilości zawiesiny bakteryj. Wyniki odczytywano po 18 godzinach, w temperaturze pokojowej, pod aglutynoskopem. Właściwości zlepne zależą, jak wiadomo, w znacznej mierze, od jakości pożywki. Aby możliwie uniknąć wahań w właściwościach zlepnych szczepów, próby aglutynacyjne wykonywane były co 2 tygodnie, równocześnie ze szczepami, hodowanymi na agarze skośnym jednej serji. a surowice pobierane były systematycznie i przechowywane w lodówce.

Pierwsza serja obejmuje badania nad własnościami zlepnymi surowic króli normalnych, przed wstrzykiwaniem im zawiesiny mózgu. Badaliśmy na obecność aglutynin dla prątków OX<sub>19</sub> i prątków tyfusu.

Z 20 badanych surowic otrzymaliśmy aglutynację.

Z e s z c z e p e m OX <sub>19</sub> .			Z e s z c z e p e m p r ą t k ó w d u r o w y c h.		
Rozcieńczenie surow.	Ilość króli.	Odsetek.	Ilość króli	Odsetek.	
0	8	40%	3	15%	
1:10	7	35%	2	10%	
1:20	4	20%	1	5%	
1:40	1	5%	5	25%	
1:80	—	—	5	25%	
1:160	—	—	2	10%	
1:320	—	—	2	10%	

Naogół surowica królicza normalna aglutynuje znacznie silniej prątki tyfusowe, niż prątki OX<sub>19</sub>. W 75% prątki X<sub>19</sub> aglutynują się tylko w rozcieńczeniu nie przewyższającym 1:10. Prawie połowa badanych surowic nie zawierała aglutynin dla X<sub>19</sub>. Surowice króli, szczepionych do otrzewnej zawiesiną mózgu świnki normalnej, badane po upływie 7, 14 i 21 dni, zachowywały się jak surowice króli normalnych.

Przejdziemy obecnie do badań nad królikami, szczepionymi jadem duru płamistego (Patrz tabl. I-a str. 191).

Sześciu królikom wstrzyknięto do otrzewnej po 0,3 gr. mózgu świnki morskiej, chorej na dur płamisty. Miano aglutynacyjne tych surowic, w porównaniu z przeciętną miana aglutynacyjnego surowic normalnych, wskazuje, że na 6 króli tylko 1 nie dał dodatniego odczynu W.-F. (Nr. 17). U reszty dodatnia aglutynacja ze szczepem X<sub>19</sub> występuje wyraźnie w 8-ym, 10-ym i 14-ym dniu po wstrzyknięciu; w 13—16 dniu surowice aglutynują najsilniej. Miano aglutynacyjne podnosi się od 0 do 1:10, 1:50, 1:60, 1:640. Ilość aglutynin dla prątków durowych jednocześnie się wzmacnia, lecz w słabszym stopniu.

TABLICA I.

Króle, szczepione zawiesiną mózgu świnek, chorych na dur plamisty.

Króle, szczepione 14/IX mózgiem świnki Nr. 59-ej do otrzewnej (0,3 gr.)							Króle, szczepione 29/IX mózgiem świnki Nr. 62 do otrzewnej (0,3 gr.)					
Nr. 14		Nr. 15		Nr. 16			Nr. 17		Nr. 20		Nr. 19	
Data	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty
19/IX	—	—	—	160	10	—	—	—	—	—	—	—
22/IX	10	40	20	—	80	40	—	—	—	—	—	—
24/IX	<sup>+</sup> <sub>—</sub> 10	160	100	10	200	160	—	—	10	10	—	—
27/IX	50	80	160	20	640	640	10	—	<sup>+</sup> <sub>—</sub>	—	—	—
30/IX	20	320	40	—	320	160	<sup>+</sup> <sub>—</sub>	—	—	—	—	—
3/X	—	80	40	—	320	160	20	40	—	—	10	10
6/X	—	80	40	—	80	80	—	—	—	—	—	—
10/X	—	80	40	320	80	80	—	—	—	—	—	40
13/X	20	80	40	40	80	80	10	40	40	40	160	80
17/X	—	80	—	—	80	160	—	—	20	—	—	—
20/X	20	20	—	—	80	40	—	—	—	—	80	80

Liczby oznaczają najwyższe rozcieńczenia surowic, w jakich odczyn zlepy był wyraźny; — oznacza odczyn ujemny.

TABLICA II.

Króle, zaszczepione toksynami czerwoni i nieszczepione durem plamistym.

Data	Nr. 18		Nr. 19		Nr. 22		Nr. 23		Nr. 24		Nr. 25	
	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty	OX <sub>19</sub>	Ty
24/IX	10	80	10	—					—	—		
27/X	10	220	20	20					20	20		
30/X	20	—	—	—	10		20	—	—	—		
3/X	20	160	—	—	—	80	40	—	—	—		
6/X	10	80	—	—	—	320	40	—	—	—		
10/X	—	320	—	—	—	320	80	320	—	320		
13/X	20	320	10	20	—	320	80	20	—	20	40	80
17/X	10	80	—	—	10	320	80	10	—	80	—	320
20/X	—	40	—	10	—	320	80	—	—	—	—	160

To wzmożenie się aglutynin dla prątków durowych zaprzecza wynikiem, otrzymanym przez *Weila* i *Felixa*, którzy badali własności zlepane surowic króli, szczepionych zawiesiną świniki morskiej, chorej na dur plamisty z 12-oma rozmaitemi szczepami, a w tej liczbie z prątkami duru i paradurów A i B, i najmniejszego wzmożenia aglutynin dla tych szczepów nie stwierdzili. Aby sprawdzić, czy ilość aglutynin dla  $X_{19}$ , może się wzmacniać pod wpływem czynników nieswoistych, tak, jak wzmagają się aglutyniny dla pr. tyfusowych (pr. tablica I-a), badane były systematycznie surowice 6 króli, szczepionych poprzednio toksynami czerwonej (Patrz tabl. II). Badania były rozpoczynane wkrótce po ustąpieniu objawów chorobowych.

Miano aglutynacyjne surowic tych króli, nieszczepionych dudem plamistym, waha się od 0 do 0 : 20 dla pr.  $OX_{19}$ , i tylko u króla Nr. 23 dochodzi do wysokości 1 : 80. Miano aglutynacyjne dla pr. durowych waha się bardzo znacznie, niezależnie od miana  $OX_{19}$ .

### TABLICA III.

Króle, szczepione dudem plamistym.

Królik Nr. 31, zaszczipiony 1/XI zawiesiną mózgu świniki Nr. 72(0,3 gr.) do otrzew.						Królik Nr. 32 szczepiony 1/XI zawiesiną mózgu świniki Nr. 72 (0,3 gr.) do otrzew.				
Data	$OX_{10}$	$HX_{10}$	Ty.	P.A.	P.B.	$OX_{10}$	$HX_{10}$	Ty.	P.A.	P.B.
5/XI	20	—	40	40	40	—	—	80	80	80
8/XI	20	—	20	20	20	—	—	320	160	—
12/XI	160	20	20	20	20	40	20	160	160	80
15/XI	160	40	20	20	20	160	20	320	160	80
18/XI	80	20	20	20	20	40	—	520	320	320
23/XI	80	20	20	20	20	20	—	320	320	320
26/XI	320	20	160	80	160	80	40	320	320	320
30/XI	320	20	160	160	160	160	40	320	320	320
3/XII	160	20	20	80	80	160	40	320	320	320
6/XII	160	20	20	80	80	160	40	320	—	—
9/XII	160	20	20	160	80	80	20	320	320	320

Królik Nr. 31 — aglutyniny dla  $OX_{19}$  występują w 12 dniu; ilość ich zmniejsza się w 18 dniu. Miano aglutynacyjne surowicy podnosi się z 1 : 20 na 1 : 160. Aglutyniny dla pr. Ty., para A i para B. pozostają bez zmiany.

Królik Nr. 32 — aglutyniny dla pr.  $OX_{10}$  występują w 12 dniu; w 15 dniu jest ich najwięcej, w 18 ilość się zmniejsza. Aglutyniny dla pr. Ty, para A i para B także się nieco wzmagają, 2 — 4-krotnie. U obu królików aglutyniny  $OX_{19}$  zanikają w 18 dniu, a w 26 ponownie występują, u króla Nr. 31, nawet w większej, niż poprzednio, ilości. Ilość aglutynin dla  $OX_{19}$  wzmacnia się 8 — 16 razy, dla  $HX_{19}$  pr. Ty, para A i para B — 4 razy.

TABLICA IV.

Królik Nr. 30, zaszczipiony 15/XI mózgiem świnki Nr. 76 (0,3 gr.) do otrzew.						Królik Nr. 33, zaszczipiony 15/XI mózgiem świnki Nr. 76 (0,3 gr.) do otrzew.				
Data	OX <sub>19</sub>	HX <sub>19</sub>	Ty.	P.A.	P.B.	OX <sub>19</sub>	HX <sub>19</sub>	Ty.	P.A.	P.B.
5/XI	40	20	40	40	320	20	20	160	160	80
8/XI	40		40	80	320	20	20	160	160	80
12/XI	40	20	40	40	320	20		160	160	160
15/XI	40		40	80	320	20		160	80	160
18/XI	40		40	20	320	20		160	80	80
23/XI	80	20	80	160	320	320	20	160	80	80
26/XI	320	80	160	80	320	320	40	320	160	160
30/XI	320	160			320	160	20	320	160	160
3/XII	320	160	80	80	320	80	—	320	160	160
6/XII	320	160	80	80	320	80	—	320	160	160
9/XII	320	160	80	80	320	80	20	320	160	160

Królik Nr. 30—surowica aglutynuje przed zakażeniem z pr. OX<sub>19</sub> w rozcieńczeniu 1:40. W 8-ym dniu po szczepieniu miano aglutynacyjne surowicy podnosi się do 1:80, w 11-ym do 1:320 i pozostaje na tej wysokości przez 23 dni. Aglutyniny dla pr. T. jednocześnie się wzmagają, lecz w mniejszym stopniu.

Królik Nr. 33 — przed zakażeniem surowica aglutynuje z pr. OX<sub>19</sub> w rozcieńczeniu 1:20, w 8-ym dniu miano aglutynacyjne podnosi się do 1:320 i pozostaje na tej wysokości przez 8 dni; poczynając od 16-go dnia, obniża się stopniowo. Aglutyniny dla pr. Ty wzmagają się nieznacznie; aglutyniny dla para A i para B są zmienne.

Królik Nr. 29 — w 9 dni po zakażeniu odczyn *Weila-Felixa* dodatni, w rozcieńczeniu 1:4; w 12-ym dniu, w rozcieńczeniu 1:320. Następnie, w ciągu miesiąca odczyn waha się od 1:180 do 1:320. Miano aglutynacyjne dla pr. Ty., para A i para B podnosi się 2 — 4 krotnie, jednak dopiero po miesiącu od dnia zakażenia (Patrz tabl. V).

Zestawiając wyniki badań, poczynionych nad królikami, szczepionemi jadem duru plamistego, widzimy, że dodatni odczyn *W.-F.* wystąpił u 10 królików z 11 badanych w 8 — 14 dniu po szczepieniu; najwyższe miano surowic otrzymaliśmy w 12 — 15 dniu; następnie, odczyn obniżał się powoli, był widoczny jednak jeszcze po upływie miesiąca.

TABLICA V.

Królik Nr. 29, zakażony mózgiem świnki Nr. 70 do otrzewnej (0,5 gr.) dnia 29/X.					
Data	OX <sub>19</sub>	HX <sub>19</sub>	Ty.	P.A.	P.B.
26/X	—	—	20		
29/X	20	—			
5/XI	20	20	20	40	40
8/XI	40	20	20	40	40
12/XI	320	40	20	40	40
15/XI	320	40	20	40	40
18/XI	160	20	20	40	40
23/XI	80	20	20	40	20
26/XI	160	20	80	80	160
30/XI	80	20	40	—	40
3/XII	160	20	40	40	40
6/XII	320	20	40	40	40
9/XII	320	20	40	40	40

Rozcieńczenie  
surowicyIlość króli z dodatnim  
odczynem W.-F.Ilość króli z dodatnią  
aglutynacją pr. durowych

1 : 40

1

2

1 : 50

1

—

1 : 80

—

2

1 : 160

3

2

1 : 320

4

4

1 : 640

1

1

Dodatni odczyn W.-F. w naszych doświadczeniach otrzymywaliśmy u 90% badanych króli, przytem u 70% w rozcieńczeniu surowicy 1 : 160 i 1 : 320.

Szczep odmieniaHX<sub>19</sub>, zlepił się z surowicą króli również swoiście, lecz w znacznie niższych rozcieńczeniach. Miano aglutynacyjne surowic króli dla pr. OX<sub>19</sub>, wzmagalo się po szczepieniu koło 16 razy, dla pr. durowych i paradurowych 4 razy. Takież wzmoczenie się aglutynin dla pr. durowych znajdujemy u króli po szczepieniu toksynami czerwonki. Należy odnieść więc je na konto nieswoistego wzmoczenia się aglutynin dla pr. durowych, których król normalny posiada znaczną ilość. Jednoczesne badania surowic tychże króli (po toksynach czerwonki) na obecność aglutynin dla pr. OX<sub>19</sub>, wzmoczenia się tych aglutynin nie wykazały. Stąd wnio-

sek, że odczyn zlepnny, otrzymany po szczepieniu zawiesiną mózgu, jest odczynem swoistym dla duru plamistego, a nie jedynie wzmożeniem się aglutynin normalnych. Jednoczesne wzmożenie się aglutynin dla pr.  $X_{19}$  i pr. durowych, po szczepieniu jadem duru plamistego, stwierdzają również *Doerr i Pick* i, właśnie ze względu na to zjawisko, nie przypisują swoistego znaczenia dodatniemu odczynowi *W-F*.

W naszych doświadczeniach wzmożenie się aglutynin dla pr.  $X_{19}$ , w porównaniu z normą, było przeszło 4-krotnie większe, niż także wzmożenie się dla pr. durowych i nie następowało pod wpływem czynników nieswoistych, które na wzmożenie się aglutynin pr. durowych wpłynąć mogły. Niezgodność naszych wyników z wynikami *W-F.*, co do wysokości miana surowic i wzmożenia się normalnych aglutynin, polega prawdopodobnie na indywidualnych właściwościach szczepów duru plamistego i używanych do aglutynacji szczepów bakteryj, a także na pewnych różnicach w przygotowaniu pożywek.

### W n i o s k i:

1) 90% króli, szczepionych mózgiem świnki morskiej, chorej na dur plamisty, daje dodatni odczyn zlepnny surowicy z odmieńcem  $OX_{19}$ , najczęściej w rozcieńczeniu 1 : 160 — 1 : 320.

2) Odczyn występuje w rozcieńczeniu znacznie wyższym z odmieńcem  $OX_{19}$ , niż z odmieńcem  $HX_{19}$ .

3) W surowicy króla jedocześnie się wzmagają ilość aglutynin dla pr. Ty i paratyfusowych. Wzmożenie to jest wielokrotnie słabsze, niż dla pr.  $X_{19}$ .

4) Aglutyniny dla pr.  $OX_{19}$  u króli, szczepionych toksyną czerwoni pozostają bez zmiany, a ilość aglutynin dla pr. durowych i paradurowych wzmagają się w takim samym stopniu, jak podczas szczepienia mózgiem świnki, chorej na dur plamisty.

5) Odczyn zlepnny surowic króli, szczepionych jadem duru plamistego z pr. odmieńca  $OX_{19}$ , uważać można za odczyn swoisty duru plamistego, identyczny z odczynem *W-F*. u ludzi chorych.

Aus dem Staatlichen Epidemjologischen Institut in Warschau.  
(Director Dr. L. Rajchman).

# Experimentelle Untersuchungen über das Fleckfiebevirus.

Dr. HELENE SPARROW.

## I MITTEILUNG.

### Das Fleckfieber bei Laboratoriumstiere.

Die vorliegende Mitteilung bildet ein Fragment der experimentellen Arbeit über Fleckfieber, welche im hiesigen Institute von mir seit einem Jahre geführt wird.

Das Fleckfieber-virus menschlicher Herkunft wurde an Meerschweinchen verimpft und erlang binnen eines Jahres 22 Passagen in ca. 100 Meerschweinchen. Die Tiere wurden auf der Höhe der Erkrankung (3 — 5 Tage des Fiebers) getötet, das Gehirn steril auspräpariert und in Form einer Emulsion (phys. Kochsalz)) gesunden Meerschweinchen intraperitoneal injiziert (0,3 — 0,5 Hirnsubstanz in 1,0 — 0,2 Na Cl).

Kaninchen, welche mit virulenter Hirnemulsion i. p. geimpft wurden, ergaben positive *Weil-Felix* Reaktion (bis 1:320) nach 8 — 14 Tagen. Auf Grund dieser Tatsachen und Befunde wurde die Spezifität des Meerschweinchen-Virus festgestellt.

Der mikroskopische Sektionsbefund erwies jedesmal eine Hyperhämie der Bauchorgane, des Gehirns und der Hirnhäute, sowie eine Vergrößerung der Milz. Die inneren Organe wurden gleichzeitig mit jeder Virus-Passage einer histologischen Untersuchung unterworfen, wobei im Gehirn stets die bekannten und für das Fleckfieber spezifischen Gefäß-Veränderungen gefunden wurden.

Der klinische Verlauf des Fleckfiebers bei Meerschweinchen zeigte den üblichen Typus (Inkubationsdauer 5 — 10 Tage, Fieberzeit 6 — 10 Tage). Die Tiere blieben immun gegen eine wiederholte Impfung.

Im Laufe weiterer Versuche wurden zwei Affen (*Macacus sinicus*) mit der Hirnemulsion der 17 u. 18 Passage i. p. geimpft, wonach sich beide gegenüber der Infektion refraktär verhielten. Die Temperatur täglich im Rectum gemessen, zeigte während 4 Wochen keine Erhöhung. Es sei bemerkt, dass gleichzeitig mit den Affen zwei Meerschweinchen geimpft wurden, welche typisch erkrankten. Aus diesem Resultat könnte man schließen, dass die Virulenz des Virus infolge Passagen so herabgesetzt worden ist, dass die Dosis 0,5 für die Affen keine Krankheitssymptome hervorrief.



Um festzustellen, ob diese Affen gegenüber Fleckfieber-Virus empfindlich geblieben sind, wurde ihnen nach Verlauf von 2 Monaten je 5 ccm. defibrinierten Blutes eines Fleckfieberkranken Menschen i. p. injiziert. Beide Affen blieben gesund. Aus diesem unerwarteten Resultat können wir schliessen, dass das abgeschwächte Meerschweinchen-Virus imstande war die Affen gegenüber ein Infection mit Menschen—Virus zu schützen.

Angeregt durch diese Versuche, habe ich mich entschlossen, die Virulenz des Meerschweinchen-Virus für den Menschen ausprobieren.

Zu diesem Zwecke habe ich mir 0,3 emulgierter Hirnschubstanz der 22-ten Passage subcutan injiziert (am 25.XII.1921). Am 10-ten Tage nach der Injektion erkrankte ich. Die klinischen Erscheinungen der Krankheit waren für Fleckfieber typisch: Fieber bis über 39°, charakteristisches Exanthem am 5-ten Tag, *Weil-Felix* Reaktion am 9-ten Tag 1 : 6400 (stamm OX<sub>1</sub>) um 14-ten Tag Temperatur-Abfall. Der allgemeine Verlauf der Krankheit war leicht.

Folgerungen:

1) Meerschweinchen, mit Fleckfieber-Virus menschlicher Herkunft geimpft, erkranken tatsächlich an Fleckfieber.

2) Der Virusstamm, im Laufe eines Jahres in Meerschweinchen gezüchtet, blieb für Menschen pathogen.

## ERKLÄRUNGEN ZU DEN SCHEMATA UND KURVEN.

1. Schema der Passagen des Fleckfieber-Virus in Meerschweinchen v. 26.I. 1921 — 15.XII. 21.

2. Die Temperatur eines normalen Meerschweinchens.

3. Meerschweinchen mit normalem Gehirn geimpft.

4. Zusammenstellung der Dauer der Inkubationszeit sowie der Anzahl der erkrankten Meerschweinchen (in %) nach *Hamdi, Nicolle, Weil* und *Sparrow*.

5. Die Dauer des Fieberstadiums bei Meerschweinchen nach *Weil* und *Sparrow*.

6. Typisches Fleckfieber. Meerschweinchen 14 mit Hirnemulsion 6. i. p. geimpft; Nach 3 Monaten reinoculiert mit Hirn 21. Immun.

7. Fleckfieber bei Menschen.

8. Meerschweinchen 24., infiziert mit Hirn 21. Die Inkubation dauerte 13 Tage, die Krankheit 3 Tage, Temperaturerhöhung um 0,7°.

9. Meerschweinchen infiziert mit Menschenblut, von dem unser Stamm seinen Ursprung nimmt. Temperaturerhöhung nur um 0,5°.

10. Meerschweinchen 82, mit dem Hirn 72 infiziert; zeigte eine sehr lange Inkubationsdauer (14 Tage).

11. Meerschweinchen 77, mit Hirn 72 infiziert. Inkubation 15 Tage.

12. Meerschweinchen 51 mit Hirn 47 infiziert. Typisches Fleckfieber. Nach 2 Monaten—Reinoculation. Immun.

13. Meerschweinchen 54 mit Hirn 50 infiziert. Typisches Fleckfieber. Reinoculation mit Hirn 72 nach 3 Monaten. Immun.

14. Meerschweinchen 49 mit Hirn 45 infiziert. Atypische Fieberkurve. Nach 3 Monaten Reinoculation. Das Tier bleibt Immun.

15. Meerschweinchen 53, mit Hirn 50 infiziert. Atypischer Fall. Das Tier bleibt immun gegen ein Reinoculation nach 3 Monaten.

16. Meerschweinchen 67, mit Hirn 62 geimpft. Das Tier blieb gesung. Nach 6 Wochen Impfung mit Hirn 76, wonach das Tier ein abortives Fleckfieber durchmachte.
17. Meerschweinchen 83, mit Hirn 76 infiziert, nicht erkrankt.
18. Meerschweinchen 84, mit Hirn 76 infiziert, erkrankt typisch.
19. Meerschweinchen 98, mit Hirn einer geimpften Ratte infiziert, erkrankt typisch.
20. Meerschweinchen 99, mit Hirn einer geimpften Ratte infiziert, Inkubation 7 Tage, Fieberstadium 8 Tage.
21. Kaninchen 30, mit Hirn eines geimpften Meerschw. infiziert, nicht erkrankt.
22. Meerschweinchen 96, mit Hirn des Kaninchens 30 infiziert, typisch erkrankt.
23. *Macacus sinicus*, mit Hirn des Meerschw. 62 i. p. inoculiert, nicht erkrankt. Nach 2 Monaten wurde der Affe mit 5 ccm. Blut eines Fleckfieber-Kranken inoculiert, blieb refraktär.
- 24 *Typhus exanthematicus*. H. Sparrow.

## II MITTEILUNG.

### Die Weil-Feliksche Reaktion bei mit Fleckfiebertyphus geimpften Kaninchen.

Es wurde zunächst eine Reihe von normalen Kaninchen-Sera auf ihr Agglutinationsvermögen für *Proteus X<sub>19</sub>* geprüft. Diese Untersuchungen ergaben, dass in der Hälfte der Fälle eine Agglutination des *b. Proteus X<sub>19</sub>* (Stamm O) in einer Verdünnung 1 : 10 — 1 : 20 stattfindet. Die übrigen normalen Kaninchensera besaßen überhaupt keine Fähigkeit, den *Proteus* zu agglutinieren. Dagegen werden die *Typhusbacillen* mit den normalen Kaninchen-Sera in Verdünnungen bis 1 : 320 agglutiniert, durchschnittlich in Verdünnungen 1 : 40 — 1 : 80.

Die zweite Serie der Experimente war mit den Seren der Kaninchen angestellt, die mit Hirnemulsionen normaler Meerschweinchen i. p. geimpft wurden. Diese Sera wiesen keine Erhöhung ihrer Agglutinationsfähigkeit für *Proteus X<sub>19</sub>* auf.

11 Kaninchen wurden mit dem Fleckfiebertyphus (Hirnemulsion von Meerschweinchen verschiedener Passagen) i. p. geimpft (0,3 — 0,5 der Hirnsubstanz).

Die Prüfung der II Sera erwies bei 10 Kaninchen in 8 — 14 Tagen nach der Impfung eine Erhöhung des Agglutinationsvermögens gegenüber *Proteus X<sub>19</sub>* bis 1 : 320. Der Stamm H wurde ebenfalls agglutiniert, aber in niedrigeren Verdünnungen. Gleichzeitig haben sich die Agglutinine gegenüber den *Typhus* und *Paratyphusbacillen* erhöht, aber in viel schwächerem Grade, als gegen *Proteus X<sub>19</sub>*.

Die Vermehrung der Agglutinine gegen *Typhusbacillen* ist in diesem Falle unspezifisch, da dieselbe Erscheinung auch bei Kaninchen eintrat, die vorher mit *Dysenterietoxinen* behandelt waren. Dagegen ist die Agglutination des *Proteus OX<sub>19</sub>* spezifisch und war bei den *Dysenterie-Kaninchen* nicht erhöht.

## PIŚMIENICTWO.

1. Anigstein L. Współczesny stan badań doświadczalnych nad etjologią duru plamistego. *Przegl. Epidem.* 1921 I. 399.
2. Dadey K. i Krachelska M. Z serodjagnozyki duru plamistego. *Przegl. Lekarski* №№ 1—3. 1918.
3. Doerr R. Bericht über die VIII Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie. *Cbl. f. Bakt. I. Or.* 1921. 85 H. 2.
4. Doerr R. und Pick R. Experimentelle Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Fleckfieber. *Wiener klin. Woch.* 1918, 31. 829.
5. Doerr R. und Schnabel A. Experimentelle Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Fleckfieber. *Wiener klin. Woch.* 1919. 32. 523.
6. Doerr R., Schnabel A. und Vöchting K. Das Verhalten der Körpertemperatur bei Fleckfieber des Menschen und der experimentell infizierten Laboratoriumstieren. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.* 1921. 31. 249.
7. Gotschlich E. Zum heutigen Stande der Lehre vom Fleckfieber. *Ergebn. der Hygiene v. Weichhardt*, Berlin, 1917, 11.
8. Jürgens G. Das Fleckfieber. *Bibl. v. Schjerning*, 1916. 38. Berlin.
9. Kaczyński. Odczyn Widala i Weil-Felixa. *Przegl. Lekarski* 1919 №№ 12—13.
10. Karwacki L. Własności aglutynacyjne surowicy w tyfusie plamistym. *Gaz. Lekarska* 1917. № 41.
11. Kraus R. und De la Barrera M. Studien über Flecktyphus in Südamerika. *Biologische Reaktionen. III. Mitteilung. Zeitschr. f. Immunitätsfor.* Or. 1922. 32. 1.
12. Krontowski. Sowremennoje uczenie o synptom tifie. 1920. *Odesskij Sbornik*.
13. Möllers B. und Wolff G. Zur Frage der Fleckfieber-Schutzimpfung. *Deutsche med. Woch.* 1920. 46. 484.
14. Nicolle Ch. Etat de nos connaissances experimentales sur le typhus éxanthématique. *Bull. de l'Institut Pasteur* 1920. 18. 1—60.
15. Nicolle Ch. *Bull. de la Soc. de Pathol. Exot.* 1915. 8. 161.
16. Nicolle Ch. *Comptes rendus de l'Academie de sciences.* 1916. 38. 163.
17. Nicolle Ch. *Bull. de la Soc. de Pathol. Exot.* 1917. 10. № 7. 1916, 9. № 7.
18. Nicolle Ch. et Blaizot. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1916, 30.
19. Otto R. und Winkler F. Zur experim. Fleckfieberinfektion der Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen, sowie zur Rickettsienfrage. *Zeitschr. f. Hygiene und Infekt. krankh.* 1921, 93. 1.
20. Otto R. und Rothacker. Fleckfieberschutzimpfung. *D. m. Woch.*
21. Rocha-Lima da H. Das Fleckfieber. (Prowazek-Nöller. *Handb. der patog. Protozoen.* II. 1920).
22. Russ V. K. und Kirschner L. Studien über das Fleckfiebertivirus. 1919. 45. 57.
23. Sierakowski S. Kilka uwag o odczynie Weil-Felixa w durze plamistym. *Gaz. Lek.* 1917. № 51.
24. Sterling St. Z badań bakteriologicznych nad drem plamistym. *Gaz Lek.* 1916 № 19.
25. Sterling St. i Sterlinżanka K. O odczynie swoistym Weil-Felixa. *Gaz. Lek.* 1917. № 11.
26. Sterlinżanka K. Wyniki stosowania odczynu Weil-Felixa. *Przegl. Epidemjol.* 1920. I. № 1.
27. Szokalski K. Odczyn Weil-Felixa w durze plamistym. *Gaz. Lek.* 1917 №№ 37—38.

28. Szokalski K. W sprawie odczynu Weil-Felixa w durze plamistym. Gaz. Lek. 1917, № 50.
  29. Szokalski K. Aglutynacja grupowa w przebiegu duru plamistego. Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. 1921. 92. 38.
  30. Weil E. Breinl, Gruschka Th. Untersuchungen über die experimentelle Fleckfieberinfektion und Immunität. Wiener klin. Woch. 1921. 39. 459.
  31. Weil E. und Felix A. Serologische Untersuchung von Kaninchen nach Behandlung mit Fleckfiebertivirus. Wiener Klin. Woch. 1920. 38. 423.
  32. Weil E. und Felix A. Ueber die Bedingungen der Agglutininbildung durch das Fleckfiebertivirus. Wiener Klin. Woch. 1920. 38. 655.
  33. Weil E. und Felix A. Ueber das Verweilen des Fleckfiebertivirus im Meerschweinchenorganismus. Wiener Klin. Woch. 1920. 38. 794.
  34. Weil E. und Felix A. Ueber die Beziehungen der Fleckfieberagglutination zum Fleckfiebererreger. Zeitschr. f. Immunitätforsch. 1921. 31. 457.
  35. Złatorow, Sypnoj tif. 1915.
-

Z Pracowni bakterjologicznej Wojskowej Rady Sanitarnej.  
(Kierownik dr. Z. Szymanowski).

## Przyczynek do zmienności bakteryj czerwonkowych.

Podali

Dr. Z. SZYMANOWSKI i L. SZERESZEWSKI.

1. Podczas epidemii czerwonki w lipcu i sierpniu 1920 roku, z kału chorych wyosobnialiśmy niejednokrotnie bakterje, których własności biochemiczne były identyczne z własnościami biochemicznymi bakteryj czerwonkowych typu *Shiga-Kruse*. Były to laseczki nieruchome, odbarwiający się metodą *Gram*, zakwaszające cukier gromowy (gazy —), niezmeniające natomiast mannitu, maltozy, cukru mlecznego i agaru ze szkarłatem. Na płytkach z agarem *Endo* bakterje dawały kolonie blade i delikatne, o powierzchni ziarnistej i o brzegu ostrym, nierównym; środek kolonji był niekiedy wyraźnie sfałdowany i wypukły, czasem czerwonawy przy bezbarwnych brzegach. Obok tych cech odznaczały się te bakterje zapachem spermy, specyficznym dla bakteryj czerwonki typu *Shiga-Kruse*.

Wyhodowane bakterje nie zlepiały się pod wpływem surowic, aglutynujących bakterje czerwonki (*Shiga, Flexner*). Późniejsze badania wykazały nadto ich niezjadliwość: jedno uszko bakteryj nie zabijało królika (wagi około 1 $\frac{1}{2}$  kg.); po za obrzękami miejscowymi i nieznaczną stratą wagi, nie dostrzegaliśmy objawów chorobowych.

Wszystkie powyższe cechy charakterystyczne bakteryj wyhodowanych zniewalały nas do przypuszczenia, iż mamy do czynienia z zarazkiem czerwonkowym, analogicznym do opisanego przez *K. Schmitz'a* i tegoż imieniem ochrzczone<sup>1)</sup>. Dotychczasowe nasze badania nie wykazały jakiejś cechy różniącej; wszak i bakterje *Schmitz'a* były nieruchome, nie zlepiały się pod wpływem surowic aglutynujących bakterje czerwonki i, co najważniejsze, nie zakwaszały mannitu. Ten szczegół nie dopuszczał zidentyfikowania tych bakteryj z bakterjami rzekomo-czerwonkowymi, albowiem w myśl

---

<sup>1)</sup> UWAGA: Nie mając w ręku oryginalnych szczepów *Schmitz'a*, nie mogliśmy ich porównać pod względem serologicznym z naszymi, co byłoby niezbędne dla ustalenia tożsamości.

słów *Krusego*, nie zdołano dotychczas wyosobnić bakteryj rzekomo-czerwonkowych, któreby nie zakwaszały mannitu.

Jedna wszelako okoliczność nasuwała pewne wątpliwości. Epidemja, podczas której *Schmitz* wyosobnił wspomniane szczepy, miała charakter nawskroś czerwonkowy. Okoliczność ta z jednej strony, oraz brak wszelkich innych bakteryj czerwonkowych z drugiej — upoważniły autora do wysnucia wniosku, iż te właśnie bakterje są bakterjami czerwonkowymi i że były one jedynym czynnikiem chorobotwórczym omawianej epidemji.

Epidemja, podczas której wyosobnione zostały nasze szczepy, miała charakter zgoła inny: obok wspomnianych bakteryj zdołaliśmy wyosobnić cały szereg szczepów czerwonkowych typu *Shiga-Kruse* i rzekomo-czerwonkowych typu *Flexner* i *Strong*. Nie mieliśmy tedy danych, by wyhodowane, a bliżej jeszcze nieznanne bakterje, zaliczać do bakteryj czerwonkowych, a tembardziej, by widzieć w nich istotną i jedyną przyczynę epidemji. Nie mniej przeto, a co podkreślić winniśmy: 1) materiał, z którego wyosobniliśmy wspomniane bakterje, był przysyłany do badania na obecność zarazków czerwonki, 2) odpowiadał charakterowi kału czerwonkowego (płynny, śluzowy, śluz.-krwawy) i 3) we wszystkich wypadkach przebieg choroby kazał przypuszczać, iż istotnie mamy do czynienia z czerwonką.

Okoliczności powyższe skłoniły nas do podjęcia badania w celu dokładnego określenia charakteru wyosobnionych bakteryj. W biegu badań doszły rąk naszych nowe prace *K. Schmitz'a*, w których mowa o zmianach, jakim z biegiem czasu uległy jego bakterje. Prace te tembardziej zwracały na siebie uwagę, iż szły w kierunku, zwalczanych przez *Schmitz'a* w pracy poprzedniej, przypuszczeń *Seligmann'a* i innych o możliwości procesu rozwojowego w grupie bakteryj *Shiga-Coli-Typhus*.

*Seligmann* wyosobnił cały szereg szczepów czerwonki, które mniej lub więcej odchyłały się od typów znanych, a które między sobą wykazywały pewien stopień pokrewieństwa. Dają się one ugrupować w szereg, który stanowi jak gdyby pomost pomiędzy typowymi bakterjami *Coli*, a typowymi bakt. typu *Shiga*:

1. Szczepy, wytwarzające gazy — bliskie *Coli*.
2. Nieaglutynujące się szczepy typu *Flexner* bez własności antygenowych.
3. Trudnoaglutynujące się szczepy typu *Flexner* o specyficznych własnościach antygenowych.
4. Trudnoaglutynujące się szczepy typu *Flexner* o własnościach antygenowych, zbliżonych do typowych szczepów *Flexner*.
5. Typowe szczepy *Flexner*.
6. Szczepy aglutynujące się pod wpływem surowic *Flexner* i *Shiga*.
7. Trudnoaglut. się szczepy typu *Shiga*.
8. Typowe szczepy *Shiga*.

Odnosimy wrażenie — powiada *Seligmann* — iż mamy przed sobą ogniwa łańcucha rozwojowego, łączącego szczepy okrężnicowe ze szczepami czerwonki typu *Shiga-Kruse*; dodaje przytem, iż na wysokości epidemji spotyka się prawie wyłącznie bakterje typowe, gdy natomiast formy przejściowe wyosobniać się dają na początku i przy końcu epidemji.

*Schmitz* w swojej pierwszej pracy występuje kategorycznie przeciwko spostrzeżeniom *Seligmanna*. Znalazł on w ciągu całej epidemii (w obozie jeńców) jeden tylko gatunek bakteryj o własnościach stałych, nie spotykając nigdy form przejściowych. Na tej właśnie podstawie wyodrębnił *Schmitz* wyhodowany przez siebie typ  $\mu$  specjalną jednostkę chorobotwórczą (bakt. *Schmitz'a*). Różniej dopiero przekonał się o zmienności owego typu. *Kruse*, otrzymawszy od niego wspomniane szczepy, skonstatował pośród nich obecność hodowli, rozszczepiających mannit, co skłoniło znów *Schmitz'a* do systematycznej rewizji szczepów, wówczas już co najmniej od roku hodowanych w laboratorium. Rezultat był zgoła nieoczekiwany; badając już to poszczególne kolonie, już to cały szereg szczepów pochodnych, *Schmitz* otrzymał cały zespół szczepów o własnościach najrozmaitszych: niektóre zbliżały się do typu *Shiga-Kruse*, inne do prątka duru rzekomego *B*, inne znów do prątka okrężnicowego, a nawet do prątka duru brzuszego. Zdarzało się niejednokrotnie, że autor otrzymywał z pojedynczego szczepu, wyhodowanego z jednej kolonii, cały szereg szczepów pochodnych o własnościach mniej lub więcej rozbieżnych, tak np. szczep  $29/6$  dał, obok całego szeregu szczepów nietypowych, także typowe szczepy czerwone (*Shiga-Kruse*), duru rzekomego i okrężnicy. Szczep  $53/15$  dał szczepy duru rzekomego *B* i okrężnicowy i t. d.

Wyniki całego zespołu badań upoważniły autora do wysnucia wniosku, iż zmiany szczepów bakteryjnych nie są przypadkowe; nie są one — powiada *Schmitz* — uwarunkowane czynnikami zewnętrznymi, lecz wewnętrznymi, rządzą niemi określone i stałe prawa. W celu objaśnienia tych zjawisk konstruuje *Schmitz* następującą hipotezę: poszczególne formy grupy *Shiga-Typhus-Coli* zawarte są w stanie potencjalnym w bakterji wyjściowej; rozwinięcie się tych form może być następstwem tylko wydarzenia wyjątkowego: autor nie cofa się nawet przed możliwością procesu płciowego.

Bakterje typu *Schmitz'a* zostały wyosobnione w różnych miejscowościach przez różnych badaczy; potwierdzają oni, iż mamy do czynienia z zarazkiem odrębnym, o specyficznych własnościach biochemicznych (*Lampl, Landsteiner*—Wiedeń, *Bauch, Gehrman* — front wschodni; *Gaethgens* — Hamburg; *Kruse* — Lipsk; *Braun* — Frankfurt). Przeciwko spostrzeżeniom *Schmitz'a* wystąpił *M. Ornstein*; mimo całego szeregu badań i eksperymentów nie zdołał on skonstatować zmienności w szczepach omawianych bakteryj. W pracy swej autor zaznacza, iż źródłem omyłek i nieporozumień są dwa typy bakteryj, pokrewne bakterjom *Schmitz'a*: *b. fallax* (różni się od *b. Schmitz'a* tem, iż po pewnym czasie fermentuje sacharozę; wykazuje też różnice antygenowe) i *b. inconstans* (na podłożach zachowuje się jak *b. fallax*; często, ale nie zawsze, zakwasza cukier gronowy z wytworzeniem gazów).

2. Badania nasze podjęliśmy nad dwunastoma szczepami bakteryj o opisanych wyżej własnościach biochemicznych. Okazało się przecież, iż liczbę tę zredukować musieliśmy do pięciu, a to z następujących powodów:

a. przy powtórnym badaniu szczepów okazało się, iż niektóre z nich zakwaszały mannit, a aglutynacja z surowicą agl. bakterje *Stronga* dała wynik dodatni. Ponieważ przy pierwszym badaniu (2—3 tyg. przedtem) odczynu

zlepnego z surowicą, aglutynującą bakterje *Stronga*, nie robiliśmy, opierając się na fakcie, iż bakterje te, jako nie zakwaszające mannitu, do grupy bakteryj rzekomo-czerwonkowych należeć nie mogą, przeto na karb własnej nieuwagi zrzuciliśmy okoliczność, iż bakteryj tych nie zdołaliśmy od razu określić i zróżniczkować. Jako bakterje czerwone typu *Stronga*, usunęliśmy je z dalszego badania. Zapamiętamy jednak szczególny fakt, iż bakterje, nie zakwaszające mannitu, zakwaszały go po upływie dwóch tygodni; „nauczyły się“, jakby powiedział *Kruse*.

b. Powtórne badanie przyniosło nam inną jeszcze niespodziankę: niektóre z badanych bakteryj okazały się bakterjami ruchomymi. Ponieważ poprzednie bakterje, badane na obecność ruchu, były brane z pożywek stałych, a tym razem z 24-godzinnej hodowli buljonowej, przeto wystąpienie ruchu, albo, powiedzmy inaczej, przejawienie się ruchu, przedtem zahamowanego, zaliczyliśmy do zjawisk aż nazbyt często spotykanych, całkiem nietajemniczych — rezultatem czego było to tylko, iż i te szczepy wykluczyliśmy z pośród wybranych do dalszego badania.

Pozostało nam tedy pięć szczepów: 9641, 9907, 9908, 9909, 10715. Niedokładności w określeniu bakteryj, które przejawiały się na wstępie naszych badań, miały tę dobrą stronę, iż wskazały źródła możliwych omyłek. Nauczeni doświadczeniem, operowaliśmy teraz materiałem pewnym, starannie określonym, hodowanym i przeszczepianym w warunkach, niedopuszczających jakichkolwiek bądź wątpliwości. Ma to tem większe znaczenie, iż zjawiska, z którymi spotykaliśmy się w biegu badań, do których nas te ostatnie doprowadziły, należą do rzędu wybijających się i wymykających z ram tradycyjnego doświadczenia bakterjologicznego. Chodzi o to, iż z biegiem czasu własności biochemiczne badanych bakteryj uległy wybitnym zmianom.

Pozostawiając rozważania krytyczne na koniec niniejszej pracy, potrącić tu musimy o technikę, jaką posługiwaliśmy się w naszych badaniach. Rzecz jasna, iż uwaga nasza zwrócić się nadewszystko musiała ku stworzeniu warunków, któreby upewnić nas mogły, iż operujemy materiałem stałym, szczepami absolutnie czystymi.

Głównem niebezpieczeństwem naszej pracy było to, iż idąc w kierunku określenia ewentualnych biochemicznych zmian bakteryj — boć przecież taki był charakter naszej pracy — mogliśmy do zmian zaliczać zanieczyszczenia zewnętrzne, obce bakterje, które w jakikolwiek bądź sposób dostały się do naszych kultur. Ustrzec nas od tego miały częste sprawdzania szczepów, wygląd kolonij na pożywkach stałych i preparaty barwione. Ewentualne zmiany bakteryj miały natomiast wykazać przeprowadzane od czasu do czasu badania ruchu bakteryj w kropli wiszącej i zachowanie się bakteryj na podłożach (cukrach). W tym celu rozsiewaliśmy w grę wchodzący materiał na płytki *Endo* i badaliśmy własności biochemiczne całego szeregu kultur, pochodzących z poszczególnych kolonij. Rzecz jasna, iż jeśli poszczególne kolonie badanego szczepu wykazywały jakąś różnicę w własnościach biochemicznych, dalsze badania podejmowaliśmy nad każdą z nich (nad wyhodowanymi z nich kulturami bakteryj) oddzielnie. W pierwszym razie kontynuowaliśmy badania nad jedną kulturą.



3. Przystępujemy do opisu zmian, które z biegiem czasu uzewnętrzniły się w naszych szczepach.

### Szczep 10715.

Wyosobniony z kału 12/VIII 1920 roku. Laseczki nieruchome, odbarwiającej się metodą *Gram*, zakwaszające cukier gronowy, niezakwaszające mannitu, maltozy i cukru mlecznego. Odczyn zlepny z surowicami aglutynującymi bakterje czerwonki ujemny (*Shiga, Strong* makrosk. i *Shiga, Strong Flexner* mikroskop. w kropli wiszącej). Surowica królika, uodpornionego tym szczepem, aglutynowała swój szczep do rozcieńczenia 1:3200, nie zlepiła natomiast bakterij czerwonki i bakterij *Ty., Para A, Para B*.

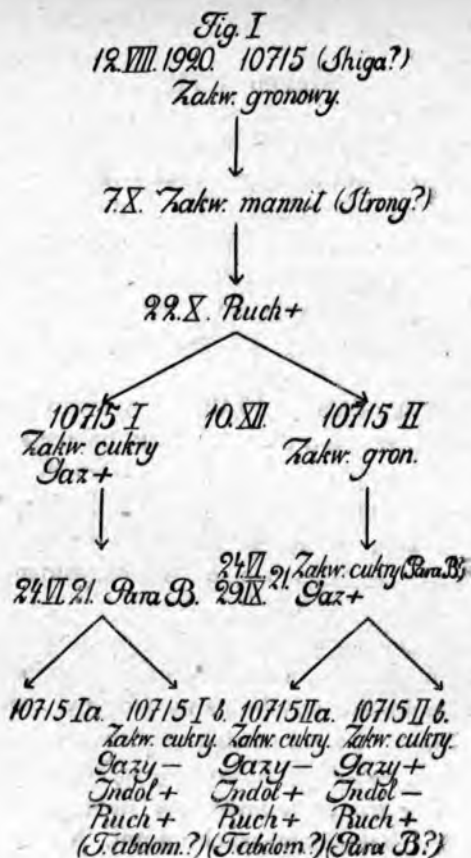
Sprawdzając po kilku dniach (16/VIII) zachowanie się bakterij na podłożach, zauważyliśmy, iż po 3 dniach wzrostu bakterje zakwaszają mannit. Zmiana ta uwydatniła się wyraźnie 7/X, t. j. po dwóch miesiącach od daty wyosobnienia bakterij z kału. Wkrótce potem (22/X) okazało się, iż bakterje intensywnie się ruszają w kropli wiszącej; jednocześnie analogiczne zmiany uwydatniły się w własnościach biochemicznych trzech innych szczepów.

Badanie (z dnia 10/XII) zachowania się na podłożach całego szeregu poszczególnych kolonij omawianego szczepu przyniosło istotną niespodziankę; z jednych kolonij wyosobniliśmy szczepy, zakwaszające mannit, maltozę i cukier gronowy i wytwarzające z nich gaz, niezmiennające natomiast cukru mlecznego, — z innych kolonij wyhodowane szczepy zakwaszały jeden tylko cukier gronowy, gazów nie dając. W obu wypadkach mieliśmy do czynienia z bakterjami ruchomymi. Nie ulegało najmniejszej wątpliwości, iż operujemy teraz różnymi szczepami, iż — jeśli tak powiedzieć można — macierzysty szczep rozszczepił się na dwie różne gałęzie. Dalsze badanie podjęliśmy, rzecz jasna, nad każdym z nowych szczepów z osobna; szczep, fermentujący cukry, oznaczyliśmy 10715 I, szczep zaś, niefermentujący cukrów — 10715 II.

Bakterje szczepu 10715 I zachowywały się teraz, jak bakterje *Para B* (rozszczepiały cukry z wytwarzaniem gazów, ruch +, gram —); rzeczywiście, odczyn zlepny z surowicą, aglutynującą bakterje *Para B*, dał wynik dodatni (1:1600; 1:3200).

Bakterje szczepu 10715 II zakwaszały, jak mówiliśmy, jeden tylko cukier gronowy. I tu przecież uwydatniła się zmiana:  $\frac{24}{6}$  bakterje zakwaszały z wytwarzaniem gazu mannit, maltozę i cukier gronowy. Szczep ten zbliżył się zatem do szczepu bratniego 10715 I (z drugiej strony — do *Para B*); odczyn zlepny z surowicą, aglutynującą bakterje *Para B* i *Ty*, dał tu jednak wynik ujemny.

Z biegiem czasu w obu tych szczepach uwydatniły się nowe zmiany. Badając (8/X, 11/X) cały szereg kolonij, wyosobniliśmy z każdego dawnego szczepu znów po dwie gałęzie, pochodzące, rzecz jasna, z odrębnych kolonij. Gałęzie szczepu 10715 I nazwaliśmy 10715 I-a i 10715 I-b; gałęzie szczepu 10715 II nazwaliśmy 10715 II-a i 10715 II-b (Patrz fig. I i tabl. I).



### 10715 I-a i 10715 I-b.

Szczep 10715 I-a zachował wszystkie własności biochemiczne szczepu macierzystego 10715 I. Były to tedy bakterje ruchome, gram —, niewytwarzające indolu, rozszczepiające cukry (prócz mlecznego). Bakterje nie zlepiały się pod wpływem surowicy aglutynacyjnej *Ty*, zlepiały się natomiast pod wpływem surowicy agl. *Para B*, w rozcieńcz. 1:1600 i *Para C*, w roz. 1:400 i 1:800.

Bakterje szczepu 10715 I-b zakwaszały cukry, w żadnym z nich nie wytwarzając gazów. Ruch +, gram —, Indol +. Bakterje zachowywały się na pożywkach jak bakt. *Ty*, nie zlepiały się natomiast pod wpływem surowic aglut. *Ty*, *Para A* i *Para C*; pod wpływem surowicy, aglutynującej *Para B*, zlepiały się w rozcieńczeniu 1:400.

### 10715 II-a i 10715 II-b.

Bakterje szczepu 10715 II-a zakwaszały cukry, nie wytwarzając gazów. Ruch +, gram —, Indol +. Agl. sur. *Ty*, *Para A*, *Para C* ujemne; pod wpływem surowicy, aglut. *Para B*, bakterje zlepiały się w rozc. 1:200.

TABLICA I.

szcep 10715 wyhodowany z kalu  
ynnego (podejrzenie o tzerwonkę),  
nadesł. dn. 9/8 1920 roku.

10715							
	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Ruch.	
12/8 1920	-	-	+	-	-	-	agl. Shiga ujemna
16/8	-	-	+	-	-	-	po 3 dobach Mannit + agl. Strong ujemna.
7/10	+	-	+	-			
22/10	+	±	+	-		+	

10715 I								10715 II							
	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Ruch.			Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Rach.	
10/12	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>±</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	-	-	+		10/12	-	-	+	-		+	
24/6 1921	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	-	-	+	agl. Para B 1:1600	24/6 1921	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	-	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		
24/9	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	-	±	±±	agl. Para B 1:3200	29/9	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>±</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	-	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	±±	agl. Para B ujemna t. abd. ujemne

10715 Ia							10715 Ib					10715 IIa						10715 IIb											
	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Ruch.		Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Ruch.		Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Ruch.		Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Ruch.			
7/10	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				-		agl. P. B 1:1600	11/10	g <sup>+</sup> g <sup>-</sup>			-		agl. P. B 1:400	8/10	+	+	+	-	+		agl. P. B 1:200	8/10	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	+	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	-	+	agl. P. B ujemna
7/10					+++		Indol -	17/10				+++	Indol +	17/10					+++	Indol +	17/10					+++	Indol -		
11/1 1922	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	-			agl. P. C 1:800	11/1 1922	±	+	+	-		agl. P. C ujemna	11/1 1922	±	+	+	-		agl. P. C ujemna	11/1 1922	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	-		agl. P. C ujemna	

Własności biochemiczne tego szczepu były tedy identyczne z własnościami biochemicznymi szczepu 10715 I-b.

Bakterje szczepu 10715 II-b zachowały wszystkie własności biochemiczne szczepu macierzystego 10715 II (Ruch +, gram —, Indol —, zakwaszanie cukrów z wytwarzaniem gazów). Bakterje i tym razem nie zlepiały się pod wpływem surowicy, aglut. *Para B*, ani też pod wpływem surowic, aglut. *Ty*, *Para A* i *Para C*. (Patrz tabl. II).

TABLICA II.

	Cukry						Aglutynacja			
	Mannit	Maltosa	Gron.	Mlecz.	Ruch.	Indol	T. abd.	Para A	Para B	Para C
10715 Ia	g+	g+	g+	—	+	—	O		1:3200	1:800
10715 Ib	+	+	+	—	+	+	O	O	1:400; 1:800	O
10715 IIa	+	+	+	—	+	+	O	O	1:200; 1:800	O
10715 IIb	g+	g+	g+	—	+	—	O	O	O	O

By określić stanowisko serologiczne i wzajemny stosunek czterech szczepów (10715 Ia, 10715 Ib, 10715 IIa, 10715 IIb), wyhodowanych z jednego wspólnego pnia 10715, uodporniliśmy wspomnianymi szczepami cztery króliki. Zauważyliśmy, iż miano surowic królików, uodpornionych szczepami Ia i IIb (t. j. szczepami bakteryj, zakwaszających cukry z wytwarzaniem gazu, ale nie wytwarzających indolu) wzrastało znacznie szybciej, niż miano surowic królików, uodpornionych szczepami Ib i IIa (bakterje nierozszczepiające cukrów, ale wytwarzające indol) (Patrz tabl. II).

Aglutynacja szczepów odnośnych (10715 Ia, Ib, IIa, IIb) z surowicami królików, uodpornionych temiż szczepami, dała wyniki, podane na tablicy III-ej.

W celu określenia szczepów 10715 Ib, IIa i IIb, przeprowadziliśmy badania serodjagnostyczne ze szczepami paratyfusowemi, łaskawie udzielonemi nam przez Państwowy Zakład Badania Surowic w Warszawie. Wszystkie próby zlepne szczepów paratyfusowych (*Reading, Africa, G, Hogcholera, Witts urine, Witts blood, Mutton, Newport, Stanley, Binns*) z surowicami królików, uodpornionych szczepami 10715 Ib, 10715 IIa i 10715 IIb, dały wyniki ujemne.

Surowica królika, uodpornionego szczepem 10715 Ib, zlepia bakterje szczepu 10715 IIa i odwrotnie, surowica królika, uodpornionego szczepem 10715 IIa, zlepia bakterje szczepu 10715 Ib (1 : 100; miano surowicy 1 : 400).

TABLICA III.

	Ilość dawek	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
Ia	2.	++	++	++	++	+
	3.				++	+
	5.					
IIb	1.	++	++	++		
	2.			++	++	+
	3.			++	++	+
	5.			++	++	+
Ib	3.	+				
	5.	+	+	+		
IIa	2.	+	+			
	3.	+	+			
	5.	+	+	+		

Rezultat ten, a nadewszystko identyczne własności biochemiczne i zlepianie się tych szczepów pod wpływem jednej tylko surowicy, agl. *Para B* (1:200; 1:800), doprowadzają do wniosku, iż dwa te szczepy są szczepami identycznymi. (Patrz tabl. IV).

Szczepy 10715 Ia i 10715 IIb wykazują, jak widzieliśmy wyżej, identyczne własności biochemiczne, nie wykazują natomiast wspólnych własności serologicznych — są to tedy szczepy różne. Z drugiej strony własności serologiczne i biochemiczne tych dwóch szczepów różnią się zasadniczo od własności serologicznych i biochemicznych dwóch pierwszych szczepów (10715 Ib i 10715 IIa). (Patrz tabl. IV).

Reasumując wyniki powyższe, powiedzieć możemy, iż rozwój szczepu 10715 przebiegał w sposób następujący.

Bakterje stopniowo „uczą się“ zakwaszać mannit, potem i maltozę. Zaczynają się ruszać. Szczep rozszczepia się na dwie gałęzie: szczep 10715 I, zakwaszający cukry z wytwarzaniem gazów i szczep 10715 II, zakwaszający jeden tylko cukier gronowy (bez wytwarzania gazów). Szczep 10715 I okazuje się hodowlą *Para B*. Szczep 10715 II, nawracający z początku do jednej z przejściowych faz rozwoju szczepu macierzystego (10715), z biegiem czasu zdobywa (jak szczep bratni 10715 I) własności biochemiczne *Para B* — nie zlepia się jednak pod wpływem surowic, aglutynujących szczepu rzekomo-durowe.

TABLICA IV.

Surowica króla uodpornion. szczepem	Ze szczepem	Wyniki
10715 Ia	10715 Ib	Ujemny
10715 Ia	10715 IIa	Ujemny
10715 Ia	10715 IIb	Ujemny
10715 Ib	10715 Ia	Ujemny
10715 Ib	10715 IIa	aglut. 1 : 100
10715 Ib	10715 IIb	Ujemny
10715 IIa	10715 Ia	Ujemny
10715 IIa	10715 Ib	aglut. 1 : 100
10715 IIa	10715 IIb	Ujemny
10715 IIb	10715 Ia	Ujemny
10115 IIb	10715 Ib	Ujemny
10715 IIb	10715 IIa	Ujemny

Każda z tych gałęzi rozszczepia się na dwie nowe (10715 I na 10715 Ia i 10715 Ib; 10715 II na 10715 IIa i 10715 IIb). W każdym wypadku jedna z nowych gałęzi posiada wszystkie cechy szczepu macierzystego, zdając się w ten sposób kontynuować normalne życie tego szczepu (Ia posiada wszystkie cechy szczepu I, IIb posiada cechy szczepu II). Dwie pozostałe gałęzie różnych szczepów (Ib szczepu I i IIa szczepu II) zdają się nie mieć własności wspólnych ze szczepami macierzystymi; nawracają one jak gdyby do jednej z przejściowych faz rozwoju szczepu 10715 (z dn. 22 X), posiadają natomiast wszystkie cechy wspólne, są szczepami identycznymi.

Rozwój szczepu 10715 przebiegał dwiema drogami i w ostatecznym rezultacie, że pominiemy fazy przejściowe, dał nam trzy nowe szczepy bakteryjne, przyczem, co mieć będzie dla nas wartość szczególną, jeden z tych nowych szczepów należy jednocześnie do obu dróg rozwojowych szczepu badanego.

## Szczep 9641.

Wysobniony z kału 27 VII 1920 roku. Zachowanie się na podłożach i własności morfologiczne identyczne z zachowaniem się na podłożach i z własnościami morf. bakterij czerwonych typu *Shiga-Kruse*. Bakterje nie zlepiają się jednak pod wpływem surowic, aglutynujących bakterje czerwone (*Shiga*, *Flexner*, *Strong*).

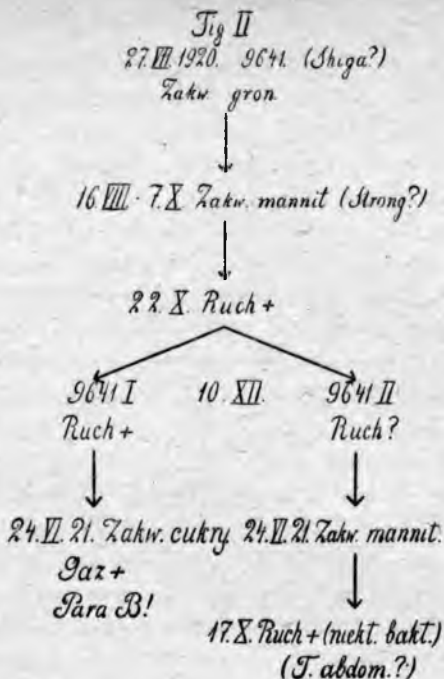
Sprawdzając po niespełna trzech tygodniach (16-III) zachowanie się bakterij na podłożach, zauważyliśmy, iż bakterje zakwaszają mannit po 3 dniach wzrostu. Zmiana ta wystąpiła wyraźnie dopiero 7-X, t. j. po upływie nowych siedmiu tygodni. Wkrótce potem (22 X) okazało się, iż mamy do czynienia z bakterjami ruchomymi. Analogicznym zmianom, jak widzieliśmy, podlegał szczep 10715 i, jak zobaczymy niżej, jeszcze dwa inne szczepy.

Badając (10 XII) w kropli wiszącej ruch bakterij, pochodzących z szeregu poszczególnych kolonij, zauważyliśmy, iż w niektórych wypadkach bakterje ruszały się bardzo intensywnie, w innych, pomimo dłuższej obserwacji, nie udało się stwierdzić wyraźnego ruchu bakterij. W tym ostatnim wypadku określiliśmy ruch jako  $\pm$ . Szczep wyjściowy (9641) dał nam tedy dwie gałęzie: 9641 I — o bardzo intensywnym ruchu bakterij i 9641 II — o ruchu wątpliwym. Dalsze badania podjęliśmy, rzecz jasna, nad każdym nowym szczepem oddzielnie.

W zachowaniu się na cukrach bakterij szczepu 9641 I uwidoczniła się po 6 miesiącach wybitna zmiana. Bakterje zakwaszały mannit, maltozę i cukier gronowy, wytwarzając gazy; cukier mleczny pozostał nadal bez zmiany. Tym razem własności biochemiczne badanych bakterij były identyczne z własnościami biochemicznymi bakterij tyfusu rzekomego (*Para B*). I rzeczywiście, odczyn zlepný z surowicą, aglutynującą bakterje *Para B*, dał wynik dodatni (1 : 1600; 1 : 3200). Wielokrotnie powtarzane badanie poszczególnych kolonij tego szczepu, aglutynacje i posiewy na pożywkach stałych i płynnych (cukry), nie przyniosły niczego nowego.

Zachowanie się na cukrach szczepu 9641 II było identyczne z zachowaniem się na cukrach szczepu macierzystego w pierwszej fazie rozwojowej: a więc bakterje nie zakwaszały cukru mlecznego i maltozy, zakwaszały natomiast cukier gronowy i mannit — ten ostatni, dopiero po trzech dobach wzrostu. Po pewnym czasie i tu wystąpiła zmiana: obok cukru gronowego, bakterje zakwaszały maltozę i mannit już po 24 g. wzrostu. Na okoliczność tę zwracamy uwagę, albowiem analogicznie względem mannitu zachowywał się szczep macierzysty (9641) omawianej teraz gałęzi (9641 II).

Możnaby powiedzieć, iż szczep 9641 II przechodził tę samą drogę rozwojową, jaką przebył jego szczep macierzysty 9641. Analogja jest tem większa, iż z biegiem czasu (17 X) uwidocznił się w kropli wiszącej szybki ruch bakterij omawianego szczepu. Bakterje zachowywały się tedy na podłożach, jak bakterje tyfusu brzuszego — aczkolwiek różniły się od bakterij tyfusowych wytwarzaniem indolu. Bakterje tego szczepu nie zlepiały się też pod wpływem surowic aglutynujących *Ty* i *Para B* (Patrz fig. II i tabl. V).



Reasumując dane powyższe, powiedzieć możemy, iż rozwój szczepu 9641 przebiegał w sposób następujący:

Bakterje stopniowo „uczą się“ zakwaszać mannit — i zaczynają się intensywnie ruszać. Szczep rozszczepia się na dwie gałęzie: I — o wybitnym ruchu, II — o ruchu wątpliwym. W dalszym rozwoju bakterje szczepu I zdobywają własności biochemiczne i serologiczne *Para B*; bakterje szczepu II zdają się nawracać do punktu wyjścia szczepu macierzystego, by jak i on rozpocząć tę samą drogę rozwoju: szczep „uczy się“ stopniowo zakwaszać mannit i wreszcie w kropli wiszącej przejawia się ruch bakteryj. Szczep ten nie wytwarza gazu, przez co zbliża się biochemicznie do bakteryj *Ty.*, aczkolwiek różni się od niego wytwarzaniem indolu.

### Szczep 9907.

Wyosobniony z kału 31-VII 1920 roku. Zachowanie się na podłożach i własności morfologiczne identyczne z zachowaniem się na podłożach i z własnościami morfologicznymi bakteryj czerwonych typu *Shiga*. Bakterje nie zlepiły się pod wpływem surowic, aglutynujących bakterje czerwonej (*Shiga*, *Flexner*, *Strong*).

Główne fazy rozwojowe tego szczepu zbliżają się do faz rozwojowych szczepów omawianych poprzednio. Bakterje i tu „uczą się“ zakwaszać mannit (16-VIII, 7-X — patrz tabl. VI), potem maltozę; i tu zaczynają się intensywnie ruszać. Zdolność wytwarzania gazów przejawia się wcześniej, niż w szczepie 9641: 10-XII szczep podzielił się na dwie gałęzie, na dwa nowe szczepy, z których 9907 I zakwasza cukry z wytwarzaniem gazów;



TABLICA V.

Szczep 9641 wyhodowany z kalu płynnego (podejrzenie czerwoni) nadesł. dn. 24/7 1920 roku.

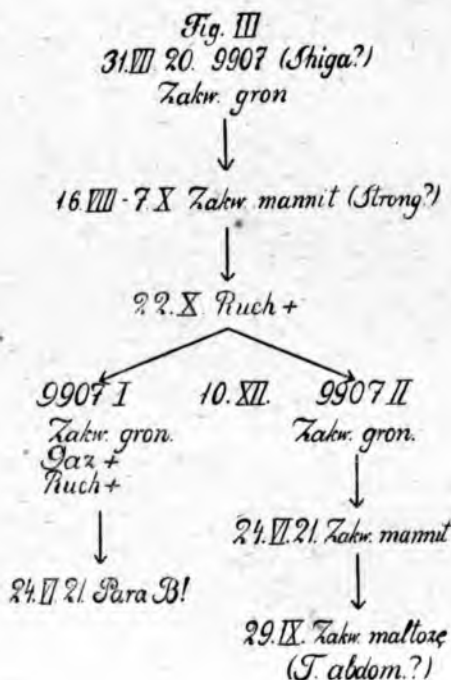
9641								
	Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Agar ze szkari.	Ruch	
27/7 1920	-	-	+	-		-	-	agl. Shiga ujemna
16/8	-	-	+	-		-	-	po 3 dobach Mannit+; agl. Flexner, Strong ujemne
7/10	+	±	+	-	-			
22/10	+	+	+	-	-		+	

9641 I							9641 II									
	Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Ruch		Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Ruch.	Indol.		
10/12			+	-		+		10/12	-	-	+	-	-	? ±	po 4-ch dobach Mt. · Malt. +	
24/6 1921	+ gazy +	+ gazy +	+ gazy +	-	-	+	aglut. Para B 1: 1600	24/6 1921	+	-	+	-	±			
29/9	+ gazy +	+ gazy +	+ gazy +	-	-	+	aglut. Para B 1: 3200	29/9	+	+	+	-	±	±	agl. Para B, t. abd. ujemne	
11/10							aglut. Para B 1: 1600	8/10	+	+	+	-				
								17/10						+	+	Ruch szybki niekt. bakt.

9907 II — zakwasza jeden tylko mannit bez wytwarzania gazów. Bakterje w obu wypadkach ruchome.

Bakterje szczepu 9907 I zachowują się teraz, jak bakterje *Para B*, zlepiają się też pod wpływem surowicy, aglutynującej bakterje *Para B* (1:3200).

Bakterje szczepu 9907 II zachowują się na cukrach, jak bakterje szczepu macierzystego w pierwszej fazie rozwojowej. I tu — jak u powyżej omawianych szczepów — następuje zmiana: bakterje stopniowo zdobywają umiejętność zakwaszania mannitu i maltozy. I ten szczep również wkra-  
cza na drogę rozwoju swego szczepu macierzystego (Patrz fig. III i tabl. VI).



### Szczep 9909.

Wyosobniony z kału 31/VII 1920 roku. W głównych zarysach rozwój bakteryj tego szczepu identyczny z rozwojem bakteryj szczepów wyżej omawianych, a mianowicie:

a. Bakterje nieruchome i nie zakwaszające mannitu i maltozy stopniowo zdobywają te właściwości.

b. Szczep dzieli się na dwa nowe szczepy: 9909 I — o własnościach biochemicznych i serologicznych *Para B* i 9909 II — o własnościach szczepu macierzystego.

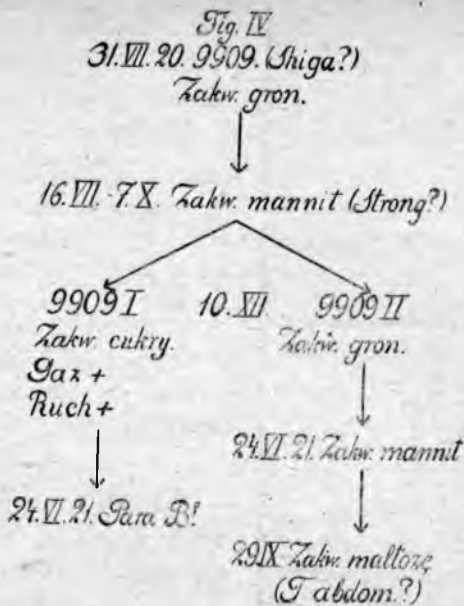
c. Rozwój szczepu 9909 II idzie drogami rozwoju szczepu macierzystego: bakterje stopniowo zdobywają zdolność zakwaszania mannitu i maltozy (Patrz fig. IV i tabl. VII).

TABLICA VI.

Szczep 9907 wyhodowany z kału płynnego (podejrzanie czerwoni) nadesł. dn 28/7 1920 roku.

9907								
	Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Agarze szkarł.	Ruch	
31/7 1920	-	-	+	-	-	-	-	aglut. Shiga, Flexner ujemne
16/8	-	-	+	-	-	-	-	po 3 dobach Mannit +; agl. Strong ujemna
7/10	+	±	+	-	-	-	-	
22/10	+	±	+	-	-	-	+	

9907 I							9907 II								
	Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Ruch		Mannit	Malt.	Gron.	Mleczny	Sach.	Ruch	Idol	
10/12			+ gazy	-		+		10/12	-	-	+	-	-	+	po 4 dobach Mannit +
24/6	+ gazy	+ gazy	+ gazy	-	-	+	agl. Para B 1:1600	24/6 1921	+	-	+	-	+		
1921	+ gazy	+ gazy	+ gazy	-	+	+	agl. Para B 1:3200	29/9	+	+	+	-	+	±	aglut. Para B, T. abd. ujemne
29/9							agl. Para B 1:1600	8/10	+	+	+	-			
11/10								17/10						±	+



4. Zestawiając zmiany, jakie z biegiem czasu uwydatniły się w zachowaniu się na podłożach i we własnościach morfologicznych czterech szczepów omawianych, zauważyliśmy, iż zmiany te, w zasadniczych rysach, przebiegały we wszystkich szczepach jednakowo. Ta lub inna cecha uwydatniła się w jednym szczepie wcześniej, w innych później, ten lub inny szczegół przejawiał się w jednym wypadku bardziej jaskrawo i dobitnie, niż w drugim — mimo to u wszystkich omawianych szczepów uzewnętrzniły się te same fazy rozwojowe, ta sama kolejność w zdobywaniu nowych, bądź biochemicznych, bądź serologicznych własności. Wszystkie szczepy stopniowo zdobywają zdolność zakwaszania cukrów; zakwaszanie mannitu jest zawsze pierwszym krokiem czy etapem ku nowym formom. We wszystkich wypadkach z biegiem czasu przejawia się intensywny ruch bakteryj, potem bakterje zdobywają zdolność wytwarzania gazów. We wszystkich wypadkach rozwój przebiega w kierunku zdobywania własności biochemicznych i serologicznych *Para B*; obok tego, we wszystkich wypadkach wyodrębniają się bakterje, które zachowują się na podłożach, jak bakterje szczepów macierzystych, by wreszcie, jak i one, rozpocząć tę samą drogę rozwoju czy zmian.

Ten zwrot części bakteryj danego szczepu do punktu wyjścia rozwoju szczepu macierzystego przejawia się szczególnie jaskrawo w szczepie 10715. Fenomen ten uzewnętrznia się tutaj kilka razy: po raz pierwszy tyczyć się będzie szczepu 10715 II, który zachowuje się (10/XII), jak szczep macierzysty (10715) w jednej z pierwszych faz rozwojowych. Podobnie i szczepy 10715 lb i 10715 IIa zachowują się na podłożach, jak szczep macierzysty, a właściwie, jak szczep o dwa pokolenia wstecz (10715), w późniejszej nieco fazie rozwojowej (ruch +, mannit + tych szczepów odpowiadają zachowaniu się szczepu 10115 z dnia 22/X).

TABLICA VII.

Szczep 9909 wyhodowany z kału płynnego (podejrzanie czerwonki) nadesł. dn. 28/7 1920 roku.

9909								
	Mannit	Malt.	Gron.	Mleczny	Sach.	Agar ze szkarł.	Ruch	
31/7 1920	—	±	+	—		—	—	aglut. Shiga, Flexner ujemne
16/8	—	±	+	—			—	po 3 dobach Mannit +; agl. Strong ujemna
7/10	+	±	+	—	—			
22/10	+	+	+	—	—		—	

9909 I							9909 II								
	Mannit	Malt.	Gron.	Mleczny	Sach.	Ruch.		Mannit	Malt	Gron.	Mleczny	Sach.	Ruch.	Indol	
10/12	+ gazy	+ gazy	+ gazy	—	—	+		10/12	—	±	+	—	—	—	po dobach Mannit +
24/6 1921	+ gazy	+ gazy	+ gazy	—	—	+	aglut. Para B 1:1600	24/6 1921	+	—	+	—	+		
29/9	+ gazy	+ gazy	+ gazy	—		+	aglut. Para B 1:3200	29/9	+	+	+	—	+	±?	aglut. Para B T. abd. ujemne
11/10							aglut. Para B 1:1600	8/10	+	+	+	—	+		
								17/10						±?	+

Z powyższego zestawienia wyłania się prawidłowość rozwoju badanych czterech szczepów; pomijawszy drobne stosunkowo różnice w czasie, kolejność etapów wszędzie jest ta sama. Świadczy to, naszym zdaniem, że ewolucja ta jest następstwem nie czynników przypadkowych, jak zanieczyszczenie szczepów obcemi bakterjami lub zmienność składu pożywek i t. p., lecz, iż mamy tu do czynienia z procesem naturalnym, którego determinizm, niestety, narazie pozostaje niewyjaśniony.

5. Zarzuty i wątpliwości, z którymi spotkać się może nasza praca i które godzić mogą w rezultaty naszych badań, sprowadzają się nade wszystko do kwestji, czy wszystkie powyżej omawiane zmiany bakteryj nie są tylko zanieczyszczeniem badanych szczepów, czy nie mamy tu do czynienia z bakterjami obcemi, które w ten lub inny sposób dostały się do badanych szczepów? Rzecz jasna, iż zanieczyszczenie kultur jest możliwe nawet wobec najdalej posuniętej staranności w pracy—byliśmy też tej możliwości świadomi. Powyżej mówiliśmy o zabiegach, które przedsięwzięliśmy, by uniknąć zanieczyszczeń, o kontrolach, które miały usunąć z naszych szczepów ewentualne obce bakterje; — nie jest to przecież kryterjum obiektywne, kryterjum, na podstawie którego moglibyśmy oprzeć twierdzenie, iż wszystkie zmiany, zauważone w szczepach badanych, są fazami rozwoju tychże szczepów, ich biochemicznymi zmianami, iż do badanych szczepów nie dostały się żadne bakterje obce. Kryterjum obiektywne, a tem samem mającego wartość naukową, dostarczy nam — jak podkreśliliśmy wyżej — zjawisko prawidłowości zmian, zachodzących w bakterjach; prawidłowość ta wyklucza przypuszczenie o zanieczyszczeniu badanych szczepów obcemi bakterjami.

Jedna z gałęzi czterech badanych szczepów zdobyła własności biochemiczne i serologiczne *Para B*. Podejmując tedy hipotezę zanieczyszczenia, przypuścić musielibyśmy, iż wszystkie cztery szczepy zanieczyszczone zostały temi samemi bakterjami, a mianowicie bakterjami *Para B*. Już zanieczyszczenie jednego szczepu bakterjami *Para B* jest nieprawdopodobne — cóż dopiero, kiedy fakt ten rozszerzamy na cztery szczepy. Ale, przypuśćmy, iż istotnie coś podobnego nastąpiło, że istotnie cztery badane szczepy zanieczyszczone zostały bakterjami *Para B*.

W historii każdego z badanych czterech szczepów uwydatnił się moment, kiedy, jednolity dotychczas szczep, dzielił się na dwie różne gałęzie; jedna z nich okazała się właśnie szczepem *Para B*, druga zaś nawracała do jednej z faz przejściowych szczepu macierzystego. Podejmując tedy hipotezę, że istotnie szczepy zostały zanieczyszczone bakterjami *Para B*, pierwszy z nowych szczepów, jako szczep obcy — *Para B*, odrzucamy, by podjąć pracę z oczyszczonym już szczepem wyjściowym (odrzucamy № № I, by podjąć pracę nad № № II). Tu przecież przejawia się ta sama prawidłowość w rozwoju bakteryj, ta sama kolejność poszczególnych faz, jakie uzewnętrzniły się na początku badania każdego szczepu. Bakterje i teraz uczą się zakwaszać mannit, przejawia się (acz nie wszędzie) intensywny ruch bakteryj.

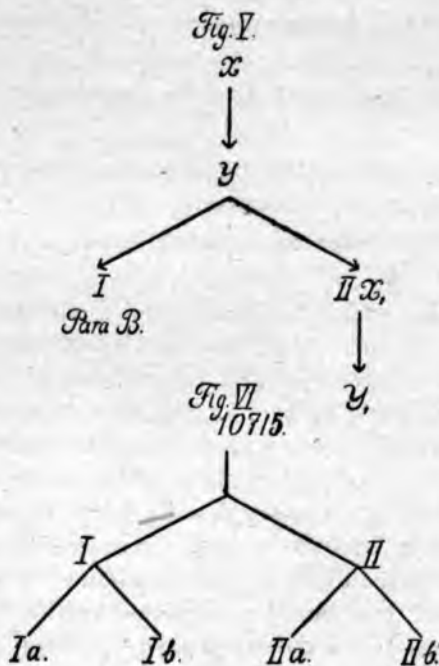
Wyjaśni to schemat następujący, podany na fig. V.

Po odrzuceniu grupy *Para B*, jako, w myśl naszego przypuszczenia, grupy zanieczyszczającej, grupa II daje nam ten sam rozwój bakteryj (od  $x_1$  do  $y_1$ ), jaki uzewnętrznił się na początku naszych badań (od  $x$  do  $y$ ). Podejmując tedy przypuszczenie, iż zmiany naszych szczepów są zanieczyszczeniem obcymi bakterjami, przyjąć musielibyśmy, iż obok zanieczyszczenia bakterjami *Para B* w każdym z naszych szczepów zachodziły ponadto dwa inne zanieczyszczenia i, co podkreślić należy, zanieczyszczenia temi samymi bakterjami.

Innych dowodów dostarczy nam szczep 10715.

Gałęź IIb tego szczepu, nie dając indolu, zakwasza wszystkie cukry (prócz mlecznego) z wytwarzaniem gazów — zachowuje się tedy, jak *Para B* (aczkolwiek aglutynacja z surowicą, aglut. bakt. *Para B*, jest ujemna). Powiedzieć możemy, iż szczepy te rozwijają się i teraz w kierunku zdobycia własności *Para B*.

Ale nie na tem koniec. Gałęź IIa szczepu 10715 jest, jak podkreśliśmy wyżej, identyczna ze szczepem Ib (odnoga 10715 I). Mówiliśmy wyżej, iż rozwój szczepu 10715 szedł dwiema drogami i w ostatecznym rezultacie dał nam trzy nowe szczepy bakteryj, przyczem jeden z tych nowych szczepów należy jednocześnie do obu odnóg rozwojowych badanego szczepu. Przypatrzmy się fig. VI.



Po odrzuceniu grupy I-ej = grupie *Para B* (lewa strona schematu), jako, w myśl naszej hipotezy, grupy zanieczyszczającej szczep badany, rozwój grupy II-ej (prawa strona schematu) daje nam bakterje identyczne

z bakterjami grupy I-ej. Mamy tu tedy niczem niezbity dowód, iż bakterje grupy II-ej (IIa) powtórzyły drogę rozwojową bakteryj grupy I-ej (Ib).

Ta prawidłowość rozwoju bakteryj wyklucza możliwość zanieczyszczenia szczepów bakterjami obcemi: bo gdybyśmy, mimo nieprawdopodobieństwa podobnego przypuszczenia, przypuścić mogli, iż cztery szczepy zanieczyszczone zostały bakterjami *Para B*, to, po wyeliminowaniu tych obcych bakteryj, nienależących do badanych szczepów, musielibyśmy mieć do czynienia z bakterjami niezmiennającymi się; powtórne (a w szczepie 10715 aż poczwórne) zanieczyszczenie wszystkich czterech szczepów i w dodatku, zanieczyszczenie bakterjami, które tak samo zachowują się na podłożach (lub, powiedzmy inaczej, które w ten sam sposób wpływają na zachowanie się na podłożach bakteryj wyjściowych), a w szczepie 10715 bakterjami takimi samymi — jest wykluczone.

Podejmując przypuszczenie o zanieczyszczeniu badanych szczepów obcemi bakterjami, przyjąć musielibyśmy, iż każdy z naszych szczepów był conajmniej dwukrotnie zanieczyszczony temi samymi bakterjami (obok zanieczyszczenia *Para B*) i że bakterje, zanieczyszczające szczepy wyjściowe, były identyczne we wszystkich czterech wypadkach. Fakt ostatni jest tak nieprawdopodobny, iż zbędnem wydaje się nam podanie szeregu innych argumentów, któreby potwierdzały niorzeczność rozpatrywanego przypuszczenia. Przechodzimy tedy do możliwości innej, a mianowicie, iż kolonie wyjściowe były kolonjami mieszanymi, iż składały się z tych bakteryj, które uzewnętrzniły się, lub które wyosobnić zdołaliśmy w toku badań.

Omawiając powyżej zmiany, jakie uzewnętrzniły się w historii rozwoju naszych szczepów, podkreśliliśmy dobitnie prawidłowość tych zmian. Mówiliśmy, iż:

- 1) wszystkie szczepy dzielą się na nowe, z których jeden zachowuje się na podłożach, jak szczep macierzysty,
- 2) iż szczep ten rozpoczyna drogę rozwoju swego szczepu macierzystego,

- 3) iż rozwój własności biochemicznych jednego szczepu jest identyczny z rozwojem własności biochemicznych pozostałych trzech szczepów.

Podejmując przypuszczenie, iż kolonie wyjściowe były kolonjami mieszanymi, musielibyśmy szczep, nawracający do punktu wyjścia szczepu macierzystego, traktować również jako szczep, wyhodowany z kolonji mieszanej, jako szczep, na któryby składały się te same bakterje, jakie składały się na jego szczep macierzysty. A więc, mimo ciągłego operowania poszczególnymi kolonjami, mimo ciągłego rozsiewania materiału badanego na płytki *Endo*, operowalibyśmy stale kolonjami mieszanymi, a co najważniejsze, kolonjami tak samo mieszanymi, na które składałyby się te same bakterje. Odrzucając tedy możliwość rozwoju czy zmian bakteryj, zgodzić musielibyśmy się na fakt bardziej jeszcze tajemniczy, a mianowicie, iż różne, ale we wszystkich wypadkach zawsze te same bakterje, tworzą kolonie mieszane i że bakterje te pozostają w związku tak ścisłym, iż zwykłą techniką bakterjologiczną nie jesteśmy w stanie wyeliminować z kolonij mieszanych poszczególnych gatunków bakteryj.



Przeciwko postawionemu przypuszczeniu przemawia i argument następujący (posiłkuje się nim w swojej pracy i *Schmitz*).

Jak widzieliśmy, jedna z gałęzi czterech naszych szczepów zdobyła własności biochemiczne i serologiczne *Para B*. Gdybyśmy wyjść mieli z kolonij bakterij mieszanych, w kale chorych musiałyby, obok bakterij innych, być obecne bakterje *Para B*. Nasunęłoby się tedy pytanie, dlaczego w żadnym wypadku nie zdołaliśmy tych bakterij wyosobnić? Fakt ten byłby tem nieprawdopodobniejszy, iż tyczyłby się zbyt wielu wypadków (w naszych badaniach 4:5). (Uwagi powyższe tyczą się i innych szczepów, które uzewnętrznily się w rozwoju szczepów badanych, np. szczepów 10715 II-a, 10715 II-b i t. d. W żadnym z wypadków badania początkowe nie wykazały obecności tych bakterij w kale chorych).

6. Mówiliśmy powyżej, iż determinizm zmian, które uwydatniły się w naszych szczepach, pozostaje na razie niewyjaśniony. Zdołaliśmy tylko uchwycić, iż zmiany te idą w kierunku coraz większej zdolności rozszczepiania cukrów i przejawiania intensywnego ruchu. Nie sądzimy też, żeśmy zdołali pochwyć wszystkie fazy przejściowe łańcucha rozwojowego bakterij; zdaje się przecież być pewnem, iż zakwaszanie mannitu jest zawsze pierwszym krokiem ku nowym formom, poczem następuje zakwaszanie innych cukrów wraz z wystąpieniem ruchu, następnie zaś wytwarzanie gazów.

Spróbujmy teraz sformułować niektóre wnioski ogólniejszej natury, wynikające z badań powyższych.

Przedewszystkiem stwierdzić musimy zmienność takich cech, zarówno biochemicznych, jak serologicznych, które codzienna praktyka bakterjologiczna zwykła uznawać za stałe normy rozpoznawcze. Nie wdając się w rozważania, czy są to mutacje czy warjacje, przyznać trzeba, że zmienność, jako taka, zdaje się nie ulegać kwestji. Narazie poprzestać musimy na stwierdzeniu zmienności na podłożach sztucznych; sprawa możliwości zmian analogicznych *in vivo* pozostaje jeszcze otwartą. Niektóre jednak obserwacje, pochodzące z własnej naszej praktyki, nakazują zwrócenie baczonej uwagi w tą stronę. Wypadków takich mieliśmy dwa: jeden dotyczył pacjenta, który jako rekonwalescent po czerwonce, stwierdzonej bakterjologicznie (typ *Shiga*), zapadł na ciężką sprawę tyfusową; posiew krwi i badanie kału stwierdziły obecność prątków rzekomo-duruowych B. Drugi przypadek dotyczył lekarki, która przebyła ciężką sprawę tyfusową z 4-krotnemi nawrotami. Badanie bakt. krwi wykryło w pierwszym okresie prątki duru rzekomego B, natomiast później znaleziono w kale typowe prątki duru brzuszego, zlepiające się z surowicą chorej. Obserwacje te podajemy z wszelkiemi zastrzeżeniami; zwłaszcza zaś nie chcemy twierdzić, ażeby w pierwszym przypadku, gdzie pacjent leżał w szpitalu, było wykluczone zakażenie wtórne; trudniej byłoby nam przypuścić coś podobnego w przypadku drugim, gdzie pacjentka leczyła się w domu i pozostawała pod bardzo troskliwą i kompetentną opieką. Tak czy inaczej, w świetle naszych badań, należy bezwzględnie wziąć pod uwagę możliwość ewolucji zarazków. Przyszłe kliniczno-bakterjologiczne badania przypadków długotrwałych, o typowym zwłaszcza przebiegu, będą miały ostatnie słowo w tej sprawie.

Pod względem praktycznym badania nasze również nasuwają pewne uwagi. Przedewszystkiem, jeżeli tylko nie ograniczamy się do pośpiesznej djagnostyki, należy zawsze badać większą ilość kolonij i poddawać je perjodycznemu przeszczepianiu i kontroli. Następnie, atypowość zarazka nie przesądza jeszcze sprawy klasyfikacji etjologicznej procesu. Możliwe są prątki czerwonkowe, typowe pod względem biochemicznym, które jednak serologicznie zachowują się odmiennie; prątki rzekomo-durowe typu B wymagają niesłychanej ostrożności, gdyż pomiędzy nimi zwłaszcza rozmaitość serologiczna nie da się ująć w żadne ramy; niemal każdy szczep duru rzekomego B może być serologicznie odrębny. Jedynym kryterjum jest tutaj zlepianie się bakterij z surowicą chorego.

## P I Ś M I E N N I C T W O.

1. K. S c h m i t z. Ein neuer Typus aus des Gruppe des Ruhrbazillen als Erreger einer grösseren Epidemie —Zeit. f. Hyg. 1917. Bd. 84.
2. E. S e l i g m a n n Zur Bakteriologie der Ruhr im Kriege.—Cent. f. Bakt. Bd. 79.
3. K. S c h m i t z. Ueber die Eigenschaften des Bacillus Schmitz und seine Verbreitung. Cent. f. Bakt. 1919. Bd. 83. H. 1.
4. K. S c h m i t z. Beschreibung von Veränderungen in Kulturen des Bacillus Schmitz. Cent. f. Bakt. 1919. Bd. 83. H. 2.
5. K. S c h m i t z. Die Hypothese des Reiterationswechsels als Erklärung der Veränderungen in der Ruhr—Typhus—Coli—Gruppe. Cent. f. Bakt. 1919 Bd. 83. H. 3.
6. H i r s c h b r u c h und H. T h i e m. Ueber Ruhrbacillen vom Typus Schmitz. D. med. Woch. 1918. № 49. S. 1353.
7. L a m p l. Ueber einen neuen Typus von Dysenteriebazillen. Wiener Klin. Woch. 1918. № 30.
8. M a x O r n s t e i n. Zur Bakteriologie des Schmitzbazillus. Z. f. Hygiene und Infekt. B. 91. H. 1. S. 153.

Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Militärärztlichen Institutes  
in Warschau.

(Leiter Dr. Z. Szymanowski).

## Beitrag zur Variabilität der Ruhrbacillen.

mitgeteilt von

Dr. Z. SZYMANOWSKI und L. SZERESZEWSKI.

Im Sommer 1920 sind aus der Stühlen von typischen Ruhrfällen mehrfach Stämme gezüchtet worden, welche morphologisch, kulturell und biochemisch den *Shiga-Kruse* Bacillen ähnlich waren, aber von keinem

Ruhrserum-weder *Shiga*, noch *Flexner*-agglutinirt wurden. Für Kaninchen waren sie so gut wie avirulent. Offenbar handelte es sich um Stämme, die am nächsten dem Bacillus von *K. Schmitz* standen. Es war uns zwar unmöglich, sie mit unseren Stämmen unmittelbar zu vergleichen. Der weitere Gang der Untersuchung war aber geeignet, unseren Verdacht zu festigen. Es waren im Ganzen 12 Stämme. Ein Teil von ihnen agglutinierte, nachträglich untersucht, mit einem Strong-serum. Wir haben sie anfänglich in dieser Hinsicht nicht untersucht, da sie Mannit unverändert liessen. Als sie aber mit Strongserum nach 2 — 3 Wochen agglutinierten, haben sie bereits „gelernt“, Mannit zu röten. Ein anderer Teil ergab sich bei wiederholter Untersuchung als beweglich, während er früher diese Eigenschaft nicht besass. Dieser Umstand veranlasste uns zu einer sorgfältigen Prüfung der Variabilität, welche bei 4 Stämmen zu übereinstimmenden und unerwarteten Resultaten führte. Es muss betont werden, dass wir zwar keine Einzelkulturen anlegten, wohl aber stets von einzelnen Kolonien nach mehrfachen Ueberimpfung Stämme zur Untersuchung abstachen, und zwar immer mehrere Stämme von einer und derselben Kultur. Das halten wir für ausreichend, um grobe Fehler auszuschliessen. Uebrigens kann die Gleichartigkeit der Umwandlung bei verschiedenen Stämmen als der beste Beweis gelten, dass es sich hier um einen natürlichen Vorgang handelt. Die Beobachtung dauerte ungefähr 18 Monate. Die Bakterien „lernten“ allmählich zunächst Mannit und Maltose ohne Gas zu bilden, später mit Gasbildung zu vergären. wurden dann beweglich und agglutinierten schliesslich mit *Para B* und mitunter auch mit *Para C*<sup>1)</sup> Serum. Diese Umwandlung liess sich mitunter bis in die dritte Generation verfolgen. Der Gang der Umwandlung war derartig, dass sich immer ein Stamm abspaltete, der die neue Eigenschaft erwarb, während ein anderer unverändert blieb. Die gut agglutinablen Stämme (mit *Para B*-Serum) waren auch bessere Agglutininbildner. Einzelne Töchterstämme waren untereinander serologisch verwandt und sogar identisch. Andere waren serologisch verschieden. Eine Verwandtschaft mit einer ganzen Reihe von *Para B* Stämmen (der Sammlung des Centr. Epid. Institutes in Warschau entnommen) liess sich nicht feststellen. Wir haben somit mit einer Entstehung von typischen *Para B*-stämmen aus einem *Schmitz*-ähnlichen Stamm zu tun. In wie fern dieser Prozess bei der natürlichen Infektion in vivo möglich ist, müssen weitere Untersuchungen entscheiden. Jedenfalls ist die grösste Vorsicht bei der üblichen bakteriologischen Diagnostik angezeigt. Die Entscheidung, ob es sich um eine Mischinfektion oder um eine Umwandlung des pathogenen Agens handelt, kann mitunter schwer sein. Wir haben in unserer Praxis zwei derartige Fälle. In einem handelte es sich um einen Ruhrfall (*Shiga Kruse*), der in eine schwere *Para-B*-Infektion auslief, im anderen um eine *Para-B*-Infektion, die in einen typischen Abdominalis mit mehreren Rezidiven überging.

---

1) Para  $\beta$  der deutschen Autoren.

Z Kliniki Terapeutycznej Uniwersytetu Kijowskiego  
(Dyrektor prof. F. W. Werbicki)

## W sprawie ziarnistych i odłamkowych postaci laseczników gruźliczych i w sprawie sposobu ich barwienia.

Podał

Dr. WŁODZIMIERZ FILIŃSKI.

Oprócz zwykłych laseczników gruźliczych kwasoodpornych zostały opisane jeszcze dwie inne ich postaci, a mianowicie t. zw. „ziarna“ *Much'a* i „odłamki“ *Spengler'a*. Co się tyczy postaci ziarnistych, to pomimo tego, że istnienie ich zostało stwierdzone, znaczenie kliniczne pozostaje wątpliwe. Z drugiej strony, istnieje spór, czy ziarna i odłamki nie są jednymi i temi samymi tworami. Praca niniejsza jest próbą rzucenia pewnego światła na tę sprawę, jak również na sprawę wyboru sposobu barwienia laseczników gruźliczych, uchylających się od typu prawidłowego.

Ziarna *Much'a*, jak wiadomo, barwią się tylko według *Gram'a*, zaś zwykły lasecznik barwi się i według *Gram'a* i według *Ziehl'a*. Oprócz tego, zwykły lasecznik może być zabarwiony równocześnie podwójnie, według *Gram'a* i *Ziehl'a*, to znaczy na czerwono i na fioletowo. Istnieje kilka sposobów takiego barwienia (*Weiss, Wehrli i Knol, Berger, Fontes, Rosenblat*), z których za najlepszy uważam sposób *Hatano*. Preparat, zabarwiony podwójnie, wygląda w sposób następujący. Nieliczne laseczniki barwią się tylko na czerwono, większość zaś barwi się również na czerwono, lecz każdy lasecznik jest wysadzony ciemno-fioletowymi ziarnami, w ilości od 1 do 6 — 7. Niektóre prątki posiadają ziarna tylko na końcach, albo tylko na jednym końcu. Oddzielne ziarna spotykają się bądź zupełnie odosobnione, bądź ułożone łańcuszkami, podobnie jak w laseczniku. Ciekawy szczegół stanowi zjawisko, że niektóre z tych oddzielnych ziarn otoczone są czerwoną obwódką; inne mają tylko z jednej strony maleńkie czerwone dodatki, jakby resztki bakteryjnej protoplazmy.

Zdolność laseczników gruźliczych do zabarwiania się podwójnie wywołała przypuszczenie o istnieniu w każdym prątku dwóch różnych substancyj. *Much* twierdzi, że jedna z nich jest kwasoodporną, a druga gram-pozytywną; w pewnych warunkach, pierwsza z nich może zniknąć i wtedy

powstają postacie ziarniste. *Wirthsowi* wydaje się bardziej prawdopodobnym, że obie substancje są grampozytywne, a jedna posiada oprócz tego kwasoodporność.

Jak widać z podwójnie barwionych preparatów, laseczniki gruzlicze nie stanowią morfologicznie jednolitych prątków; można to zauważyć częściowo już przy zwykłym barwieniu, gdy większość laseczników ma też przerywany wygląd, ze słabo zabarwionymi, niekiedy zupełnie bezbarwnymi<sup>1</sup> miejscami. *Koch* uważa te przerwy za spory, *Kitasato* i *Bougert* za zjawiska degeneracji, a *Czystowicz* i *Kitt* za wodniczki, powstałe wskutek plazmolizy. Podobne przypuszczenia wypowiadano również co do ziarn *Much'a*; stąd też można się niekiedy spotkać z utożsamianiem tych dwóch elementów (*Rosenblat*, *Berger*). Według moich obserwacji miejsca, niezabarwione metodą *Ziehl'a*, nie mają nic wspólnego z ziarnami grampozytywnymi. Jeżeli bowiem na preparaty, zabarwione metodą *Ziehl'a* lub *Ehrlich'a*, podziałać roztworem *Lugol'a*, to w lasecznikach wystąpi ciemna ziarnistość. Jod ma własność wzmacniania lub osłabiania zabarwienia, jednak trudno przypuścić, aby pod działaniem jodu bezbarwne miejsca zamieniły się na ciemno-czerwone lub ciemno-fioletowe ziarna. Prędzej należy myśleć, że grampozytywne ziarna znajdują się wewnątrz kwasoodpornych odcinków.

W sprawie znaczenia praktycznego ziarnistych postaci *Much'a* niema zgodności zdań. Podczas, gdy jedni (*Weiss*, *Wirths*, *Caan*, *Michajłow*,<sup>2</sup> *Lebiediew*, *Korelkin*, *Kryłow*, *Wolf*, *Schulz*) przypisują im duże znaczenie rozpoznawcze, drudzy (*Geipel*, *Rosenblat*, *Bittrolf* i *Momose*, *Izaboliński* i *Storozewa*) odmawiają im jakiegokolwiek znaczenia klinicznego. Trzecia grupa autorów (*Dold*, *Schottmüller*, *Berger*, *Eisenberg*, *Liebermeister*, *Sokołowski*, *Dębiński*) zajmuje stanowisko pośrednie; za utwory, wywołujące gruzlicę, przyjmują oni nie oddzielne ziarna, a tylko łańcuszki, złożone z 3 — 4 ziarn, tworzące jak gdyby ziarnisty lasecznik.

Aby się przekonać o wartości rozpoznawczej odosobnionych ziarn sporządziłem całą serję preparatów, barwionych według *Gram'a* z takich płwocin, gdzie gruzlica była wyłączona. We wszystkich tych preparatach można było jednak znaleźć, w mniejszej lub większej ilości, ziarna. posiadające wszystkie zewnętrzne przymioty „ziarn“, opisanych przez *Much'a* i innych autorów. Te same płwociny badałem z antyforminą, ponieważ ziarna *Much'a* są wobec niej odporne (*Weichrauch*, *Weiss*, *Liebermeister*, *Pekanowitch*), jednak ilość ziarn nie tylko się nie zwiększyła, lecz, odwrotnie, w niektórych przypadkach znacznie się zmniejszyła. Stąd przyszedłem do wniosku, że we wszystkich preparatach, jak przed, tak i po antyforminie. miałem do czynienia z t. zw. „nieuniknionymi osadami“ barwika. Oprócz tego udało mi się spostrzec, że barwniki nie jednakowo osiadają na każdym materiale. Tak na przykład, ulubionym podkładem do wypadania osadów są twarogowate i zwapniałe gruczoły chłonne, to jest właśnie to środowisko, gdzie najczęściej znajdowano ziarna *Much'a*. Drobne te osady układają się niekiedy w postaci łańcuszków nad brzegami cząstek zwapniałej substancji i upodobniają się w ten sposób do laseczników ziarnistych. Spostrzeżenia te przekonały mnie o znikomej, lub prawie żadnej, wartości rozpoznawczej postaci ziarnistych.

Drugim odchyleniem od prawidłowego typu lasecznika gruzliczego są postacie odłamkowe „*splitte*”. Opisał je *Spengler* u ludzi, skłonnych ku wyzdrowieniu. Mogą być przypadki, w których odłamki są wyłącznymi przedstawicielami gruzliczego zakażenia ustroju. Oprócz odłamków są również i całe laseczniki, które tak samo, jak tamte, nie barwią się zwykłymi sposobami, a tylko według znanego sposobu pikrynowego *Spenglera*. Taką zmianę barwliwości przypisuje *Spengler* uszkodzeniu otoczki bakteryjnej. Zewnętrzny obraz odłamków jest bardzo różny. Niekiedy mają one wygląd punkcików, w większości zaś są to kawałki kształtu trójkątnego i czworokątnego lub też podobnego do ostrza włóczni; układają się bądź pojedynczo bądź grupkami, albo też tworzą łańcuszki.

Odłamki znajdują się nie tylko w stanie wolnym, ale również wewnątrz prawidłowego lasecznika, podobnie jak ziarna *Much'a*. Podobieństwo to i fakt znajdowania odłamków i ziarn w tych samych produktach gruzliczych (*Fuchs-Wolfring*) były powodem, że niektórzy uważają je za te same twory. Przeciwno temu wystąpili silnie *Much* i *Caan*, a z nimi zgadza się większość autorów. Twierdzą oni, że ziarna i odłamki nie są tem samem, dlatego, że jedne od drugich różnią się bardzo kształtem (ziarna są okrągłe) i że odłamki są kwasoodporne w przeciwieństwie do ziarn.

Tym różnicom chcę poświęcić więcej miejsca, a przedewszystkiem zajmę się kwasoodpornością.

Jest zdaniem ogólnie przyjętem, że sposób pikrynowy barwienia laseczników gruzliczych stanowi tylko odmianę zasadniczego sposobu *Ziehl'a*. *Korelkin*, np. zrobił następujące doświadczenie. Niezabarwione preparaty płwociny gruzliczej pozostawił na 6 godzin w 10% roztworze kwasu azotowego. W takich warunkach laseczniki tracą swą kwasoodporność. Preparat, zabarwiony następnie według *Ziehl'a*, dał wynik ujemny, zaś preparaty, zabarwione sposobem pikrynowym i sposobem *Gram'a*, wykazały laseczniki gruzlicze. Pomimo tego *Korelkin* pisze, że różnica między sposobem pikrynowym a sposobem *Ziehl'a* jest tak nieznaczna, iż nie można w różnicy tej szukać przyczyn powyższego zjawiska. Doświadczenie to powtórzyłem z płwocinami kilku chorych i otrzymałem te same rezultaty, jestem jednak zdania, że przyczyny tego trzeba szukać właśnie w ogromnej różnicy pomiędzy obu sposobami. Sposób pikrynowy jest bliższy do *Gram'a* niż do *Ziehl'a*; można powiedzieć, że w barwieniu sposobem pikrynowym i sposobem *Gram'a* istotną rolę grają te same czynniki.

Ażeby tego dowieść, trzeba przedewszystkiem powiedzieć kilka słów o sposobie *Gram'a*. Według ogólnie przyjętej teorii *Unna* jod działa tu jako zaprawa. Daje on trwały związek z pararozanilinami; związek ten zatrzymuje się w drobnoustrojach grampozytywnych i wymywa się z gramnegatywnych. Rozczyn *Lugol'a*, zawierający jod, może być zastąpiony w sposobie *Gram'a*, jak to stwierdził *London*, przez wodny roztwór kwasu pikrynowego. Modyfikacja ta znana jest ogólnie pod nazwą sposobu *Claudiusa*.

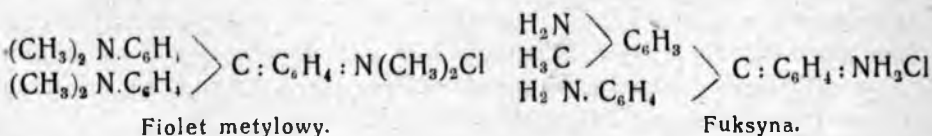
W sposobie *Gram'a* duże znaczenie ma odbarwienie preparatu. Odbarwienie to zależy od trwałości zabarwienia, które bywa dwojakie. Zależy ono albo od związku chemicznego substratu z barwnikiem, albo od trudnej dyfuzji barwiących drobinek. Trudność dyfuzji polega na tem, że roz-

puszczalny barwik przechodzi w substracie w stan nierozpuszczalny. Odbarwienie zatem może być również chemicznem albo fizycznym. Rozczyny dla chemicznego odbarwiania, np. kwasy, działają w ten sposób, że z trudno rozpuszczalnymi zasadami dają łatwo rozpuszczalne sole (*Friedberger, Pappenheim*), płyny zaś dla fizycznego odbarwiania, a więc woda, alkohol, aceton i t. p., działają głównie przez wymywanie. Trzeba tu jednak nadmienić jeszcze, że każda trwałość zabarwienia ma swój kres i dlatego zbyt długie odmywanie w sposobie *Gram'a* odbija się zgubnie na jakości preparatów. Z drugiej zaś strony trwałość chemiczna nie jest absolutnie odporna wobec czynników fizycznych, a fizyczna wobec chemicznych. To też okazuje się, że najlepsze odbarwienie w sposobie *Gram'a* jest kombinowane — chemiczno-fizyczne. Znalazło ono zastosowanie w modyfikacji *Much'a*, który zastosował 5% kw. azotowy, 3% kw. solny i aceton-alkohol. Wypróbowałem, że można jednak używać w tym wypadku i silniejszych rozczyńców kw. azotowego, np. 12—15%, tylko przez odpowiednio krótszy czas.

Z tego wszystkiego widzimy teraz, że jeżeli w sposobie *Gram'a* rozczyzn *Lugol'a* zastąpić kwasem pikrynowym i zastosować kombinowane odbarwienie kwasem azotowym i alkoholem, to będziemy mieć do czynienia z sposobem pikrynowym *Spenglera*, w którym, jako barwnik, służy, zamiast fuksyny, fiolet gencjany.

Powstaje teraz pytanie, czy fuksyna, pod wpływem takich zapraw, jak kw. pikrynowy lub jod, może być utrwalona w pewnych bakterjach, podobnie jak fiolet genc. Wiadomo dotychczas, że sposób *Gram'a* udaje się tylko z pararozanilinami, do których należy fiolet genc., fiolet metyl., błękit Wiktorji i t. d. Fuksyna, należąca do grupy rozanilin, nie nadaje się do tego celu, co kategorycznie twierdzą *Günther i Gabryczewski*. Podział jednak wspomnianych barwników na rozaniliny i pararozaniliny jest niewłaściwy i spotyka się jeszcze jedynie w podręcznikach lekarskich. Właściwie wszystkie te barwniki, ze względu na budowę chemiczną należą do jednej grupy

Każdy barwnik zawdzięcza swe własności zawartej w nim, t. zw. grupie barwnikonośnej. Ciało takie nie jest jeszcze zdolne do barwienia. Własności barwnicze zyskuje ono dopiero po przyłączeniu grup barwnikotwórczych, które są  $\text{NH}_2$  i  $\text{OH}$  lub ich pochodne  $\text{NHR}$ ,  $\text{NR}_2$ ,  $\text{OR}$ . A więc, fuksyna, fiolet gencj., fiolet metyl. i inne, wyżej wspomniane barwniki, zawierają jedną i tę samą grupę barwnikonośną, a mianowicie chinon-imid  $\text{HN} : \text{C} = \text{C} : \text{C} <$ . Cała różnica pomiędzy fuksyną a t. zw. pararozanilinami polega na tem, że pararozaniliny posiadają rodniki  $\text{CH}_3-$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5-$ , wprowadzone do grup barwnikotwórczych, co widać z załączonych wzorów:



Fiolet metylowy.

Fuksyna.

Fuksyna jest więc połączeniem tej samej grupy, do której należą i t. zw. pararozaniliny i, z punktu widzenia teoretycznego, nic nie stoi na przeszkodzie.

dzie, aby zapomocą kw. pikrynowego alboważ jodu mogła być również utrwalona w pewnych bakterjach. W praktyce przekonujemy się, że tak jest, tylko że temi bakterjami są wyłącznie laseczniki gruźlicze.

Sposób pikrynowy *Spengler'a* ma więc tę zaletę, że tak samo jak sposób *Gram'a*, daje możność zabarwienia grampozytywnych postaci laseczników gruźliczych i nie wykazuje oprócz nich żadnych innych bakteryj. Odłamki zaś *Spengler'a*, wnosząc ze sposobu barwienia, są tylko grampozytywne tak samo, jak ziarna *Much'a*.

Drugą różnicą między temi postaciami, na którą wskazuje *Much*, jest to, że odłamki mają kształt nieprawidłowy i wydaje się, jakoby powstały pod wpływem działania na laseczniki czynników chemicznych lub mechanicznych, podczas gdy ziarna są zawsze równe i okrągłe. Aby wytłómaczyć tę różnicę w kształtach wspomnę przedewszystkiem, że ziarna *Much'a* uważane są za postacie rozwojowe, z których powstają laseczniki. Łatwo też, wobec tego, wyobrazić sobie postacie przejściowe, które rzeczywiście udaje się zobaczyć przy podwójnem barwieniu. Widać wtedy, jak to już wyżej opisałem, ziarna otoczone paskiem protoplazmy lub też posiadające czerwone wypustki. Dodatków tych nie można uwidocznić w pojedynczem barwieniu fioletami, gdyż fioletoy posiadają wysoki stopień powinowactwa tylko ku ziarnistościom, protoplazmę zaś bakteryjną zabarwiają dość słabo. Fuksyna barwi silnie zarówno ziarna, jak i protoplazmę, a dlatego, barwiąc sposobem *Spengler'a*, widzimy ziarna z ich dodatkami, wskutek czego mają one kształt nieprawidłowy.

Wobec powyższego wydaje mi się, że najprawdopodobniej odłamki *Spengler'a* i ziarna *Much'a* są to jedne i te same twory.

Aby jeszcze przekonać się, jaką wartość kliniczną posiada pikrynowy sposób barwienia laseczników, wykonałem cały szereg badań porównawczych nad sposobami barwienia. Zaznaczę, że we wszystkich preparatach, barwionych według sposobów pikrynowego lub *Gram'a*, znajdowało się zawsze na preparacie więcej laseczników, niż podczas barwienia metodą *Ziehl'a*. Nadto w kilku przypadkach, w których, pracując metodą *Ziehl'a*, pomimo najstaranniejszego poszukiwania i nawet stosowania antyforminy, nie można było wykryć laseczników, znaleziono je w preparatach, przygotowanych sposobem pikrynowym i *Gram'a*. Fakty te mówią same przez się o korzyściach, jakie daje pikrynowy sposób barwienia.

## W n i o s k i.

1. Podobnie, jak pararozaniliny (fiolet gencjany) w sposobie *Gram'a* utrwalają się w pewnych tylko bakterjach, tak samo fuksyna w sposobie *Spengler'a* utrwala się tylko w lasecznikach gruźliczych. W utrwaleniu tem najważniejszą rolę gra kwas pikrynowy, który, jak wiadomo, i w sposobie *Gram'a* może zastąpić rozczyń *Lugol'a*.

2. Te odłamki *Spengler'a*, które można wykryć wyłącznie sposobem pikrynowym, nie są więc kwasoodporne, a tylko grampozytywne.



3. Nieprawidłowy kształt odłamków zależy od silnego powinowactwa fuksyny nie tylko do ziarnistości, ale i do protoplazmy bakteryjnej.
4. Odłamki i ziarna są to najprawdopodobniej jedne i te same twory.
5. Pikrynowy sposób barwienia jest najlepszym sposobem wykrywania laseczników gruźliczych, dlatego że łączy w sobie zalety sposobów *Ziehl'a* i *Gram'a*.

## PIŚMIENNICTWO.

1. Much H. Muench. med. Woch. 1907, 54, 1791.
2. Much H. Berl. klin. Woch. 1908, 45, 320.
3. Much H. Berl. klin. Woch. 1908, 45, 691.
4. Wirths M. Muench. med. Woch. 1908, 55, 1687.
5. Much H. Beitr. z. Kl. d. Tuberkulose XI.
6. Schottmüller, Muench. med. Woch. 1908, 55, 2564.
7. Kozłow A. Russkij wracz 1910, IX, 661.
8. Zimnickij. Osnowy bakterio-biologiczeskago rozpoznawania tuberkuloza. Kazań, 1913.
9. Günther C. Rukowodstwo bakterjologii, Saratow, 1899.
10. Weiss L. Muench. med. Woch. 1909, № 9.
11. Michajłow. Russkij wracz. IX, 617.
12. Weiss L. Berl. klin. Woch 1909, 46, 1797.
13. Wehrli i Knol. Muench. med. Woch., 1909, 56, 2650.
14. Hatano. Berl. klin. Woch. 1909, 46, 1694.
15. Berger K. Centr. f. Bacter. 1910, 53.
16. Fontes A. Centr. f. Bacter. 49.
17. Rosenblatt, Centr. f. Bacteriol. 58, 173.
18. Gasis D. Centr. f. Bacter. 50.
19. Niewiadomski. Medicinskoje Obozrenie 1904, № 1.
20. Betegh L. Centr. f. Bacter. 47.
21. Betegh L. Centr. f. Bacter. 49.
22. Korelkin. Russkij wracz. 1912, № 43.
23. Eisenberg Ph. Berl. klin. Woch. 1910, 47, 338.
24. Kryłow D. Zeitschr. f. Hygiene. 70.
25. Caan A. Centr. f. Bacter. 49.
26. Deycke. Muench. med. Woch. 1910, 57, 633.
27. Más y Magro, Ref. Muench. Med. Woch. 1913, 60, 1903.
28. Czystowicz F. Medicinskaja mikrobiologija Tarasiewiczza.
29. Geipel. Muench. med. Woch. 1909, 56.
30. Rosenblatt S. Centr. f. Bacter. 59, 371.
31. Schulz E. Deut. med. Woch. 1909, 35, 1569.
32. Bittrollfi Momose. Deut. med. Woch. 1912, 38, 16.
33. Izaboliński i Starożewa. Wraczebnaja gazeta 1913, XX, 1182.
34. Lebediew, Russkij wracz, 1911, № 43.
35. Liebermeister G. Deut. med. Woch. 1909, 35, 1224.
36. Sokołowski A. Wykłady kliniczne chorób dróg oddechowych.
37. Dembiński. Djagnostyka gruźlicy.
38. Wolf P. Muench. med. Woch. 1909, 56, 2312.
39. Spengler C. Zeitschr. f. Hyg. 1905, 49.
40. Spengler C. Deut. med. Woch 1907, № 9.
41. Eisenberg Ph. Centr. f. Bacter. 49.
42. Gabryczewskij, Medicinskaja bakterjologija. Petersburg 1907.

43. L o n d o n E. Archiw biologiczeskich nauk 1898, VI.
44. S c h w a l b e. Neue Farbtheorien. Stuttgart 1907.
45. P a p p e n h e i m A. Grundriss der Farbchemie. Berlin 1901.
46. S z a p o s z n i k o w. Obszczaja technologia wołoknistych i krasia-szczich wieszczestw. Kijów 1912.
47. O r ł o w N. Osnownyja naczała pieczatania i kraszenia. Kijów 1909.
48. K u l c z y c k i j. Technika mikroskopiczeskago izsliedowania. Char-ków 1909
49. M i c h a e l i d e s. Beitr. z. Klin. d. Tuberk. VIII.

Travail de la Clinique therapeutique de l'Université de Kieff  
(Professeur F. W. Werbicki).

## Sur les formes granuleuses et fragmentaires et sur les méthodes de colorations des bacilles de la tuberculose.

Par W. FILIŃSKI.

### CONCLUSIONS.

1) De même que les pararosanilines (gentianviolett) dans la méthode de *Gram* se fixent sur certains microbes, la fuchsine dans la méthode de *Spengler* se fixe exclusivement dans les bacilles de la tuberculose. L'acide picrique, qui peut être employé également dans la méthode de *Gram* au lieu de la solution de *Lugol*, joue le rôle le plus important dans cette fixation.

2) Parmi les fragments de *Spengler*, ceux qu'on trouve exclusivement par la méthode de l'acide picrique ne sont pas persistants aux acides, mais ils sont positifs au *Gram*.

3) La forme irrégulière des fragments dépend non seulement de l'affinité aux granulations mais ainsi de l'affinité à la substance plasmatische des bacilles:

4) Les fragments de *Spengler* et les granulations de *Much* sont probablement des formes identiques.

5) La méthode de *Spengler* est le meilleur moyen de découvrir les bacilles de la tuberculose puisqu'elle comprend les avantages des méthodes de *Ziehl* et de *Gram*.

Z II. Kliniki chorób wewnętrznych Uniw. Warsz.  
(Dyrektor prof. dr K. Rzętkowski).

## Opadanie krwinek a Crise Hémoclasique.

Podał

Dr MARCELI LANDSBERG

asystent kliniki.

Badania<sup>1)</sup> nad zmianami, zachodzącymi we krwi podczas t. zw. wstrząsu anafilaktycznego, wykazały, iż w stanach anafilaksji spotykamy się stale z zaburzeniami w krzepliwości krwi oraz z wybitną leukocytozą, poprzedzoną przez leukopenję. Objawom tym towarzyszy raptowny spadek ciśnienia krwi.

Wobec wielokrotnie spostrzeganego podobieństwa pomiędzy stanami anafilaktycznymi a niektórymi cierpieniami, jak astmą, hemoglobinurją napadową, pokrzywką, chorobą posurowiczą i innymi, *Widal* oraz jego współpracownicy *Abrami*, *Brissaud*, *Joltrain* i inni podjęli szczegółowe badania nad zmianami, zachodzącymi we krwi i w układzie krwionośnym w okresie napadowym danego cierpienia. Badania te wykazały, że i tutaj, pod wpływem czynników zewnętrznych, powodujących atak danego cierpienia (np. w pokrzywce po spożyciu mięsa), można było spostrzec ze strony krwi i naczyń pewne objawy, dla stanów anafilaktycznych charakterystyczne. Są to: leukopenja, spowodowana prawdopodobnie przez wyędrowanie neutrofilowych leukocytów z naczyń obwodowych (a więc stosunkowa limfocytoza), spadek ciśnienia krwi, zmniejszenie się wskaźnika refraktometrycznego surowicy krwi oraz wzmożona jej krzepliwość. Zespół tych objawów, nazwany przez *Widala* „*Crise Hémoclasique*”, wskazuje, według niego, na obecność we krwi obcego białka, a wywołany zostaje przez pewne zmiany w ukształtowaniu koloidów osocza, zmiany spowodowane przez to właśnie obce białko lub jego pochodne. Późniejsze badania *Wi-*

1) Praca ta była przedstawiona w referacie na posiedzeniu Tow. Biologicznego w Warszawie, w dn. 5/IV 1922 r.

dala oraz jego szkoły wykazały, że taka sama „crise” może (w odpowiednich przypadkach) wystąpić nie tylko pod wpływem t. zw. obcego białka, lecz również i wskutek rozmaitych innych czynników natury mechanicznej, chemicznej, a nawet i czysto psychicznej. A ponieważ, według *Widala*, wymienione wyżej zmiany powstają na skutek zakłócenia równowagi koloidów ustroju, wszystkie te stany, w których owa „crise” występuje, uogólniono pod wspólnym mianem stanów „koloidoklastycznych”.

Jak widzimy z badań *Widala*, zastrzyknięcie wszelkiego obcego białka powoduje wystąpienie tych czterech kardynalnych objawów kryzy; podanie zaś dożylnie w ł a s n e j, niezmięconej krwi, kryzy nie wywołuje. Własna, natomiast, krew z ż y ł y w r o t n e j (mowa o psie), zastosowana dożylnie, działa jak ciało obce: powstaje „crise”. Znaczy to, iż wątroba jest niejako wałem ochronnym ustroju przed obcym białkiem pochodzenia jelitowego (pokarmowego); białko to, dopiero dzięki asymilacyjnej działalności wątroby, przechodzi do krwioobiegu głównego, jako ciało dla danego ustroju swoiste.

Na zasadzie tego doświadczenia opracowali *Widal*, *Abrami* i *Jancovescio* nowy sposób czynnościowego badania wątroby: spożyte białko zostaje przez wątrobę, czynnościowo wydolną, zasymilowane, wątroba zaś niewydolna białko to lub jego pochodne przepuszcza do krwi obwodowej—w ten sposób powstaje „crise”. Innymi słowy: spożycie 300 cm<sup>3</sup> mleka przez osobnika o wątrobie chorej powoduje wystąpienie w jego krwi tych samych zmian, jakie spostrzegamy po pozajelitowym podaniu tej samej substancji. Nie wglębiając się w mechanizm powstawania tego wstrząsu pokarmowego „koloidoklastycznego”, pozostaje kwestją niewyjaśnioną, czy te 4 wspomniane objawy powstanie swe zawdzięczają rzeczywiście zmianom w układzie koloidowym. Takie objawy, jak leukopenja, spadek ciśnienia krwi i wskaźnika refraktometrycznego surowicy, mogą być, i są prawdopodobnie, spowodowane przez czynniki naczynioruchowe (*Bouche* i *Hustin*). Co się zaś tyczy zmiany krzepliwości krwi, to 1) zmiany, zachodzące tu, są sporne, jedni mówią o wzmożonym, inni o zwolnionym krzepnięciu krwi; po 2) sam sposób określania zmian krzepliwości krwi daleki jest od dokładności.

„*Crustą phlogistica*” starożytnych autorów, występująca np. w zapaleniu włóknikowym płuc, jest przejawem wzmożonego opadania krwinek. Jak to wykazał *Biernacki* (kilkanaście lat temu), szybka ta sedymentacja jest związana ze zwiększeniem się ilości fibrinogenu we krwi; *Hirszfeld* w r. 1917 wskazał na szybkie opadanie krwinek w przebiegu zimicy. W rok później *Faehreus*, *Hoerber*, *Linzenmeyer*, *Oettingen*, *Starlinger* oraz *Loehr*, w badaniach nad opadaniem krwinek, ustalili, iż głównym czynnikiem owego opadania jest układ koloidowy osocza (a więc w pierwszej linii ciała białkowe). *Starlinger* zaznacza, że przede wszystkim, wśród tych związków białkowych, główną rolę odgrywa fibrinogen i że czynniki, wzmagające jego ilość, wywołują jednocześnie szybsze opadanie krwinek. Jak wiadomo z badań *Modrakowskiego* i *Oratora*, podanie podskórne białka podnosi poziom fibrinogenu we krwi i, *ceteris paribus*, przyspiesza opadanie krwinek. Według *Oettingena* nie tylko wzrost fibrinogenu we krwi, ale

i wogóle wszelka zmiana stanu koloidów osocza w kierunku ich zmniejszonej dyspersji (a więc globulinemja), powoduje szybsze opadanie krwinek; dlatego też nie jest to tylko rzeczą trafu, że we wszystkich tych stacjach, w których występuje przyspieszona sedymentacja krwinek, stwierdzamy też wzrost ilości globulin krwi.

Kierując się poglądami *Widala* na „*crise*“, jako na skutek obecności obcego białka we krwi i biorąc pod uwagę wpływ podania obcego białka na szybkość opadania krwinek, przeprowadziłem szereg badań nad opadaniem czerwonych ciałek krwi w przebiegu kryzy.

Okazało się, że w tych przypadkach, w których, po spożyciu naczczo 300 cm<sup>3</sup> mleka, występowała leukopenja; opadanie krwinek odbywało się w daleko szybszym tempie, niż przed wypiciem mleka.

Technika badania jest łatwa: do cylinderka, zawierającego jedną część 5%-ego roztworu cytrynianu sodu, dodajemy (wprost z żyły) 3 części krwi. Po skłóceniu tej, już niekrzepnącej, krwi rozlewamy ją do probówek, dokładnie kalibrowanych (o średnicy 6 mm.) ze skalą milimetrową. Po pewnym czasie, wskutek równomiernego opadania krwinek, ponad niemi wytwarza się słupek osocza, wysokość którego mierzy się zapomocą skali milimetrowej. Po upływie 30 min. odczytujemy wysokość słupka plazmatycznego; im szybciej opadają krwinki, tem większy jest półgodzinny „słupek“.

„*Crise Hémoclasique*“ wywoływałem zapomocą podawania naczczo 300 cm<sup>3</sup> mleka osobom, u których w ten lub w inny sposób stwierdzałem zaburzenia czynności wątroby. Na 43 badane przezemnie przypadki tego rodzaju tylko w 26 przypadkach wystąpił po spożyciu mleka główny stygmat *Widalowskiej* hemoklajzy—leukopenja: z tych 26 przyp. w 21 przyp. zdołałem stwierdzić, łącznie z leukopenją, wzmożoną szybkość opadania krwinek. To przyspieszenie wynosiło od 15 do 26% pierwotnej szybkości, przeciętnie około 20%. Dla przykładu podam protokół przypadku Nr 30.

#### I. Djaгноza: *Icterus catarrhalis*.

Ilość leukocytów przed podaniem mleka 10,200 w cm<sup>3</sup> krwi.

„ „ „ po podaniu „ 7,100 „ „ „

1/2 godz. szybkość opad. krwinek przed podaniem mleka 16 mm.

„ „ „ „ po podaniu „ 21 „

W ten sposób widzimy, iż rzeczywiście, tak samo, jak po podaniu pozajelitowem białka, i w przebiegu „pokarmowej“ kryzy opadanie krwinek ulega przyspieszeniu. A, ponieważ szybkość sedymentacji krwinek zależy jedynie od stanu koloidów osocza, zmiany tej szybkości są równoznaczne ze zmianami budowy fizycznej ciał białkowych osocza: wzmożona dyspersja zwalnia szybkość opadania, zmniejszona zaś przyspiesza.

W przebiegu „*crise*“ spotykamy się z przyspieszeniem opadania krwinek, czyli że układ koloidowy uległ pewnym zmianom w kierunku zmniejszonej dyspersji: „*crise hémoclasique*“ zupełnie słusznie zasługuje na miano „*crise colloïdoclasique*“.

Nie poruszam tutaj sprawy samego mechanizmu powstawania tej „*crise*“. Nie jest rzeczą prawdopodobną, aby spożyte mleko, nawet w przypadkach cierpienia wątroby, działało jako białko obce; badania *Mauthnera*, *Cari*, *Picka* oraz *Kischa* przemawiają za tem, że mamy tu do czynienia z podrażnieniem układu naczyniowego wątroby przez obciążenie jelit większą ilością pokarmu; rzecz jasna, że wątroba chora reaguje wydatniej, aniżeli zdrowa.

Ten sam proces skurczu naczyń żylnych wątroby odbywa się również i pod wpływem podania białka obcego, peptonu i wogóle większej ilości ciał, dla ustroju nieobojętnych.

Jest rzeczą bardzo prawdopodobną, że właśnie to nagle występujące zaburzenie w działalności wątroby powoduje zmiany w układzie koloidowym: znany jest przecież wpływ tego największego w ustroju narządu o wydzielaniu wewnętrznem na sprawy konsolidacji i dezintegracji ciał białkowych osocza.

Jak widzimy, patogeneza wstrząsu hemoklastycznego nie jest wyjaśniona, przytoczone tu badania moje mają na celu wskazanie na zakłócenie równowagi koloidów krwi w przebiegu „*crise hémoclasique*“ oraz wykazują, że do czterech objawów, charakterystycznych dla kryzy, należy dołączyć piątą, mianowicie przyspieszone opadanie krwinek we własnem osoczu.

Aus der II Mediz. Universitaetsklinik, Warschau.  
(Director Prof. Dr. K. Rzętkowski).

## Ueber die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen im Verlaufe der „*crise hémoclasique*“.

von Dr. MARCELI LANDSBERG.  
Assistent der Klinik.

Nach *Widal's* Angaben wird das Syndrom der haemoklastischen Krise durch Störungen des Kolloidbestandes des Blutes hervorgerufen, doch ist die Existenz dieser kolloidalen Zustandsänderungen im Verlaufe der Krise nicht deutlich erwiesen. Da die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen in hohem Maasse von der physikalischen Struktur der Plasmaeiweisskörper abhängig ist, so erweist sich das Studium dieses Phaenomens als geeignet für die Erkennung eventueller Zustandsänderungen im Kolloidhaushalte des Blutes

Es wird gezeigt, dass in der Mehrzahl der Fälle der haemoklastischen Krise, die durch Einnahme von 300 ccm. Milch bei Leberkranken hervorgerufen wird, die Senkung der Blutkörperchen um ca. 20% beschleunigt wird.

Damit wird erwiesen, dass die haemoklastische Krise tatsächlich mit einer Störung des Kolloidgleichgewichts des Plasmas, einer „*crise colloido-clasique*“, einhergeht.

# Próby szczepienia trądu na kozach.

Podał

Dr. Med. RYSZARD BIEHLER

b. naczelnny lekarz trędowiska w Rydze.

W ciągu ostatnich 25 lat nastąpiły doniosłe przewroty w nauce o trądzie. Ścisłe badania doświadczalne, dotyczące głównie hodowli prątka trądowego oraz przenoszenia tej choroby na zwierzęta, ostatecznie dostarczyły dowodów zaraźliwości trądu.

*Bordone Uffreduzzi* pierwszy wyhodował prątka kwasoodpornego (1881 r.). Inni badacze otrzymali jedynie hodowle prątka kwasoczułego, który przez czas długi nie był uznawany za swoisty dla trądu. Dopiero prace *Kedrowskiego*, *Stanziale*, *Sugai*, *Rjenstjerna* oraz moje wskazały na wielokształtność prątka trądu; wykazały, że istnieją szczepy kwasoodporne i kwasoczułe i udowodniły, że szczep kwasoczuły przekształcić się może w ustroju zwierzęcym w szczep odporny. *Much* (wspólnie z *Deykiem*, *Höslim* i *Leschkem*) usiłował dowieść, że prątki gruźlicy i trądu są ze sobą bardzo blisko spowinowaczone, że istnieje między nimi ścisła łączność biologiczna i że ciała uodporniające, które się wytwarzają w ustroju przy szczepieniu jednego z tych zarazków, oddziałują na przeciwności całej grupy. *Much* uodpornił kozy prątkami gruźliczemi, rozpuszczonemi w jednym z kwasów organicznych. Otrzymana zawiesina zawiera wszystkie części składowe prątka, sam zaś prątek jest martwy. Po pewnym czasie zaszczepił on podskórnym trzem kozom prątki trądu, otrzymane z guzów trądowych (pod działaniem antyforminy). Czwarta koza kontrolna otrzymała taką samą ilość szczepionki trądowej podskórnym. U trzech uodpornionych kóz, po 2 — 4 tygodniach, wytworzyły się w miejscu szczepienia nacieki i guzy, które uległy zropieniu. W ropie *Much* stwierdził obecność prątków trądu, w samym zaś guzie wykazał tkankę ziarnistawą z komórkami olbrzymiemi i prątkami gruźliczemi. U kozy nieuodpornianej nie było żadnych zmian. Odczyn *Bordet-Gengou* ze swoistym przeciwciałem u kozy kontrolnej wypadł ujemnie, u uodpornionych zaś kóz dodatnio. Tę samą drogę obrałem w moich próbach szczepienia trądu kozom. Użyłem 3 kozy. Najpierw zbadałem serologicznie surowicę tych kóz na 4 poszczególne przeciwciała, zawarte w zawieszynie gruźliczej, którą otrzymałem od *Much'a*, na tuberkulinę oraz na swoisty antygen, otrzymany przy działaniu antyforminy na świeże guzy

trądowe. Wszystkie 3 kozy oddziaływały na każdy z czterech pierwiastków ciała gruźliczych  $\pm$ ; na tuberkulinę  $+$ , na swoisty zaś, z guzów trądowych dobytą antygen  $++$  do  $++++$ . Wynik ten jest wręcz odwrotny do otrzymanego przez *Much'a*. Jedną kozę użyłem do kontroli, dwie zaś uodporniałem. Zastrzykiwałem podskórnie trzykrotnie, w odstępach tygodniowych: najpierw 5 ccm., a następnie po 10 ccm. zawiesiny gruźliczej. Badanie serologiczne, wykonane po trzech tygodniach, wykazało dla wszystkich 6 antygenów — — — lub  $++++$ .

Jako szczepionkę trądową stosowałem: a) miazgę, pozostałą po świeżych guzach, rozpuszczonych zapomocą antyforminy, b) zawiesinę z tej miazgi, c) świeży, wycięty guz, pokrajany na cząsteczki i d) świeży, ciepły guz w całości. Zawiesinę zastrzykiwałem pod skórę, a guzy i miazgę umieszczałem w głębokich kieszonkach podskórnych, które następnie zaszywałem i zaklejałem plastrem lepkiem. Każda koza była zaszczepiona w 4 miejscach. U obu uodpornionych kóz wytworzyły się, już po 12 dniach, stwardnienia wielkości orzecha łaskowego na 4 cm. poniżej miejsca szczepienia miazgi i całkowitego guza. Stwardnienia po 3 tygodniach dosięgły wielkości jaja kurzego, tworząc, wyraźnie odgraniczone, twarde, sprężyste guzy. U jednej kozy jeden z tych guzów pękł przy naciśnięciu, przyczem wydzieliła się gęsta, żółtobiała, serowata masa. Pozostałe guzy przeciąłem. Zawartość ich była taka sama. Część ropy zbadałem natychmiast, część zostawiłem w 15% formalinie i wysokoku; ze ścianki guza wyciąłem tkankę do zbadania. W świeżej ropie, a także w ropie zachowanej w wysokoku, wykryłem nieco komórek i swoiste kwasoodporne prątki, ułożone oddzielnie i w grupach. Wielkością, kształtem i ugrupowaniem odpowiadały one najzupełniej swoistym prątkom trądu. Innych drobnoustrojów nie było. Koza nieuodporniona pozostała zdrowa, a materiał trądowy uległ zupełnemu wessaniu we wszystkich czterech miejscach szczepienia. Po 4 miesiącach, a zatem w 2 miesiące po pierwszym zaszczepieniu, powtórnie szczepiłem 2 uodpornione i jedną nieuodpornioną kozę. Użyłem wyłącznie świeżych ciepłych guzów w ten sam sposób, co w doświadczeniu pierwszym. Po 14 dniach powstały u odpornionych kóz stwardnienia, wielkości ziarnka grochu, 3 cm. poniżej miejsca szczepienia. Stwardnienia po 2 tygodniach powiększyły się do wielkości owocu śliwki. Guzy zawierały taką samą zserowaciałą ropę. W ropie świeżej i w badanej po kilku dniach, a ubogiej w komórki włókniste, znalazłem wyłącznie ogromną ilość swoistych kwasoodpornych prątków, barwiących się metodą *Ziehl'a* i charakterystycznie ugrupowanych (pr. fig. I). U kozy nieuodpornionej zaszczepiony materiał trądowy uległ wessaniu bez śladu.

Widzimy zatem, że kozy, uodpornione na gruźlicę, oddziaływały na szczepienie materiałem trądowym zupełnie tak, jak zdrowe zwierzęta reagują na zastrzykiwanie prątków gruźliczych. Swoisty odczyn trądowy *B.-G*, wykonany tego samego dnia, wykazał  $++$  i  $++++$ , t. j. pozostał takim samym, jak przed szczepieniem u uodpornionych i u nieuodpornionych kóz.

Histologiczne badania wyciętej tkanki z guzów i nacieków wykazały: młodą tkankę łączną i obecność licznych limfocytów.



Dwie świnki morskie, którym zaszczepiłem do otrzewnej ropę z guzów, pozostały zdrowe. Sekcja, wykonana po 4 miesiącach, nie wykazała żadnych schorzeń. W śledzionie, wątrobie i nerkach ujawniono niezna-  
czne zmiany, nie posiadające cech swoistych, ani dla gruźlicy, ani dla trądu.



Fig. 1.

Sądzę, że wyniki, jakie otrzymałem z moich szczepień, upo-  
ważniają do wniosku, że przez użycie materiału trądowego powiodło mi się  
spowodować u zwierząt swoiste zmiany chorobowe. Jakkolwiek moje bada-  
nia nad odchyleniem dopełniacza surowicy szczepionych zwierząt, w przeci-  
wieństwie do wyników *Much'a*, nie pozwalają na twierdzenie, że zarazek przy-  
jął się nie tylko anatomicznie, lecz i biologicznie, sądzę jednak, że dowiodł,  
że zaraza rozwinęła się do pewnego stopnia. Przechwytanie do ustroju  
materiału trądowego, udało mi się bowiem spowodować zmiany anatomiczne  
(guzy) u zwierząt uodpornionych przeciw prątkom gruźliczym. Guzy te zawie-  
rały wielką ilość swoistych prątków trądu. A zatem, prątek trądu, który w zdro-  
wym ustroju kozy, użytej do kontroli, nie wywoływał żadnych zmian choro-  
bowych, spowodował je u zwierząt, które w pewnym kierunku były uodpor-  
niane.

Wszystkie kozy, użyte do doświadczeń, pozostały przy życiu i były  
obserwowane w ciągu 2 lat. Długotrwały okres utajenia (od 5 do 15 lat)  
wymaga długoletnich badań i wyczekiwań na możliwą reakcję. Niestety,  
wypadki wojenne i przewroty społeczne przerwały i uniemożliwiły dalsze  
badania.

## Lepra Impfversuche bei Ziegen.

Dr. Med. R. BIEHLER.

Fr. Leitender Arzt an Rigaschen Leprasorium.

Es wurden mit frisch entnommenem Lepramaterial drei Ziegen geimpft, die vorher nach *Much* mit vier Partialantigenen aus Tuberkelbazillen vorgeimpft wurden. Es entstanden 4 cm. unterhalb der Impfstelle nach 12 — 15 Tagen pralle Geschwülste, deren Inhalt aus gelber käsiger Masse bestand. In dem Eiter liessen sich mikroskopisch spärliche Zellen und nach Ziehl gefärbte charakteristische säuerfeste Stäbchen finden. Bei der nicht vorgeimpften Ziege wurde das Leprom glatt resorbiert. Die Komplementbindung mit Lepraantigenen war sowohl bei den geimpften wie bei Kontrollieren, vor wie nach der Impfung, positiv. Die Versuche erlauben nicht zu behaupten, dass die Infektion mit Lepramaterial nicht nur anatomisch, sondern auch biologisch gehaftet hat, wie dies *Much* annimmt. Immerhin beweisen die Befunde massenhafter charakteristischer Leprabacillen, dass eine Infektion stattfand.

---

Z Państwowego Zakładu Badania Surowic.  
(Dyr. Dr. L. Hirszfeld).

## Wpływ pochodnych arsenobenzolu na krzepliwość krwi.

Podala

Dr. EMILJA HELMANOWA

W toku badań nad neosalwarsanem, jakie wykonywaliśmy w Państw. Zakładzie Badania Surowic <sup>1)</sup>, podczas zastrzykiwań 10%-ego roztworu neosalwarsanu dożylnie królikom i myszom, zwróciliśmy uwagę na silne krwawienia, które trudno było zatamować. Nasuwało się przypuszczenie, że neosalwarsan działa hamująco na krzepliwość krwi. Celem wyswietlenia tego zjawiska, zostało wykonane następujące doświadczenie.

Królikowi zastrzyknięto 2 cm<sup>3</sup> na kilo żywej wagi 10%-ego roztworu neosalwarsanu w wodzie destylowanej i sterylizowanej do żyły usznej, wzięwszy z carotis przed zastrzyknięciem 5 cm<sup>3</sup> krwi. Natychmiast po zastrzyknięciu pobraliśmy z tejże tętnicy próbkę krwi; po 6 minutach była wzięta druga próba, po 14 minutach — trzecia, a po 32 minutach czwarta, przyczem każdorazowo braliśmy krew do dwóch probówek, jednej zwykłej i drugiej, której ścianki pokryte były wewnątrz parafiną. Notowaliśmy czas, który był potrzebny, by się wytworzył skrzep. Rezultaty otrzymane podajemy poniżej.

	Probówka zwykła	Probówka parafinowana
Krew wzięta przed zastrzyknięciem . . . . .	skrzepla po 6 minutach	skrzepla po 1 godzinie
Krew wzięta natychmiast po zastrzyknięciu . . . . .	skrzepla dopiero po 72 godzinach	skrzepla dopiero po 72 godzinach
Krew wzięta w 6 minut po zastrzyknięciu . . . . .	skrzepla dopiero po 72 godzinach	skrzepla dopiero po 72 godzinach
Krew wzięta w 14 minut po zastrzyknięciu . . . . .	nie skrzepla po 72 godzinach	nie skrzepla po 72 godzinach
Krew wzięta w 32 minuty po zastrzyknięciu . . . . .	skrzepla dopiero w przeciągu 24 godzin	nie skrzepla po 72 godzinach

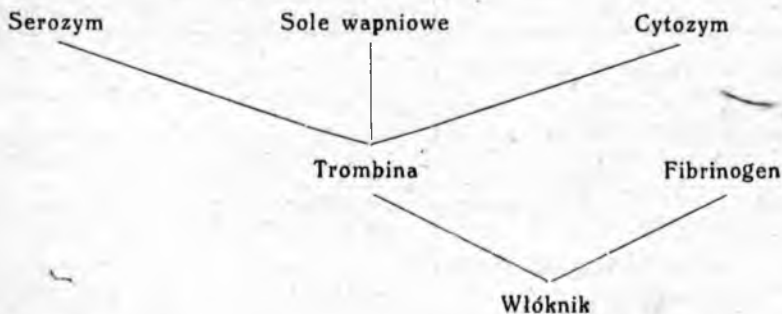
1) Salwarsan, oddawany do użytku publicznego, powinien być, według prawodawstwa polskiego, uprzednio badany pod względem ilości arsenu, w nim zawartego, pod względem biologicznym i klinicznym. Badania biologiczne wykonywane są w P. Z. B. S.

Podane powyżej wyniki doświadczenia wykazują, że neosalwarsan, wprowadzony do ustroju, posiada w wybitnym stopniu własności hamujące krzepnięcie krwi. Krew, wzięta z królika przed zastrzyknięciem, krzepła w zwykłej próbówce po 6 minutach, zaś, wzięta natychmiast po zastrzyknięciu zwykłej dawki neosalwarsanu, krzepła dopiero po 3 dniach, przyczem zaznaczyć należy, że zahamowanie to wystąpiło natychmiast po zastrzyknięciu i trwało, przez cały czas doświadczenia.

Gdy do niekrzepnącej krwi, wziętej z królika, któremu zastrzyknęliśmy zwykłą dawkę neosalwarsanu, dodamy jego krwi normalnej, krew ta również nie krzepnie. Jakiemu mechanizmowi przypisać należy tę właściwość hamującą neosalwarsanu? Czy neosalwarsan działa hamująco na krzepliwość krwi tylko *in vivo*, jak to się dzieje np. z peptonem, czy działa również *in vitro*? Jest znanym faktem, że po zastrzyknięciu peptonu do żyły psa, wątroba jego reaguje, wydzielając *antytrambinę*, która może utrzymać krew w stanie płynnym; *in vitro* zaś pepton nie ma własności, hamujących krzepnięcie krwi, przeciwnie, może powodować krzepnięcie dzięki *cytozomowi*, który zawiera. Należało więc zbadać, czy neosalwarsan działa hamująco na krzepnięcie krwi tylko w ustroju zwierzęcym, czy też i poza ustrojem. Według teorii *Bordeta* i *Delange'a*, która jest udoskonaleniem poglądu na mechanizm i istotę krzepnięcia krwi *Schmidta* i jego szkoły, *Fulda*, *Spira* i *Morawitza*, cztery ciała są niezbędne, by krew skrzepła: *cytozym* ciało ciepłostale z rodziny lipoidów, znajdujące się w komórkach, a specjalnie w płytkach krwi; *serozym*, ciało ciepłochwiejne, znajdujące się zwykle w osoczu w stanie nieczynnym, jako *proserozym*; *sole wapniowe* i *fibrinogen*.

Gdy *serozym*, *cytozym* i *sole wapniowe* wchodzi w pewien wzajemny układ, wytwarza się *trombina*, która powoduje zamianę *fibrinogenu* na *fibrinę*.

Schematycznie można to przedstawić w następujący sposób.



Celem zbadania istoty hamowania krzepnięcia krwi przez neosalwarsan, przystąpiliśmy do analizy wpływu tego preparatu na poszczególne stadja krzepnięcia. Badaliśmy wpływ neosalwarsanu, poddając jego działaniu *serozym*, następnie *cytozym* i wytworzoną *trombinę*. W badaniach tych zachowywaliśmy *izotonję*, sprawdziliśmy uprzednio, że 5%-owy roztwór neosalwarsanu jest *izotoniczny* z *krwią*. Dla

roztworów słabszych rozcieńczaliśmy neosalwarsan roztworem fizjologicznym. Neosalwarsan był używany w granicach od 5% do 0,001%. Niezbędne w pracy płyny otrzymywaliśmy, stosując się do przepisów *Bordeta*, zmodyfikowanych przez *Hirszfelda* i *Klinglera*<sup>1)</sup>; zamiast czystego f i b r i n o g e n u, używaliśmy osocza szczawianowego.

Technika doświadczeń była następująca: wstawialiśmy próbówki o jednakowej średnicy i wielkości rzędem; do każdej z probówek wprowadzaliśmy po 0,1 cm<sup>3</sup> c y t o z y m u (ew. serozymu lub trombiny), w rozcieńczeniu 1 : 60, następnie po 0,1 cm<sup>3</sup> neosalwarsanu w stężeniu 5%, 2,5%, 1,75%, 1,25%, 1%, 0,75%, 0,5%, 0,25%, 0,2%, 0,175%, 0,15%, 0,125%, 0,1%, 0,175%, 0,05%, 0,25%; pozostawialiśmy c y t o z y m (ew. serozym lub trombinę) pod działaniem salwarsanu w przeciągu 15 minut. Po upływie tego czasu dodawaliśmy 1,0 cm<sup>3</sup> roztworu wapnia w NaCl i 0,5 cm<sup>3</sup> rozcieńczonego s e r o z y m u. Mieliśmy w probówce wszystkie czynniki, niezbędne dla wytworzenia się t r o m b i n y, która zwykle tworzy się w przeciągu 15 minut. Po 15 minutach dodawaliśmy f i b r i n o g e n u w postaci osocza szczawianowego, obserwowaliśmy, pochylając ostrożnie probówkę, moment, gdy tworzy się skrzep i notowaliśmy ilość minut, jaka upłynęła od chwili dodania szczawianu wapnia do chwili powstania skrzepu. Dla kontroli mieliśmy jedną probówkę, w której był c y t o z y m, s e r o z y m, s o l e w a p n i o w e i w ł ó k n i k w tej samej ilości, co w innych probówkach, ale

1) Osocze szczawianowe otrzymywaliśmy w następujący sposób.

Braliśmy z *v. jugularis* koźła krew idącą silnym strumieniem, do kolbki szklanej, w której znajdował się 1% roztwór szczawianu sodowego, obliczając tak, by krew zebrana zawierała 1%<sub>00</sub> szczawianu. Należy uważać, by z powodu różnicy między temperaturą krwi a ścianek kolbki, na ściankach nie osadzała się woda kondensacyjna, która wywołać może częściową hemolizę. Celem uniknięcia tego, poleca się kolbkę przed zbieraniem krwi nagrzać do temperatury ciała, a podczas brania krwi omywać ścianki kolbki nagrzanym szczawianem. Krew wirujemy zazwyczaj w przeciągu 15—20 minut, przytem probówki wirówkowe uprzednio się ogrzewa. Po 20 minutach zbieramy osocze i wirujemy je powtórnie w przeciągu 30—50 minut. Zebrane w ten sposób osocze powinno być słabo zabarwione na żółto bez odcienia czerwonego, wywołanego hemoglobina. By osocze otrzymane mogło nam służyć jako fibrinogen, rozcieńczamy je mieszaniną szczawianu sodu i roztworu fizjologicznego: na 1 część osocza bierzemy jedną część 1% szczawianu sodu i 3 części roztworu fizjologicznego.

Serozym, potrzebny do reakcji, przygotowujemy z osocza, dodając do 10 cm<sup>3</sup> osocza szczawianowego 1,2 cm<sup>3</sup> 1%-go roztworu chlorku wapnia. Skłócamy i wstawiamy do cieplarki, dopóki osocze nie skrzepnie. Skrzep tworzy się zazwyczaj po 5—10 minutach. Wyciskamy skrzep długą pincetą i otrzymujemy przezroczyłą surowicę. Surowicę tę pozostawiamy jakiś czas, przynajmniej pół godziny, w temperaturze 37°, gdyż zawiera jeszcze trombinę i następnie, na godzinę przed użyciem rozcieńczamy ją pięciokrotnie roztworem fizjologicznym.

Jako soli wapniowych używaliśmy chlorku wapnia w roztworze fizjologicznym; na 100 cm<sup>3</sup> roztworu fizjologicznego braliśmy 5 cm<sup>3</sup> 1%-go roztworu CaCl<sub>2</sub>. Jako cytozym służył nam, według metody podanej przez *Hirszfelda* i *Klingera*, wyciąg alkoholowy z serca świnki morskiej: antygen, używany do odczynu *Wassermana* (Wyrobu *Mercka*). Używaliśmy cytozimu rozcieńczonego sześćdziesięciokrotnie roztworem fizjologicznym, ten bowiem dawał rezultaty najbardziej widoczne.

bez neosalwarsanu — próbówka ta była dla nas wskaźnikiem, jak szybko krzepnie osocze pod wpływem normalnie wytworzonej t r o m b i n y.

Rezultaty przedstawia tablica I.

Obserwacja ciągła próbek trwała 30 minut, poczem pozostawiono je do dalszych badań do dnia następnego.

Z tablicy I. widzimy, że po dodaniu neosalwarsanu do cytozemu działanie hamujące neosalwarsanu na krzepnięcie krwi jest bardzo silne; w stężeniu tak słabem, jak 0,025%, krzepnięcie krwi zostaje zahamowane w tym stopniu, że nawet po 18 godzinach nie można zauważyć skrzepu, gdy tymczasem kontrola daje nam zjawisko krzepnięcia już po jednej minucie.

Z kolei badaliśmy wpływ neosalwarsanu na drugi czynnik, niezbędny przy krzepnięciu krwi, na serozym, otrzymany drogą, którą już wskazaliśmy, z osocza szczawianowego. Postępowaliśmy w ten sam sposób, jak z cytozmem. Do możliwie jednakowych próbek, ustawionych rzędem, nalewaliśmy po 0,5 cm<sup>3</sup> serozymu, dodawaliśmy po 0,1 cm<sup>3</sup> salwarsanu rozmaitego stężenia i pozostawialiśmy serozym pod wpływem neosalwarsanu w przeciągu 15 minut; dodawaliśmy następnie po 0,1 cm<sup>3</sup> cytozemu w stężeniu 1:60 i 1 cm<sup>3</sup> roztworu chlorku wapnia. Przeczekawszy 15 minut, czas niezbędny dla wytworzenia się trombiny, dolewaliśmy do każdej próbówki po 1 cm<sup>3</sup> osocza szczawianowego i, przez lekkie pochylenie próbówki, obserwowaliśmy moment tworzenia się skrzepu. Obserwacja ciągła trwała 30 min.; dla dalszych obserwacji pozostawialiśmy próbówki do dnia następnego.

Z przytoczonych liczb widzimy, że gdy poddajemy serozym działaniu neosalwarsanu, proces krzepnięcia krwi podlega silnemu zahamowaniu; neosalwarsan, w stężeniu 0,5%, działa w tym stopniu, że krew nie krzepnie nawet po 18 godzinach. Porównyując tablicę II z tablicą I można by wnioskować, że działanie neosalwarsanu na cytozym jest silniejsze, niż na serozym; jeżeli zaś uwzględnimy różnicę stężeń (w badaniach nad serozymem braliśmy 0,1 cm<sup>3</sup> salwarsanu na 0,5 cm<sup>3</sup> serozymu), różnic żadnych w działaniu hamującym skonstatować nie będziemy mogli.

Badaliśmy dalej wpływ neosalwarsanu na wytworzoną trombinę. Postępowaliśmy w sposób następujący. W szeregu próbek wytwarzaliśmy trombinę; do każdej z próbek wprowadzaliśmy po 0,1 cm<sup>3</sup> cytozemu w zwykłym stężeniu, stosowanem w tej pracy, po 0,5 cm<sup>3</sup> serozymu i po 1 cm<sup>3</sup> roztworu chlorku wapnia. Czekaliśmy następnie 15 minut, okres czasu, w ciągu którego wytwarza się trombina, dodawaliśmy po 0,1 cm<sup>3</sup> neosalwarsanu w rozmaitych stężeniach i notowaliśmy czas niezbędny dla wytworzenia się skrzepu. Rezultaty otrzymane podajemy w tabl. III. Z tablicy tej widzimy że, wytworzona trombina nie ztraca pod wpływem neosalwarsanu zdolności zamieniania fibrinogenu na fibrinę i że jedynie zdolność ta staje się w nieznacznym stopniu zahamowaną. Zestawienie liczb, przez nas otrzymanych, wskazuje, że cytozym, zarówno jak serozym, poddany działaniu neosalwarsanu, traci zdolność zamieniania fibrinogenu na fibrinę, tymczasem gdy wytworzona trombina, poddana działaniu neosalwarsanu, w tych samych warunkach, tej zdolności nie ztraca. Stąd możemy przypuszczać, że neosalwarsan, w mechanizmie krzepnięcia krwi, działa w ten sposób, że albo n i s z c z y c y t o z y m

TABLICA I.

Działanie salwarsanu na cytozym w ciągu 15 minut.

Neo-salwarsan	5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	2,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1,75 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1,25 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,75 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,25 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,175 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,15 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,125 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,075 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,05 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,025 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	Kontrola
Cytozym 1:60	nie ścięło się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	ścięło się po 18 g.	ścięło się w przec. 18 g.	1 m.

TABLICA II.

Działanie salwarsanu na serozym.

Neo-salwarsan	5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	2,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1,75 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1,25 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,75 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,25 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,175 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,15 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,125	0,1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,075	0,05 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,025 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	Kon-
Cytozym 1:60	nie ścięło się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	ścięło się w przec. 18 g.	ścięło się po 8'	7'	5'	2'	2'	2'	2'	2'	1'

TABLICA III.

Wpływ salwarsanu na wytworzoną trombinę.

Neo-salwarsan	1,25 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,75 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,25 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,175 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,15 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,125 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,075 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,05 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,025 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	Kontrola
Skrzep wytworzył się	22'	16'	13'	6'	3'	3'	3'	2'	1'	1'	1'	1'	1'	1'

lub serozym, albo sprzeciwia się ich połączeniu; tą jego właściwością można też objaśnić zjawisko niekrzepliwości krwi pod wpływem salwarsanu.

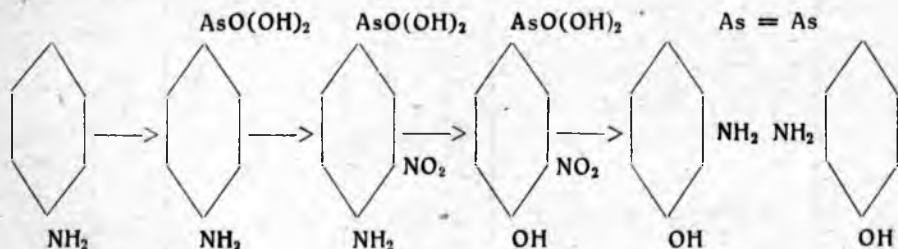
Wspomnieć należy o wyczerpujących pracach *Gratia* <sup>2)</sup>, dotyczących antytrombiny. W pracach tych autor objaśnia mechanizm działania niektórych antytrombin, ciał hamujących krzepnięcie krwi, nie tyle zdolnością tych ciał do zobojętniania tworzącej się trombiny, ile zdolnością do uniemożliwiania tworzenia się jej. *Gratia* dowodzi, że działanie antytrombiny jest tem silniejsze, im oddziałuje ona na wcześniejsze stadja koagulacji krwi. *Gratia* podaje, że hirudyna, aby zobojętniła pewną ilość trombiny, musi być użyta w stężeniu 1 : 500. Chcąc podziałać hamująco na wcześniejsze stadja mechanizmu krzepnięcia, na proces łączenia się cytozumu i serozumu, wystarczy roztwór hirudyny 1 : 10.000. Zahamowanie procesu zamiany proserozumu na serozym osiągnąć można roztworem hirudyny 1 : 20.000.

Z doświadczeń naszych widzimy, że neosalwarsan działa hamująco na krzepnięcie krwi, nie tylko in vivo, jak się to dzieje pod wpływem peptonu, ale też po za ustrojem zwierzęcym.

Stwierdziwszy wybitny wpływ neosalwarsanu na krzepnięcie krwi, staraliśmy się wyjaśnić, czy neosalwarsan zawdzięcza zdolność hamującą swym składnikom chemicznym, czy też ich ugrupowaniu. Rozporządzając, dzięki uprzejmości krajowych fabryk, wszystkimi produktami przejściowymi w fabrykacji neosalwarsanu, zbadaliśmy wpływ tych produktów na cytozom; staraliśmy się przytem o zachowanie warunków izotonicznych, używając do rozcieńczenia substancyj roztworu fizjologicznego.

Technika pracy była taka sama, jaką opisywaliśmy kilkakrotnie. Poddawaliśmy cytozom działaniu tych ciał w przeciągu 15 minut, a po dodaniu serozumu, soli wapniowych i fibrinogenu, obserwowaliśmy moment tworzenia się skrzepu.

Sposób wytwarzania neosalwarsanu jest następujący.



Wszystkie te produkty zostały przez nas zbadane w stosunku do wpływu ich na krzepnięcie krwi; zbadaliśmy też wpływ orthonitrofenolu, atoksylu, soli sodowej, kwasu oksyfenylarsynowego i rongalitu.

Rezultaty otrzymane zestawiamy na tabl. IV-ej

W badaniach nad wpływem kwasu nitroarsanilowego, kwasu nitrooksyfenyloarsynowego i salwarsanu, próbówki były pod ciągłą obserwacją



TABLICA IV.

Działanie na cytozym:	5 <sup>o</sup> / <sub>o</sub>	2 <sup>o</sup> / <sub>o</sub>	1 <sup>o</sup> / <sub>o</sub>	0,5 <sup>o</sup> / <sub>o</sub>	0,1 <sup>o</sup> / <sub>o</sub>	0,05 <sup>o</sup> / <sub>o</sub>	0,01 <sup>o</sup> / <sub>o</sub>	0,005 <sup>o</sup> / <sub>o</sub>	0,001 <sup>o</sup> / <sub>o</sub>	Kontrola
aniliny		10'	10'	10'	4'	4'	4'	4'	4'	4'
orthonitrofenolu		5'	5'	5'	5'	5'	5'	4'	4'	3'
kw. arsaniłowego		10'	6'	4'	4'	4'	4'	4'	4'	3'
atoksylu		10'	6'	4'	4'	4'	4'	4'	4'	3'
solii sodowej kwasu oksyfenylarsynow.		15'	15'	10'	4'	4'	4'	4'	4'	4'
rongalitu		5'	5'	5'	5'	5'	5'	5'	4'	4'
kwasu nitroarsaniłowego	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 30'; skrzepło w przec. 20 g.	nie skrzepło po 30'; skrzepło w przec. 20 g.							3'
kwasu nitrooksyfenylarsynowego	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 30'; skrzepło w przec. 20 g.	nie skrzepło po 30'; skrzepło w przec. 20 g.							3'
Neosalwarсанu	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 20 g.	skrzepło w przeciągu 20 g.	skrzepło w przeciągu 20 g.	15'	2'	2'

w przeciągu 30'; celem dalszych obserwacji, pozostawione były do dnia następnego. Z liczb podanych widzimy, że anilina, nitrofenol, atoksyl, sól sodowa kwasu oksyfenylarsynowego i rongalit nie mają żadnego wpływu na krzepnięcie krwi; skrzep w próbkach, w których cytozym był pod działaniem wymienionych ciał, tworzył się prawie jednocześnie z skrzepem w próbce „kontrolnej”. Dla kwasów nitroarsanilowego i nitrooksyfenyloarsenowego stwierdziliśmy silne zahamowanie. Kwas arsenilowy żadnego wpływu, jak to widzimy z tablicy powyższej, niema, kwas nitroarsanilowy zaś, który różni się od poprzedniego tylko grupą *nitro*, wybitnie hamuje krzepnięcie krwi; z zjawiska tego możemy wnioskować, że czynnikiem hamującym krzepnięcie krwi, jest wprowadzona grupa *nitro*. Do tej samej hipotezy upoważnia nas różnica w zachowaniu się kwasu nitrooksyfenyloarsynowego i soli sodowej kwasu oksyfenyloarsynowego; te dwa ciała różnią się tylko obecnością grupy *nitro*.

W czasach obecnych prowadzone są wielostronne badania nad neosalwarsanem. K r y c z e w s k i opisał własności aglutynacyjne i precypitacyjne neosalwarsanu; sądzi on, że neosalwarsan ma zdolność zmieniania fizykalnych właściwości roztworów koloidalnych; być może, że w tych właściwościach neosalwarsanu należy doszukiwać się wpływu jego na koagulację krwi.

Gdy praca ta była już ukończona, we wrześniu 1921 r., zapoznaliśmy się z pracą Ch. F l a u d i n'a i A. T r a n c k'a. Autorzy stwierdzają istnienie wpływu hamującego związków arsenobenzolowych na krzepnięcie krwi, nie przeprowadzając dokładniejszej analizy fizjologicznej i chemicznej.

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

1. Hirs z f e l d i K l i n g e r. Deutsche Medic. Wochen. 1914 № 34. Semaine Medicale 1914, № 34.
2. Dr. A n d r é G r a t i á. Annales de l'Institut Pasteur, Aout 1921 Recherches sur le mécanisme des actions anticoagulantes.
3. K r y c z e w s k i. Biochemische Zeitschrift 126, r. 1921.
4. Ch. F l a n d i n et A. F r a n c k. Comptes rendus des Seances de la Société de Biologie, 22 Janvier 1921.

Institut des Recherches Sérologiques  
(Directeur Dr. L. Hirszfeld).

## Sur l'influence anticoagulante du Arsenobenzol.

P a r

Dr. EMILIE HELMAN.

### RÉSUMÉ.

Nous avons constaté l'action anticoagulante très prononcée du néosalvarsan. L'expérience faite *in vivo* sur le lapin, auquel on a injecté une solution de 10% de néosalvarsan en raison de 2 ccm. par kilo de son poids, démontre que son sang ne coagule pas même après 3 jours. En se servant des méthodes de travail de Bordet et Delange, modifiés par *Hirszfeld* et *Klinger*, nous avons étudié l'influence du néosalvarsan sur les trois substances fondamentales de la coagulation du sang, à savoir: sur le cytozyme, sur le sérozyme, et sur la thrombine. Le néosalvarsan mis en contact pendant 15 minutes avec le cytozyme de même qu'avec le sérozyme ralentit d'une manière notable la coagulation du sang: ainsi 0,1 ccm. de néosalvarsan à 0,075% mis en contact pendant 15 minutes avec 0,1 ccm. du cytozyme ne donne pas de coagulation même après 18 heures. La même quantité de néosalvarsan mise en contact avec la thrombine ralentit la coagulation d'une manière peu appréciable, ce qui nous autorise à supposer que le néosalvarsan détruit le cytozyme et le sérozyme ou bien qu'il paralyse la production de la thrombine. Nous avons étudié aussi les rôles des éléments constitutants du néosalvarsan. L'aniline, le nitrophenol, l'oxyphenyloarsenate de soude, et le rongalite n'exercent aucune influence sur la coagulation du sang. Les acides nitroarsenilique et nitroxyphenyloarsenique empêchent également la coagulation. L'acide arsénilique n'exerce aucune influence, l'acide nitroarsenilique au contraire empêche la coagulation, ce qui permet de supposer que le groupe nitro est la cause de ce phénomène. La différence de la manière d'agir de l'acide nitroxyphenyloarsenique et du oxyphenyloarsenate de soude donne aussi lieu à cette hypothèse. Le néosalvarsan ayant une influence plus destructive que les produits intermédiaires de la fabrication il faut admettre l'existence d'autres causes encore inconnues.

# NOTATKA LABORATORYJNA

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Łodzi.  
(Kierownik prof. D-r F. Venulet).

## O odczynach *Widala* i *Weila-Felixa* w durze powrotnym.

Podana

L. KOPCIOWSKA.

St. asystentka.

Dodatni odczyn *Widala*, zwłaszcza po szczepieniach ochronnych w różnych zakażeniach, ogranicza, jak wiadomo, jego znaczenie rozpoznawcze. Najbardziej powikłaną przedstawia się sprawa odczynu *Widala* w durze plamistym. Jak wykazały badania, przeprowadzone w naszym Zakładzie, dodatni odczyn *Widala* w durze plamistym bywa albo swoisty (po przebytych durze brzusznych lub po szczepieniu ochronnym), albo nieswoisty, powodowany zdolnością wieloaglutynacyjną surowic osób, chorych na dur plamisty (*Weyland* i *Venulet*). Co się tyczy odczynu *Weila-Felixa*, to, nie będąc swoistym w ścisłym znaczeniu tego słowa, jest on dla duru plamistego wysoce charakterystyczny, zwłaszcza gdy osiąga miana 1 : 200. Bezwzględnej pewności co do istoty choroby odczyn *Weila-Felixa* jednak nie daje; w kilku przypadkach klinicznie niezawodnej grypy zauważyliśmy silną reakcję *Weila-Felixa* u chorych, którzy duru plamistego nie przechodzili. Na pewne powinowactwo surowic w tych chorobach wskazywałyby również okoliczność, iż podług naszych badań, tak durowi plamistemu, jak i grypie, dość często towarzyszy dodatni, a również nieswoisty, odczyn *Wassermana*. Pozatem obserwowaliśmy dwukrotnie wybitny odczyn *Weila-Felixa* w chorobie *Weila*. Z drugiej strony odczyn *Weila-Felixa*, w porównaniu z odczynem *Widala*, o wiele trudniej poddaje się wpływowi obcych bodźców i tylko u osobników, które dur plamisty przechodziły.

Wobec tego 1), że swoisty odczyn *Widala* łatwo się odnawia pod wpływem różnych infekcyj, występując niekiedy nawet w postaci nieswoistej, 2) że odczyn *Weila-Felixa* może występować i w innych, po za durrem plamistym, chorobach zakaźnych—zachowanie się powyższych odczynów w durze powrotnym zasługuje na uwagę nie tylko ze względów teoretycznych, lecz i praktycznych.

Korzystamy z materiału, otrzymanego w czasie od października 1920 r. do marca b. r., kiedy, jednocześnie z preparatami krwi na krętki

duru powrotnego, nadsyłało surowicę tych samych chorych dla dokonania odczynów *Widala* i *Weila-Felixa*. Ogólna ilość tego rodzaju potrójnych badań wynosiła 270. Z nich w 85 przypadkach krętków nie wykryto, a wyniki serologiczne były ujemne. W 66 przypadkach również nie znaleziono krętków, natomiast odczyn *Widala* był dodatni 34 razy, *Weila-Felixa* 32 razy. Obecność krętków *Obermeyera* we krwi stwierdzono w 119 przypadkach; z wyjątkiem 5 przypadków, do których wrócimy jeszcze, durowi powrotnemu ani razu nie towarzyszył dodatni odczyn *Widala* lub *Weila-Felixa*, najwyżej notowaliśmy ślady aglutynacji, w rozcieńczeniach 1 : 50 i 1 : 100. Ponieważ materiał powyższy dotyczy żołnierzy, szczepionych przeciwko durowi brzuszemu, należy przypuścić, że zakażenie krętkami *Obermeyera* nie jest bodźcem dostatecznym dla wywołania aglutynin tyfusowych. Zatem więc surowica chorych na dur powrotny zachowuje się obojętnie względem laseczek tyfusu i odmienia  $X_{19}$ . Wobec tego zaś, że próba *Widala* wypadła dodatnio (1 : 200) tylko w 3 przypadkach duru powrotnego, a próba *Weila-Felixa* w 2 (1 : 400), należy przypuszczać, że występuje tu infekcja mieszana albo iż chorzy ci przedtem przechodzili dur plamisty lub tyfus brzuszny. Na możliwość istnienia mieszanej infekcji duru powrotnego i duru plamistego lub duru brzuszego wskazuje kilka wzmianek w piśmiennictwie (*Martini, Walko, Kirkovic* i inni). Danych klinicznych, dotyczących 5 powyższych chorych, niestety, nie posiadamy. W innym natomiast przypadku duru powrotnego z ujemnym odczynem *Widala* wyhodowaliśmy laseczkę tyfusu ze krwi; według orzeczenia lekarza przebieg choroby był również charakterystyczny dla tyfusu. Przypadek *Kaysera*, dotyczący żołnierza, chorego na dur powrotny, który jednocześnie miał dodatni odczyn *Weila-Felixa*, zdaje się potwierdzać drugą możliwość, gdyż, sądząc z wywiadów, chory przechodził kilka tygodni wcześniej dur plamisty. Tu wspomnieć można, że w szeregu preparatów krwi chorych, podejrzanych o dur powrotny, znalezione zostały pasorzyty zimnicy.

### W N I O S K I.

- 1) Dur powrotny, w przeciwieństwie do innych infekcyj, zwłaszcza do duru plamistego, nie powoduje odnawiania się odczynu *Widala* po dawno przebytych durze i u szczepionych przeciwko durowi.
- 2) Dodatni odczyn *Widala* lub *Weila-Felixa* w durze powrotnym spotyka się, albo w razie mieszanych infekcyj, albo po dopiero co przebytych durze brzuszonym lub plamistym.
- 3) Jednoczesne badanie preparatów krwi i dokonanie powyższych odczynów serologicznych przyspiesza rozpoznanie w przypadkach wątpliwych.

### P I Ś M I E N N I C T W O.

1. Weylandówna i Venulet. Przegl. Epidem. 1920. I. 38.
2. Kayser. Berl. Kl. Woch. 1920. 57. 129.
3. Martini. Centr. f. Bakt. Ref. 1919. 68. 18.
4. Walko. Wien. Kl. Woch. 1915. 28. 197.
5. Kirkovic, Stojan u. Ale tieff. Centr. f. Bakt. Ref. 1919. 68. 503.

## REFERAT ZBIOROWY.

# O uodpornianiu drogą pokarmową

P o d a ł

Dr. STANISŁAW SIERAKOWSKI.

Zastępca dyrektora Państw. Zakładu Epidemjologicznego.  
Kierownik Działu Szczepionek.

Stosowane obecnie uodpornianie przeciw durowi brzuszemu, cholery i czerwonce drogą pokarmową opiera się na nowych spostrzeżeniach nad mechanizmem zakażenia się temi bakterjami. *Besredka* wykazuje, że jeżeli królikowi zastrzyknąć do żyły żywe bakterje czerwonkowe, to zwierzę, po pewnym czasie, pada; na sekcji znajdujemy bakterje czerwonkowe jedynie w obrębie przewodu pokarmowego, gdzie rozmnażają się one obficie, rugując zupełnie normalną florę jelitową. We krwi, w moczu, oraz w innych narządach niema zupełnie bakteryj czerwonkowych. Jeżeli zastrzykniemy królikowi bakterje czerwonkowe podskórnie, otrzymujemy ten sam skutek. Z tych spostrzeżeń autor wyciąga wniosek, że tkanką, wrażliwą na zakażenie bakterjami czerwonkowemi, są jelita.

*Masaki* wykazuje to samo dla cholery. Wibrjony cholery, zastrzyknięte królikowi do żyły, znikają ze krwi już po 10 godzinach, natomiast w jelitach można je znaleźć znacznie dłużej. W zastrzyknięciach podskórnych wibrjony cholery występują również w jelitach.

*Sanarelli* wykazał, że świeżo urodzone szczenięta, które nie ssały jeszcze ani razu mleka matki, są wrażliwe na zakażenie cholera drogą pokarmową. W tym wypadku wibrjony cholery nie mogą przejść wprost do jelit przez żołądek, który reaguje kwaśno, lecz dostają się do nich drogą okólną. Z górnych odcinków drogi pokarmowej wibrjony przechodzą do krwi, stąd do jelit, gdzie mnożą się nadzwyczajnie i powodują śmierć zwierzęcia.

Z tych badań wynikałoby, że bez względu na to, jakie są wrota zakażenia, zarazek koncentruje się przede wszystkim na błonie śluzowej jelita. Tam zarazki mnożą się obficie; jeżeli jednak znajdują się przytem we krwi i w innych narządach, jak w paratyfusie albo tyfusie brzuszonym, to w ilości o wiele mniejszej.

Królików i świnek morskich nie można zakazić *per os* tyfusem, paratyfusem i cholera. *Besredka* starał się wynaleźć sposób, któryby obniżył tę naturalną odporność królików. Okazało się, że podając tym zwierzętom żółć wołową *per os* można sprawić, że zapadają one na paratyfus. Jakie przytem zachodzą procesy, z całą pewnością niewiadomo, musimy się jednak liczyć z następującymi rzeczami: 1) żółć wprowadzoną sprzyja rozwojowi bakteryj

paratyfusowych i tyfusowych, 2) pobudza wydzielanie się żółci zwierzęcia nią karmionego, 3) powoduje wielkie złuszczenie się nabłonka jelitowego i umożliwia łatwiejsze wessanie się zarazka. Króliki, uczulone żółcią, zapadają na paratyfus i cholere, nie tylko przy podawaniu tych zarazków *per os*; wywołujemy również zakażenie, jeżeli zastrzykujemy zarazki do krwi lub pod skórę.

Jeżeli jelita są tkanką najbardziej wrażliwą na zakażenie czerwona, cholere i drem brzuszny, to, żeby uchronić organizm od zakażenia, należałoby przedewszystkiem starać się o uodpornienie jelit. W czerwonce udało się to w zupełności. Podając królikowi *per os* zabite bakterje czerwone, *Besredka* zdołał uodpornić błonę śluzową jelit na tyle, że króliki, traktowane w ten sposób, stawały się niewrażliwe nawet na duże dawki żywych, zjadliwych bakterij czerwonych (podawanych zarówno *per os*, jako też zastrzykiwanych do żyły lub podskórnie).

Wiemy już, że królików i świnek morskich, nieuczulonych żółcią, nie można zakazić bakterjami paratyfusu, tyfusu, cholery, podając im je *per os*. Okazało się, że zwierząt tych nie można również uodpornić zabitemi zarazkami, podawanymi *per os*. Jeżeli natomiast zwierzęta te uczulić najpierw żółcią, to można je następnie uodpornić drogą *per os* zarazkami zabitemi. A zatem, i w tym wypadku mechanizm zakażenia i mechanizm uodporniania idą w parze. Jak wiadomo, po zastrzyknięciu szczepionek podskórnie, po pewnym czasie powstają we krwi przeciwciała, w postaci aglutynin, bakterjolizyn i t. d. Przy uodpornianiu królików przeciw czerwonce drogą *per os* nie otrzymujemy we krwi żadnych przeciwciał. To samo zjawisko obserwujemy przy uodpornianiu drogą *per os* przeciwko tyfusowi, paratyfusowi i cholere. Przeciwciał we krwi niema zupełnie albo są bardzo nieznaczne pomimo, że zwierzęta stają się odporne przeciwko tym zarazkom.

A zatem, zwierzęta doświadczalne można uodpornić przeciwko czerwonce, cholere, paratyfusowi, tyfusowi, podając drogą pokarmową zabite zarazki. Uodporniając przeciwko cholere, paratyfusowi i tyfusowi zwierzęta trzeba przedtem uczulić żółcią.

Nasuwa się pytanie, czy nie możnaby tego sposobu uodpornienia zastosować do ludzi. Mechanizm zakażenia się ludzi czerwona, tyfusem, paratyfusem i cholere jest prawdopodobnie taki sam, jak u zwierząt, a więc i uodpornienie drogą *per os* powinno się udać.

*Besredka* zapytuje przedewszystkiem, czy zachodzi potrzeba zmiany przyjętego obecnie sposobu stosowania podskórnie szczepionek ochronnych. Autor ten odpowiada na to pytanie twierdząco, ponieważ szczepienie podskórne nie daje zupełnej odporności, gdyż pewien, zresztą nieznaczny, procent osób szczepionych podskórnie, nawet 3 i 4 razy, zapada na daną chorobę. *Besredka* twierdzi, że odporność przeciw tyfusowi brzuszemu, nabyta wskutek przebycia tej choroby, jest znacznie większa, niż nabyta drogą szczepienia podskórnego. Korzystając z dużej epidemii duru brzuszego w Argonach, *Besredka* zbierał wywiady od chorych z objawami tyfoidalnemi, czy nie przechodzili kiedyś duru brzuszego. Tego rodzaju chorych, którzy dur przechodzili, okazało się 200 (brano pod uwagę

tylko takie wypadki, w których djagnoza była postawiona na zasadzie dodatniego wyniku posiewu krwi. Okazało się, że wśród tych 200 osób, które zgłosiły się po raz drugi z objawami tyfoidalnymi, nie było ani jednego duru brzuszego, lecz jedynie paratyfusy A lub B oraz inne sprawy gorączkowe. Z tego wynikałoby, że odporność, nabyta po chorobie, jest zupełniejsza, niż po szczepieniu podskórnym. Przy szczepieniu podskórnym mamy do czynienia z uodpornieniem ogólnym, po chorobie, oprócz ogólnego, mamy niewątpliwie uodpornienie lokalne błony śluzowej jelit. Przy uodpornianiu *per os* mamy do czynienia przede wszystkim z uodpornieniem lokalnym.

Opierając się na danych, przytoczonych powyżej, *Besredka* przyrządził szczepionki w pastylkach, zawierające 0,05 gr. bakterij zabitych i wysuszonych. Pastylki te zaleca spożywać na czczo trzy razy, dzień po dniu. Jeżeli chodzi o uodpornienie przeciwko cholercie, tyfusowi i paratyfusowi, *Besredka* poleca zażywać równocześnie pigułki z żółci wołowej wysuszonej. Szczepionki te nie wywołują żadnej reakcji, nie wymagają żadnej specjalnej diety, ani zmiany trybu życia. -

Zalety tych szczepionek, w porównaniu ze szczepionkami, stosowanymi podskórnymi, są następujące: stosowanie ich jest bezbolesne, nie wywołuje żadnej reakcji, nie wymaga pomocy lekarza, ani specjalnych instrumentów i t. p.

W literaturze naukowej, oprócz licznych doświadczeń na zwierzętach, mamy już kilka spostrzeżeń z uodpornianiem ludzi drogą *per os*. *Vaillant*, podczas epidemii tyfusu brzuszego w Calais, uodporniał ludzi przeciwko durowi brzuszemu podskórnymi i *per os*. Wyniki otrzymał następujące:

Na 600 osób, nieszczepionych zupełnie, było	7,7%	zachorowań
„ 173 osoby, szczepione podskórnymi, było	2,3%	„
„ 1236 osób, uodpornianych <i>per os</i>	0,17%	„

A więc, szczepienie drogą *per os* dało znacznie lepsze wyniki, niż zastrzykiwanie podskórne.

*Nicolle i Conseil* wykonali zupełnie ściśle doświadczenia na ludziach z uodpornieniem przeciw czerwoncem drogą *per os*. Dwoje ludzi (ochotników) uodpornili przeciwko czerwoncem, podając im *per os* zabite bakterje czerwonkowe; następnie, po 2 tygodniach, dano im również *per os* dużą ilość żywej zjadliwej hodowli bakterij czerwonkowych. Dla kontroli dano dwum osobnikom (również ochotnikom), którzy nie byli przedtem uodpornieni, taką samą dawkę żywych bakterij. Ludzie, którzy byli uodpornieni *per os*, nie zapadli na czerwonkę i nie mieli żadnych objawów, natomiast osoby, użyte jako kontrolne, zapadły na czerwonkę z typowymi objawami klinicznymi. Z tego wynikałoby, że drogą *per os* można ludzi uodpornić przeciwko czerwoncem.



## PIŚMIENNICTWO.

1. Besrečka Ann. Past. 33. 1919 301.
  2. " " " 33. 1919. 557.
  3. " " " 33. 1919. 882.
  4. " Bull. de l'Institut. Past. 18. 1920, 121.
  5. Masaki. Ann. Past. 36. 1922. 399.
  6. Sanarelli. " " 36. 1922. 385.
  7. Vaillant. " " 36. 1922. 149.
  8. Nicolle i Conseil. Ann. Past. 36. 1912.
-

## ZJAZD NAUKOWY

pracowników Państwowego Zakładu Epidemjologicznego  
i Państwowego Zakładu Badania Surowic w Warszawie,  
dn. 17 czerwca 1922 roku.

Zjazd zagał Dyrektor Państwowego Zakładu Epidemjologicznego *Dr. L. Rajchman*, zaznaczając, że zwołany on został celem przedstawienia prac naukowych, wykonywanych w tej chwili w pracowniach warszawskich obu Instytucyj i w filjach i oddziałach prowincjonalnych Zakładu Epidemjologicznego. Ma on też służyć porozumieniu między badaczami, pracującymi częstokroć nad zagadnieniami zbliżonemi, nawiązaniu między nimi kontaktu oraz wspólnemu omówieniu najważniejszych obecnie spraw naukowych, interesujących epidemjologa i bakterjologa. Zjazdowi przewodniczył *Dr. L. Rajchman*, sekretarzowali: *Doc. Dr. Gieszczykiewicz* z Krakowa i *Dr. Helena Sparrow* z Warszawy. W Zjeździe, jako goście, wzięli udział kierownicy i pracownicy licznych instytucyj naukowych warszawskich oraz przybyły na Zjazd Minister Zdrowia, *Dr. Chodźko*. Na Zjeździe wygłoszono szereg referatów; ponadto, z powodu braku czasu, kilka referatów spadło z porządku i zostało przedstawionych dnia następnego na specjalnem Zebraniu Referatowem P. Z. E. Referaty, wraz z dyskusją, podajemy tu w streszczeniu.

### Serodjagnostyka kiły.

**Z. Modrzewska i Z. Milińska.**

(Sprawozdawca L. Hirszfeld).

**Odczynny Sachs-Georgiego i Meinikego.**

Praca ta, dotycząca odczynów precypitacyjnych, została wykonana z polecenia komitetu Higjeny Ligi Narodów, w związku z ankietą, którą przeprowadza obecnie ten komitet w sprawie odczynu *Wassermana*. Celem ankiety ma być ustalenie znaczenia rozpoznawczego odczynów precypitacyjnych, ujednostajnienie wyników, otrzymywanych dotąd i opracowanie obowiązującego wzorca. Zakłady, biorące udział w ankiecie, prowadzą badania podług wspólnie omówionego planu, korzystając przytem z oryginalnych antygenów autorów.

Zasada odczynów precypitacyjnych w rozpoznawaniu kiły polega na wytrącaniu lipidów przez surowicę kiłową. Lipoidy muszą być uprzednio

wprowadzone w stan chwiejności. *Sachs* i *Georgi* czynią to przez dodanie cholesteryny. W metodzie *Meinikego* dodajemy do wyciągów lipidowych pewnej ilości wody destylowanej. Jak zauważył *Meinike*, drobny ten zabieg wprawia w stan chwiejności lipidy tak, że później, pod wpływem surowic kiłowych, wypadają one w formie makroskopowo widocznych kłaczków. *Meinike* używa roztworów hipertonicznych, *Sachs* i *Georgi* płynów izotonicznych.

Badania nasze [wykazały zbędność hipertonji podczas użycia surowic nieczynnych, co równocześnie wykazał też *Georgi*. Otrzymaliśmy lepsze wyniki, używając surowicy w ilości 0,2 (jak to czyni *Meinike*). Ponieważ i *Sachs* w międzyczasie powiększył dawki surowicy, przeprowadzaliśmy wszystkie doświadczenia z zwiększoną jej ilością. Zadaniem naszym było nie tylko stwierdzenie swoistości, ale i zbadanie możności miareczkowania. Zapisywaliśmy w tym celu dokładnie stopień dodatniości. Zbadaliśmy metodą *Sachsa* i *Georgiego* 3500 przypadków, metodą *Meinikego* 3100. Liczba wyników niezgadzących się wynosiła, w stosowaniu metody *Sachsa* 3,9%, metody *Meinikego* 3,6%. Badania zatem potwierdzają w zasadzie swoistość odczynu. Co się tyczy równoległości w nasileniu, to istnieje ona, choć nie bezwzględnie. 70% surowic, dających odczyn *Wassermana* + + +, dają również mocny odczyn *Sachsa-Georgiego*. Jeśli odczyn *Wassermana* jest + +, to około 60—80% surowic daje również w odczynie *Sachsa-Georgiego* + + albo + + +; jeśli odczyn *Wassermana* jest +, to 70—80% odczynów *Sachsa-Georgiego* wypada również + lub ± i t. d.

Stosując odczyn *Meinikego*, zauważamy równoległość jedynie w wypadkach silnej dodatniości. Wobec odczynu *Wassermana* + +, 36% surowic wykazuje jedynie ±. Odczyn *Meinikego* jest również swoisty, jak i *Sachsa-Georgiego*, kłaczkki jednak są drobniejsze, co utrudnia odczytanie i stwarza tak dużą ilość słabo dodatnich przypadków.

Badania wykonywane były zarówno z wyciągami, przygotowanymi przez nas, jak i z wyciągami oryginalnymi, przysłanymi nam przez autorów. Metoda *Sachsa-Georgiego* z naszym wyciągiem dała 3,9% niezgadzących się przypadków, z wyciągiem oryginalnym 10%; mianowicie, 102 przypadki z odczynem *Wassermana* dodatnim, dały wynik z wyciągiem oryginalnym ujemny, tymczasem gdy jedynie 21 przypadków z naszym odczynem były ujemne. To znaczy, że 17% odczynów *Wassermana*, które były u nas dodatnie, dają z wyciągiem oryginalnym wyniki ujemne. Podobne doświadczenie zrobiliśmy z wyciągiem *Meinikego*. W ten sposób dochodzimy do wniosku, że metoda *Wassermana* u nas daje wyniki czulsze, niż w pracowni w Heidelbergu. Widzimy równocześnie, że metody precypitacyjne, dające możność łatwego miareczkowania, nadają się dla ujednostajnienia metod serodjagnostyki kiły. Cel ankiety Komitetu Ligi Narodów byłby zatem osiągnięty.

Nie sądzimy jednak, by metody precypitacyjne mogły zastąpić odczyn *Wassermana*. Odczytywanie słabo dodatnich przypadków jest trudne i mniej pewne, niż w odczynie *Wassermana*. Nie możemy też nigdy być pewni, że pewien stopień dodatniości w odczynie *Wassermana* można będzie wyrazić przez odpowiednie miano precypitacyjne.

*Eisenberg* utrzymuje, że metoda *Meinikego* jest równoważna z metodą *Wassermana*, a nawet od niej jest czulszą. Są takie przypadki, zwłaszcza kiły leczonej, w których odczyn *Wassermana* już ustąpił, a odczyn *Meinikego* jeszcze istnieje. Pozatem odczyn *Meinikego* służy do potwierdzenia odczynu *Wassermana*.

*Venulet* przypomina, że Łódzka Pracownia Epidemiologiczna pierwsza wprowadziła metodę kłaczkowania. W sprawie równoważności obu metod zaznacza, że wszystko zależy od antygenów. Są antygeny, które przewyższają używane do odczynu *Wassermana*, i takie, które mu nie dorównują.

*Hirszfeld* potwierdza słuszność tych uwag i dodaje, że przy dobrze nastawionych antygenach odczyn *Wassermana*, *Meinikego* i *Sachsa* są równoważne.

## F. Venulet.

### O odczynie *Wassermana* z surowicą czynną.

Jednoczesne miareczkowanie surowicy luetycznej w stanie czynnym i nagrzany wykazuje obecność większej ilości reagin w surowicy czynnej. Pomimo braku zasadniczej różnicy pomiędzy reaginami ciepłostalymi, a ciepłochwiejnymi, większość autorów uważa reaginy ciepłochwiejne za nieswoiste dla kiły. Wobec tego inaktywowanie surowic, które początkowo miało na celu wyłącznie niweczenie dopełniacza ludzkiego, uznano za niezbędne dla zniweczenia również reagin, nie wytrzymujących nagrzewania. Odczyn *Wassermana* z surowicą czynną o własnym dopełniaczu (surowica ludzka posiada z małymi wyjątkami dostateczną ilość dopełniacza) jest czulszy, gdyż często wyprzedza klasyczny odczyn *Wassermana* w pierwszym okresie kiły, dłużej utrzymuje się po przeprowadzonej kuracji, o wiele częściej występuje w kile utajonej i w kile systemu nerwowego. Do pewnego stopnia potwierdza to i odczyn *Meinikiego*; niekiedy istotę sprawy wyświetla wyłącznie surowica czynna. Nadmiar dopełniacza, spowodowany dodaniem do czynnej surowicy ludzkiej surowicy świnki, może okazać się szkodliwym; ludzie zdrowi reagują stale ujemnie. Nieswoiste zahamowanie hemolizy spotykamy niekiedy w gruźlicy i w sprawach nerwowych. Odczyn *Wassermana* z surowicą czynną należy wykonywać równoległe z odczynem klasycznym.

*Eisenberg* zaznacza, że używał dawniej, wraz z prof. *Nitschem*, surowic u nieczynionych przy 51°, dziś używa surowic nieogrzewanych. Metoda ta nie ustępuje metodzie oryginalnej, jest wygodniejsza, a w pewnych przypadkach czulsza. Do surowicy czynnej należy jednak dodawać dopełniacza świnki morskiej.

*Hirszfeld* podkreśla, że odczyn *Wassermana* z surowicami nieczynnymi jest wyrazem innych stanów fizykalnych, niż odczyn *Wassermana* z surowicami czynnymi. W surowicach czynnych mogą, pod wpływem zakażenia bakteryjnego, wypadać globuliny i powodować odczyn dodatni nieswoisty.

*Venulet* otrzymywał czasem wyniki dodatnie, jedynie z własnym dopełniaczem. Ze względu na ujemny wpływ zanieczyszczenia, należy używać surowic świeżych; w zimie odczyn z surowicą czynną można wykonywać jeszcze po 2–3 dniach. Z metodą tą jako czulszą należy być ostrożniejszym, niż z metodami mniej czułymi. Gruźlica i zimnica mogą dawać zahamowania nieswoiste z surowicą czynną. Odczyn z surowicami ludzi zdrowych zawsze wypada ujemnie.

## Dur plamisty.

**Helena Sparrow.**

### Badania doświadczalne nad durem plamistym.

Żadnemu z licznych badaczy nie udało się dotąd wyhodować zarazka duru plamistego *in vitro*. W pracach doświadczalnych powszechnie używany jest jad duru plamistego, hodowany w małpach i świnkach morskich. Najłatwiej dostępnymi zwierzętami dla tych celów są świnki morskie, które na zakażenie jadem duru plamistego reagują stale i swoiście

Szczep duru plamistego, hodowany w Państwowym Zakładzie Epidemiologicznym, pochodzenia ludzkiego, otrzymano w styczniu 1921 roku i przeprowadzono go do końca roku przez świnki, na co zużyto 100 świnek. Szczep ten przeszedł 22 pasażę. W celu przeszczepiania jadu, zabijano świnki w 5-m—7-m dniu choroby. Do przeszczepiania używano tkanki mózgowej, roztartej w postaci zawiesiny w fizjologicznym roztworze soli i wstrzykiwano 0.3 — 0.6 gr. świeżej substancji mózgowej w 1 — 2 cm<sup>3</sup> NaCl. Objawy chorobowe duru plamistego u zwierząt są znacznie łagodniejsze, niż u ludzi. Swoistość szczepu zwierzęcego stwierdzamy na zasadzie całego szeregu danych: okresu wylęgania (zazwyczaj 5—10 dni), krzywej temperatury (gorączka trwa zazwyczaj 6 — 10 dni), braku makroskopowych zmian anatomo-patologicznych, mikroskopowo widocznych swoistych schorzeń mózgu, odporności na powtórne zakażenie, dodatniego odczynu *Weila-Felixa* u królików, szczepionych zawiesiną mózgu (w rozcieńczeniu surowicy 1 : 320) po 8 — 14 dniach.

Królik i szczur na zakażenie zawiesiną mózgu przez podniesienie ciepłoty nie reagowały, lecz ich krew i narządy, po pewnym czasie wylęgania, stawały się zakażne dla świnek morskich.

W przebiegu dalszych doświadczeń dwie małpy (*Macacus sinicus*), zakażone zawiesiną mózgu, wstrzykniętą do otrzewnej (0,6 gr.), nie zachorowały, a po upływie dwóch miesięcy okazały się odpornymi na zakażenie odwłóknioną krwią chorego (5 ccm. do otrzewnej).

Wyniki tych doświadczeń nasunęły przypuszczenie, że szczep duru plamistego, stale zjadliwy dla świnki, stracił swą zjadliwość dla małp i że ten osłabiony szczep może uodpornić małpę przeciwko zakażeniu jadem, pochodzącym bezpośrednio od człowieka.

Wyniki opisanych doświadczeń zachęciły mnie do wypróbowania zjadliwości jadu laboratoryjnego na człowieku. W tym celu zastrzyknęłam sobie pod skórę 0,3 gr. mózgu świnki morskiej 22-go pasażu, zabitej w 5-ym dniu choroby. Po 10 dniach wystąpiły objawy chorobowe. Przebieg choroby był typowy dla duru plamistego: gorączka powyżej 39°, wysypka w 5-ym dniu, dodatni odczyn *Weila-Felixa* w 9-ym dniu choroby (jeszcze w rozcieńczeniu 1 : 6400) ze szczepem OX<sub>10</sub>; lityczny spadek ciepłoty nastąpił w 12 — 14 dniu. Ogólny przebieg choroby był lekki.

Z doświadczeń tych można wyciągnąć następujące wnioski:

1) Świnki morskie, zakażone krwią ludzi, chorych na dur plamisty, przechodzą rzeczywiście dur plamisty. 2) Szczep duru plamistego, przeszczepiony w ciągu roku przez świnki 22 razy, zachował w świnkach swą zjadliwość dla ludzi.

## F. Eisenberg.

### Badania doświadczalne nad durem plamistym.

Przez przeszczepianie krwi chorych na dur plamisty, we wstępnym okresie, wyhodowano 4 szczepy zarazka na świnkach morskich, z których jeden prowadzono przez 7 pokoleń, drugi przez 18, dwa pozostałe przez 19 pokoleń. Do zakażenia używano zawiesiny mózgu i narządów wewnętrznych, jako też krwi zwierząt zakażonych, padłych lub skrwawionych i to drogą dootrzewnąwą lub domózgową. Ogół doświadczeń, wykonanych przeszło na 250 świnkach morskich, przekonał, że chodzi tu o typowe zakażenie, przy pewnych ostrożnościach przebiegające dość prawidłowo i charakterystycznie, o ile uwzględnić postulatory, niedawno skreślone przez *Olitsky'ego*. Okres wylęgania, w miarę wzrastającej liczby pokoleń, skraca się i ustala się przy 4 — 6 dniach. Zakażenie przeważnie kończy się wyzdrowieniem, czasem, u zwierząt bardzo młodych lub przy współdziałaniu zakażeń mieszanych, śmiercią. U królików (ponad 50 doświadczeń) zakażenie przebiega bezobjawowo; jedynym, i to ważnym teoretycznie przejawem, jest występowanie odczynu zlepnego ze szczepami  $X_3$  i  $X_{19}$ . W licznych doświadczeniach zostały potwierdzone wyniki *Weila* i *Felixa*, przyczem uzyskano miano zlepne od  $1/40$  do  $1/1600$ . Nie można stąd jednak wyciągać wniosków daleko idących, jak czynią to *Weil* i *Felix*, w przeciwieństwie do innych objawów zlepnych, uzyskanych drogą zakażenia czy uodporniania, a także do odczynu, uzyskiwanego z krwią królików lub świnek morskich, uodpornianych zapomocą  $X_{19}$ . Tutaj miano nie daje się podnieść drogą ponownych zastrzyknięć zawiesiny mózgowej. Funkcja zlepną w tym wypadku jest ciepło-chwiejna (u królików uodpornionych zapomocą  $X_{19}$ , ciepło-stała), a wreszcie nie udaje się w swoisty sposób związać zlepników przez zawiesinę mózgową. U świnek morskich rzadko stwierdzano odczyn zlepną  $1/20$  —  $1/80$ , u owiec podobnie. Próby hodowli zarazka, w woreczkach kolodjonowych metodą *Kuczyńskiego* w otrzewnej królików i świnek morskich dały wyniki ujemne, podobnie jak zresztą w próbach *Doerra* i *Schnobla* i *Otto*.

*Venulet*. Odczyn *Weila-Felixa* jest natury koloidowo-chemicznej; tak samo jak odczyn *Wassermana*. Kiła, grypa i dur plamisty mogą dawać dodatni odczyn *Wassermana*. Te sprawy chorobowe łączy także odczyn *Weila-Felixa*.

*Hirszfeld* podnosi różnicę między odczynem *Weila Felixa* u ludzi i zwierząt uodpornionych szczepami  $X_{19}$ . U królika przeciwciała O i H można wyodrębnić zapomocą absorbcji. Surowice chorych ludzi aglutynują szczep O i H, ale absorbcja wykazuje, że przeciwciała *Anti-H* i *Anti-O* są związane nawzajem.

*Sierakowski*. Warunki koloidowe w tyfusie plamistym są takie same, jak u zwierząt uodpornionych przeciw  $X_{19}$ . Wprawdzie u zwierząt otrzymujemy prze-

ciwiała ciepłota. podczas gdy u człowieka wytwarzają się ciepłochwienne — lecz to nie jest różnica zasadnicza, ponieważ przy uodpornianiu zwierząt jednym szczepem rozmaite gatunki mogą wytwarzać różne przeciwciała.

## L. Anigstein i H. Sparrow.

### Histopatologia duru plamistego u świnek morskich.

Badania nasze nad histopatologią duru plamistego u świnek morskich prowadzone były z dwóch względów. Przedewszystkiem chodziło o sprawdzenie, czy charakterystyczny obraz histopatologiczny u człowieka, znany z prac *Fraenkla*, *Bendy*, *Grzywo-Dąbrowskiego* występuje u świnek, zakażonych durem plamistym. Oprócz tego, specjalną uwagę zwróciliśmy na drobnoustroje, jakie obserwowali w tkankach ludzkich *Wolbach* i *Todd* oraz w tkankach świnek *Kuczynski* w Berlinie.

Nieznaną jeszcze zarazek duru plamistego wywołuje w organizmie zakażonym zmiany tak swoiste, że rozpoznanie tej choroby na mocy obrazu histopatologicznego jest zupełnie pewne. Jad duru plamistego, wprowadzony do organizmu zwierzęcego, atakuje przedewszystkiem śródbłonek drobnych naczyń krwionośnych, zarówno skórnych, jako też naczyń organów wewnętrznych, szczególnie zaś mózgu. Wszystkie dotychczasowe opisy zmian w naczyniach tyczyły się drobnych tętnic.

W pierwszym okresie zakażenia występuje pęcznienie śródbłonka. Komórki jego ulegają zwyrodnieniu i stopniowej martwicy, oddzielają się one od śródbłonka i powodują zakrzepy w świetle naczyń. W zakrzepach tych znajdujemy zwyrodniałe komórki śródbłonka wraz z białymi ciałkami krwi. Jednocześnie tkanka okołonaczyniowa ulega bujaniu, komórki jej przerastają ściankę naczyń, które zatracają swą normalną strukturę i ulega martwicy. Ścianka naczyń może zupełnie zniknąć, pozostają jedynie poszczególne komórki, ułożone koncentrycznie, wskazujące na naczyniowe pochodzenie ogniska. W ognisku tym znajdujemy zawsze liczne nacieczenia, składające się z leuko- i limfocytów. W innych przypadkach zmieniona ścianka ulec może przerwie i wówczas nazewnątrż naczyń znajdujemy wylewy krwawe.

Opisany tu proces najczęściej daje się obserwować w istocie szarej mózgu świnek, zwłaszcza na dnie 4-ej komory. Komórki nerwowe nie ulegają silniejszym zmianom, jedynie w pobliżu wspomnianych ognisk zauważyć można neurofagizm komórek nerwowych przez komórki glejowe.

Zmiany naczyniowe w innych narządach są zupełnie identyczne, lecz spotykają się rzadziej. Znajdowaliśmy w wątrobie niejednokrotnie nacieczenia wokół żył międzyrazikowych. O zmianach tych u ludzi wspomina jedynie *Dawydowski*, u zwierząt zaś doświadczalnych, zakażonych durem plamistym, zjawisk tych dotychczas nie obserwowano. Badania nasze stwierdziły więc u świnek, zakażonych durem plamistym, swoiste zmiany histopatologiczne. Ponadto zwróciliśmy uwagę na twory w komórkach śródbłonka.

*Wolbach* i *Todd* (1922) opisują obserwowane często przez nich drobnoustroje w ściankach naczyń ludzi, zmarłych na dur plamisty. Podobne drobnoustroje opisał *Kuczynski* w wątrobie świnek, zakażonych du-

reń plamistym. Autorzy ci, upatrując w tworach morfologiczne podobieństwo do *Rickettsia*, identyfikują je z *Rickettsia Prowazeki*. W licznych preparatach histologicznych mózgu i organów wewnętrznych świńek, zakażonych dudem plamistym, nie udało się nam spostrzec tworów, które można byłoby utożsamić z *Rickettsia Prowazeki*. Procesy nekrobiotyczne, doprowadzające do rozpadu jądra i zarodki komórek, oczywiście spowodować mogą ukazanie się w tkankach ziarnistości, wyglądem swym przypominających „*Rickettsia*“.

*Rajchman* zapytuje, czy udało się autorom potwierdzić wyniki pracy *Wolbacha* i *Todda*.

*Anigstein*. Wyniki otrzymane zgadzają się mniej więcej z wynikami *Wolbacha* i *Todda*, co do zmian histologicznych; nie znajdowano jednak nigdy tworów identycznych z *Rickettsia Prowazeki*.

### Djagnostyka bakterjologiczna.

L. Anigstein i Z. Milińska.

Dalsze badania nad żółtaczką paratyfusową.

Przeprowadzone przez nas jesienią roku zeszłego badania nad żółtaczką, która szerzyła się wówczas nagminnie na Wołyniu, doprowadziły do wyników, stwierdzających, że surowice większości chorych na żółtaczkę posiadają własność zlepiania szczepu *Stanley*, grupy *b. Aertrycke*. Badania przeprowadzone były na 30 chorych. Dalsze badania wykonaliśmy na 55 przypadkach, pochodzących z Warszawy i jej okolic. W tych przypadkach t. zw. „*icterus catarrhalis*“, charakteru sporadycznego, można było również stwierdzić zjawisko zlepiania się prątków *Aertrycke Stanley* (72% surowic badanych dawało dodatni odczyn zlepnny z tym szczepem w rozcieńczeniu 1:200 — 1:1600.) O swoistości tego odczynu zlepnego przekonaliśmy się zapomocą prób kontrolnych z surowicami, nadsyłanymi do Oddziału Djagnostycznego Państw. Zakładu Epidemjologicznego. Z 85-ciu prób zlepnnych ze szczepem *Stanley* tylko 3 wypadły dodatnio (1:100 — 1:400). Surowice te zlepiały również *para B* w tym samym rozcieńczeniu. Oprócz tego, używaliśmy do kontroli surowic osób, chorych na żółtaczkę o etiologii odrębnej, mianowicie „*icterus haemolyticus*“ oraz na żółtaczkę na tle luetycznym. W tych przypadkach odczyn wypadł stale ujemnie.

Własności bjochemiczne 7-miu szczepów prątków, wyhodowanych ze krwi i z moczu chorych na t. zw. „*icterus catarrhalis*“ świadczą o przynależności tych prątków do grupy paratyfusowej. Szczepy te różnią się nawzajem, mianowicie dwa należą do typu *para C*, dwa odpowiadają *para A*, zaś 3 *para B*. Próby absorpcyjne wykazują pokrewieństwo między szczepem *Stanley* oraz wyosobnionymi szczepami *para C*.

Wyniki nasze są potwierdzeniem poglądu, który, szczególnie podczas wojny ostatniej, znalazł wielu zwolenników wśród klinicyстів i bakterjologów, mianowicie, że t. zw. „*icterus catarrhalis*“ wywołany jest w większości przypadków przez bakterje. Nie możemy jednakowoż mówić o jedno-



litej etjologii tych stanów chorobowych, gdyż, jak widzimy, przyjmują w nich udział różne typy serologiczne prątków paratyfusowych (mozaika antygenowa).

Przebieg kliniczny sporadycznych przypadków żółtaczkowej „nieżytowej“ nie różni się od przebiegu formy epidemicznej. Jednolite wyniki odczynów serologicznych przemawiają również za tożsamością tych stanów chorobowych.

*Hirschfeld* podkreśla, że wyniki autorów dowodzą, jak dalece niewystarczającym jest używanie do odczynu *Widala* tylko typowych szczepów grupy tyfusowej. Należy wprowadzić do serodjagnostyki chorób zakaźnych posługiwanie się również nietypowymi szczepami paratyfusowymi, jak uczynili to autorzy pracy.

*Rajchman* zapytuje, w ciągu jakiego czasu obserwowano reakcje biochemiczne wyosobnionych szczepów, oraz czy wszystkie szczepy fermentowały dulcitol.

*Anigstein* odpowiada, że wszystkie pożywki z cukrami obserwowane były w ciągu tygodnia i, jako reakcję ostateczną, przyjmowano zmiany po upływie tego czasu. Z badanych szczepów tylko jeden wywoływał fermentację dulcitolu.

**Henryk Brokman i Helena Sparrow.**

**Przyczynę do epidemiologii anginy Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa.**

W lecie 1921 roku, w przytułku dziecięcym na przedmieściu Warszawy, wybuchła epidemia anginy Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa. W ciągu trzech miesięcy zachorowało przeszło 80% dzieci (47 dzieci). Epidemia ta jest największa ze wszystkich, znanych dotychczas w literaturze. W początku epidemii przeważało zapalenie migdałków, w następnym okresie stomatitis ulcerosa. Na stomatitis chorowały przeważnie dzieci młodsze, angina występowała częściej u dzieci starszych, lecz i tu przeważało zapalenie jamy ustnej. Obie postaci często występowały jednocześnie u tego samego chorego. Przebieg epidemii upoważnia do twierdzenia, że czynnik decydujący był tu natury zakaźnej.

Badania bakterjoskopowe preparatów z nalotów i owrzodzeń wykazały, we wszystkich przypadkach zachorowań, obecność symbiozy krętków i prątków wrzecionowatych, charakterystycznych dla anginy Plaut-Vincent. Znacznym wahaniom ulegał wzajemny stosunek ilościowy tych drobnoustrojów. Prątki wrzecionowate przeważały w okresie początkowym choroby, następnie liczba krętków się wzmacniała, a zwykła flora zanikała prawie zupełnie. W okresie gojenia krętka i prątki ustępowały miejsca zwykłej florze jamy ustnej.

Prątki wrzecionowate w preparatach mikroskopowych są zazwyczaj gramoujemne i leżą pojedynczo, nie tworząc grup, czem się różnią od prątków błoniczych. Dość często jednak można spostrzegać również postaci gramodatnie, towarzyszące postaciom gramoujemnym.

Krętka, znajduwane w badanych preparatach, należały najczęściej do typu *Spirochaeta buccalis*, rzadziej do typu *Spirochaeta dentium*; typ ten był częściej widywany w stomatitis ulcerosa, jednocześnie z typem *Spirochaeta buccalis*.

Rola dwóch opisanych drobnoustrojów w etiologii schorzenia nie jest jasną. Nie ulega jednak wątpliwości, że posiadają znaczenie patogenetyczne.

W przebiegu lat 1919, 1920 i 1921, liczba zachorowań na anginę Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa wzrosła się znacznie, co stwierdzają zebrane dane statystyczne. Ilość badań, dokonanych w Państwowym Zakładzie Epidemiologicznym w Warszawie, stwierdzających obecność krętków i prątków w nalożach z gardzieli i jamy ustnej, wynosiła: w roku 1919—9% wszystkich badanych przypadków, w roku 1920 — 19%, w roku 1921 — 31%. Dowodzi to, że w tym czasie epidemia anginy Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa dotknęła także Polskę.

*Eisenberg* proponuje wprowadzenie nazw: *krętka* dla *sprillum* i *krętowłosa* dla *spirochaeta*. Mówca przypuszcza, że w sprawie chorobowej, o której mowa, dużą rolę odgrywają zaburzenia odżywcze, które upośledzają odporność jamy ustnej i błon śluzowych przeciwko bakterjom lokalnym. Mówca poleca leczenie barwnikami anilinowymi i pędzlowanie 1%-ym roztworem fioletu kryst. (*pyontaniva*).

*Brokman* przypuszcza, że awitaminozy, albo niedostateczne odżywianie nie odgrywają znaczniejszej roli w rozpowszechnieniu anginy.

### Wyrób szczepionek.

#### St. Sierakowski.

##### Studja nad pożywkami.

Badania nad pożywkami podjęte zostały głównie dla celów praktycznych. Chodziło o to, czy sposób przyrządzania pożywek dla bakterij chorobotwórczych, przyjęty obecnie w większości pracowni i stosowany od szeregu lat bez zmian, jest istotnie racjonalny.

Badania wykonywaliśmy na pożywkach agarowych, we fiolkach płaskich, określając ilość bakterij, splukanych z powierzchni pożywki agarowej, metodą nefelometryczną. Do badań służyły: bakterje choleryczne, tyfusowe i czerwone, typu *Shiga-Kruse*, *Bact. coli*, odmieniec  $X_{10}$  i gronkowce.

Przedewszystkiem, nie zmieniając wzajemnego stosunku poszczególnych składników w pożywce, skontrolowaliśmy zależność wzrostu bakterij od stężenia pożywki. Okazało się, że pożywki rozcieńczone, aż do stężenia, wynoszącego 1% peptonu z wyciągiem rozcieńczonym do połowy, są dobrze wyzyskiwane przez bakterje, gdyż ilość otrzymana jest proporcjonalna do stężenia pożywki. Podczas dalszego zagęszczania pożywki, stosunki się zmieniają: ilość bakterij wprawdzie wzrasta, ale już nie postępuje w stosunku prostym do stężenia pożywki; staje się mniejsza, wreszcie podczas stężenia pożywki, wynoszącego 5% peptonu z wyciągiem zagęszczonym 2½ razy, nie otrzymujemy już przyrostu bakterij, a podczas dalszego zagęszczania następuje wybitny spadek.

Z tych doświadczeń wyciągnęliśmy wniosek, że do wyrobu szczepionek opłaca się używać pożywek bardziej zagęszczonych, niż używane były do tej pory, a do badań djagnostycznych, gdzie zależy na maksymal-

nym wroście bakteryj chorobotwórczych, należałoby używać jeszcze bardziej stężonych pożywek.

Drugim pytaniem było, jaka powinna być grubość warstwy pożywki agarowej, żeby była należycie wyzyskiwana.

Przekonaliśmy się, że bakterje tyfusowe i typu *Shiga-Kruse* wyzyskują znacznie grubsze warstwy pożywki agarowej, niż *Bact. coli* i *Proteus X<sub>19</sub>*. Z tego względu, warstwa pożywki na płytkach *Petriego* do izolowania bakteryj tyfusowych i czerwonkowych, powinna być kilkakrotnie grubsza, niż to się dotychczas stosuje.

Trzecie pytanie dotyczyło kwestji jak długo należy hodować bakterje. Okazało się, że w temperaturze 36° pożywki słabo alkaliczne w ciągu pierwszych 6 godzin dają wzrost niewidoczny. Wciągu następnych 12 godzin rozwijają się bardzo bujnie, lecz po 18 godzinach od chwili posiewu wzrost bakteryj na agarze już jest ukończony.

Czwartym pytaniem było, w jakiej temperaturze należy hodować bakterje chorobotwórcze? Okazało się, że rosną one najlepiej w temp. 31°—37°; temperatura powyżej 37° jest już szkodliwa dla rozwoju bakteryj. Z tego wniossek, że cieplarki nasze powinny mieć temperaturę niższą, niż 37°, koło 35° — 36°, gdyż w takiej temperaturze otrzymujemy wzrost równie bujny, a nie narażamy bakteryj na przegrzanie, gdy temperatura w cieplarni podskoczy powyżej 37°.

Piąte pytanie dotyczyło zależności wzrostu bakteryj od czasu hodowania i temperatury równocześnie. Okazało się, jak w poprzednim doświadczeniu, że temperatura powyżej 37° jest już szkodliwa dla bakteryj, a następnie, że bakterje, hodowane w temperaturze poniżej 37°, dają tem obfitszy wzrost, im temperatura jest niższa, lecz coraz później. Z tych badań wynika również, że do hodowania bakteryj chorobotwórczych niekoniecznie trzeba używać cieplarek o stałej temperaturze, lecz, że mogłyby wystarczyć naczynia mniej więcej izolowane, w których temperatura opada powoli. Byłoby to niewątpliwie znacznem uproszczeniem i ułatwieniem techniki bakterjologicznej.

Szóste pytanie dotyczyło ilości soli kuchennej, jaką należy dodawać do pożywek. Okazało się, że każda z badanych bakteryj wymaga różnej ilości soli kuchennej. Cholera rośnie najlepiej przy 0,5% soli kuchennej; przy 5% nie rośnie zupełnie. Tyfus rośnie jednakowo przy 0,5% do 3% soli kuchennej, później rośnie słabiej; *proteus* jednakowo przy 0,5% do 5%. Bakterje typu *Shiga* rosną najlepiej przy 1,0 — 1,5% soli; przy większych lub mniejszych %-tach rosną znacznie słabiej. Gronkowce rosną tem lepiej, im wyższe jest stężenie soli kuchennej. Widocznie, przebywając na skórze, bakterje te przystosowały się do większych stężeń soli kuchennej.

Siódme i ostatnie pytanie dotyczyło kwestji, jakie stężenia jonów wodorowych są najodpowiedniejsze dla poszczególnych gatunków bakteryj. Bakterje, które fermentują cukry, gronkowce, *coli*, odmieniec, rosną na pożywkach kwaśnych; inne, jak tyfus, są bardziej wrażliwe na kwasowość podłoża; jeszcze bardziej wrażliwą jest *B. Shiga*, najbardziej cholera, która poniżej punktu obojętnego nie rośnie.

Z tych badań wynikałoby, że dotychczasowe szablonowe przyrządzanie pożywek nie wytrzymuje krytyki, że sposób przyrządzania pożywek musimy zróżniczkować, w zależności od gatunku bakteryj, które mamy zamiar hodować, oraz od celu, dla którego hodujemy bakterję.

**St. Sierakowski.**

**Z badań nad szczepionkami.**

Doświadczenia te miały na celu przestudjowanie trzech zagadnień:

1) Jak wpływa ilość, wprowadzonej do ustroju, szczepionki na powstawanie we krwi osób uodpornionych przeciwciał swoistych.

Zagadnienie to jest ważne z tego powodu, że jeżeli zapomocą małej dawki szczepionki można otrzymać ten sam efekt co zapomocą dużej, to lepiej używać dawek mniejszych, dlatego, że wówczas są mniejsze reakcje po szczepieniu, potrzeba mniej szczepionki, a co jest rzeczą najważniejszą, można mieszać ze sobą wiele różnych gatunków bakteryj i w ten sposób za jednym zachodem uodporniać przeciwko wielu zarazkom.

2) Drugie zagadnienie dotyczyło kwestji szczepionki uczulonej, t. z. szczepionki z dodatkiem pewnym surowicy swoistej. Ażeby zbadać lepiej wpływ surowicy na szczepionkę, dodawaliśmy z jednej strony ilość surowicy taką, która jest potrzebna, żeby bakterje w szczepionce zglutynować (ilość ta była uprzednio ściśle wymiarczkowana); z drugiej strony dodawaliśmy ilość surowicy znacznie większą, taką, którą bakterje, zawarte w szczepionce, wogóle są zdolne pochłonać.

3) Trzecie zagadnienie dotyczyło sposobu zabijania szczepionki. Zbadaliśmy: a) rezultaty zabijania przez ogrzewanie w ciągu jednej godziny w temperaturze najniższej, zabijającej dany gatunek bakteryj; temperatura taka wynosi dla bakteryj tyfusowych 56°, dla bakteryj cholerycznych 53°; b) zabijanie przez ogrzewanie w ciągu 24 godzin, w temperaturze najniższej, zabijającej dane bakterje w tym czasie (temperatura ta wynosi 48°); c) zabijanie gliceryną, która, jak wykazały poprzednie moje doświadczenia, daje wogóle bardzo dobre wyniki i d) zabijanie eterem w sposób, wprowadzony przez *Vincent*.

Metoda badań. Używaliśmy szczepionki mieszanej: tyfusowej i cholerycznej, bez paratyfusu. Dawka szczepionki była uprzednio ustalona doświadczalnie na ludziach w ten sposób, żeby wywoływała reakcje średnie. Wynosiła ona 0,2 mgr. bakteryj tyfusowych i 0,5 mgr. bakteryj cholery za 1-szem szczepieniem i podwójną dawkę po tygodniu. Poszczególne serje tych szczepionek stosowaliśmy u poszczególnych seryj osób (badania były wykonywane na żołnierzach), w ten sposób, że 1-sze i 2-gie szczepienie krwi były wykonywane równocześnie dla danej serji szczepionki. Wszyscy żołnierze byli szczepieni w jednakowych warunkach. Badanie wziętych próbek krwi wykonywałem w ten sposób, że robiłem aglutynację z bakterjami tyfusowemi; aglutynacja z bakterjami cholerycznemi była bardzo niska, tak, że trzeba było zrezygnować z jej przeprowadzania.

Pierwsza serja doświadczeń była przeprowadzana pełną dawką szczepionki, druga połową dawki, trzecia  $\frac{1}{10}$  dawki. W miarę zmniejszania

dawki szczepionki, ilość przeciwciał malała, ale nie w stosunku prostym. Podczas dwukrotnego zmniejszenia dawki miano aglutynacyjne zmniejszało się zaledwie o 15%. Przy zmniejszenia dawki 10-krotnem, zmniejszało się o 50%. Z tego wynika, że zmniejszać dawkę szczepionki możemy, lecz w ograniczonym zakresie. Możemy więc robić szczepionki mieszane, ale nie ad infinitum. Co do drugiej kategorii szczepionek, okazało się, że szczepionka uczulona, do której dodano surowicy swoistej tyle tylko, żeby bakterje zaglutynować, dała bardzo złe wyniki, gorsze niż  $1/10$  dawki szczepionki bez surowicy. Jeszcze gorsze wyniki dała szczepionka z bakterjami, nasyconemi surowicą swoistą. Jeżeli przejdziemy do trzeciej kategorii szczepionek, gdzie chodziło o stwierdzenie sposobu zabijania szczepionki, to najlepsze wyniki dała szczepionka zabijana gliceryną, później ogrzewaniem w ciągu jednej godziny. Ogrzewanie w ciągu 24 godzin dało gorsze wyniki, czyli czas trwania hodowania ma w tych warunkach większe znaczenie, niż wysokość temperatury. Szczepionka zabita eterem dała wyniki pośrednie.

*Rajchman* zapytuje czy nie zamało osób zbadano, aby czynić wnioski ogólne. *Sierakowski*. Liczniejszych przykładów w literaturze nie opisano. Indywidualne wahania są ogromne.

*Szymanowski* sądzi, że na mianie aglutynacyjnym surowic ludzi szczepionych opierać się nie można; nie świadczy ono o wartości szczepienia.

## Wyrób surowic.

### L. Hirsfeld i F. Przesmycki.

(Sprawozdawca F. Przesmycki).

### O znaczeniu transfuzji dla wydajności zwierząt szczepiennych.

Nawet znaczna utrata krwi nie pozbawia zwierzęcia życia, jeśli zastąpimy krew utraconą przez krew świeżą. Pod tym względem wojna ubiegła rozszerzyła zakres stosowania transfuzji. U ludzi przy transfuzji należy uwzględniać różnice serologiczne między krwinkami. Należy używać albo krwi tej samej grupy, albo przynajmniej krwi, której nie aglutynuje surowica pacjenta. Postanowiliśmy zastosować transfuzję w celu podniesienia produkcji surowic, zastępując krew zwierząt uodpornionych krwią zwierząt normalnych. Badania nasze na koniach Państwowego Zakładu WYROBU Surowic wykazały, że krwinki koni, pod względem serologicznym, nie są do siebie podobne. Podobnie, jak u ludzi, mamy i u koni do czynienia z kilkoma typami serologicznymi. Pierwszy więc warunek pomyślnej transfuzji, mianowicie wybór odpowiedniej krwi, mógł być zatem spełniony. Dalsze badania przeprowadzaliśmy na królikach, z których pobieraliśmy, z ca. rotis lub z serca, 20 ccm. krwi, wstrzykując im taką samą ilość krwi, z dodatkiem cytrynianu, z innego królika. U królików nie znajdujemy różnic serologicznych; branie więc w rachubę tej okoliczności staje się zbyteczne. Obliczając spadek miana, mogliśmy ustalić dokładnie ilość pobranej od zwierzęcia krwi. Stwierdziliśmy w ten sposób, że u królików, w przeciągu

jednego do trzech dni, można zastąpić do 80% krwi własnej przez krew cudzą bez szkody dla zdrowia.

Wobec pomyślnych rezultatów przystąpiliśmy do badań nad koniem. Z początku robiliśmy transfuzje mniejsze, do 3 litrów, które koń znosi doskonale. Wreszcie pobraliśmy w przeciągu 3 dni po 8 litrów krwi, czyli razem wzięliśmy 24 litrów, co przypuszczalnie odpowiadało całkowitej ilości krwi w organizmie. Zastrzyknęliśmy na to miejsce krew w cytrynianie innych koni, należących do tej samej grupy. Koń żył, miał apetyt, i to przez sześć dni, na 7-my dzień jednak nastąpiły objawy osłabienia i na 8-my dzień koń padł. Tłumaczymy sobie to w ten sposób, że krwinki, mimo, że należały do jednej grupy, posiadały inne własności serologiczne, niż krwinki konia zastrzykniętego i wywołały przeciwciała. Przeciwciała powstały na 5 ty, 6-ty dzień, wywołując zniszczenie zastrzykniętej krwi. Wobec tego ujemnego rezultatu przystąpiliśmy do prób narazie na królikach z autotransfuzją, wprowadzoną przez angielskich badaczy u koni i stosowaną przez dr. *Eisenberga* i dr. *Gieszczykiewicza*. Upuszczaliśmy królikowi z serca 20 — 25 ccm. w cytrynianie i, po odwirowaniu osocza, zastrzykiwaliśmy temuż królikowi do żyły własne krwinki. W ten sposób, w przeciągu 3 dni, uzyskiwaliśmy ilość surowicy, którą dają zwykle króliki przy zabiciu. Zwierzęta znosiły zabieg doskonale, miano spadało zwykle tylko do 50%. A zatem, u królików możemy stosować zarówno metodę izo-, jak i autotransfuzji, u koni jedynie autotransfuzję, jak to obecnie na szeroką skalę wykonuje Zakład Krakowski.

*Hirschfeld*. Transfuzja krwi daje możność zbadania i wyróżnienia odporności tkankowej i humoralnej. Badania te będą dalej prowadzone w Zakładzie Badania Surowic w Warszawie. Zamieniając krew, zawierającą przeciwciała, przez krew normalną, nie widzimy wznoszenia się miana. Teoria *Sablego*, upatrująca bodziec antygenowy w zmniejszeniu się ilości normalnych przeciwciał w stosunku do komórki, nie znalazła zatem potwierdzenia.

## F. Eisenberg i Gieszczykiewicz.

### O transfuzji krwi u koni surowicznych.

Nowsze rozległe doświadczenia lecznicze, zwłaszcza badaczy amerykańskich nad transfuzją krwi, wykazały, że głównym niebezpieczeństwem przy znaczniejszej utracie krwi jest brak krwinek czerwonych, jako roznośników tlenu i że natomiast ustrój łatwo wyrównuje utratę płynu przez przesączenie osocza z tkanek do naczyń. Idąc śladem badacza australskiego *Penfolda*, poczęliśmy stosować u koni surowicznych serje znaczniejszych upustów krwi (4 upusty po 5 — 8 litrów), przyczem krew puszcza się z żyły do naczynia z 6%-owym roztworem obojętnego cytrynianu sodowego (50 cm<sup>3</sup> na 1 litr krwi). Po odstaniu się krwinek, zbiera się z ponad nich osocze, które następnie, po dodaniu 10 — 20 cm.<sup>3</sup> 20%-ego CaCl<sub>2</sub>, krzepnie i służy do uzyskania surowicy. Krwinki, najlepiej bez wszelkiego dodatku, wlewa się koniowi z powrotem do żyły przy następnym upuście, t. j. po 10 — 14 godzinach. Tak przeprowadzane serje nie powodują poważniej-

szych zaburzeń w zdrowiu konia, ilość zaś hemoglobiny i krwinek czerwonych ulega nieznacznemu obniżeniu.

Jedna serja składa się z 4 upustów, które rozkłada się na dwa dni w ten sposób, że jeden upust przypada na godziny ranne, następny na popołudniowe. Bezpośrednio po każdym następnym upuście wprowadza się ciałka z upustu poprzedniego. Takich seryj wykonano 63 u 36 koni, przy czem u 15 koni wykonano po jednej serji, u 16 po 2, u 4 po 3, u jednego nawet 4 serje po 20 litrów krwi w ciągu sześciu miesięcy. Uzyskano zatem zapomocą tej metody wydajność około 40 litrów surowicy w ciągu  $\frac{1}{2}$  roku, co daje 80 litrów surowicy na rok. Niestety, uzyskanie maksymalnej wydajności będzie możliwe dopiero wtedy, kiedy Ministerstwo zgodzi się na zwiększenie personelu; obecnie metoda ta pozwala co najwyżej na pewną oszczędność w nabywaniu koni.

Miano antytoksyczne surowicy słabnie w ciągu jednej serji upustów przeciętnie o  $\frac{1}{3}$ , a więc, jeżeli 1-y upust zawierał 300 jedn. w 1 cm.<sup>3</sup>, to 4-ty będzie ich zawierał około 200.

Konie znoszą, zarówno upusty, jak wlewy, bardzo dobrze, o ile rozporządzać dostatecznie czystym preparatem cytrynianu. Konie zachowywały się też zupełnie normalnie.

Surowica, uzyskana tą metodą, dzięki zawartości pewnego nadmiaru chlorku wapnia, daje objawy posurowicze daleko rzadziej i daleko słabsze, niż surowica zwyczajna.

## Zastosowanie jonów wodorowych w badaniach biologicznych.

St. Sierakowski.

Zmiany w stężeniu jonów wodorowych podłoży bakteryjnych w miarę wzrostu bakteryj.

Badania miały na celu stwierdzenie zależności rozwoju bakteryj od stężenia jonów wodorowych. Wiadomo, że bakterje mogą się rozwijać jedynie w kulturach o pewnym stężeniu jonów H<sup>+</sup>. Stężenie jonów wodorowych oznaczamy symbolem Ph. Ph równe 7,0 stanowi punkt obojętny; jest to stężenie jonów wodorowych absolutnie czystej wody. Ph większe, 8,0, 9,0, aż do 14, mają płyny zasadowe, 6, 5 aż do 1 mają płyny kwaśne. *Bac. coli* rozwija się przy Ph 5,0 do 10,0; bakterje, typu *Shiga* i *Kruze*, mają skalę znacznie większą i rosną jedynie przy Ph 6,5 do 8,5.

Stężenie jonów wodorowych podłoża, na którym rozwijają się bakterje, nie jest stałe, lecz zmienia się w miarę wzrostu bakteryj bardzo wybitnie. Zmiany te podzielić można na dwa okresy: 1-szy, trwający krótko, od 2 do 4 dni, zaznacza się tem, że pożywki silnie alkaliczne, na których jednak rosną jeszcze bakterje, zakwaszają się, pożywki kwaśne alkalizują się, natomiast pożywki o Ph, stojącym w pobliżu punktu obojętnego, pozostają bez zmiany. Wynika z tego, że w 1-szym okresie rozwoju bakteryj, stężenie jonów wodorowych w podłożach zdąża do pewnego Ph, które jest różne dla poszczególnych gatunków bakteryj, ale mniej więcej stałe dla danego

gatunku. Punkt ten dla *coli* wynosi 7,6, dla *cholery* 7,7, dla bakt. typu *Schiga* 6, 8, dla *tyfusu* 7, 1, dla *gronkowców* 8,2 i t. d.

Po tym pierwszym okresie następuje drugi, w którym wszystkie bez wyjątku pożywki kwaśne, obojętne i alkaliczne zaczynają się alkalizować tak, że po pewnym czasie wszystkie pożywki osiągną jedno i to samo stężenie jonów wodorowych, mianowicie od Ph 8,7 do 9,5, a nawet wyżej, wszędzie więc środowisko się alkalizuje.

Związek między zmianami w stężeniu jonów wodorowych, a rozwojem bakteryj jest bardzo ścisły. Rozwój bakteryj na pożywkach obojętnych lub alkalicznych trwa tak długo, dopóki pożywki te nie zaczną się alkalizować; z tą chwilą dalszy rozwój bakteryj ustaje, zaczyna się natomiast ich szybkie obumieranie. Na pożywkach kwaśnych obumieranie bakteryj następuje dopiero wówczas, gdy pożywka kwaśna, alkalizując się, przekroczy pewien punkt zwrotny, charakterystyczny dla pierwszego okresu. Wynika z tego, że w pożywkach, stojących blisko punktu obojętnego, bakterje rozwijają się najszybciej, wskutek czego maksimum jest tem niższe i występuje tem później, im pożywka jest bardziej alkaliczna. Bardzo ciekawe jest zachowanie się wzrostu bakteryj na pożywkach kwaśnych. Maksimum wzrostu występuje tem później, im pożywka jest bardziej kwaśna, ale jest tem większe, im bardziej kwaśną była pożywka, tak że największy rozwój bakteryj otrzymujemy na pożywce najbardziej kwaśnej, na której wogóle rośnie dany gatunek bakteryj; następuje on jednak stosunkowo późno. Obumieranie bakteryj zaczyna się dopiero przy pewnym, mniej więcej alkalicznym, stężeniu jonów H'. Podobne wyniki otrzymał badacz angielski *Smith*, ponieważ jednak nie badał on zmian stężenia jonów wodorowych, nie umie przyczyn tych zjawisk wytłómaczyć.

W czasie rozwoju bakteryj na podłożach o różnym Ph, zauważamy jeden punkt charakterystyczny, do którego zdążają pożywki, zarówno kwaśne, jak alkaliczne. Czy punkt ten odpowiada Ph samego ciała bakteryj, która w ten sposób reguluje sobie najodpowiedniejsze stężenie jonów wodorowych, czy też stanowi on stężenie jonów wodorowych, najodpowiedniejsze dla rozwoju bakteryj, w tej chwili rozstrzygnąć jeszcze nie można. Drugi punkt mniej lub więcej alkaliczny, do którego zdążają po dłuższym czasie wszystkie pożywki, jest zależny niewątpliwie od stężenia jonów wodorowych produktów przemiany bakteryj, będących w rozpadzie oraz pożywki.

#### H. Raabe.

Znaczenie stężenia jonów wodorowych (H'), ilości pokarmu i stosunku powierzchni kultury do jej objętości w rozwoju wiciowca *Proteozekia* (= *Bodo*) *edax*.

Praca ta wykonana była w Państw. Zakł. Epidemjologicznym w Warszawie, w związku z czynionymi próbami hodowli pierwotniaków pasorzytnicznych *in vitro*. Celem jej miała być analiza wpływu warunków na hodowlę pierwotniaków. Do badań obrany został wiciowiec, pod względem



morfologicznym i systematycznym zbliżony do form pasorzytniczych *Trypanosoma*, łatwy stosunkowo w hodowli. Wszystkie kultury *Prowazekia edax* wyprowadzone były od jednego, odosobnionego osobnika.

Wyniki doświadczeń nad znaczeniem *stężenia początkowego jonów wodorowych* są następujące. Możliwość rozwoju w ogóle *Prowaz. edax* waha się w granicach Ph, równych 4 do 9,4. W tych granicach intensywność początkowa rozwoju wiciowca największa jest przy Ph = 6,2 do 6,6; wyraża się ona w szybkości podziałów i zwiększania się ilości osobników. W obydwie strony od Ph = 6,2 do 6,6 intensywność początkowa się zmniejsza stopniowo. Największa dzienne ilość wiciowców występuje w kulturach o Ph = 7, w ciągu pierwszych dni rozwoju kultury; w kulturach słabo kwaśnych ilość wiciowców staje się największa po słabym zalkalizowaniu środowiska. Absolutna ilość wiciowców, które powstają w hodowli, większa jest w kulturach słabo kwaśnych, niż w alkalicznych i zmniejsza się stopniowo, w miarę zbliżania się stężenia jonów H<sup>+</sup> kultur do ich możliwego maksimum 9,4. W związku z początkową wysokością Ph, więc kwasowością bądź alkalicznością środowiska, krzywa rozwoju *Prowazekia edax* posiada odmienny przebieg, charakterystyczny dla danej początkowej kwasowości bądź zasadowości kultury.

Wyniki doświadczeń nad znaczeniem *ilości pokarmu* dla rozwoju *Prowazekia edax* wskazały, że ilość pokarmu ma znaczenie w zględne. *Prowazekia edax* odżywiają się bakterjami (co do osmotycznego sposobu odżywiania się tych wiciowców niema żadnych pozytywnych danych); ilość bakteryj można zwiększać przez zwiększanie ilości buljonu końskiego, na którym kultury były prowadzone. Przy wszystkich innych takich samych warunkach, rozwój kultury trwa tym dłużej, im pokarmu jest mniej, jest on jednak mniej intensywny, wielkość osobników maleje stopniowo. W kulturach o bardzo znacznej ilości bakteryj rozwój trwa krótko, intensywność jego jest b. znaczna, wielkość wiciowców pozostaje bez zmiany, wreszcie giną one, pomimo obfitości bakteryj, z objawami zwyrodnienia. Trzeba przypuszczać, że zwyrodnienie i śmierć wiciowców powodują produkty przemiany materji, wytwarzane przez bakterje i wiciowce.

Badania nad znaczeniem *stosunku powierzchni kultury do jej objętości* wykazały, w związku z aerobiotycznym charakterem *Prowazekia edax*, że im większa jest powierzchnia w stosunku do objętości, tem większa jest intensywność początkowa rozwoju kultury, ilość maksymalna dzienna wiciowców i tem krótszy jest czas jej trwania.

Janusz Supniewski.

O działaniu jonów wodorowych na własności lityczne surowic świeżych.

*Bordet, Ehrlich* i *Morgenroth* uważali dopełniacza za ciało o określonej budowie. Badania *Hirsafelda* i *Klingera* wykazały, że dane doświadczalne

nie wystarczają dla utrzymania się tego poglądu. Można bowiem patrzeć na działanie dopełniacza, jako na zespół zjawisk fizyko-chemicznych, odbywających się w koloidach surowic świeżych pod wpływem uczulonego antygeny, a znikających po stabilizacji pod wpływem nagrzania. W chwili uruchomieniu funkcji dopełniacza następuje, podług tego poglądu, zmiana dyspersji globulin surowicy świeżej. Liczne doświadczenia potwierdziły ten pogląd. *Sachsowi* udało się wywołać hemolizę krwinek przez mieszaninę zawiesiny inuliny z surowicą świeżą. W obydwu wypadkach następuje zmiana dyspersji globulin. Autor spróbował, czy pod wpływem działania H<sup>+</sup> na surowicę świeżą można będzie uruchomić jej system lityczny. Okazało się, że przy Ph 3,6 — 4,0 krwinki barana ulegają hemolizie przez surowicę świeżą świnki morskiej w izotonicznym NaCl. W roztworach nieelektrolitów hemoliza ta wypada koło punktu obojętnego. W tych samych granicach, t. j. przy Ph 3,6, występuje pierwsze wytrącenie globulin surowic świeżych. Otrzymane wyniki są potwierdzeniem fizyko-chemicznej teorii dopełniacza. Przy Ph 3,6 następuje wytrącenie globulin surowicy, a równocześnie z tem uruchomienie jej systemu litycznego.

*Hirszfeld* sądzi że fizykalna teoria dopełniacza zwycięży. Teoria ta zgadza się również z obecnym poglądem na „*crise haemoclasique*”.

### Teoria aglutynacji.

J. Brunner, F. Milejkowska i E. Salamonówna.

(Sprawozdawca: J. Brunner).

#### Badania nad aglutynacją.

I. Zjawisko aglutynacji zarazków, hodowanych na pożywce z dodatkiem soli wapniowej.

W celu zbadania wpływu surowicy aglutynacyjnej na zarazki, przystosowane do pożywki ze zwiększającą się zawartością soli wapniowej, posłkowano się szczepem durowym i surowicą o mianie zlepnym 1 : 10000 — 1 : 11000. Szczep durowy hodowano na agarze z dodatkiem chlorku wapniowego, przyczem zarazki przeszczepiano na pożywkę z coraz większą zawartością soli wspomnianej, od 0,5% do 5% soli suchej; hodowano w 37°C.

Początkowo, w mniejszych stężeniach, wzrost prątków durowych był bardzo obfity, bujniejszy, aniżeli na agarze o składzie zwykłym; w miarę zwiększania stężenia wzrost był nieco słabszy (poczynając od stężenia 3,5% CaCl<sub>2</sub>).

Próbę zlepną wykonywano zawsze według *Kollego*, używając stale kontroli tego samego szczepu na pożywce zwykłej.

W pierwszych pokoleniach aglutynacja szczepu, hodowanego na pożywce z solą wapniową, dorównywała kontroli. Następnie, gdy przystosowano prątki do pożywki z 3% CaCl<sub>2</sub>, miano zlepne obniżyło się do 1 : 5000 (kontrola 1 : 10000); w stężeniu 4% miano zeszło do 1 : 2000; to samo w stężeniu 4,5%. Hodowla na agarze z 5% CaCl<sub>2</sub> wykazała miano

zlepne 1 : 500; po kilku dalszych przeszczepieniach miano opadło do 0 (kontrola stale 1 : 10000).

Dla wyłączenia przypuszczalnego wpływu soli wapniowej, przenoszonoj wraz z zarazkami do próbówki z surowicą, dokonano kilku przeszczepień na agar zwykły, bez wapnia. Próba i tu wykazała zupełną utratę zdolności zlepnych w szczepie badanym.

Dalsze przeszczepianie szczepu naszego na pożywki z 5%  $\text{CaCl}_2$  wykazało częściowe przywrócenie utraconej własności zlepiania się w rozczywie surowicy. Aglutynacja wzrosła do miana 1 : 200, potem 1 : 500, wreszcie 1 : 1000 i 1 : 2000. Miana zlepnego wyższego nie osiągnięto. Wspomnimy tu raz jeszcze, że szczep wyjściowy stale zlepił się w rozczywie tej samej surowicy 1 : 10000. Starano się przywrócić szczepowi badanemu własności pierwotne zlepne przez przenoszenie go na agar z dodatkiem chlorku potasowego, chlorku sodowego, cytrynianu sodowego i szczawianu sodowego w różnych stężeniach. Wynik był ujemny; „wyleczenia“ nie osiągnięto.

Dalsze badania mają na celu ściślejszą analizę omawianego tu zjawiska.

II. O zlepnikotwórczych właściwościach bakteryj barwionych.

Szczep duru brzuszego, zmyty z agaru, zmieszano  $\overline{aa}$  z rozczywnem pyoktaniny 1 : 1000 (w soli fizjol.) i trzymano w ciepłocie (w  $37^\circ\text{C}$ ) w ciągu kilku dni. Gdy hodowle mieszaniny na agarze wykazały zabicie zarazków, bakterje odwirowano i przemyto kilkakrotnie na wirówce solą fizjologiczną. Części osadu użyto dla zastrzykiwania królikowi, części zaś dla prób zlepnych. Po kilku zastrzykiwaniach otrzymano od królika surowicę o mianie zlepnym około 1 : 3000. Z surowicą tą dokonano prób aglutynacyjnych z użyciem zarazków barwionych i mytych i równolegle zarazków szczepu wyjściowego nie barwionych (1 godzina  $37^\circ$  i 18 godz. w ciepłocie pokojowej).

Różnice w próbach zlepnych są wyraźne jedynie pod względem jakościowym; miano w obu szeregach próbek dochodzi do 1 : 3000, lecz gdy aglutynacja z zarazkami barwionymi jest wszędzie wybitnie dodatnia (+++) aż do wysokości miana, to z zarazkami nie barwionymi jest wszędzie słaba (+) i ponadnieznacznym osadem płyn jest wybitnie mętny.

Różnice jaskrawsze osiągnięto w próbie zlepnej w ciepłocie  $53^\circ$  (1 godzina); wynik był następujący: miano zlepne z durem niebarwionym 1 : 800 +, 1 : 1600—; z prątkami barwionymi 1 : 3000 +, 1 : 3200 +, 1 : 6400—. Próba *Castellani*'ego wykazała, że po nasyceniu surowicy szczepem duru niebarwionego pozostały w niej zlepniki dla prątków barwionych.

Wyniki, do powyższych bardzo zbliżone, otrzymano w drugim szeregu doświadczeń, w którym dla uodporniania królika użyto szczepu durowego, zabarwionego auraminą.

Dalsze badania w toku.

III. Próba wyosobniania z szczepu durowego pokolenia, nie podlegającego zlepnemu działaniu surowicy swoistej.

W licznych próbach zlepnymy spostrzegamy stałe zjawisko, że ponad osadem, pozostającym w większych rozcieńczeniach surowicy, płyn pozostaje mętny, dzięki obecności w nim niezlepionych zarazków.

Z płynu tego robiono hodowle i po kilku pokoleniach otrzymano szczep (durowy), zupełnie nie zlepiający się pod działaniem surowicy aglutynacyjnej.

Tak, na przykład, w III pokoleniu otrzymano wynik następujący:

A. Hodowla z osadu, otrzymanego w próbie zlepnej;

B. Hodowla z mętnego płynu, zebranego z ponad osadu w próbie zlepnej.

A: aglutynacja w rozcieńczeniu surowicy 1 : 25600 ++

B: " " " " 1 : 100 —

Cechy morfologiczne i biologiczne prątków w hodowli A. i B. wykazały ich zupełną zgodność, tak, że twierdzić możemy, że przez wytrącanie, dzięki użyciu surowicy zlepnej, jesteśmy w stanie wyosobnić z hodowli prątki, które zdolności zlepnej nie posiadają.

Dalsze hodowle tych ostatnich prątków tę samą cechą ujemną, z małymi wahaniami wykazują i nadal. A. i B. (po ogrzaniu w 60°C) użyto dla uodpornienia 2 królików i otrzymano surowicę anti-A i anti-B.

Wyniki działania obu surowic były następujące:

Szczep	Surowica	Wynik aglutynacji — 2 godziny 37° i doba 18° — 20°C
A	anti A	1 : 6400 +++; 1 : 12800 +++; 1 : 25600 ++
B	anti B	1 : 800 ++; 1 : 3200 ±; 1 : 6400 —
A	anti A	1 : 25600 —
B	anti B	1 : 800 +; 1 : 1600 —

Doświadczenia te dowodzą, że własności zlepnikotwórcze szczepu B są zachowane, utracona jedynie zdolność zlepienia się i przytem: a) zupełnie względem surowicy zlepnej heterogenetycznej i b) znacznie względem surowicy autogenetycznej.

Dalsze badania są w toku.

*Eisenberg.* Drogą frakcjonowanego strącania można otrzymywać bakterie niezlepiające się nawet w znacznych stężeniach surowic. Zwykle w hodowli mamy zbiór bakterij o różnych wrażliwościach zlepnymy i miareczkujemy przeciętną właściwości zlepnymy. W pracy z r. 1906 mówca podniósł, że celem otrzymania szczepów nieaglutynujących się należy hodować z górnych warstw zawiesiny. Zadanie to zostało wypełnione przez *Moona*, który otrzymał szczepy bardzo wrażliwe i zupełnie niewrażliwe; szczepy te dziedziczyły swe właściwości. Funkcja wrażliwości zlepnej jest chwiejną, natomiast funkcja zlepninorodna jest istotniejszą i trudno ulega zmianom.

*Szymanowski* otrzymał takie same wyniki, wychodząc z obserwacji poszczególnych kolonij. Ze szczepów typu *Sbiga* mówca otrzymywał szczepy różnorodne pod względem morfologicznym lub pod względem właściwości zlepnymy, z dziedziczeniem tych cech.

W mieszanice zaglutynowanej pewne produkty chemiczne mogą prowadzić do zmian w protoplazmie. To nie jest selekcja poszczególnych indywiduów, tylko konsekwencje procesuów, które się przy aglutynacji odbywają.

### L. Hirszfild i J. Seydlówna.

(Sprawozdawca: L. Hirszfild).

#### O istocie aglutynacji obłoczkowatej i grudkowatej.

*Weil i Felix* zauważyli, że  $X_{19}$  H aglutynuje się w formie lekkiego obłoczka,  $X_{19}$  O w formie grudek. Gotowane  $X_{19}$  H aglutynuje się w formie grudek. Przeciwciała, skierowane przeciwko typowi  $X_{19}$  O, aglutynują H w formie grudek. Autorzy ci sądzili, że szczepy H posiadają 2 chwytники, z których jeden H, warunkuje aglutynację obłoczkowatą, tymczasem gdy drugi, O jest ciepłostały i daje aglutynację grudkowatą. Podobne zapatrywania wygłosili autorzy o bakterjach grupy durowej i paradurowej. Badania nasze wykazały, że surowice, skierowane przeciwko szczepom gotowanym, nie różnią się jakościowo od surowic, powstałych na skutek zastrzyku szczepuów niegotowanych. Surowica *anti-O* wogóle nie aglutynuje szczepuów H. Surowica odpornościowa *anti-H* aglutynuje zarówno O, jak i H, a przeciwciała przeciwko O można wyodrębnić drogą swoistej absorbcji. Wbrew mniemaniu *Weila i Felixa* surowice chorych na dur plamisty aglutynują H obłoczkowato. Przeciwciała, skierowane przeciwko O w surowicach chorych na dur plamisty, nie dają się wyodrębnić od *anti-H*.

Sole metali aglutynują zwykle grudkowato, bez względu na to, czy bakterje są gotowane, czy świeże. Koloidy liofilne aglutynują obłoczkowato, koloidy liofobne grudkowato. Możemy przypuścić, że koloidy liofilne nie mogą zespolić się z sobą wskutek posiadania otoczek wodnych. Przenosząc analogję na aglutynację, przypuszczamy, że typ H podobniejszy jest do koloiduów liofilnych, typ O do liofobnych. Gotowane bakterje zatraciły przez koagulację powinowactwo do wody i wypadają zatem, jako koloidy liofobne. Upatrujemy zatem rozmaıtą formę aglutynacji nie w rozmaitych przeciwciałach, a w rozmaitem powinowactwie bakteryj do wody.

### Badania nad czerwonką doświadczalną.

#### L. Hirszfild, E. Przesmycki, J. Seydel i S. Sierakowski,

(Sprawozdawca: L. Hirszfild).

#### O miareczkowaniu surowic i jaduów czerwonkowych.

Praca została wykonana z polecenia Ligi Naroduów, w związku z badaniami nad ujednostajnieniem miana surowic. Zagadnienia, które trzeba rozstrzygnąć przed przystąpieniem do ustalania sposobuów miareczkowania, są następujące:

- a) czy jady czerwonkowe są toksynami, czy endotoksynami,
- b) czy surowice czerwonkowe powinny być antytoksyczne, czy anty-endotoksyczne,

c) czy trzeba miareczkować surowice na zawartość antytoksyczną, czy antyendotoksyczną.

Z temi zagadnieniami związany jest szereg pytań, dotyczących np. najlepszego wydobywania jadów, wpływu pożywki, jonów wodorowych i t. d. Przedewszystkiem stwierdziliśmy, że jad czerwonkowy powstaje, wbrew ogólnemu mniemaniu, zarówno na podłożach kwaśnych, jak i alkalicznych; podłoża kwaśne bakterje czerwonkowe alkalizują. W chwili, gdy Ph przewyższa 7,5, występują jady. Maksimum jadowitości znaleźliśmy przy szczepieniu buljonem o Ph 7,5. A zatem, na podłożach kwaśnych jady czerwonkowe powstają, ale później, niż na podłożach alkalicznych.

Jady czerwonkowe wywołują u królików objawy nerwowe, rzadziej zaś kiszkowe. Ponieważ objawy nerwowe są u ludzi rzadkie, powstaje zagadnienie, czy jad czerwonkowy wogóle działa na człowieka. Spostrzeżenia *Olickiego i Kliglera* wskazują, że toksyny z hodowli buljonowych młodych mają powinowactwo do systemu nerwowego, tymczasem gdy endotoksyny, znajdujące się w hodowlach starych, wywołują objawy kiszkowe. Surowica, podług autorów amerykańskich, posiada przeciwko tym dwóm składnikom odrębne przeciwciała, wymagające specjalnego miareczkowania.

Badania nasze wykazały, że buljony czerwonkowe, młode lub stare, wywołują analogiczne objawy u królików. Badania były przeprowadzane na kilkunastu szczepach, przy jednoczesnem porównaniu zatrucia przez bakterje żywe, wyciągi bakteryjne i t. d. Nie można było zatem biologicznie wyodrębnić jadów nerwowych od kiszkowych. Celem rozstrzygnięcia tej kwestji, kol. Dr. *Saski* uodpornił konia 6-dniowemi filtrowanemi hodowlami, które, podług *Olickiego i Kliglera*, zawierają czyste toksyny. W ten sposób otrzymaliśmy surowicę, która winna zawierać tylko antytoksyny i porównaliśmy ją z surowicami, wywołanemi przez zastrzyk bakteryj żywych lub zabitych. Okazało się, że taka antytoksyczna surowica posiada coprawda mniej aglutynin, jednak ich zdolności zobojętniania jadów, kiszkowego lub nerwowego, są te same.

Na podstawie tych wyników można przystąpić obecnie do ustalenia jednostki antytoksycznej.

**St. Hirszberg i H. Sparow.**

**Badania nad histologją patologiczną w zatruciu królików jadem czerwonkowym.**

Miareczkowanie surowic przeciwczerwonkowych odbywa się na królikach; stąd poznanie zmian, następujących w organizmie króla pod wpływem jadów czerwonkowych, jest zagadnieniem o doniosłym znaczeniu praktycznem. Badania, o których tu mowa, wykonane były pod kierunkiem prof. Dr. *Hornowskiego*. Zmiany anatomo-patologiczne, powstałe wskutek zakażenia króli bakterjami czerwonki, toksynami z hodowli młodych i starych, oraz wyciągami bakteryjnemi, są znacznie mniej wybitne i mniej

swoiste, niż także zmiany ludzi zmarłych wskutek czerwonki. Porażenie jelit grubych, występujące wybitnie u człowieka, u królików często usuwa się na drugi plan, ustępując miejsca porażeniom centralnego układu nerwowego. Sekcjonując około 600 królików, zabitych jadem czerwonki, ani razu nie widzieliśmy w jelitach zmian tak daleko posuniętych, aby je było można uważać za powód śmierci zwierzęcia.

Zmiany jelitowe umiejscawiają się przeważnie w kiszce ślepej, znacznie słabsze zmiany znajdowaliśmy w wyrostku robaczkowym i tylko w nielicznych przypadkach w dolnym odcinku jelit grubych i w *rectum*. Inne narządy jamy brzusznej nie wykazywały wybitniejszych zmian makroskopowych.

Naogół zmiany, które spostrzegaliśmy w jelitach i w mózgu, można rozsegregować, zależnie od natężenia procesów patologicznych.

Najsłabsze zmiany jelitowe wyrażały się w nastrzykaniu naczyń jelitowych, do którego dołączał się stosunkowo dość szybko obrzęk błony podśluzowej, a często i śluzówki.

Do drugiej grupy należy zaliczyć te zmiany, w których stwierdzić było można, drogą mikroskopową lub makroskopową, mniejsze lub większe wybroczyny lub wylewy krwawe, z jednoczesnym lub nieco późniejszym odczynem ze strony tkanki, pod postacią nacieków zapalnych w błonie śluzowej i podśluzówce, z komórkami typu limfocytów, lub komórek plazmatycznych. Do tego dołączało się często łuszczenie się nabłonka śluzówki.

Do trzeciej grupy należy zaliczyć te zmiany w jelitach, przy których, mniej lub więcej wyraźnie, występowały powierzchowne ogniska martwicy lub nawet drobne ubytki. Martwicy ulegała zazwyczaj cała śluzówka aż do tkanki podśluzowej, głębiej martwica nie sięgała.

Wreszcie zaznaczyć trzeba, iż u niektórych królików, które padły później (po 2 — 3 tyg.), stwierdzić można było wygojenie się procesu chorobowego w jelitach (makroskopowo).

Co się tyczy zmian w mózgu, to do pierwszej grupy zaliczyćby należało te przypadki, w których nie można było wykazać żadnych zmian w mózgu; do drugiej te, w których zmiany były nieznaczne i wyrażały się tylko w słabszym barwieniu się ziarnistości *Nissla* lub w występowaniu wodniczek w protoplazmie. Do trzeciej grupy zaliczyćby należało zmiany większe, polegające na układaniu się jąder komórek nerwowych na obwodzie, bardzo znacznym zanikaniu ziarnistości *Nissla* i na objawach neurofagizmu. Wreszcie do grupy czwartej zaliczyć należy bardzo znaczne zmiany w mózgu, w którym, prócz wyżej wspomnianych objawów, występował rozpad komórek nerwowych i zjawienie się komórek o typie plazmatycznym, co bywa charakterystycznym dla zmian mózgowych w pewnych sprawach zakaźnych.

Zmiany komórek nerwowych, występujące zarówno w substancji szarej rdzenia, jak też i kory mózgowej, nie są liczne, a komórki porażone leżą wśród komórek o normalnym kształcie i zabarwieniu.

Jeżeli zestawimy zmiany, które występowały pod wpływem działania żywych bakterij, toksyn i wyciągów, to nie udaje się ustalić jednak jakiegoś bardziej charakterystycznego działania poszczególnych czynników na jelita lub na tkankę nerwową.

Stosunkowo najsilniej działały na jelita bakterje żywe i wyciągi.

Natomiast toksyny zdają się wywoływać zmiany zwykle niezbyt znaczne w jelitach, i nieliczne, lecz daleko posunięte, porażenia komórek nerwowych.

### Barwienie bakteryj.

Eisenberg.

#### O barwieniu biegunowem bakteryj, jako objawie plazmolizy.

Barwienie biegunowe uważane było dotąd za cechę charakterystyczną grupy bakteryj posocznic krwiotocznych, a ostatnia klasyfikacja tych bakteryj nazywa je „*b. pipolaria*“ (*Pribram i Plasaj*). Tymczasem bliższa analiza tego objawu, przeprowadzona przeszło na 250 szczepach różnych gatunków bakteryj, przekonała nas, że jest to właściwość wspólna wszystkim bakterjom zdolnym do plazmolizy, t. j. bakterjom gramoujemnym — a tylko, zależnie od warunków hodowli, stanu biologicznego i warunków barwienia, z mniejszą lub większą łatwością dająca się wykazać. Hodowle na podłożach płynnych lepiej się do tego nadają, niż na podłożach stałych, ale udaje się bardzo ładnie uzyskać zabarwienie biegunowe przez dożyciowe zabarwienie bakteryj z górnej, nieco podeschłej, części agarów skośnych zapomocą 1%-owej zieleni malachitowej wodnej. Jako dowód, że (wbrew twierdzeniu *Epsteina*) bakterje gramoujemne dają zabarwienie biegunowe, mogą posłużyć obrazy barwienia ujemnego bakteryj zapomocą tuszu, kollargolu, błękitu berlińskiego, czerwieni Congo, a zwłaszcza cyanahiny, podanej przez nas w r. 1912. Zróżniczkowanie bakteryj gramoujemnych, spostrzegane przy tych metodach, jest wynikiem plazmolizy, a może być słusznie uważane za negatyw zabarwienia biegunowego: biegunowe skupienie skurczonego protoplastu jest zabarwione w obrazie dodatnim, jasne w obrazie ujemnym; pusta luka, którą opuścił protoplast, jest bezbarwna w dodatnim, zabarwiona w ujemnym obrazie (wypełniona cząstkami węgla, błękitu lub mieszaniny barwikowej). Doświadczenia z działaniem różnych czynników szkodliwych na bakterje, pokazują, że wraz ze śmiercią komórki bakteryjnej znika jej podatność plazmolityczna i zdolność zróżniczkowania w obrazie ujemnym. Wyniki te wskazują, że o znoszeniu tego objawu, jako cechy różniczkowej, mowy być nie może — że pozostaje chyba tylko stwierdzić, dlaczego pewne gatunki czy grupy bakteryj łatwiej w pewnych warunkach ulegają plazmolizie.

*Bujwid*. Im bardziej będziemy sięgać do arsenału środków chemicznych, które pozwolą nam odróżniać bakterje, tem bardziej zbliżymy się do prawdy. Jednym z takich środków jest *czerwień choleryczna*, którą udało się mówcy odkryć. W pracy z r. 1916 mówca podzielił bakterje na kilka grup w związku z wytwarzaniem katalazy. Bakterje, zaliczane do grupy *pasteurelloz* i *bakt. dzumy* stoją w jednej grupie, wytwarzają bowiem taką samą ilość katalazy. Wszystkie paciorkowce, od chorobotwórczych, aż do *Bact. acidilactis*, a więc bakterje pożytecznej, bardzo rozpowszechnionej, tworzą drugą grupę, nie produkującą katalazy.

*Szymanowski*. Zdawałoby się, że *pasteurella* powinna należeć do bakteryj bardzo wrażliwych, ponieważ daje zmiany biegunowe *in vivo*. Tymczasem próbki



krwi, które stały po kilkanaście lat, zachowały jeszcze zjadliwość. Stąd wnioskujemy, że mamy do czynienia z bardzo wytrzymałymi bakteriami.

*Eisenberg.* Bakterje gramoujemne różnią się od gramododatnich pewnymi właściwościami osmotycznymi. Czy ta różnica polega na nieprzepuszczalności osłonki, czy na jej sztywności—nie wiemy. Wrażliwość osmotyczna nie jest identyczną z wrażliwością na inne czynniki szkodliwe. Metoda przechowywania we krwi ze względu na brak tlenu jest bardzo korzystna dla utrzymania żywotności bakterji.

## Badania nad neosalwarsanem.

Janusz Supniewski.

Zmiany anatomo-patologiczne u królików, zatrutych wysokimi dawkami arsenobenzolów.

W Państwowym Zakładzie Badania Surowic prowadzone są badania nad toksycznością arsenobenzolów, przeznaczonych do sprzedaży na terenie Rzeczypospolitej Polskiej. Badań nad toksycznością dokonywa się na królikach, zastrzykując im dożylnie na 1 kg. zwierzęcia 0.2 gr. badanego preparatu.

Preparaty bardzo toksyczne zabijają zwierzęta w ciągu 24 godzin, z obrazem anatomo-patologicznym krwotocznego gastro-enterytu. Zwierzęta, zastrzyknięte preparatami mniej toksycznymi, żyją dłuższy przeciąg czasu i zdychają wskutek nekrotycznego zapalenia nerek, przyczem zmiany umiejscowione są głównie w kanalikach krętych. Kanaliki te podlegają najpierw nekrozie koagulacyjnej, a następnie zwapnieniu. U królików, które przeżyły, w ślad za zapaleniem nerek, następuje resorbcja wapna i przerost tkanki łącznej podpierającej.

W kłębkach *Malpighiego* widzimy słabe łuszczenie się nabłonka, a w okresach początkowych krwotoki do otoczki *Baumana*. Z innych organów znajdowano zmiany jeszcze w wątrobie. W paru przypadkach zauważono tłuszczową degenerację wątroby, a dość często wątrobę zastojnową. W wypadkach tych okazało się, że króliki z wątrobą, zmienioną patologicznie w skutek coccidiozy albo stłuszczonej wskutek ciąży, są bardziej wrażliwe na działanie preparatów. Znajdowano jeszcze wybroczyny krwawe do pęcherzyków płucnych. W systemie nerwowym centralnym zmian większych nie zauważono.

Emilja Helmanowa.

O wpływie arsenobenzolu na tężenie krwi.

Stwierdziliśmy bardzo wyraźny wpływ neosalwarsanu na tężenie krwi. Doświadczenie, zrobione *in vivo* na króliku, któremu wstrzyknięto roztwór 10%-go neosalwarsanu, w ilości 2 ccm. na kilo wagi, wskazuje, że krew jego nie tężeje nawet po upływie 3 dni. Posługując się metodą *Bordeta* i *Delange'a*, zmienioną przez *Hirszfelda* i *Klingera*, badaliśmy wpływ neosalwarsanu na trzy składniki, odgrywające podstawową rolę w tężeniu krwi,

mianowicie na: cytozym, serozym i trombinę. Neosalvarian, zmieszany z cytozymem, jako też z serozymem, w przeciągu 15 minut opóźnia znacznie tężenie krwi; 0,1 ccm. salvarianu w rozcieńczeniu 0,075%, zmieszane podczas 15 minut z 0,1 ccm. cytozimu, nie wywołuje tężenia nawet po upływie 18 godzin. Ta sama ilość neosalvarianu, zmieszana z trombiną, opóźnia tężenie krwi w sposób nieznaczny, co pozwala przypuszczać, że neosalvarian niszczy cytozym i serozym, albo paraliżuje wytwarzania się trombiny. Badaliśmy też rolę składników neosalvarianu. *Anilina*, *nitrophenol*, *oxyphenol*, *arsenian sodu* i *rongalit* nie wywierają żadnego wpływu na tężenie krwi. Kwasy *nitroarsanilinowe* i *nitroxyphenyoarsenowe* uniemożliwiają również tężenie. Kwas *arsenilinowy* nie wywiera żadnego wpływu, kwas *nitroarsanilinowy* przeciwnie, przeszkadza tężeniu, co dowodzi, że grupa *nitro* jest przyczyną tego zjawiska. Różnice w sposobie działania kwasu *nitroxyphenyloarsenowego* i *oxyphenylarsenianu sodu* potwierdzają tę hipotezę. *Neosalvarian* bardziej hamuje krzepnięcie krwi, niż inne pochodne *arsenobenzolu*, trzeba więc przypuścić, że i inne czynniki mogą tu odgrywać rolę.

### O zjawisku d'Herelle'a.

B. Feiginówna i J. Supniewski.

Przyczynek do badań nad istotą zjawiska Twort-d'Herelle'a

W sprawie istoty czynnika litycznego (bakterjofagów) istnieją dwie teorie:

- 1) teoria żywego zarazka (*d'Herelle*).
- 2) teoria zaczynu, wytwarzanego przez same bakterje i tkanki (*Bordet* i *Ciucia* i t. d.).

Praca nasza miała na celu rozstrzygnięcie zagadnienia, czy zjawisko *d'Herelle'a* jest spowodowane przez żywy, samodzielny zarazek. W tym celu zrobiliśmy dwie próby: próbę na katalazę i próbę na redukazę. Tkanki i komórki świata roślinnego i zwierzęcego posiadają pewne zaczyny, między którymi katalaza, a szczególnie redukaza, spotykają się prawie zawsze. Do próby na katalazę używaliśmy 3% wody utlenionej, a do próby na redukazę 1‰ wodnego roztworu błękitu metylenowego. Czynnika litycznego używaliśmy przesączonego, w miesiąc po jego przygotowaniu, a to dlatego, żeby mieć zupełną pewność, że niema w nim szczepów odpornych. Jako kontrole służyły hodowle bakteryjne w buljonie, żywa i zabita. Obie te próby dały rezultat ujemny: tylko w probówkach z żywą zawiesiną woda utleniona rozszczepiała się na tlen i wodę i błękit metylenowy się odbarwiał. Probówki z bakterjofagami i zabitymi mikroorganizmami tych reakcyj nie doznawały.

Wiemy, że stężenie jonów wodorowych się zmienia w zależności od wzrostu mikroorganizmów: do probówki z buljonem o określonym Ph, dodaliśmy pewną ilość czynnika litycznego; postawiliśmy probówkę w cieplarni; po dłuższym czasie — stężenie jonów wodorowych pozostało bez zmiany.

Następnie czynnik lityczny (bakterjofagi) poddawaliśmy wyparowaniu i ekstrahowaniu w przeciągu dwóch godzin w aparacie Soxhleta: po tem dwugodzinnem ekstrahowaniu okazało się, że pozostałość, rozpuszczona w buljonie, nie zatraciła swych własności litycznych i, dodana do świeżej buljonowej hodowli, rozpuszczała ją z jednakową siłą.

Brak zmian w Ph, brak katalazy i redukazy, wyniki ekstrahowania w eterze, a wreszcie zdolność rozpuszczania się czynnika litycznego w acetonie i alkoholu (*Kaheshima*) pozwalają nam twierdzić, że zjawisko *d'Herelle'a* nie jest wywołane przez żywy samodzielny zarazek.

Ażeby stwierdzić, czy jest to zaczyn, a ewentualnie, jakie są jego własności, przesączyliśmy starą buljonową hodowlę prątków *Shiga*. Przesącz, dodany do świeżej hodowli, rozpuścił takową początkowo niezupełnie, ale po kilku pasażach otrzymaliśmy zupełne przeświecenie buljonu. Czynnik lityczny, otrzymany ze starych hodowli, w niczem się nie różni od bakterjofagów, otrzymanych przez *d'Herelle'a* z kału ozdrowieńców, lub z wysiąku leukocytowego *Bordet i Ciuca*. Przeto twierdzimy, że czynnik ten jest wytwarzany przez same bakterje, że bakterje rozpuszczając się, wytwarzają pewną ilość tego czynnika, i tem tylko możemy wytłomaczyć brak lizy zabitych bakteryj, bez względu na to, w jaki sposób zostały zabite. Tem też tłomaczyć możemy, że zawiesina żywych bakteryj w soli fizjologicznej niezupełnie się rozpuszcza, gdyż, jak wiadomo, część bakteryj w soli fizjologicznej ginie.

## B. Feiginówna.

### O zmianach biochemicznych szczepu *Shiga* pod wpływem czynnika litycznego Twort-d'Herell'a.

Do pracy używałam szczepu *Shiga*, sprawdzonego pod względem biochemicznym i serologicznym.

Jako pożywka stosowany był buljon o Ph 8·3 — 8·4. Zawiesina bakteryjna zawierała 300 — 500 milionów bakteryj w 1 cm<sup>3</sup>. Do 10 cm<sup>3</sup> zawiesiny tych prątków w buljonie, dodawałam jedną lub dwie krople czynnika litycznego (bakterjofagów).

Po 6 — 8 godzinach w temp. 37° następowało zupełne przeświecenie buljonu; po kilku dniach — zmętnienie. Szczepy, które wyrastają w takich warunkach, są odporne na czynniki lityczne. Otrzymałam kilka takich odpornych szczepów, różniących się od normalnego szczepu *Shiga* właściwościami serologicznymi i działaniem na cukry. Jeden z tych szczepów posiadał następujące cechy.

Była to hodowla bardzo śluzowata, koloru białawego, nieprzezroczysta. Czynnik lityczny nie rozpuszczał jej. Pod względem morfologicznym był to prątek nieruchomy, gramoujemny; zakwaszał laktozę, dekstrozę, mannit, maltozę, dulcitol, lewulozę i arabinozę; nie zakwaszał saccharozy, raffinozy i inuliny. Wytwarzał gazy. Czerwień serwatki lakmusową i mleko z lakmusem. Mleko ścinał po 48 godzinach. Posiany w 1%-ej wodzie peptonowej, dawał odczyn indolowy. Żelatyny nie peptonizował. Nie rósł na aga-

rze, na którym poprzednio rósł prątek *Shiga*, na agarze t. zw. „vaccinè“ (*Coli* natomiast doskonale się rozwija na agarze, na którym przedtem rosł prątek *Shiga*.), Pod względem serologicznym żadnym zmianom nie uległ, gdyż zlepił się z surowicą wielowartościową *anti-Shiga* do wysokości miana.

Próba *Castellaniego* dała następujące wyniki: surowica wielowartościowa *anti-Shiga*, po nasyconiu szczepem normalnym *Shiga*, danego odpornego szczepu nie zlepiła, nasycona natomiast szczepem odpornym — zlepiła nawet normalny szczep *Shiga*. Tym odpornym szczepem, zachowującym się pod względem serologicznym, jak normalny *Shiga*, z którego powstał, pod względem biochemicznym jednak zmienionym zupełnie — uodporniał królika, zastrzykując mu kilkakrotnie, w odstępach 4 — 5 dni, do żyły usznej, zabitą hodowlę danego szczepu.

Surowica królika, uodpornionego tym odpornym szczepem, ma następujące własności:

1) jest antylityczną, to znaczy zobojętnia czynnik lityczny.

2) zlepia normalny szczep *Shiga* do  $\frac{1}{25600}$  i szczep odporny do  $\frac{1}{53200}$ , przytem aglutynacja ze szczepem *Shiga* ma charakter grudkowaty, a ze szczepem odpornym — obłoczkowaty. Próba *Castellaniego* dała następujące wyniki: surowica, nasycona szczepem odpornym, szczepu *Shiga* nie zlepia, nasycona zaś szczepem normalnym — zlepia jeszcze szczep odporny.

3) posiada substancje, wiążące dopełniacza: próba *Bordet-Gengou* z antygenami, szczep normalny i szczep odporny, daje zupełne odchylenie dopełniacza w obydwuch wypadkach (+ + +).

4) posiada precypitiny dla szczepu normalnego i szczepu odpornego.

Szczep ten jest mniej zjadliwym dla królika, niż normalny, przytem żyje dłużej; przechowany w buljonie po 5 — 6 miesiącach zachowuje zdolność do dalszego rozwoju:

Serologiczne własności naszego szczepu odpornego i własności surowicy królika, uodpornionego danym szczepem, wykazują dobitnie, że mamy do czynienia nie z przypadkowym zanieczyszczeniem, lecz, że jest to szczep typu *Shiga*, który pod wpływem czynnika uległ bardzo znacznym zmianom biochemicznym. Jest to rzecz interesująca ze względu na uderzającą wprost zmianę bakterij pod wpływem czynnika, usiłującego je zniszczyć. Stanowi to przystosowanie się do nowych warunków, osiągnięcie odporności kosztem zmiany własności biologicznych. W każdym razie, zmiana prątków *Shiga* podaje w wątpliwość całą naszą niezachwianą wiarę w stałość cech biochemicznych (jedna z podstaw różnicowania szczepów).

Zjawisko wyżej opisane ma niemniejsze znaczenie w badaniach dajagnostycznych, zwłaszcza gdy chodzi o nosicielstwo. Dość często (w każdym razie, w naszej praktyce dajagnostycznej zdarzało się to niejednokrotnie) z kałów uzdrowieńców wyhodowywano bakterje, które na cukrach zachowywały się nietypowo, a aglutynację dawały dość wysoką z różnemi surowicami wielowartościowemi. Prace nad jednym takim szczepem, zakwaszającym cukry, t. j. zachowującym się biochemicznie, jak *Coli*, i zlepiającym się z surowicą wielowartościową *anti-Shiga*, są w toku.

## Szczepionki zapobiegawcze przeciw wścieklicznie.

Z. Karłowski i J. Dzierzkowski.

Szczepionka karbolizowana przeciwko wścieklicznie.

Od dłuższego już czasu starano się (*Fermi, Vansteenberghe, Heller i Bertarelli, Mazzei, Rodet i Galavielle, Harris, Cummings* i inni) wytworzyć szczepionkę przeciwko wścieklicznie, którą możnaby przesyłać, t. j. któraby była trwałą, a jednak skuteczną. Próby te nie zyskały jednak szerszego zastosowania praktycznego.

Dopiero w roku 1910 *D. Semple* otrzymał szczepionkę karbolizowaną, która zachowywała swe własności w ciągu czterech miesięcy. Stosował ją w latach 1912 — 1916 w 22519 przypadkach, w Zakładach w Birmie i Kazauli, ze śmiertelnością ogólną szczepionych 0,68%, a uwzględniając tylko europejczyków, ze śmiertelnością 0,19%. *Semple* stwierdził, że jakkolwiek w ciepłocie pokojowej zarazek wściekliczyny jest mało wrażliwy na działanie karbolu, ginie jednak w 1%-owym roztworze karbolu już po 24 godzinach, w temperaturze 37°. Szczepionka *Semple'a* przygotowywana więc jest z zabitego zarazka, co stanowi najwybitniejszą jej różnicę w stosunku do szczepionek ogólnie stosowanych. Stwierdziliśmy zapomocą posiewów jej jałowość, a zapomocą szczepień podoponowych nieszkodliwość szczepionki, o ile mleczanka była roztarta bardzo dokładnie. Prócz łatwości stosowania szczepionki w miejscu zamieszkania pokąsanego, albo w najbliższym szpitalu, zaletami jej są: jałowość, łatwość dawkowania, a może i możność uniknięcia porażen poszczepionkowych, o ile one rzeczywiście zależą od działania żywego zarazka szczepionki pasteurowskiej.

Mimo jednak tylu zalet nowej szczepionki, nie jesteśmy jeszcze przekonani o najważniejszej jej właściwości — o jej skuteczności. Dane Warszawskiego Instytutu Pasteurowskiego z ostatnich lat piętnastu, Instytutu Pasteura, Instytutu w Ljonie, wykazują, że przy stosowaniu dawnej szczepionki można otrzymać lepsze wyniki.

Celem rozstrzygnięcia tego pytania, zwrócić się należy do danych doświadczalnych.

Rozpocniemy też badania nad występowaniem własności bakterjobjęczych i odchyleniem dopełniacza w surowicy krwi, po uodpornieniu szczepionką *Semple'a* i zwykłą. Obecnie stosujemy ludziom szczepionkę *Semple'a* wyłącznie w przypadkach, gdy osoba szczepiona, z powodu choroby obłożnej, nie może przychodzić na szczepienia do Zakładu. Przypadków takich mamy jednak niewiele.

Możnaby jednak stosować szczepionkę *Semple'a* u koni, bydła i trzody w warunkach ścisłej obserwacji klinicznej.

Ludwik Hirschfeld i Julja Seydel: O własnościach zlepnych szczepów durowych, rzekomodurowych i szczepów odmieńca. — Sur les propriétés agglutinantes des cultures des bacilles typhiques, paratyphiques et Proteus, str. 139.

Dr. H. Sparrow: Badania doświadczalne nad durem plamistym. — Expériences sur le typhus exanthématique, str. 168.

Dr. Z. Szymanowski i L. Szereszewski: Przyczynę do zmienności bakteryj czerwonkowych. — Sur la variabilité des microbes dysentériques, str. 201.

Dr. Włodzimierz Filiński: W sprawie ziarnistych i odłamkowych postaci laseczników gruźliczych i w sprawie sposobu ich barwienia. — Sur les formes granuleuses et fragmentaires et sur les méthodes de colorations des bacilles de la tuberculose, str. 224.

Dr. Marceł Landsberg: Opadanie krwinek a Crise Hémoclasique. — Sédimentation des globules rouges et crise hémoclasique, str. 231.

Dr. Med. Ryszard Biehler: Próby szczepienia trądu na kozach. — Essais d'inoculation de la lépre aux chèvres, str. 235.

Dr. Emilja Helmanowa: Wpływ pochodnych arsenobenzolu na krzepliwość krwi. — Sur l'influence anticoagulante du Arsenobenzol, str. 239.

L. Kopciowska: O odczynach Widala i Weila-Felixa w durze powrotnym — Sur la réaction de Widal et de Weil-Felix dans la fièvre récurrente, str. 248.

Dr. Stanisław Sierakowski: O uodpornianiu drogą pokarmową. — Sur la vaccination par la voie digestive, str. 250.

Zjazd naukowy pracowników Państwowego Zakładu Epidemiologicznego i Państwowego Zakładu Badania Surowic w Warszawie, dnia 17 czerwca 1922 roku. — Conférence scientifique des collaborateurs de l'Institut, str. 254.

---

**Wykłady dla lekarzy.** Proszeni jesteśmy o zaznaczenie, że w czasie od dn. 2 do 13 listopada r. b. odbędą się wykłady dla lekarzy w Szpitalu Starozakonnych na Czystem w Warszawie z demonstracjami chorych. Zapisy przyjmuje Sekretarz Komitetu Organizacyjnego Dr. *Stanisław Klejn*, Warszawa, Nowogrodzka 46, tel. 190-88 i 507-09.

Za redakcję: Dr. Henryk Raabe.

Zeszyt wykończono 20. X. 1922.

V a r s o v i e.

Institut Epidemiologique de l'État

Chocimska 2b.

(Distribué le 20.X 1922).

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Warszawie  
(Dyrektor Dr. L. Rajchman)

Znaczenie stężenia jonów wodorowych (H<sup>+</sup>),  
ilości pokarmu i stosunku powierzchni hodowli  
do jej objętości w rozwoju wiciowca  
*Prowazekia (=Bodo) edax*.

P o d a ł

Dr. HENRYK RAABE

Docent Uniwers. Jagiellońskiego w Krakowie.

Praca ta wykonana była w Państw. Zakładzie Epidemjol. w Warszawie w związku z czynionymi próbami hodowli pierwotniaków pasorzytnicznych *in vitro*. Trudności, jakie się napotyka w takich hodowlach, łączą się z brakiem bliższych danych, dotyczących zależności rozwoju pierwotniaków od warunków otoczenia. Studja w tej dziedzinie są stosunkowo nieliczne.

Celem tej pracy było zanalizowanie, możliwie dokładne, wpływu przynajmniej niektórych czynników na rozwój pierwotniaków, a w pierwszym rzędzie s t ę ż e n i a j o n ó w w o d o r o w y c h. Praca ta dostarczyła również pewnych wskazówek, dotyczących znaczenia pokarmu, stosunku między wielkością powierzchni hodowli a jej objętością, wreszcie znaczenia temperatury.

Do badań wybrany został przedmiot dogodny i stosunkowo łatwy do hodowania, wiciowiec *Prowazekia edax*, żyjący swobodnie w wodach słodkich. Pierwotniak ten zbliżony jest przytem, pod względem morfologicznym i systematycznym, do wielkiej grupy wiciowców pasorzytnicznych, które *Hartmann* obejmuje nazwą *Binucleata*.

Praca zainicjowana była początkowo przezemnie i kol. *dr. L. Anigsteina*. W dalszym ciągu *dr. Anigstein* przeszedł do badań serologicznych nad *Prowazekia* (*Anigstein* 1921). Zakres badań nad znaczeniem środowiska dla hodowli *Prowazekia* pozostał wyłącznie do mego rozporządzenia. Wiele jednak myśli poświęciliśmy wspólnie omawianemu tu zagadnieniu.

Badania wykonane były w ciągu półtora roku, 1920 — 1921. Muszę tu podkreślić jeden moment, który utrudniał w dużej mierze prowadzenie

doświadczeń; były to warunki, wynikające z obowiązków, jakie ciążyły na autorze tej pracy, jako na docencie Uniw Jagiellońskiego, mieszkającym w Warszawie. Przerwy w doświadczeniach, spowodowane stałymi jazdami z Warszawy do Krakowa na wykłady, utrudniały w znacznej mierze pracę.

Wiciowiec, użyty do doświadczeń, posiada następujące właściwości, które charakteryzują go, jako *Prowazekia edax* (Kühn 1915, Doflein 1916). Jest to pierwotniak gruszkowatego kształtu, wielkości przeciętnej 8 — 12  $\mu$  na długość, 5 — 7  $\mu$  na szerokość, z wyraźnym zagiętym dziobkiem na przednim końcu ciała. Z nasady dziobka wybiegają 2 witki; jedna krótsza, dłuższa jednak, niż długość ciała, którą wiciowiec, posuwając się, wykonywa ruchy przed sobą i druga dłuższa, którą ciągnie zazwyczaj za sobą. Witka dłuższa posiada własność przylepiania się swym końcem do podłoża; wywołuje to charakterystyczny dla *Prowazekia* ruch drżący, który umożliwia poznanie tego pierwotniaka na pierwszy rzut oka. Zdolność witki dłuższej do przylepiania się jest szczególnie korzystna podczas wykonywania preparatów trwałych z *Prowazekia*, gdyż pierwotniaki te, zabijane sublimatem, z łatwością przylepiają się do szkiełka.

W plazmie wiciowca widzimy w przedniej części kilka wodniczek, w tylnej zaś części bakterje, pobrane jako pokarm, i drobne ziarenka. Bliżej ku przedniej części znajduje się duże karjosomowe jądro i przed nim, za życia bardzo słabo widoczny, duży blearoplast. Wielkość jądra w osobnikach średniej miary, w średnicy 3 — 4  $\mu$ , blearoplastu 2 — 3  $\mu$ . Na preparatach utrwalonych, u nasady witek można dostrzec dwa ziarenka, barwiące się metodą *Giemzy* na karminowo; są to t. zw. ziarenka podstawowe. Wygląd i właściwości wiciowca, użytego do tych doświadczeń, odpowiadają w zupełności opisowi i rysunkom, podanym dla *Prowazekia edax* przez Kühna (1915).

Kühn zaznacza ponadto, że oprócz form wielkości przeciętnej, występują też formy karłowate, mogące mieć na długość 5 — 8  $\mu$ . Obserwację tę można najzupełniej potwierdzić, dodać jednak trzeba, że występować też mogą formy wielkości 25 — 30  $\mu$  na długość, a nawet większe. Formy tej wielkości są w naturze rzadkie, w hodowlach mych występowały w pewnych warunkach w obfitości. Zmienność w wielkości osobników w hodowlach, wziętych z natury, jest zazwyczaj znaczna i uderzająca; zazwyczaj współcześnie występują postacie wielkie i karłowate. W hodowlach *Prowazekia* z jednego osobnika, zmienność taka, w niezmiennających się warunkach, nigdy nie występuje, natomiast w hodowlach, różniących się znacznie warunkami, sięga większych jeszcze granic.

Systematyczne stanowisko *Prowazekia edax* traktuje nieco inaczej Doflein (1916), nieco inaczej Hartmann (1917). Według Dofleina, rodzaj *Bodo* (= *Prowazekia*), wraz z rodzajem *Trypanoplasma* stanowi podrodzinę *Bodoninae* (Bütschli), a ta znów, razem z drugą, wielką podrodziną *Trypanosominae*, tworzy rodzinę *Herpetomonadidae*. W systematyce Hartmanna rodzaj *Prowazekia* z rodzajem *Trypanoplasma* tworzy rodzinę *Trypanoplasmidae*, równorzędną do kilku jeszcze innych rodzin, jak *Trypanosomidae*, *Piroplasmidae*, *Halterididae* i inne i tworzy wraz z niemi



jeden rząd *Binucleata*; cechą wspólną *Binucleata* jest posiadanie blefaro-plastu. Zarówno w grupie wiciowców, które *Doflein* uważa za najbliższą pokrewną *Prowazekia*, jak i w grupie, w obrębie której stawia *Prowazekia Hartmann*, jest to jedyny rodzaj, zawierający formy niepasorzytnicze, w samym zaś rodzaju *Prowazekia*, jedynym gatunkiem, którego sposób życia niepasorzytniczy został napewno stwierdzony, jest *Prowazekia edax*; mamy tu ponadto kilka gatunków, o prawdopodobnym sposobie życia pasorzytniczym, jak *Prowazekia urinaria* w moczu ludzkim, *Prowazekia asiatica* w przewodzie pokarmowym człowieka i inne.

Wszystkie hodowle, wyhodowane podczas doświadczeń, pochodziły od jednego osobnika *Prowazekia edax*, odosobnionego w dn. 22 grudnia r. 1920. Odosobnienie poprzedzone zostało próbami hodowli *Prowazekia*, wziętych wprost z akwarjów, na różnych płynnych pożywkach; bardzo intensywnie rozmnażały się one na buljonie końskim, przygotowywanym stale w Zakładzie Epidemjologicznym do pożywek bakteryjnych, w rozcieńczeniu 5 części tego buljonu na 95 części wody wodociągowej (jest to wyciąg z 500 gr. mięsa końskiego w 1 litrze wody z 1—2% peptonu).

Odosobnienie dokonane zostało w ten sposób, że cienką włoskową pipetką przenieśliśmy szereg kropli, minimalnej wielkości, z hodowli, zawierającej prawie wyłącznie *Prowazekia*, na połamane i wysterylizowane w płomieniu ułamki szkiełka przykrywkowego. Po stwierdzeniu pod mikroskopem, że w kropli rzeczywiście znajdował się jeden osobnik *Prowazekia* i ponadto nie było żadnego innego pierwotniaka, szkiełko wraz z kroplą rzucone zostało do naczynia z 5%-ym buljonem na wodzie wodociągowej, sterylizowanej. Wraz z wiciowcem, przeniesione zostało nieco bakteryj, które też rozmnażały się i służyły wiciowcom za pokarm. Na 200 prawie hodowli, które odszczepiłem później od hodowli pierwotnej i jej pochodnych, zaledwie w kilku razach wystąpiło zanieczyszczenie obcymi gatunkami drobnych wiciowców z rodzaju *Monas* i amebami; tych kilka hodowli zostało odrazu z doświadczenia usuniętych; pozatem hodowle były stale zupełnie czyste.

Bakterje, które się rozwijały w hodowlach, były to ziarniaki z niewielką domieszką laseczek. Wielokrotne wysiewanie bakteryj na agarze z buljonem, dokonywane w ten sposób, że kropla z hodowli z wiciowcami była rozcierana bagietką na płytce *Petriego* z agarem, dało pokrycie całego agaru licznymi drobnymi, perełkowatymi kolonjami ziarniaków z domieszką koło 5%, bądź mniej, kolonij laseczek. Pomimo wielokrotnego przeszczepiania wiciowców z hodowli, w których laseczek niemal już nie było, nie udało mi się doprowadzić do zupełnego ich usunięcia, jakkolwiek ilość laseczek w późniejszych doświadczeniach stała się niemal znikoma. Zresztą i metoda, jaką musiałem się tutaj posługiwać, częstego mieszania i otwierania hodowli, stykanie się jej przez zatyczkę w butelce z otoczeniem, uniemożliwiało utrzymanie hodowli na jednym gatunku bakteryj. Hodowle *Prowazekia edax* zakładane były i prowadzone w następujący sposób. Jako naczynie służyły butelki płaskie, z dnem o powierzchni  $5 \times 11 = 55 \text{ cm}^2$ , wysokości 25 cm., z szyjką o średnicy 2 cm. Zamykane były zatyczką z waty. Trzymane były w pozycji stojącej i zawierały wtedy,

zależnie od doświadczenia, od 500 do 25 cm<sup>3</sup> płynu, albo w pozycji leżące na płasko i wtedy zawierały 50 albo 25 cm<sup>3</sup>. Hodowle trzymane były albo w termostacie, zamkniętym, ciemnym, w stałej temp. 20 — 21°C albo w ciemnym miejscu na stole, zawsze tem samym, w zmiennej temperaturze 15°C—18°C, albo wreszcie w chłodni, w temp. + 6°C. Jako pożywka, brany był wspomniany już poprzednio buljon, w rozcieńczeniu sterylizowaną wodą wodociągową początkowo 5%-em, później różnym, łącznie do 100%-ego i wyżej (pr. szczególnie str. 306). Pożywka służyła drogą pośrednią (o ile pominiemy możliwość odżywiania się *Prowazekia* przez osmozę) wiciowcom; od jej stężenia zależała ilość bakterij w hodowli. W naszych doświadczeniach zwiększanie się ilości bakterij w miarę zgęszczania buljonu było dokładnie widoczne; podczas gdy pożywki silnie rozcieńczone zawierały ledwie ślady bakterij, pożywki stężone były niemi wypełnione. Do każdej serji doświadczeń używany był buljon, zrobiony tego samego dnia.

Buljon był rozcieńczany zawsze sterylizowaną wodą wodociągową. Butelki, jak również wszystkie używane przyrządy, były zawsze dokładnie sterylizowane. Na początku każdego doświadczenia było ściśle określane i ustalane stężenie jonów wodorowych. Celem doprowadzenia kwasowości bądź zasadowości pożywki do pożądanego poziomu, pożywka była zakwaszana kroplami stężonego kw. solnego albo alkalizowana ługiem sodowym. Wiciowce przy zakładaniu nowych hodowli, brane były zawsze ze starych, mniej więcej jednakowych, 5—6-cio dniowych, rozwijających się na 5—10%-ym buljonie.

Świeże hodowle zaszczepiane były w ten sposób, że przedewszystkiem w starej hodowli oznaczana była zapomocą hematocytometru ilość wiciowców w 1 mm<sup>3</sup>; następnie wysterylizowaną pipetką kalibrowaną bądź pipetką zwykłą przelewałem tyle cm.<sup>3</sup> albo kropli ze starej hodowli do nowej, żeby w nowej, przy rozcieńczeniu na pożądaną ilość płynu, mieć określoną ilość wiciowców, zazwyczaj 15 w 1 mm<sup>3</sup> czasem 7<sup>1</sup>/<sub>2</sub> albo 30.

Intensywność rozrodu hodowli mierzona była ilością osobników w 1 mm<sup>3</sup> płynu, w kolejnych dniach doświadczenia. Obrachunek był robiony stale o tej samej porze dnia, co 24 godziny. Ażeby wyrównać zagęszczenie wiciowców w hodowli, płyn w butelce był kilkakrotnie kłócony, zawsze w jednakowy sposób i, wysterylizowaną w płomieniu pipetką, brana była z niego kropla. Kropla taka wystarczała, aby wypełnić przestrzeń pod szkiełkiem przykrywkowym w hematocytometrze. Przez szybkie przeprowadzenie hematocytometru nad płomieniem lampki spirytusowej, zabijane zostawały wiciowce, które opadały na podziałkę. Zwykły obrachunek, stosowany przy liczeniu czerwonych ciałek, pozwalał na wyciągnięcie potrzebnych wniosków. Liczenie takie dokonywane było za każdym razem, dla każdej hodowli 2 albo 3 razy i jako ostateczny wynik brana była liczba przeciętna.

Stężenie jonów wodorowych było określane metodą kolorymetryczną; jako wskaźnika używałem początkowo paranitrophenolu. Określenie tego stężenia tą metodą było utrudnione, gdyż wymagała ona dość znacznej

ilości płynu, mianowicie za każdym razem 20 cm<sup>3</sup>; i ta ilość zwiększała się jednak w praktyce znacznie. Ażeby usunąć wpływ wiciowców i bakteryj; na wynik, każdą próbkę wirowałem przy 4000 obrotów na sek. przez 10—15 min; oprócz tego, dla porównania robiłem zawsze próbę z czerwieni obojętną. Na jednorazowy pomiar potrzeba więc było razem koło 50 cm.<sup>3</sup> Wobec tego, że rozwój hodowli, które badałem w ten sposób, trwał koło 3 tygodni, trzeba było zużyć do 1 litra płynu. Doświadczenie zorganizowano w ten sposób, że założono równocześnie 10 hodowli po 250 cm.<sup>3</sup> płynu w każdej. Płyny te były codziennie ze sobą mieszane i brane z nich były próbki do pomiarów. Doświadczenia *a* i *b* z Serji I-ej wskazują, że takie operacje nie wpływają zasadniczo na intensywność rozrodu wiciowców.

W drugiej połowie mej pracy, w określaniu stężenia jonów H<sup>+</sup> korzystałem z uprzejmej pomocy p. *Jabłońskiego*, laboranta Zakładu, który dla celów zakładowych i w związku z pracami, jakie wykonywał równocześnie w Zakładzie D-r *Sierakowski*, oznaczał bardzo dokładnie codziennie stężenie jonów H<sup>+</sup> w znacznej ilości hodowli. Do oznaczania Ph. służyły czerwień metylowa, czerw. bromo-krezolowa, czerw. fenolowa i błękit tymolowy; odbywało się ono z pomocą komparatora *Walpole* (pr. opis metody: *Sierakowski* 1921). Metoda stosowana umożliwiała robienia pomiarów Ph., przy zużyciu 1 albo kilku cm<sup>3</sup> płynu, co ułatwiało pracę.

Znaczenie kwasowości bądź zasadowości środowiska dla rozwoju pierwotniaków opracowywane było przez szereg badaczy, jak: *Bokorny* (1896), *Barrat* (1904), *Peters* (1906 — 08), *Prowazek* (1910) i inni. Autorzy ci wykazywali wpływ różnych kwasów i zasad na pierwotniaki oraz granice rozcieńczeń, w których żyć one mogą. *Peters* doszedł do wniosku, że kolejne występowanie pewnych gatunków pierwotniaków w hodowli zależy przede wszystkim od zmiany w kwasowości ew. zasadowości środowiska. Metoda pomiarów Ph w hodowlach pierwotniaków swobodnie żyjących, o ile sądzić mogę z dostępnej literatury, nie była dotąd stosowana. W pracach nad hodowlą pierwotniaków pasorzytnicznych *in vitro* istnieją liczne wskazówki, dotyczące znaczenia kwasowości albo alkaliczności środowiska. Pomiarów Ph dokonywał *Ponselle* (1920), który wykazuje, że optimum przy którym najszybciej następuje podział *Trypanosoma rotatorium*, hodowanego *in vitro*, wynosi Ph = 6.2.

Dla różnych gatunków bakteryj szereg autorów, jak *Jordan Lloyd*, *Cole*, *Fennel* i *Fisher*, *Dernby* i inni wskazali optima Ph i granice Ph., w których mogą bakterje te rosnąć. Ważny przyczynek do analizy tych stosunków stanowi praca *Sierakowskiego* (1922), w której autor dochodzi do wniosku, że „bakterje podczas swego wzrostu wytwarzają taką koncentrację jonów wodorowych, która jest dla danego gatunku bakteryj optymalną“, a dopiero, po wytworzeniu tego stężenia najkorzystniejszego, następuje stopniowe alkalizowanie pożywki.

Na znaczenie stężenia jonów H<sup>+</sup> w obrębie tkanek organizmów wielokomórkowych, a w szczególności człowieka, wskazały liczne doświadczenia *Sörensen*a i innych badaczy. Wiemy dziś, że działanie zaczynów

jest zależne od stężenia jonów  $H^+$ , że stężenie to we krwi jest stałe i że organizm posiada zdolność regulowania tego stężenia.

W stosunku do *Prowazekia edax* zagadnienie pracy sprowadzało się do kwestyj: 1) w jakich granicach kwasowości i zasadowości środowiska— wobec takich samych innych warunków — żyć mogą i rozmnażać się *Prowazekia*; 2) jakie jest optimum Ph dla danego gatunku; 3) jak zmiana i różnice w stężeniu Ph wpływają na intensywność rozrodu wiciowca i na jego właściwości biologiczne i morfologiczne.

W hodowlach *Prowazekia edax* stan Ph zależał od wpływu produktów przemiany materji pierwotniaków i bakteryj. W pierwszych 8 serjach wpływ tych dwóch czynników jest omawiany razem; w Serji IX-ej zrobiona jest próba ich rozgraniczenia.

---

**Serja I** stanowiła doświadczenia wstępne. Obejmowała ona 4 hodowle, z których trzy (*a*, *c*, *d*) trzymane były w pojedynczych naczyniach, zaś jedna (*b*) była wspomnianą już wyżej hodowlą, hodowaną równocześnie w 8 naczyniach. Wspólne warunki dla wszystkich hodowli były: jednakowa ilość płynu we wszystkich (250 cm.<sup>3</sup>), jednakowe początkowe stężenie jonów wodorowych (Ph = 6,8), znamionujące środowisko słabo kwaśne, dość powszechnie występujące w przyrodzie, jednakowa ilość pierwotna wiciowców, wszędzie 15 osobników w 1 mm<sup>3</sup>. Pytania, na które Serja I miała odpowiedzieć, były: 1) Jaki jest przebieg rozwoju hodowli *Prowazekia* w temperaturze pokojowej, zmiennej (15° — 18° C). Do tego miała służyć hodowla, trzymalna na stole w pracowni, *d*. 2) Jaki jest przebieg rozwoju hodowli *P. e.* w temperaturze cieplarki o 20° — 21° C. — do tego celu miała służyć hodowla *a*, nie różniąca się co do innych warunków od hodowli *d*. 3) W jaki sposób na intensywność rozrodu wiciowców wpływa zmiana w ilości pożywienia. Podczas więc, gdy hodowle *d* i *a*, jako pożywkę zawierały 5%-wy buljon, hodowla *c*, trzymalna, również jak *a*, w termostacie, zawierała buljon 10%-wy. 4) Wreszcie hodowla, trzymalna w 8 naczyniach, *b*, miała dać możność zbadania zmian w stężeniu jonów wodorowych podczas rozwoju. Hodowla ta zawierała buljon 5%-wy i trzymalna była w cieplarce.

Doświadczenie trwało 35 dni; codziennie ustalana była we wszystkich hodowlach ilość wiciowców, metodą podaną powyżej, a w hodowli *b* stężenie jonów wodorowych. Po 35 dniach ilość wiciowców była w hodowlach bardzo nieznaczna, nie podlegała jednak widocznym wahanieniom ani zmianom; kontrola została przerwana.

Wyniki, dotyczące obrachunku ilości osobników w kolejnych dniach obserwacji w każdej hodowli, przedstawiają: podane zestawienie I i krzywe na wykresie № 1. W zestawieniu I podane są ilości wiciowców, obrachowanych w kolejnych dniach obserwacji w 4 hodowlach i suma tych wiciowców za czas dni 35. Za dni 23 — 27, w których, z techni-

## ZESTAWIENIE I.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji I-szej.

Dni doświadcz.	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
	Ilość jednostek	Ilość jednostek	Ilość jednostek	Ilość jednostek
pocz.	15	15	15	15
1	170	171	188	156
2	859	812	859	497
3	1,297	2 109	2,343	703
4	2,171	2,171	2,234	1,156
5	2,109	2,500	2,562	1,005
6	2,484	2,500	3,359	1,156
7	2,429	2,343	3,609	1,890
8	2,640	2 031	3,281	1,781
9	1,906	1,359	1,805	1,560
10	1,405	969	1,703	1,531
11	1,187	969	906	1,648
12	1,019	843	1,015	1,359
13	968	515	1,015	950
14	750	703	1 062	593
15	859	312	797	781
16	686	375	531	465
17	425	296	625	437
18	391	140	531	297
19	437	187	625	389
20	415	165	585	320
21	375	109	544	203
22	425	140	750	187
23				
24				
25	1,295	540	1,910	545
26				
27				
28	93	78	15	31
29	78	103	31	155
30	55	125	47	171
31	78	93	47	140
32	73	78	78	31
33	33	47	93	47
34	47	87	78	15
35	62	125	93	15
Suma	27,242	22,112	33,525	20,230

cznych względów nie mogłem robić obrachowań, podane są liczby przeciętne z dnia 22-go i 28-go. Suma wiciowców w każdej z hodowli wynosi:

w	<i>a</i>	—	27.242
"	<i>b</i>	—	22.112
"	<i>c</i>	—	33.525
"	<i>d</i>	—	20.230

Na wykresie № 1 w każdej krzywej na rzędnych zaznaczone są kolejne dni obserwacji, na odciętych ilość osobników w 1 mm<sup>3</sup>. Pole, zajęte przez krzywą, wskazuje na sumę osobników, które obrachowane były przez dni 35. Suma ta nie będzie sumą wiciowców, które za czas doświadczenia powstały w hodowli, gdyż nie możemy ustalić, jak często następował podział, czy nie był raz wolniejszy, to znów szybszy i czy więc w rachunku ten sam osobnik nie występował kilka razy albo czy pewnej ilości nie pominięto. Sumę tę możnaby nazwać sumą w i c i o w c o y c h j e d n o s t e k d z i e n n y c h, rozumiejąc, że w każdym dniu obrachowywaliśmy właściwie ilość schematycznych jakby jednostek, trwających 1 dobę (Pr. zestawienie I).

Krzywe na wykresie I-ym pozwalają dać pewną charakterystykę rozwoju hodowli *Prowazekia* w warunkach, z jakimi mieliśmy tu do czynienia. Zwraca uwagę, że wszystkie cztery krzywe, co do charakteru swego, mają wybitne, wspólne cechy: wszędzie widzimy, że hodowla rozwijała się w ciągu, pierwszych 3 — 4 dni dość intensywnie i jednostajnie, najslabiej w *d*. W 3 — 4 dniu następuje chwilowe osłabienie (we wszystkich hodowlach). a potem znów wzmoczenie do dnia 7-go, 8-go. Od dnia 7 — 8 następuje powolny i dość równomierny spadek intensywności życia w hodowli: osobników staje się coraz mniej, a od dnia 28-go wszystkie hodowle są w stanie, który można nazwać wegetacją: ilość jednostek waha się stale od 15 do 171 najwyżej.

Bliższa analiza przebiegu krzywych wykazuje, że w hodowli *d* intensywność początkowa rozrodu, w ciągu dni 1—4, była mniejsza, niż w grupie *a*, *c*, że również maksimum jednostek dziennych, (w *d*—maksimum 1890) było znacznie mniejsze, niż w *a* (maksimum 2640), w *b* (maksimum 2500) i w *c* (maksimum 3609) i że wreszcie ilość ogólna jednostek dziennych (w *d* — 20,230) była tu również mniejsza, niż w *b* (22,112), *a* (27,242) i *c* (33,525). Była to hodowla, trzymana w temperaturze niższej, pokojowej i zmiennej, w przeciwieństwie do hodowli trzech pozostałych.

Co do hodowli, trzymany w termostacie, zwraca uwagę zbliżony bardzo przebieg rozwoju w hodowlach *a* i *b*. Obydwie one miały jako pożywkę buljon 5%-wy i pozostałe warunki identyczne, oprócz tego, że *b* była hodowana w 8 naczyniach i ulegała mieszaniu i przelewaniu. Przebieg tych krzywych wskazuje niewątpliwie, że mieszanie to nie miało istotnego wpływu na rozwój hodowli.

Krzywa *c* wybiega znacznie w maksimum poza pozostałe i również w ogólnej sumie jednostek dziennych; rozród był tu intensywniejszy i ilość wyprodukowanych osobników większa. Hodowla ta różniła się od

$a$  i  $b$  większą zasobnością pokarmową: rozwijała się na pożywce 10%-ej.

Pomiary Ph w kolejnych momentach rozwoju hodowli dały wyniki następujące. Okresowi najintensywniejszego rozrodu (od dnia 1-go do 6-go) odpowiadało stężenie od 6.8 do 7.2, więc słabo kwaśne, następnie obojętne, aż do słabo zasadowego; spadkowi intensywności rozrodu — zwiększanie się wskaźnika Ph od 7.2 do 7.6, więc właściwości hodowli coraz bardziej zasadowe. Przy Ph 7.6 zaczęła się już, wegetacja hodowli, która trwała przy 8.6 — dalsze pomiary nie były robione.

Serja II miała odpowiedzieć na pytania, jakie znaczenie dla rozwoju hodowli ma początkowa wysokość Ph. Obejmowała ona 4 hodowle, różniące się jedynie początkowym stężeniem jonów wodorowych. Hodowla  $m$ , o stężeniu 5.6, była najbardziej kwaśna,  $n$ , o stężeniu 6.4, mniej kwaśna (kwaśniejsza od hodowli  $a$  —  $d$  z Serji I-ej — 6.8),  $h$  prawie obojętne 6.9 (prawie jednakowo kwaśna z hodowlą  $d$ ) i  $p$  zasadowa, o stężeniu jonów wodorowych 7.7. Pozostałe warunki były wszędzie jednakowe: temp. pokojowa 15—18°C, ilość początkowa 15 osobników w 1 mm<sup>3</sup>, pokarm 5%-wy buljon.

Zestawienie II podaje kolejną i ogólną ilość jednostek dziennych w hodowlach. Wykres II-gi przedstawia stosunki rozwojowe w hodowlach tej serji i zestawiony jest w sposób analogiczny, jak wykres I-szy. Doświadczenie trwało 32 dni, przyczem w ciągu dni 29 — 31 była przerwa. Od dnia 19-go stan hodowli był już w wegetacji, t. zn. ilość wiciowców pozostawała wciąż nieznaczna i jednakowa. W takim stanie wegetacji i tu obserwacje zostały przerwane.

Przebieg krzywej  $h$  jest naogół zbliżony do przebiegu krzywych z wykresu I-go, a w szczególności zbliża się do krzywej  $d$ ; podobne jest nachylenie początkowe i ilość jednostek dziennych, wytworzonych w hodowli za takiż przeciąg czasu (w  $h$  — 21,261 w ciągu 33 dni, w  $d$  — 20,200) Warunki hodowli  $h$  są też niemal identyczne z warunkami hodowli  $d$ , gdyż tylko różni je nieznacznie początkowa kwasowość (w  $h$  Ph = 6.9, w  $d$  Ph = 6.8) Od  $a$  różni je jeszcze temperatura (w  $h$  pokojowa 15—18°C, w  $a$  ciepłarki 20—21°C).

Hodowle  $m$  i  $n$  na wykresie mają krzywe o przebiegu odmiennym od poznanych dotychczas, a przytem do siebie zbliżonym. Są to hodowle o stężeniu jonów wodorowych znacznie mniejszem, niż poprzednie, więc o kwasowości początkowej środowiska znacznie większej (w  $m$  — stęż. jonów wodorow. 5.6, w  $n$  — 6.4) Szczególnie odróżnia się od poznanych dotychczas krzywych, krzywa  $m$  (środowisko najwięcej kwaśne), podczas gdy krzywa  $n$  (środowisko mniej kwaśne, niż  $m$ , a więcej kwaśne, niż  $h$ ) stanowi jakby przejście między  $m$  i  $h$ . Przejściowe te właściwości krzywej  $n$  widzimy w nachyleniu jej początkowym i w jej wysokości. Cechy charakterystyczne krzywej  $m$  (a częściowo i  $n$ ) byłyby (w porównaniu z  $d$  i  $h$ ): znaczniejsze pionowe podniesienie się jej początkowe, wahanie się przez czas dłuższy na tej samej wysokości, mniejszej niż w maksimum krzywych  $d$  i  $h$ , brak jednego wierzchołka, dłuższy okres spadku. Hodowla ta rozwijała się więc w pierwszych chwilach intensywniej, niż  $d$  i  $h$ , ilość wytwor-

rzonych osobników była większa, nie osiągnęła jednak intensywności maksymalnej *d* i *h*, a przez czas dłuższy (od dnia 3-go do 9-go) trwała na osiągniętym przez siebie poziomie. Nasuwa się tu odrazu myśl, że większa kwasowość początkowa spowodowała ów intensywniejszy rozród; ta początkowa intensywność odbiła się jednak na intensywności późniejszej. Krzywa *n*, jak wspomnieliśmy, zajmuje miejsce pośrednie między *h* i *m*, pod każdym względem: wznosi się początkowo mniej stromo, niż *m* i więcej niż *h*, sięga wyżej niż *m* i niżej niż *h*. Pomimo różnic w rozwoju hodowli *h*, *m* i *n* ogólna suma jednostek dziennych, wytworzonych w tych hodowlach, była niemal taka sama (*h* — przez 33 dni trwania hodowli — 21,261, *m* — 21,110, *n* — 19,559).

Śród krzywych, dotyczących rozwoju hodowli *Prowazekia*, jakie mieliśmy w dotychczasowych doświadczeniach, wyróżnić można 2 typy, zasadniczo odmienne, odpowiadające odmiennym kolejom rozwojowym hodowli. Jedne z nich (będziemy je nazywali krzywami typu II—*a*, *b*, *c*, *d*, *h* częściowo *n*) są wyraźnie jednowierzchołkowe, z powoli, mniej więcej równomiernie, wznoszącymi się obu bokami, w pierwszej części więcej stromemi, niż w drugiej. Inny typ (typ III) stanowi krzywa *m*, która wznosi się początkowo ostrzej, niż krzywe typu II-go, potem staje się ząbkowaną na jednej wysokości, niższej niż maksimum w typie II, przez czas dłuższy i wreszcie, nie tworząc pojedynczego wierzchołka, spada powoli.

Na wykresie II-im znajduje się jeszcze krzywa *p*. Reprezentuje ona hodowlę, różniącą się pod jednym względem od innych z tej serji i również od hodowli z serji I-szej: swą zasadowością. Początkowe stężenie jonów wodorowych w hodowli *p* jest  $P_h = 7.7$ .

<i>m</i>	—	5,6
<i>n</i>	—	6,4
<i>a—d</i>	—	6,8
<i>h</i>	—	6,9
<i>p</i>	—	7,7

Przebieg krzywej *p* (nazwiemy ją typem I) pod jednym względem zbliżony jest do krzywych typu II-go: swą jednowierzchołkowością; różni się od krzywych obu typów omówionych: powolnym wznoszeniem się początkowym, mniejszą wysokością i prędszym spadkiem. Pole, zajęte przez tę krzywą, jest zaledwie częścią pola, zajętego przez wszystkie inne krzywe na tym wykresie (i na wykresie I-szym); ilość też jednostek, wytworzonych w hodowli *p*, jest znacznie mniejsza, mianowicie 11,205 (pr. zestawienie II); w stosunku do hodowli *h* jest mniejsza niemal 2 razy. Niewątpliwie możemy już na zasadzie tego doświadczenia wyciągnąć wniosek, że wysoka zasadowość pierwotna hodowli (7,7) stać musi w związku ze słabym jej rozwojem.

**Serja III i IV-ta.** Serje te stanowiły jedno doświadczenie, złożone z 7 hodowli. Zadaniem doświadczenia było bliższe zbadanie zagadnienia, któremu poświęcona już była serja poprzednia, z n a z n e n i a p o c z ą t k o w e g o s t ę ż e n i a j o n ó w H:

Wspólne warunki w hodowlach tych były następujące: 250 cm<sup>3</sup> płynu w każdej, buljon 5%—wy, ilość pierwotna 7,5 osobników o jednym mm<sup>3</sup>,



ZESTAWIENIE II.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji II-ej.

Dnie doświadcz.	<i>m</i>	<i>n</i>	<i>b</i>	<i>p</i>
pocz.	15	15	15	15
1	312	174	160	140
2	1,150	781	281	257
3	1,500	937	687	437
4	1,140	1,140	835	437
5	1,531	1,468	984	500
6	1,250	1,171	1,500	734
7	1,640	1,250	2,000	859
8	1,463	1 578	2,203	793
9	1,562	2,078	2 390	1,312
10	1,392	1,628	2,032	990
11	1,156	1,031	2,054	625
12	655	718	859	281
13	750	601	625	390
14	531	640	468	359
15	593	297	718	359
16	343	125	421	265
17	345	175	250	200
18	371	218	225	140
19	140	312	218	218
20	175	312	225	200
21	218	218	218	140
22	140	175	320	218
23	155	175	140	265
24	175	218	150	218
25	203	235	320	265
26	170	250	359	180
27	110	311	279	110
28	484	375	421	47
29				
30	1,146	750	771	141
31				
32	281	125	93	47
33	110	78	78	63
Suma	21,110	19,559	21,261	11,205

cieplarka o 20—21°C. Różnice polegały na różnym początkowym stężeniu jonów wodorowych. W porównaniu z hodowlami z seryj poprzednich różnice dotyczą: ilości początkowej wiciowców i temperatury doświadczenia. Jak się okazało z rozwoju hodowli ilość początkowa, przynajmniej w zakresie 7,5—15 osobników w 1 mm<sup>3</sup>, wpływu niema; na wykresie, ani w obrachunkach wpływu tego wykazać nie można. Temperatura na intensywność rozrodu wiciowców ma wpływ znaczny; już w Serji I-szej widzieliśmy, że krzywe *a* i *b* szły znacznie wyżej, niż krzywa *d*, podczas gdy jedyną istotną między nimi różnicą było, że pierwsze dwie odpowiadały hodowlom, trzymanym w termostacie w 20—21°C, trzecia w pokoju w t. 15—18°C. I tu więc już z góry z rolą tego czynnika, porównując wyniki serji tej z serjami poprzednimi, liczyć się musimy. Siedem hodowli, użytych w tem doświadczeniu, różniło się w następujący sposób:

Nr. 1	stężenie jonów wodorowych	mniej niż 4,8	—	hodowla kwaśna
" 2	"	"	równe 4,8	" "
" 3	"	"	" 6,2	" "
" 4	"	"	" 6,6	" "
" 5	"	"	" 7,0	" obojętna
" 6	"	"	" 7,3	" zasadowa
" 7	"	"	" 7,8	" "

W opisie i na wykresach odzielimy serję III-cią, o środowiskach kwaśnych (Nr. 1—4) i serję IV-tą, o środowiskach zasadowych (Nr. 5 — 7).

Na wykresie III-im znajdujemy 2 krzywe, których charakter znamy już z wykresu II-go; przypominają one linie *m* i *n*, a w szczególności pierwszą z nich—są to tutaj krzywe Nr. 3 i 4. Należą one również do typu krzywych, który oznaczyliśmy powyżej, jako typ III. Początkowe stężenie jonów wodorowych w tych hodowlach jest też bardzo zbliżone do stężenia początkowego w *m* i *n*; własności środowiska były wszędzie kwaśne:

Nr. 4	stężenie jonów wodorowych	6,6
" <i>n</i>	"	6,4
" 3	"	6,2
" <i>m</i>	"	5,6

Między właściwościami krzywych Nr. 3, 4 a *m*, *n* są też różnice; nie uze wnętrzniają się one tyle w kształcie ogólnym krzywej, ile w jej wysokości (znaczniejszej w hodowlach Nr. 3 i 4), a w konsekwencji i w rozmiarach pola, zakreślonego przez krzywe: ilość jednostek, wytworzonych w hodowlach Nr. 3, 4 jest większa, niż w *m* i *n*. Być może, że przyczyną tego jest wyższa temperatura, w jakiej te hodowle były hodowane. Gdy porównamy ilości jednostek za czas obserwacji 19-dniowych we wszystkich tych hodowlach, znajdujemy:

w ciągu 19 dni	wytworzyło się	jednostek dziennych	<i>m</i> — 17,365
" "	"	"	<i>n</i> — 16,337
" "	"	"	3 — 18,843
" "	"	"	4 — 23,093

Pr. też zestawienie III-cie.

## ZESTAWIENIE III.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji III-ej.

Dnie doświadcz.	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4
początek	7	7	7
1	31	39	77
2	187	781	1,297
3	625	1,359	1,800
4	891	1,734	2,000
5	531	1,406	1,375
6	547	1,520	1,765
7	672	1,623	2,015
8	958	10,93	1,468
9	2,125	1,375	1,562
10	1,953	1,520	1,218
11	2,093	1,156	1,843
12	2,109	1,218	1,562
13	2,343	1,312	1,623
14	1,968	1,171	1,281
15	1,710	1,578	1,062
16	1,171	921	718
17	953	1,450	593
18	671	903	390
19	593	484	437
20	547	450	312
21	375	203	328
22	437	219	281
23	500	178	312
24	656	125	468
25	900	200	480
26	1,296	171	390
27	1,015	161	484
28	625	190	234
29	156	140	234
30	109	62	156
31	31	46	140
32	15	31	100
33	15	31	93
34	8	15	62
35	8	15	31
36	8	8	31
37	16	8	31
38	8	15	15
39	4	8	4
40	0	15	0
41	4	8	4
42	4	4	0
43	0	4	4
44	0	4	4
Suma	28,885	24,502	27,291

Na wykresie, omawianym obecnie, mamy jeszcze krzywą o charakterze, dotychczas nieznanym, oznaczoną liczbą 2. Krzywa Nr. 2 rozpoczyna się słabem stosunkowo wzniesieniem początkowym, za którym idzie depresja i znowu wzniesienie znaczne, trwające przez czas dłuższy; następuje spadek; wzniesienie ponowne pomijam narazie. Krzywa ta ilustruje rozwój hodowli o początkowej kwasowości bardzo znacznej i daleko znaczniejszej, niż w hodowlach dotąd omówionych:

hodowla Nr. 2 — stęż. jonów wodor. 4.8.

Rzeczony rozwój hodowli, ilustrowany przez krzywą, można zrozumieć tylko w ten sposób, że początkowo, pod wpływem zbyt kwaśnego środowiska, był on słaby; dopiero po 8—9 dniach, gdy kwasowość, wskutek rozmnożenia się bakterij i wiciowców, zmalała, nastąpił rozwój intensywny. Ilość jednostek dziennych, wytworzonych w tej hodowli w ciągu 36 dni obserwacji, jest nieco większa, niż w hodowlach, hodowanych równocześnie, Nr. 3 i Nr. 4. Różnica ta, wobec koniecznej nieściśłości obrachunku, nie miałaby istotnego znaczenia; zwrócić trzeba jednak uwagę, że wchodzi tu w grę jeszcze garb, wytworzony przez krzywą w drugiej jej połowie. Wytłomaczenie powstania tego garbu znajdujemy w dalszych doświadczeniach; wskażą nam one, że wywołują go specjalne warunki i że, przy porównaniu z innymi hodowlami tego cyklu, ilość osobników, wytworzona w ciągu dni 23 — 28 ponad przeciętną z tych dwóch dni, winna być od sumy ogólnej odliczona.

Krzywą Nr. 2 zaliczymy do nowego typu, który oznaczymy jako typ IV; przedstawia ona rozwój hodowli o właściwościach odmiennych, niż dotąd omawiane, o środowisku wysoce kwaśnym (Ph. = 4.8 wobec 5.6 — 6.6, w typie III-im).

Na wykresie III-m znajduje się jeszcze zapoczątkowana krzywa Nr. 1; odpowiada ona hodowli Nr. 1, o Ph początkowym mniejszym niż 4.8. W ciągu kilku dni ilość osobników była w niej równa początkowej 7.5 do 15; dnia 7-go hodowla wymarła (pr. bliżej granicy możliwej kwasowości początkowej, str. 313).

Wykres IV ilustruje stosunki w drugiej grupie z tego doświadczenia, zawierającej hodowle, oznaczone numerami 5, 6 i 7. Są to hodowle o środowiskach zasadowych.

Krzywe Nr. 5 i 6 charakterem swym przypominają krzywe typu II-go, więc *a* — *d* i *b*. Krzywa 7, nieco niższa, zbliża się pod tym względem do krzywej *p*. Początkowe stężenie jonów wodorowych w tych hodowlach:

Nr. 5	—	stęż. jonów wodorowych	7,0
„ 6	—	„ „ „	7,3
„ 7	—	„ „ „	7,6

Krzywe ilustrują mniej więcej w jednoznaczny sposób stosunki rozwojowe hodowli słabo zasadowych, takich, jakimi poprzednio już były *b* i *a*—*d*. Z tych hodowli Nr. 7, jako najwięcej zasadowa, w rozwoju swym zbliża się najwięcej do *p*, jednakże, pod względem ilości jednostek

## ZESTAWIENIE IV.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Se-ji IV-ej.

Dnie doświadcz.	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7
początek	7	7	7
1	55	47	39
2	823	671	500
3	1,371	1,200	859
4	1,562	1,945	1,093
5	2,687	2,293	797
6	2,609	1,812	1,015
7	2,015	1,921	1,421
8	1,171	1,422	1,593
9	2,265	1 609	1,171
10	1,093	1,156	937
11	1,500	1,781	1,281
12	1,390	1,406	1,390
13	1 062	1,015	1,109
14	750	1,172	1,040
15	578	734	812
16	250	531	765
17	140	281	625
18	62	281	586
19	71	375	546
20	78	237	500
21	62	125	586
22	156	171	500
23	78	125	703
24	203	156	409
25	300	200	432
26	351	234	456
27	250	140	409
28	156	109	300
29	125	24	156
30	156	77	93
31	265	109	78
32	351	98	82
33	343	62	109
34	156	54	78
35	109	31	78
36	78	31	62
37	64	64	31
38	31	31	62
39	8	16	31
40	8	31	46
41	8	16	31
42	4	8	8
43	0	8	
44	0	0	0
Suma	25,806	22,816	22,830

dziennych, które wytworzyły się w niej, w małym zaledwie stopniu różni się od hodowli Nr. 5 i 6 (pr. zestawienie IV).

Ilość jednostek, które wytworzyły się w tych hodowlach jest następująca:

hodowla Nr. 2	ilość jednost. dziennych	w ciągu dni 44	—	28,885
„ „ 3	„	„	„	— 24,502
„ „ 4	„	„	„	— 27,291
„ „ 5	„	„	„	— 25,806
„ „ 6	„	„	„	— 22,816
„ „ 7	„	„	„	— 22,830

Ilość jednostek dziennych w hodowlach Serji III i IV jest nieco większa, niż była w serji II; łączy się to częściowo z tem, że kontrola była prowadzona dłużej. W hodowlach Serji III i IV ilość jednostek jest niemal jednakowa, choć stwierdzamy, że w dwóch ostatnich hodowlach, o zasadowości znaczniejszej, jest ona najmniejsza. Z drugiej strony ilość jednostek w hodowli Nr. 2 jest zwiększona przez skok w dniach 22 — 29. Jeżeli odliczyć jednostki, obrachowane w ciągu tych dni ponad przeciętną z dni 22 i 29, ilość w hodowli Nr. 2 zmniejszy się o 2000 — 3000 (pr. wyjaśnienie bliższe str. 306).

Wyniki, otrzymane w Serjach III-ej i IV-ej, potwierdzone zostały jeszcze na kilku innych hodowlach, prowadzonych w analogicznych warunkach.

Z doświadczeń, przedstawionych dotychczas, można wyciągnąć pewne wnioski ogólne, dotyczące rozwoju hodowli *Proszekia edax* w zależności od stężenia jonów H<sup>+</sup>; więc od stopnia jej kwasowości bądź zasadowości. Stopień początkowego stężenia jonów H<sup>+</sup> wpływa, jak widzieliśmy, na: początkową intensywność rozrodu (więc na ilość wiciowców, wytwarzających się w hodowli w pierwszych dniach, wyrażającą się na wykresie w nachyleniu początkowej części krzywej), na maksymalną ilość jednostek dziennych (więc na wysokość krzywej, ew. wysokość jej wierzchołka) i na absolutną ilość jednostek, wytworzonych w ciągu trwania hodowli (na wielkość pola, zajętego przez krzywą).

Hodowle omówione można rozsegregować według krzywych, które ilustrują ich przebieg rozwojowy, w następujący sposób:

typ I krzywej:	Przy Ph:		
w temp. pokojowej (15 — 18° C) . . . . .			7.7
typ II:			
w temp. pokojowej . . . . .	6.5,	6.8,	6.9
w temp. cieplarki (20° — 21° C.) . . . . .	6.8,	7.0,	7.3
typ III:			
w temp. pokojowej . . . . .	5.6,	6.4	
w temp. cieplarki . . . . .	6.2,	6.6	
typ IV:			
w temp. cieplarki . . . . .	4.8		

Wnioski byłyby następujące:

Stopień kwasowości bądź zasadowości początkowej hodowli *Prowazekia edax* wpływa w wysokiej mierze na jej rozwój. W doświadczeniach dotychczasowych stężenie jonów  $H^+$  badane było jedynie w granicach od  $pH = 4.8$  do  $7.8$ ; w tych granicach wiciowce się rozwijały. Intensywność początkowa rozwoju hodowli jest największa (w tych samych innych warunkach) przy słabej kwasowości,  $6.2 - 6.6$ . Hodowle, o początkowej kwasowości mniejszej, słabo zasadowe, posiadają początkowy rozwój słabszy, ale prowadzi on stopniowo do znaczniejszej intensywności, która jednak trwa krótko (krzywa spiczasta, jednowierzchołkowa). Hodowle, o kwasowości początkowej większej, (mniej niż  $6.2$ ), rozwijają się słabo przez długi czas; rozwój zaczyna się intensywniejszy, gdy kwasowość środowiska zmaleje. Hodowle, o znacznej zasadowości, rozwijają się słabiej, niż poprzednie i — w przeciwieństwie do wszystkich innych omówionych hodowli — wytwarzają mniejszą ilość osobników.

**Serja V.** Serja ta poświęcona była dalszemu zbadaniu znaczenia jonów  $H^+$ . Składała się z 4 hodowli zwykłych, w butelkach stojących, po  $500\text{ cm.}^3$  płynu w każdej; temp. pokojowa; ilość początkowa wiciowców  $7\frac{1}{2}$  w  $1\text{ mm.}^3$ ; buljon 10%-owy; kwasowość pierwotna  $6.5$ .

Hodowla  $C_1$  pozostawiona była własnemu losowi, hodowle  $C_2$ ,  $C_3$  i  $C_4$ , założone w taki sam sposób jak poprzednia, po 4 dniach posłużyły do specjalnych doświadczeń. Przebieg rozwoju wszystkich tych hodowli ilustruje wykres V i zestawienie V.

Przebieg rozwoju hodowli  $C_1$  (za ciąg dalszy jej możemy uważać hodowlę  $C_{1a}$ ; pr. wyjaśnienie, str. 303), przedstawia na wykresie krzywa, oznaczona literami  $C_1$  i  $C_{1a}$ . Krzywa ta, przedewszystkiem początkowe jej wzniesienie, wskazuje, że mamy do czynienia z krzywą typu II. Jest to hodowla o kwasowości pierwotnej  $6.5$ , odpowiadająca więc temu typowi. Ilość jednostek, wytworzonych w hodowli  $C_1$  (+  $C_{1a}$ ) jest nieco większa, niż w innych analogicznych z serji III-ej; być może, że stoi to w związku z większą zawartością pokarmu (10%) albo większą ilością płynu w hodowli ( $500\text{ cm.}^3$ ).

Z hodowlami  $C_2$ ,  $C_3$  i  $C_4$  zrobione były następujące doświadczenia. Jak wspomniane już było poprzednio, celem przygotowania hodowli o różnym pierwotnym stężeniu jonów wodorowych, do pożywki, doprowadzonej zapomocą dodawania ługu potasowego do zasadowości koło  $7.6$ , dodawany był kroplami kwas solny; stopniując ilość kwasu solnego, można było otrzymać szereg pożywek o różnej skali zasadowości i kwasowości.

## ZESTAWIENIE V.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji V.

Dnie	C <sub>1</sub>		C <sub>2</sub>		C <sub>3</sub>		C <sub>4</sub>	
początek	7		7		7		7	
1	15		15		15		15	
2	359		375		375		375	
3	859		718		718		785	
4	1,250		1,415		1,415		1,843	
5	1,047		1,279		1,279		1,608	
6	1,531		1,640		1,640		1,687	
7	1,313		1,500		1,968		1,797	
8	1,547		1,437		2,015		2,281	
9	1,234		1,421		1,796		1,781	
10	1,375		1,500		1,921		2,531	
11	1,562		1,750		1,921		1,945	
12	1,578		1,640		1,656		2,043	
13	1,400		1,590		1,450		1,875	
14	1,109		1,578		1,281		2,031	
15	1,150		1,093		1,140		2,179	
16	1,000		980		1,100		2,500	
17	890		738		1,171		2,671	
18	1,515		437		875		1,765	
19	1,000		609		671		1,703	
20	1,093		406		671		1,390	
21	797		593		575		1,312	
22	900		700		510		1,410	
23	730		780		530		1,500	
24	312		656		343		1,250	
25	296		546		395		—	
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
25	—	—	—	—	—	—	781	1,935
26	390	1,578	656	1,062	187	1,404	859	3,765
27	296	1,929	540	3,484	250	4,350	840	4,531
28	175	3,750	437	2,734	194	3,000	781	3,437
29	156	1,818	390	2,710	171	1,171	520	2,015
30	78	1,078	400	1,171	184	578	430	640
31	140	400	190	420	150	360	480	360
32	47	230	90	150	140	140	170	110
33	24	75	45	47	90	75	47	48
34	8	15	4	8	4	35	4	8
Suma	27,183	36,742	28,155	37,189	28,818	38,561	45,785	56,933



Celem sprowadzenia pożywki w ilości 500 cm.<sup>3</sup> płynu od Ph=7.8 do Ph = 6.5, trzeba było dodać 10 kropli 10%-ego kwasu solnego. A że w rozwoju hodowli, o początkowej kwasowości 6.5, dochodziło w odwrotnym kierunku do zalkalizowania środowiska, mniej więcej do 7.8, stąd wynikało, że gdyby w rozwoju hodowli takiej dodać jej tyleż właśnie kropli 10%-go kwasu solnego, możnaby utrzymać kwasowość pierwotną na niezmiennym poziomie. Alkaliczacja następowała równorzędnie z wytwarzaniem się wiciowców; w ciągu okresu czynnego rozwoju hodowli przeciętnie wytwarzało się do 30.000 jednostek dziennych wiciowców. Przeciętnie więc biorąc, w miarę wytwarzania się 3.000 jednostek dziennych wiciowców, alkaliczacja zwiększała się w takich rozmiarach, że mogła ją zobojętnić 1 kropla 10%-go kw. solnego.

Wychodząc z tych obrachunków i aby zbadać, jak będzie przebiegał rozwój hodowli, gdy zachowana będzie stała kwasowość pierwotna, do hodowli C<sub>3</sub> były dodawane krople 10%-go kw. solnego co kilka dni, w ilości, odpowiadającej ilości wytworzonych jednostek dziennych wiciowców.

Pierwsza kropla została dodana na 4-ty dzień, gdy ilość jednostek, wytworzonych do tego czasu, wyniosła 2530. Drugi raz dodano 2 krople po 8 dniach, gdy ilość jednostek, wytworzonych od początku, wyniosła 9434; trzeci raz znowu 2 krople po 11 dniach. Do tego czasu więc razem dodano 5 kropli na 15,072 wytworzonych jednostek dziennych. Pionowe linie na wykresie V oznaczają dni, w których był dodawany kwas solny. Jak widać z wykresu V, krzywa C<sub>3</sub>, pomimo takiego zobojętniania tworzącej się zasadowości w środowisku, wskazuje na zanik intensywności hodowli: obniża się ona tak samo, jak wszystkie dotychczasowe krzywe. Po każdorazowym dodaniu kwasu, badana była reakcja środowiska przy pomocy czerwieni obojętnej. Ażeby usunąć przypuszczenie, że ewentualna zbyt duża kwasowość może powodować osłabienie rozwoju, hodowla od dn. 11 zostawiona została przez 7 dni bez zmiany; spadek od dnia 11-go do 18-go jest widoczny. Dnia 18-go znowu dodano kw. solnego, w stosunku wszakże zmienionym, takim, aby jedna kropla wypadła na 4000 jednostek, licząc wszystkie od początku. Wobec tego, że w 18-ym dniu ilość wytworzonych jednostek dosięgła 23,745 (23,745 : 4000 = prawie 6) dodano do poprzednich 5 kropli jeszcze 1 kroplę kwasu. Spadek krzywej, zupełnie równomierny, trwał nadal. Wobec tego w dalszym ciągu nie wpływało już na zmianę stężenia jonów wodorowych zupełnie, krzywa jednak stopniowo opadała. Doświadczenie to niewątpliwie wskazało, że alkaliczowanie się środowiska, w miarę normalnego rozwoju hodowli *Prowazekia*, nie jest jedyną przyczyną, która powoduje obniżenie się intensywności tego rozwoju, a wreszcie jego niemal zupełne zahamowanie.

Ażeby zbadać, w jakim stopniu wpływać może na rozwój hodowli zużycie pokarmu, zrobione zostało doświadczenie następujące. Jeżeli przypuścić, że zużycie pokarmu powoduje stopniowe osłabienie i wreszcie zanik hodowli, to trzeba by przyjąć, że wytworzenie mniej więcej

30,000 jednostek zużywa (przy 10%-ym buljonie, w hodowli o ilości 500 cm<sup>3</sup> płynu) 50 cm<sup>3</sup> buljonu; więc wytworzenie 3,000 jednostek stoi w związku z zużyciem 5 cm<sup>3</sup> buljonu. W doświadczeniu C<sub>2</sub> dodawano, w miarę wytwarzania się jednostek dziennych wiciowców w ilości 3,000, po 5 cm<sup>3</sup> buljonu. Pionowe linje na wykresie oznaczają również dni dodawania buljonu. Jak widzimy, krzywa C<sub>2</sub> przebiega niemal 'zupełnie tak samo, jak krzywa hodowli kontrolnej C<sub>1</sub>. Zwiększenie w dwojnásób pożywienia nie wpływa tutaj na intensywność rozrodu hodowli (w granicach 10% i 20%-go buljonu). Wynika stąd więc ważny wniosek, że przyczyną, powodującą stopniowy zanik hodowli *Prowazekia* nie jest w tym wypadku zmniejszenie się ilości pożywienia. Ilość jednostek dziennych, wytworzonych w ciągu 34 dni trwania trzech hodowli: C<sub>1</sub>(+C<sub>1a</sub>), C<sub>2</sub>(+C<sub>2a</sub>) i C<sub>3</sub>(+C<sub>3a</sub>) (i w tych dwóch hodowlach możemy również uważać C<sub>2a</sub> za ciąg dalszy C<sub>2</sub>, a C<sub>3a</sub> za ciąg dalszy C<sub>3</sub>) jest niemal jednakowa, pomimo iż pierwsza pozostawiona była swemu losowi i ilość pokarmu zużywała się w niej, a kwasowość pierwotna ustępowała zasadowości, zaś w drugiej ilość pokarmu pozostawała mniej więcej bez zmiany, a w trzeciej alkaliczacja była zahamowana.

Ilość jednostek dziennych, wytworzonych po 34 dniach:

w hodowli	C <sub>1</sub> (+ C <sub>1a</sub> )	— 27,183
"	C <sub>2</sub> (+ C <sub>2a</sub> )	— 28,155
"	C <sub>3</sub> (+ C <sub>3a</sub> )	— 28,810

Czwarta hodowla z tej serji, C<sub>4</sub>, łączyła w sobie doświadczenie C<sub>2</sub> i C<sub>3</sub>: w miarę przybywania jednostek dziennych, dodawany był do hodowli co kilka dni buljon 5%-owy i kwas solny 10%-owy, początkowo w stosunku 1 cm<sup>3</sup> i 1 kropli na 3,000 jednostek, potem w takiej samej ilości na 4,000 jednostkiienne. Charakter krzywej C<sub>4</sub> w zasadzie nie różni się od charakteru krzywych C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> i C<sub>3</sub>, jest ona jednak więcej wzniesiona; ilość jednostek wytworzonych jest większa. Stanowi ona w hodowli C<sub>4</sub>(+C<sub>4a</sub>) — 45,196. I tu wszakże intensywność rozrodu jest ograniczona i, pomimo utrzymania początkowej kwasowości środowiska i stałego dostarczania pokarmu, rozwój hodowli został zahamowany, intensywność stopniowo malała i wreszcie hodowla doszła do stanu, oznaczonego przez nas powyżej mianem wegetacji. Od czego zależne było, że jednak ilość jednostek, tu wytworzonych, jest większa od tej, którą widzieliśmy w trzech pozostałych hodowlach, trudno określić: być może, że przygodne warunki były korzystniejsze lub że istotnie zmiana ilości pożywienia albo kwasowości wywołała ten skutek. Doświadczenie to zasadniczo jednak wpłynąć na wyniki nasze nie może, gdyż i ono wskazuje, że poza pokarmem i stopniem stężenia jonów wodorowych jest jeszcze czynnik w hodowli, który warunkuje jej rozród i że usunięcie możliwości zmiany tamtych dwóch czynników nie może wpłynąć na stopniowy zanik żywotności hodowli.

Czynnikiem takim, jak wiemy skądinąd, może być: nagromadzenie się produktów przemiany materji płynnych i gazowych oraz brak dostatecznej ilości tlenu. Doświadczenie, jakiemu poddane zostały wszystkie cztery hodowle w dniach 24 i 25-ym ich trwania, wskazują na znaczenie niektórych z tych czynników.

W 24-ym dniu trwania hodowli  $C_4$ , odlano część płynu z butelki po uprzednim dokładnem jego zmieszaniu, w ilości  $65 \text{ cm}^3$ , do drugiej takiej samej butelki. W starej hodowli pozostało obecnie  $300 \text{ cm}^3$  płynu. Suma tych dwóch ilości nie odpowiada pierwotnej ilości płynu w hodowli  $C_4$ , podczas jej zakładania ( $500 \text{ cm}^3$ ); ubytek został spowodowany przez stopniową stratę płynu podczas brania prób do obliczeń. Butelka z nową hodowlą, nazwaną  $C_4 b$ , położona została na płasko, podczas gdy dawna, obecnie  $C_4 a$ , pozostawiona została w pozycji stojącej. W dawnej hodowli mieliśmy obecnie  $300 \text{ cm}^3$  płynu przy wysokości jego  $5,45 \text{ cm}$ , a powierzchni  $55 \text{ cm}^2$ ; w nowej  $65 \text{ cm}^3$  przy wysokości  $0,32 \text{ cm}$ , a powierzchni  $200 \text{ cm}^2$ . Stosunek głębokości płynu w obydwu hodowlach przedstawiał się jak  $5,45 : 0,32$ , czyli prawie jak  $17 : 1$ . W hodowli starej,  $C_4 a$  nie nastąpiła zasadnicza zmiana w rozwoju; krzywa  $C_4 a$  wznosi się nieznacznie, jednak wkrótce znów spada. W hodowli  $C_4 b$  nastąpił gwałtowny rozród, trwający kilka dni, osiągając maksimum w dniu 3-im; wskazuje na to krzywa  $C_4 b$  na wykresie. Ilość jednostek, wytworzonych w  $1 \text{ mm}^3$ , doszła do 4531, liczby, której nie mieliśmy w żadnym dotąd wypadku. Po 10 dniach i ta hodowla przeszła w stan wegetacji.

Z doświadczenia tego wyprowadzić trzeba wniosek, że w pierwotnej hodowli  $C_4$ , pomimo jej zanikania, nie brakowało pokarmu dla wiciowców, ani stężenie jonów wodorowych nie było nieodpowiednie dla rozrodu pierwotniaków; zanikanie hodowli nie było więc zależne ani od braku pokarmu, ani od zbytnej zasadowości środowiska. Inny czynnik musiał tu odgrywać rolę, a był nim stosunek wielkości wolnej powierzchni płynu do jego objętości, więc łatwość dostępu tlenu do hodowli i możność usuwania z niej gazowych produktów przemiany materji. Po pewnym czasie nastąpił znów zanik hodowli; można przypuszczać, że z kolejnym czynnikiem, który tu wchodzi w grę, staje się nagromadzenie płynnych produktów rozpadu. W dniu następnym (25-ym) zrobione zostały analogiczne doświadczenia z hodowlami  $C_3$ ,  $C_2$  i  $C_1$ . Stosunek objętości płynu w tych nowych hodowlach  $C_3 b$ ,  $C_2 b$  i  $C_1 b$  do starych  $C_3 a$ ,  $C_2 a$ ,  $C_1 a$  był taki sam, jak w hodowlach  $C_4 b$  i  $C_4 a$ . Przebieg rozwoju tych hodowli ilustrują odpowiednie krzywe na wykresie V i zestawienie V. Dają one wynik zupełnie zgodny z tem, co otrzymaliśmy w hodowli  $C_4$ . Wobec tego, że w hodowlach  $C_4 a$  —  $C_4 b$  nie nastąpił wzmózony przyrost, odlanie  $65 \text{ cm}^3$  nie miało widocznego wpływu. Mogliśmy też, nie popełniając wielkiego błędu, hodowle te uważać za ciąg dalszy hodowli  $C_1$  —  $C_4$ .

Czynnikiem decydującym w rozwoju hodowli *Prowazekia edax* zdaje się być nie ilość pokarmu (przy istnieniu pewnego minimum), ani stężenie jonów wodorowych (o ile nie przekracza ono granic zasadniczych możliwości rozwoju), ani wreszcie stosunek powierzchni hodowli do objętości. Przy wystarczającej ilości pokarmu, przy odpowiednim do rozwoju stężeniu jonów H<sup>+</sup>, przy najkorzystniejszym stosunku powierzchni hodowli do jej objętości, następuje zanik hodowli — czynnikiem decydującym w tych warunkach zdaje się być nagromadzenie produktów przemiany materji.

Celem bliższego poznania znaczenia stosunku powierzchni hodowli do jej objętości wykonane zostały doświadczenia serii VI-ej.

**Serja VI.** obejmuje 3 hodowle, oznaczone literami E<sub>1</sub>—E<sub>3</sub>. Warunki wspólne: temp. pokojowa, ilość początkowa wiciowców 15 w 1mm<sup>3</sup>, buljon 5%-owy, Ph = 6,9. Hodowle trzymane były w butelkach stojących. Hodowla E<sub>3</sub> odpowiadała mniej więcej hodowli b z Serji II-ej. Różnice między E<sub>1</sub> — E<sub>3</sub> dotyczyły ilości płynu w hodowli i stosunku powierzchni do objętości. E<sub>1</sub> zawierała 750 cm<sup>3</sup> = 55 cm<sup>2</sup> × 13,6 cm; E<sub>2</sub> — 500 cm<sup>3</sup> = 55 cm<sup>2</sup> × 9,09 cm, E<sub>3</sub> — 250 cm<sup>3</sup> = 55 cm<sup>2</sup> × 4,5 cm.

Zestawienie VI i wykres VI ilustrują przebieg rozwoju omawianych hodowli. Wszystkie one obserwowane były w normalnym swym stanie aż do dnia 16-go i 18-go. W dniach tych poddane zostały takim samym doświadczeniom, jakie wykonaliśmy w Serji V-ej. Rozwój hodowli już w ciągu pierwszych 16 dni wskazuje najwidoczniej na wpływ stosunku powierzchni do objętości. Intensywność początkowa największa jest w hodowli E<sub>3</sub>, stosunkowo naj płytszej, mniejsza w E<sub>2</sub> i najmniejsza w E<sub>1</sub>. Intensywność maksymalna jest większa w hodowlach głębszych, (E<sub>2</sub>, E<sub>1</sub>) jednak następuje później, niż w płytszych (E<sub>3</sub>); wiemy, że w hodowlach bardziej płytkich, niż E<sub>3</sub> (np. C<sub>1b</sub>—C<sub>4b</sub>) intensywność maksymalna staje się znowu większa i występuje wcześniej.

Doświadczenia, wykonane w hodowlami E<sub>1</sub>—E<sub>3</sub> w dniach 16-ym i 18-ym, pozwalają na potwierdzenie wniosków, wysnutych już w serji V-ej. Od każdej z hodowli (od E<sub>1</sub> i E<sub>3</sub> dnia 16-go, a od E<sub>2</sub> dnia 18-go) odlane zostało po 25 cm<sup>3</sup> płynu i przelane do płaskiej butelki. W odszczepionych hodowlach E<sub>1b</sub>, E<sub>2b</sub> i E<sub>3b</sub> widzimy intensywny rozród. Ilość absolutna wynosi:

w E <sub>1</sub> + E <sub>1b</sub>	—	33,352	za czas dni	31
„ E <sub>2</sub> + E <sub>2b</sub>	--	31,928	„ „	31
„ E <sub>3</sub> + E <sub>3b</sub>	—	27,712	„ „	39

przyczem hodowle pierwsza i druga w dniu 32-im wymarły, zaś hodowla trzecia w momencie, gdy przerwane zostały obserwacje, była jeszcze w stanie wegetacji.

Na wykresie znajdują się ponadto krzywe, oznaczone literami E<sub>1a</sub>—E<sub>3a</sub>; odpowiadają one rozwojowi dawnych hodowli E<sub>1</sub>—E<sub>3</sub> po odlaniu

## ZESTAWIENIE VI.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji VI-ej.

Dnie	$E_1$		$E_2$		$E_3$	
początek	15		15		15	
1	15		15		30	
2	156		109		500	
3	210		418		1,171	
4	421		1,023		1,381	
5	781		921		1,815	
6	1,171		1,425		1,415	
7	1,484		1,718		843	
8	1,656		1,656		1,218	
9	1,875		1,937		1,562	
10	1,900		2,100		1,012	
11	2,015		2,195		1,200	
12	2,062		2,343		625	
13	2,031		2,656		390	
14	1,500		1,750		375	
15	1,050		1,300		424	
16	890		265		453	
17	—		234		—	
18	—		234		—	
	$a$	$b$	$a$	$b$	$a$	$b$
17	425	1,380	—	—	378	1,100
18	187	2,812	—	—	187	2,273
19	281	3,125	437	1,875	843	2,906
20	265	3,687	375	2,140	1,250	2,156
21	265	1,250	300	1,703	512	2,343
22	215	525	281	1,475	175	1,275
23	175	425	265	957	215	250
24	93	281	265	300	145	215
25	93	265	187	215	93	156
26	78	175	215	251	93	93
27	93	109	187	215	109	62
28	156	32	124	187	187	46
29	78	32	175	140	93	46
30	78	16	140	93	109	62
31	63	16	187	63	215	46
32	63	0	187	0	320	16
33	32	—	171	—	336	46
34	63	—	234	—	93	32
35	—	—	—	—	—	—
36	} 256	—	} 624	—	} 202	} 128
37		—		—		
38		—		—		
39	63	—	78	—	8	32
Suma	22,254	33,352	26,746	31,928	20,072	27,712

od nich po 25 cm<sup>3</sup> płynu. Jak widać z przebiegu tych krzywych, na rozwój hodowli E<sub>1</sub> i E<sub>2</sub> odlanie po 25 cm<sup>3</sup>, wobec znacznej początkowej ilości płynu, żadnego niemal wpływu nie wywarło: widzimy zaledwie nieznaczne wzniesienie się krzywych w dniach 19—22-im. Na rozwój hodowli E<sub>3</sub> odlanie to miało jednak wpływ, gdyż w ciągu dni 18—22 wytworzyła krzywa E<sub>3a</sub> dość znaczny garb: wobec mniejszej ilości płynu w hodowli E<sub>3</sub> (początkowo 250 cm<sup>3</sup>) odlanie 25 cm<sup>3</sup> wytworzyło znaczną różnicę w stosunku powierzchni do objętości i spowodowało intensywniejszy rozród. Garb, wytworzony w krzywej E<sub>3a</sub>, przypomina wzniesienia na krzywych, dotyczących niektórych hodowli z poprzednich seryj, np. z serji III-ej, hodowli Nr. 2; wzniesienia te mogły być wytworzone i tam przez utratę znacznej ilości płynu, użytego do mierzeń Ph.

Serja VI potwierdza wnioski, jakie wysnuliśmy już poprzednio co do znaczenia stosunku powierzchni hodowli do jej objętości dla początkowej intensywności rozwoju, która staje się tem większa, im płytsza jest hodowla; ponadto na hodowlach E<sub>1</sub> — E<sub>3</sub> widzimy, że intensywność maksymalna staje się większa w hodowlach głębszych, występuje jednak później, niż w płytszych.

Serja VII pozwala poznać dokładniej znaczenie pokarmu dla rozwoju hodowli *Prowazekia edax*. Obejmuje ona 16 hodowli, oznaczonych liczbami 1—16. Wspólne ich właściwości: 25 cm<sup>3</sup> płynu, rozlanego płasko w butelce, o powierzchni 200 cm<sup>2</sup>, wysokości płynu 0,12 cm; temperatura cieplarki 20—21°C; ilość początkowa wiciowców 15 w 1 mm<sup>3</sup>. Różnice polegają na różnej procentowości buljonu. Hodowle te zawierają:

hodowla Nr.	—	300%-owy buljon		
1	—	300	„	„
2	—	270	„	„
3	—	240	„	„
4	—	180	„	„
5	—	150	„	„
6	—	75	„	„
7	—	60	„	„
8	—	50	„	„
9	—	40	„	„
10	—	30	„	„
11	—	20	„	„
12	—	10	„	„
13	—	5	„	„
14	—	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	„	„
15	—	1	„	„
16	—	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	„	„

Buljon 300% stanowi zgęszczoną pożywkę, przygotowywaną w Zakładzie Epidemjologicznym, przed zwykłym rozcieńczeniem jej wodą.

Wykres VII i Zestawienia VII A i B wskazują na przebieg rozwoju hodowli. Pozwalają one na stwierdzenie związku między ilością pokarmu:

1) a maksymalną ilością jednostek dziennych w hodowli, 2) długością jej trwania, 3) absolutną ilością wytworzonych wiciowców i wreszcie 4) intensywnością początkową ich rozwoju. (Por. Zestawienie VII a).

Najwyższą maksymalną ilość jednostek dziennych znajdujemy w hodowlach Nr. 9 i 8, t. j. zawierających 40% — 50%-owy buljon; począwszy od tego stężenia buljonu, zarówno w hodowlach o większym jego stężeniu, jak i mniejszem, ilość maksymalna jednostek dziennych stopniowo maleje. Ilość ta, w hodowlach z 40%-ym buljonem wynosi 26,250 jednostek w 1 mm<sup>3</sup> w 3-im dniu rozwoju (pr. Zestawienie VII b), w hodowlach z 50%-ym buljonem wynosi 24,875 jednostek i również w 3-im dniu. Maksymalna ilość w hodowli z 1/2%-ym buljonem wynosi 1437 jednostek w 5-ym dniu i z 300%-ym buljonem 2582 w 3-im dniu.

Znaczna ilość maksymalna jednostek w hodowlach Serji VII-ej, w porównaniu z małą ilością w Serjach poprzednich, odpowiada wynikom, dotyczącym znaczenia stosunku powierzchni hodowli do jej objętości, uzyskany z doświadczeń Serji VI-ej i V-ej.

Sprawa cząsotrwania hodowli musi być traktowana oddzielnie w stosunku do hodowli Nr. 1—10 i Nr. 11—16. Hodowle pierwszej grupy wymarły:

Nr. 10	—	w 11 dni
„ 9	—	„ 10 „
„ 8	—	„ 8 „
„ 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1	—	„ 7 „

W drugiej grupie, w ciągu 20 dni obserwacji nie wymarła żadna z hodowli, jednakże od dnia 8—11-go wszystkie przeszły w stan wegetacji.

Inne też były właściwości morfologiczne i fizjologiczne osobników obu grup w drugiej połowie ich okresu rozwojowego. W pierwszej grupie wiciowce dorastały do znacznych rozmiarów, 25 — 30μ na długość i ginęły wskutek stopniowej wakuolizacji; w drugiej — rozmiary osobników stawały się z każdym dniem mniejsze, dochodziły do 5 — 3μ na długość, wiciowce jednak w hodowli nie ginęły, choć były bardzo nieliczne. W hodowlach pierwszej grupy wiciowce wymierały, pomimo masowego rozwoju bakterij. Przyczyną mogło być działanie produktów przemiany materji, wytwarzanych przez bakterje, a ewentualnie zatrucie toksynami z buljonu. Za przeważającym znaczeniem produktów przemiany materji zdaje się przemawiać nadzwyczaj obfity rozwój bakterij i znaczna intensywność początkowa, nawet w hodowlach o wysokiej procentowości buljonu. Wniosek ten popierają też wyniki, uzyskane z serji V, wykazujące, że zahamowanie rozwoju hodowli, przy nadmiarze pokarmu, zależy może od zmian, jakie w niej następują w miarę rozmnażania się bakterij i wiciowców. Przyczyną zmniejszania się osobników i słabego ich rozrodu w drugiej grupie był niewątpliwie brak pokarmu.

Z grupy I-szej wyróżniającej właściwości posiadały hodowle Nr. 9 i 10. W tych dwóch hodowlach wiciowce nie dorastały do tak znacznych rozmiarów, jak w hodowlach Nr. 1 — 8, wymierały jednak również przez wakuolizację; hodowle te trwały też najdłużej wśród grupy I-szej; bakterij była ilość nieznaczna. Można stąd wyprowadzić wniosek, że w hodowlach

## ZESTAWIENIE VIIa.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji VIIa.

Dnie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pocz.	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
1	219	203	251	203	267	325	203	460	375	396
2	359	453	593	812	1,250	3,750	4,500	8,625	4,750	5,625
3	2,582	4,687	6,062	8,750	9,750	13,875	18,750	24,875	26,250	10,125
4	1,312	3,000	3,625	8,125	6,500	10,937	7,125	11,528	16,367	15,000
5	937	1,874	3,500	3,875	1,406	5,625	3,625	9,500	10,742	13,476
6	8	8	160	1,600	1,390	500	16	937	1,875	11,250
7	0	0	0	0	0	0	0	16	312	1,125
8	—	—	—	—	—	—	—	0	16	250
9	—	—	—	—	—	—	—	—	16	62
10	—	—	—	—	—	—	—	—	0	16
11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Suma	5,432	10,240	14,206	23,380	20,578	35,027	34,234	57,956	60,718	57,340
	11	12	13	14	15	16				
pocz.	15	15	15	15	15	15				
1	312	297	265	312	265	32				
2	7,625	6,875	3,000	5,250	2,187	46				
3	11,250	12,225	5,500	5,500	1,500	468				
4	17,125	12,250	8,000	5,250	1,250	1,250				
5	10,750	12,734	6,531	2,000	781	1,437				
6	8,500	6,250	4,125	2,187	750	675				
7	5,625	5,500	3,750	1,562	562	641				
8	234	1,062	2,187	468	500	312				
9	145	312	1,872	936	219	160				
10	687	160	1,600	875	160	187				
11	192	80	176	516	160	219				
12	63	46	96	390	160	340				
13	46	96	219	250	235	160				
14	16	192	436	460	320	125				
15	78	175	328	266	250	160				
15	109	125	266	328	160	96				
17	218	125	234	312	96	78				
Suma	62,990	58,520	38,594	26,877	9,570	6,351				



## ZESTAWIENIE VIIb.

Maksymalna ilość jednostek dziennych w hodowlach Serji VII.

Hodowla Nr.	Dnie	Ilość maks.
1	3	2,582
2	3	4,687
3	3	6,062
4	3	8,750
5	3	9,750
6	3	13,875
7	3	18,750
8	3	24,875
9	3	26,250
10	4	15,000
11	4	17,125
12	5	12,734
13	4	8,000
14	3	5,500
15	2	2,187
16	5	1,437

o buljonie 30 — 40-l-ym nastąpiło najkorzystniejsze wyzyskanie pokarmu: bakterje nie powstawały, w stosunku do potrzeb wiciowców, w nadmiarze, a równocześnie wiciowce nie głodziły się. Poza temi hodowlami, wszystkie, zawierające buljonu więcej, niż 40%, miały bakteryj ponad miarę, mogącą być użytą przez wiciowce, wszystkie, mające buljonu mniej, niż 30%, były hodowlami głodzonemi.

Absolutna ilość wytworzonych wiciowców może być rozpatrywana: w hodowlach Nr. 1 — 10 aż do chwili ich wymarcia (w ciągu 7—11 dni), w hodowlach pozostałych za okres najintensywniejszego ich życia (do 17-go dnia); okres wegetacji z powodu trudności technicznych nie był już brany pod uwagę. W hodowlach I-szej grupy największą ilość absolutną wiciowców znajdujemy w hodowli Nr. 9. (60.718 jednostek), Nr. 8 (57.956 jedn.) i Nr. 10 (57.340 jedn.), więc w tych, które najlepiej wyzyskały pożywkę (pr. Zestawienie VII a). W hodowlach, w których ilość pokarmu była większa, stopniowo malała też ilość absolutna wytworzonych jednostek, dochodząc w hodowli Nr. 1 (300% buljonu) do liczby 5.432. W drugiej grupie ilość absolutna jednostek, obrachowana za czas 17 dni, malała w miarę zmniejszania się ilości pokarmu, dochodząc do liczby 6.351 w hodowli Nr. 16 ( $\frac{1}{2}$ owy buljon), ponadto osobniki te były znacznie mniejsze, niż w grupie I-szej.

Intensywność początkowa w rozwoju omawianych hodowli była największa w hodowlach Nr. 7 — 12, a w szczególności w hodowlach Nr. 8 i 9. Dokładniejsze ustalenie różnic między temi hodowlami jest niemożliwe. Przyczyną tych trudności jest okoliczność, iż na wzmoczenie się znaczne intensywności początkowej miała wpływ przede wszystkim płytkość hodowli i ten czynnik zacierał w obserwacji wpływ ilości pożywienia. Do badań nad intensywnością początkową odpowiednie są hodowle, w których rozwój z innych względów następuje wolniej, więc głębsze i zawierające mniej pożywienia.

Z doświadczeń tych wypływają następujące wnioski. Hodowle Serji VII można podzielić na dwie grupy: mające małą ilość pokarmu (przy nieznacznej procentowości buljonu i małej ilości bakteryj) i nadmiar pokarmu (przy wysokiej procentowości buljonu). W pierwszej grupie hodowle rozwijają się tem słabiej, im mniej jest bakteryj, przyczem hodowle nie wymierają, a przechodzą w stan długo trwającej wegetacji, objawiającej się w występowaniu stale nieznacznej ilości osobników, których rozmiary stopniowo maleją — hodowle takie uznać musimy za hodowle głodzone. W drugiej grupie hodowle rozwijają się tem słabiej i tem szybciej wymierają, im większa jest procentowość buljonu; wymieranie odbywa się z objawami zwyrodnienia; przyczyną jego zdają się być przede wszystkim produkty przemiany materji, wytworzone przez masowo rozwijające się bakterje (por. str. 307). Hodowle, w których następuje najintensywniejszy rozród, przy równoczesnem wyzyskaniu pokarmu, są to hodowle o średniej procentowości buljonu, jak w doświadczeniach Serji VII-ej, 30 — 50%-ym.

Serja VIII miała za zadanie sprawdzenie wyników, otrzymanych w Serji VII przy równoczesnej zmianie temperatury, w której hodowle były trzymane, na niższą. Pozwala więc ona również poznać wpływ temperatury na rozwój *Prowazekia edax*.

Obejmuje ona tak samo 16 hodowli, oznaczonych liczbami 1 — 16. Wspólne właściwości hodowli 25 cm.<sup>3</sup> płynu, rozlanego w butelce płasko, o powierzchni 200 cm.<sup>2</sup>, wysokości płynu 0.12 cm.; temperatura chłodni 6° — 9° C; ilość początkowa 15 wiciowców w 1 mm.<sup>3</sup>. Różnice w procentowości buljonu takie same, jak w Serji VII (pr. str. 306). Wykres VIII i Zestawienie VIII pozwalają na poznanie rozwoju tych hodowli. Hodowle te potwierdzają najzupełniej wnioski, wyprowadzone z Serji VII. I tu również najwyższa ilość maksymalna występuje w hodowlach, zawierających buljon 30 — 50%-owy. Najwyższa intensywność początkowa występuje w analogicznych hodowlach,

ZESTAWIENIE VIIIa.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji VIII.

Dnie	1	2	3	4	5	6	7	8
pocz.	15	15	15	75	15	15	15	15
1	32	93	93	139	160	125	125	160
2	483	500	812	1,033	812	687	187	250
3	718	843	1,500	1,720	1,875	2,117	1,875	2,562
4	750	1,250	1,750	3,500	3,760	8,750	5,750	7,500
5	421	875	2,500	3,123	3,722	10,875	12,000	8,875
6	656	750	1,552	2,965	2,625	12,125	12,750	15,750
7	160	240	875	2,805	1,340	5,250	12,500	11,500
8	0	160	750	1,402	1,737	2,000	9,375	11,340
9	—	80	96	320	360	1,953	4,687	5,625
10	—	0	0	0	0	0	3,375	2,375
11	—	—	—	—	—	—	265	145
12	—	—	—	—	—	—	0	16
13	—	—	—	—	—	—	—	0
Suma	3,235	4,306	9,953	17,084	16,906	43,897	62,904	66,113
	9	10	11	12	13	14	15	16
pocz.	15	15	15	15	15	15	15	15
1	160	109	75	75	75	140	62	109
2	312	218	187	343	421	750	625	93
3	2,812	2,117	2,062	1,000	1,375	2,000	1,562	1,250
4	6,750	7,125	8,500	3,150	4,375	2,160	1,875	500
5	7,875	9,062	8,900	3,125	2,187	937	1,250	937
6	10,500	13,125	14,125	1,750	1,875	1,250	962	625
7	9,062	11,875	7,662	1,835	1,062	625	437	312
8	8,312	4,375	3,750	781	343	234	625	593
9	9,374	5,718	4,125	265	156	265	468	195
10	5,625	3,750	2,500	215	239	265	902	328
11	2,124	2,500	2,016	192	160	265	701	328
12	437	1,562	1,875	160	160	250	460	236
13	0	437	560	187	320	109	320	218
14	—	0	16	187	187	203	230	160
15	—	—	16	245	215	160	460	144
16	—	—	0	430	192	144	460	160
17	—	—	—	—	—	—	245	218
Suma	63,358	61,988	56,384	13,955	13,457	9,772	11,739	6,421

## ZESTAWIENIE VIIIb.

Maksymalna ilość jednostek dziennych w hodowlach Serji VIII.

Hodowla Nr.	Dnie	Ilość maks.
1	4	750
2	4	1,250
3	5	2,500
4	4	3,500
5	4	3,760
6	6	12,125
7	6	12,750
8	6	15,750
9	6	10,500
10	6	13,125
11	6	14,125
12	4	3,125
13	4	4,375
14	4	2,160
15	4	1,875
16	3	1,250

20 — 75%-ych. Czas trwania hodowli jest nieco dłuższy, jednak i tu można je podzielić na dwie prawie takie same grupy: hodowle Nr. 1 do 10 włącznie, które wymarły w ciągu maksimum 15 dni i Nr. 12—16, które w dniach od 9 — 12 przeszły w stan wegetacji.

hodowla Nr. 11	wymarła w	16 dni
" " 10	—	14 "
" " 9 i 8	—	13 "
" " 7—2	—	od 12 — 10 dni
" " 1	—	w 7 dni

Najwyższą absolutną ilość jednostek znajdujemy w hodowlach Nr. 6 — 11.

Różnice zasadnicze w rozwoju hodowli z Serji VIII (w temp. 6° C.) i VII (w temp. 20 — 21° C.) polegają na tem, że: w temperaturze niższej czas trwania hodowli jest dłuższy, niż w wyższej i że ilość maksymalna jednostek jest znacznie mniejsza, niż w temperaturze wyższej. Co do ilości absolutnej jednostek i intensywności początkowej, doświadczenie to nie pozwala wyciągnąć żadnych wniosków.

	w temp. 6° — 9° C.	w temp. 20° — 21° C
najwyższa ilość maksymalna	15.750	26.250
czas trwania hodowli Nr. 1—11	8 — 16 dni	7 — 11 dni.

**Serja IX** obejmuje szereg doświadczeń, mających na celu poznanie granic Ph, w których żyć mogą hodowle *Prowazekia edax*. Dla doświadczeń tych szczególnie korzystna jest okoliczność, że hodowle, rozlane płasko, zawierające 30 — 50% owy buljon, mają wogóle najkorzystniejsze warunki i w kilku dniach kończą swój rozwój: umożliwia to szybkie przeprowadzenie doświadczeń.

W serjach poprzednich było stwierdzone, że *Prowazekia edax* może się rozwijać o Ph początkowym, równem 5.6 śród kwaśnych środowisk i 7.7 śród zasadowych. Celem dokładnego stwierdzenia granicy możliwej kwasowości został założony szereg hodowli o Ph = 4,5 i wyżej, w temperaturze 20 — 22° C., przy 25 cm.<sup>3</sup> płynu, i buljonie 30% (Serja K.).

### Serja K.

Hodowla o Ph początkowym	Ilość jednostek dziennych				
	początk.	po 1 dniu	po 2 dniach	po 3 dniach	po 4 dniach
4.5	15	—	—	—	0
4.6	15	—	—	0	0
4.7	15	—	—	—	0
4.8	15	—	8	64	3,500
4.9	15	—	8	64	4,612
5.3	15	—	16	1,280	8,750

Z doświadczeń Serji K wynika, że granicę kwasowości, przy której możliwy jest rozwój *Prowazekia edax* (w temp. 20 — 22° C., w ilości 25 cm.<sup>3</sup> płynu płasko rozlanego, w buljonie 30%) stanowi Ph = 4.8.

Ażeby stwierdzić granicę zasadowości, w której następuje wymieranie hodowli, obrachowywane było Ph licznych hodowli w dniu zniknięcia w nich pierwotniaków.

Serje M. i N. obejmowały razem 18 hodowli o różnym początkowym Ph, od 4.8 do 9.6. Wspólne właściwości tych hodowli były: 25 cm.<sup>3</sup> płynu, buljon 30%, termostat 20 — 22° C.

### Serje M i N.

Nr. hodowli	Ph początkowe	Ph końcowe	Nr. hodowli	Ph początkowe	Ph końcowe	Nr. hodowli	Ph początkowe	Ph końcowe
1	4.8	8.9	7	7.6	9.0	13	8.9	9.1
2	4.9	8.8	8	7.9	9.0	14	9.0	9.1
3	5.3	8.9	9	8.1	9.1	15	9.1	9.1
4	6.3	9.0	10	8.4	9.0	16	9.3	9.3
5	6.8	9.1	11	8.5	9.1	17	9.5	9.3
6	7.5	9.1	12	8.8	9.1	18	9.6	9.3

Serja O obejmowała 5 hodowli, mających to samo stężenie jonów H<sup>+</sup> początkowe, a różniących się ilością pokarmu. Warunki wspólne były tutaj: Ph = 6.8, ilość płynu 25 cm.<sup>3</sup>, temp. 20 — 22° C. Ilość pokarmu różna: 300% — 150% — 75% — 50% — 30%. Wyniki otrzymano następujące:

### Serja O.

Ilość buljonu	Ph. w momencie zamarcia hodowli
300 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	8.7
150 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	8.7
75 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	8.8
50 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	8.8
30 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	8.9

Z tych dwóch doświadczeń wyciągnąć można przedwszystkiem wniosek, że hodowle *Prowazekia edax* wymierają przy różnym stopniu zasadowości. Przytem hodowle, o wszystkich innych jednakowych warunkach, mające niższe początkowe Ph, wymierają również, jak się zdaje, przy niższym Ph. Również Serja O wskazuje, że procentowość buljonu ma wpływ na wysokość Ph, przy którym hodowlą zamiera. Wreszcie zwraca uwagę, że hodowle o bardzo wysokiej zasadowości, 9.5 — 9.6, wymierają przy Ph mniejszym, niż było początkowe.

Ażeby zbadać, czy poza wysoką zasadowością niema jeszcze innego czynnika, który uniemożliwiałby rozwój, zrobione zostało następujące doświadczenie. Hodowla, która wymarła przy Ph = 9.0, została zakwaszona do Ph = 8.6 i zaszczipiona ponownie wiciowcami. W ciągu dwóch dni wiciowców znaleźć w hodowli nie można było. Na trzeci dzień ta sama hodowla została rozcieńczona wodą wodociągową sterylizowaną do połowy i powtórnie zaszczipiona nowymi wiciowcami; następnego dnia zjawily się wiciowce w ilości 160 w 1 mm.<sup>3</sup>, lecz na drugi dzień już wymarły. Doświadczenie to wskazuje niewątpliwie, że nie jedynie wysokość Ph jest czynnikiem uniemożliwiającym po pewnym czasie rozwój hodowli. Jakkolwiek stężenie jonów H<sup>+</sup> ma znaczenie dla intensywności rozwoju, to jednak poza niem muszą być inne czynniki, leżące wśród produktów przemiany materji, które ten rozwój w pewnym momencie powstrzymują. Utrzymanie się wiciowców po rozcieńczeniu hodowli wymarłej wodą i ponownem zaszczipieniu, wskazuje, że w pewnym, małym zresztą, stopniu, działanie tego czynnika tą drogą może być zahamowane.

Zjawiskiem, zwracajacem na siebie uwagę, jest zmiana Ph w hodowlach o bardzo wysokiej zasadowości, 9.1 — 9.6, w miarę rozwoju hodowli, w ten sposób, iż wymieranie następuje przy Ph takim samym, jakie było początkowo, albo mniejszem, pomimo, iż w ciągu trwania hodowli rozród był dość znaczny. Możliwość takiego zjawiska wyjaśnia nam następujący protokół, dotyczący rozwoju hodowli Nr. 17 i 18 z serji M.

Hodowla Nr. 17.

Dzień	Ilość jednostek	Ph
założenia	15	8.9
1	750	8.0
2	4,062	8.5
3	9,375	8.4
4	9,765	8.7
5	11,200	8.8
6	7,400	8.8
7	5,625	8.9
8	2,582	9.0
9	1,312	9.0
10	64	9.1
11	0	9.1

Hodowla Nr. 18.

Dzień	Ilość jednostek	Ph
założenia	15	9.6
1	621	8.3
2	3,437	8.4
3	10,156	8.4
4	13,750	8.9
5	11,248	9.0
6	8,750	9.0
7	3,125	9.1
8	2,187	9.1
9	1,875	9.2
10	192	9.2
11	0	9.3

W hodowlach tych nastąpiło obniżenie Ph zaraz w pierwszym dniu i to obniżenie umożliwiło rozwój wiciowców. Obniżenie takie znajdujemy wszędzie w hodowlach, mających wyższą zasadowość początkową. Bliższą analizę tego zjawiska pozostawiamy do oddzielnej pracy. Obniżenie Ph w pierwszych dniach hodowli *Prowazekia* stoi w związku z faktem, dotyczącym zmian Ph w hodowlach bakteryj, opisanym po raz pierwszy przez *Sierakowskiego* (1922). Mianowicie, wedle tego autora, bakterje w hodowlach mogą regulować Ph, zakwaszając podłoże do stopnia potrzebnego do rozwoju. Doświadczenia, wykonane przezemnie, potwierdziły słuszność tego poglądu. W doświadcz. G mamy hodowlę samych bakteryj, stanowiących pokarm *Prowazekia*; odosobnienie bakteryj dokonane zostało przez zabicie wiciowców drogą ogrzania płynu do 35° C. W hodowli tej Ph zmieniało się w następujący sposób.

Zmiana Ph w hodowli, zawierającej same bakterje, służące za pokarm *Prow. edax*.

Dzień hodowli	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ph.	9.6	8.5	8.5	8.4	8.9	9.0	9.1	9.1	8.9	8.9

W doświadczeniu H mamy dwie hodowle, z których jedna zawiera zwykłą kulturę wiciowców z bakterjami, druga tylko bakterje. Warunki wspólne: 100 cm.<sup>3</sup> płynu, 30% buljonu, 20 — 22° C, Ph = 8.4.

Hodowla H.

Dzień hodowli	H <sub>1</sub> tylko bakterje	H <sub>2</sub> wiciowce i bakterje
początkowy	8.4	8.4
1	8.0	7.9
2	8.0	8.0
3	8.4	8.5
4	8.4	8.5
5	8.5	8.6
6	8.6	8.7
7	8.6	8.6
8	8.6	8.7
9	8.7	8.8
10	8.7	8.9
	bakterje są	wiciowce wymarły

Doświadczenie H zdaje się wskazywać, że w pewnym stopniu i wiciowce mają zdolność do obniżania zbyt silnej zasadowości środowiska. Sprawa ta musi być jednak jeszcze metodycznie zbadana.

W rozprawie, z którą miałem możność zapoznać się dopiero w trakcie druku tej pracy, *J. H. Bodina* (1921), pierwszej, traktującej, powierzchownie zresztą, o zmianach Ph w hodowli pierwotniaków, autor wykazuje również obniżenie się Ph w ciągu początkowych 3—5 dni rozwoju. Nie można jednak z tych doświadczeń wywnioskować, czy pierwotniaki, poza bakteriami, miały także wpływ na obniżenie Ph, przytem autor nie wskazuje gatunku pierwotniaków, których używał do swych prób.

W sprawie krańcowej zasadowości początkowej środowiska, w którym mogą rozwijać się *Prowazekia edax*, ze względów technicznych nie można było uzyskać ostatecznej odpowiedzi. Środki kolorymetryczne, któremi rozporządzałem, umożliwiały oznaczenie najwyższej zasadowości Ph = 9,6. Określenia wyższego stężenia jonów H<sup>+</sup> nie miałem możności. Jak widzieliśmy i w tej zasadowości wiciowce rozwijały się.

Do wniosków, dotyczących znaczenia stężenia jonów wodorowych, sformułowanych na str. 299 i 301 dodać tu jeszcze trzeba wnioski następujące. Granicę możliwej kwasowości dla hodowli *Prowazekia edax*, stanowi Ph = 4,8; granicy możliwej początkowej zasadowości, ze względów technicznych, nie można było oznaczyć; w najwyższej badanej zasadowości, przy Ph = 9,6, wiciowce rozwijały się. Końcowe stężenie jonów H<sup>+</sup> w hodowlach zmarłych bywa różne, zależnie od wysokości stężenia początkowego, a możliwe, że i od innych czynników, przy czem waha się zawsze w granicach wysokiej zasadowości (8,7—9,3). W rozwoju hodowli własnościach silnie zasadowych następuje zawsze zakwaszenie środowiska, a później stopniowa alkalizacja, przy czem zasadowość końcowa może być mniejsza, niż była nią początkowa. Wreszcie stwierdzić trzeba, że alkalizowanie się środowiska nie jest decydującym czynnikiem w wymieraniu hodowli.

Literatura, dotycząca badań nad znaczeniem pokarmu i produktów przemiany materji dla rozwoju pierwotniaków, zawiera liczne prace w zakresie wpływu tych czynników na stan hodowli i na właściwości morfologiczne pierwotniaków głodzonych albo żywionych obficie. Wyniki, otrzymane w tych pracach, dotyczące skutków obfitego żywienia (*R. Hertwig, Maupas, Calkins, Wallengren* i inni), wakuolizacji plazmy i zmiany kształtów komórki, „zwyrodnienia“ jej, odpowiadają wynikom, otrzymanym w naszych doświadczeniach. *Woodruff* (1912, 1913), *Peters* (1908) i inni, w badaniach nad znaczeniem pokarmu i produktów przemiany materji dla życia hodowli, dochodzą do wniosku, że decydującą rolę posiadają pro-



dukty przemiany, które nagromadzone powodują wymarcie pierwotniaków. Metodycznie przeprowadzone studia w tym kierunku stanowią prace J. i T. Viewegerów (1918 — 21) nad znaczeniem pokarmu dla rozwoju *Colpidium colpoda*; znajdujemy tam też zestawienie całej, niezbyt obfitej zresztą, literatury w tej dziedzinie. Viewegerowie w pracach swych, obejmujących różne właściwości hodowli żywionych i głodzonych, ich krzywe rozwojowe, tempo podziału osobników, stosunek do ilości bakterij, zmiany morfologiczne i in., dochodzą do wniosku, że „decydującym czynnikiem w rozwoju kultury jest pokarm, jego ilość lub brak“ (J. i T. Viewegerowie 1921). W ostatniej swej pracy (T. Vieweger 1922) autorowie ci czynią jednak pewne rozgraniczenie, przypisując wybitną rolę głodowi w hodowlach t. zw. „trofodynamicznych“, w których „gromadzenie się produktów przemiany materji nie ogranicza możliwości wyzyskania pokarmowego podłoża... w przeciwstawieniu do hodowli heterodynamicznych, w których, oprócz powyższego czynnika, zaznacza się w większym zakresie szkodliwe działanie produktów przemiany“. Rozgraniczenie to odpowiada temu, które uczyniliśmy wśród hodowli Serji VII, jednakże doświadczenia nasze zdają się wskazywać w wyższym stopniu na ograniczenie znaczenia pokarmu przez produkty przemiany materji, niż mamy to w pracach Viewegerów. Znaczeniu wielkości powierzchni hodowli dla jej rozwoju poświęcone są w literaturze liczne wzmianki. Metodyczne studjum w tym kierunku, jak się zdaje jedyne, stanowi praca H. Mędrkiewiczówny (1921). Autorka podaje wyniki, dotyczące badań nad rozwojem *Colpidium colpoda* w naczyniach o powierzchniach różnej wielkości. Wnioski, dotyczące intensywności początkowej rozwoju i maksymalnej ilości dziennej jednostek, są analogiczne do uzyskanych w naszej pracy. Mędrkiewiczówna dochodzi również do wniosku, że „możliwości rozwojowe pierwotniaków w kulturze, zarówno jak i możliwości wyzyskania podłoża odżywczego przez wymocзки, zależą nie tylko od zawartości pokarmu w podłożu, ale i od warunków wymiennych ze środowiskiem... Ograniczony dostęp tlenu, gromadzenie się produktów przemiany materji zatrzymuje w kulturach o małej powierzchni cieczy rozwój pierwotniaków — kładąc kres zużytkowaniu środowiska odżywczego“. Doświadczenia nasze nad hodowlami z Serji VII i VIII zdają się uprawniać do rozciągnięcia tych wniosków i na hodowle o dużej powierzchni cieczy.

## STRESZCZENIE.

Z doświadczeń omówionych wyciągnąć można następujące wnioski, dotyczące znaczenia dla hodowli *Prowazekia edax* stężenia jonów wodorowych, ilości pokarmu, stosunku powierzchni hodowli do jej objętości i temperatury.

1) Początkowe stężenie jonów H<sup>+</sup> ma znaczenie: dla początkowej intensywności rozrodu (wyrażającej się w ilości wiciowców, występujących w kolejnych dniach rozwoju hodowli), dla maksymalnej ilości dziennej wiciowców (stanowiącej największą ilość dzienną wi-

ciowców, jaka powstaje w danej hodowli) i dla absolutnej ich ilości (odpowiadającej ogólnej ilości jednostek dziennych wiciowców za cały czas trwania hodowli). Początkowa intensywność rozrodu jest największa w hodowlach (w warunkach: 250 cm.<sup>3</sup> płynu = 55 cm.<sup>2</sup> × 4.5 cm., 5% buljonu i temp. koło 20°C), mających stężenie jonów H<sup>+</sup> równe 6,2—6,6. Maksymalna dzienna ilość jednostek (w tych samych warunkach) powstaje największa w hodowlach o początkowym stężeniu jonów H<sup>+</sup> średnim, przy Ph = 6.8—7.0, więc o reakcji hodowli słabo kwaśnej i obojętnej, przyczem maksymalna dzienna ilość jednostek występuje w hodowlach, różniących się początkowym Ph w różnym czasie, co wpływa na charakter krzywej rozwoju; w hodowlach kwaśnych dopiero po pewnym zalkalizowaniu się środowiska. Hodowle alkaliczne wytwarzają najmniejsze maksymalne ilości dzienne wiciowców. Absolutna ilość jednostek powstaje mniejsza w środowiskach silnie alkalicznych, niż w słabo alkalicznych i kwaśnych. Granice Ph, w których wogóle możliwy jest rozwój *Prowazekia edax*, sięgają od Ph = 4,8 do powyżej 9,6, przyczem granica maksymalnej początkowej zasadowości nie została oznaczona. Zmiany, którym ulega Ph w miarę trwania hodowli, polegają w ostatecznym wyniku na zalkalizowaniu środowiska, przyczem hodowle o początkowej wysokiej zasadowości ulegają wprawdzie zakwaszeniu; czynnikiem, zakwaszającym środowisko, są przedewszystkiem bakterje; udział wiciowców w tym procesie nie został stwierdzony. Zakwaszenie to powoduje w rezultacie, że wymieranie hodowli może zająć w warunkach mniejszej zasadowości, niż a, jaka była na początku jej rozwoju. Zalkalizowanie ostateczne środowiska w hodowli wymierającej bywa różne, zależnie od stopnia początkowego stężenia jonów H<sup>+</sup>; hodowle kwaśne wymierają przy Ph niższym, niż hodowle alkaliczne. Na ostateczne zalkalizowanie środowiska możliwy jest wpływ jeszcze innych czynników, np. pokarmu, temperatury. Dane te wskazują, że decydującym czynnikiem w wymieraniu hodowli (posiadającej dostateczną ilość pokarmu, odpowiednią temperaturę i najkorzystniejszy stosunek powierzchni do objętości) nie jest jej zalkalizowanie się.

2) Ilość pokarmu, wyrażona w doświadczeniach procentowością buljonu, za którą szło równoległe zwiększanie się ilości bakteryj, bezpośrednio pobieranych przez wiciowce (o możliwości osmotycznego żywienia się *Prowazekia edax* nie mamy żadnych danych) ma dla rozwoju hodowli znaczenie następujące. Przy średniej ilości buljonu, jak w warunkach doświadczenia przy 30%—40% ym buljonie (w warunkach pozostałych: 25 cm.<sup>3</sup> płynu = 200 cm.<sup>2</sup> × 0.12 cm., temp. 20—22° C., Ph=6.9), intensywność rozrodu (więc intensywność początkowa, maksymalna i absolutna ilość wytworzonych wiciowców) staje się największa. W miarę zwiększania się procentowości buljonu, a tem samem zwiększania się ilości bakteryj, intensywność rozrodu zmniejsza się stopniowo, przyczem coraz szybciej następuje wymieranie wiciowców, z objawami zwyrodnienia; na zasadzie szeregu danych uczyniliśmy przypuszczenie, że przyczyną zwyrodnienia stają się przedewszystkiem nagromadzone przez bakterje produkty

przemiany materji. Z drugiej strony, w miarę zmniejszania się ilości buljonu poniżej 30% następuje również zmniejszanie się intensywności rozrodu oraz zmniejszanie się wielkości wiciowców, które w stanie wegetacji (t. j. przy nieznacznej ilości osobników w 1 mm.<sup>3</sup>) utrzymują się przez czas dłuższy; trzeba przypuścić, że przyczyną takiego stanu hodowli jest jej głodzenie się. Wynika z tych doświadczeń, że znaczenie pokarmu dla rozwoju *Prowazekia edax* jest ograniczone, i że intensywność rozwoju hodowli nie jest ściśle zależna od ilości dostarczonego jej pokarmu.

3) Stosunek wielkości wolnej powierzchni hodowli do jej objętości ma wpływ na ilość maksymalną jednostek dziennych, na intensywność początkową i na czas trwania hodowli. Im płytsza jest hodowla, tem wyższa staje się ilość maksymalna jednostek dziennych, tem prędzej występuje, tem szybszy jest rozród początkowy i tem krótszy czas trwania hodowli. Podczas gdy w hodowli, zawierającej 750 cm<sup>3</sup> płynu, o głębokości 13,6 cm<sup>3</sup> (przy Ph = 6,9, buljonie 5%, powierzchni 55 cm<sup>2</sup>), wytwarza się ilość maksymalna jednostek w dniu 12-ym, w rozmiarze 2062—w hodowli, zawierającej 25 cm<sup>3</sup>, o głębokości 0,12 cm<sup>3</sup> (o powierzchni 200 cm<sup>2</sup> i takich samych innych warunkach) wytwarza się w dniu 4-ym osobników 8000. W hodowli, jak ostatnia, jednak z 40%-ym buljonem, wytwarza się w dniu 3-im osobników 26,250.

4) Temperatura, zbadana w tej pracy tylko przygodnie, ma znaczenie dla rozwoju hodowli *Prowazekia edax* w tym kierunku, że w wyższej temperaturze czas trwania hodowli staje się krótszy, zaś maksymalna ilość jednostek dziennych staje się większa.

## P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Anigstein L. Badania serologiczne nad pierwotniakami. Przegł. Epidemjol. 1921, I, 558.

2) Bodine Jos. Hall. Hydrogen-Jon Concentration of Protozoan Cultures—Biological Bull. 1921, XLI, 73—77.

3) Doflein F. Lehrbuch der Protozoenkunde. V, Aufl. Jena 1916.

4) Hartmann M. i Schilling C. Die pathogenen Protozoen 462, I. Springer. Berlin. 1917.

5) Kühn A. Ueber Bau, Teilung u. Encystierung von *Bodo edax* Klebs. — Arch. f. Protistenkunde. 1915, XXXV, 212.

6) Mędrkiewiczówna H. Wpływ wielkości powierzchni cieczy na rozwój kultur wymoczków (*Colpidium colpoda* Erb.) — Prace Zakł. Fizjol. Instyt. M. Nenckiego. (Tow. Nauk. Warsz.) 1921, I, Nr. 5.

7) Ponselle A. Sur la culture des trypanosomes. — C. R. Soc. Biol. 1919, LXXXII, 163.

8) Ponselle A. Determination de la réaction des milieux de culture par la mesure de la concentration en ions hydrogène. — Bull. de l'Inst. Pasteur 1920, XVII, 601.

- 9) Peters A. Chemical studies on the cell and its medium. P. III. Amer. Journ. f. Physiol. 1938, XXI, 681.
- 10) Prowazek S. Giftwirkung und Protozoenprotoplasma. — Arch. f. Protistenkunde 1910, XVIII, 221.
- 11) Sierakowski S. O znaczeniu i metodach określania koncentracji jonów wodorowych (H<sup>+</sup>) — Przegl. Epidemjol. 1921, I, 549.
- 12) Sierakowski S. Badania nad pożywkami I. Zależność wzrostu bakterij chorobotwórczych na podłożach agarowych od czynników fizycznych. — Przegl. Epidemjol. 1922, II, 1.
- 13) Viewegerowie J. i T. Badanie czynników rozwoju kultur Colpidium colpoda Ehrb. Cz. I. Wpływ pokarmu — głód. — Spraw. Tow. Nauk. Warsz. Wydz. Mat.-Przyr. 1918, XI, 847.
- 14) Vieweger T. Dtto. Cz. II Zależność rozwoju wymoczków od rozwoju bakterij. — Ibid. 1918, XI, 661.
- 15) Viewegerowa J. i Vieweger T. Dtto Cz. III. Wpływ ilości pokarmu i głód. — Prace Zakł. Fizjologii Instytutu im. M. Nenckiego (Tow. Naukowe Warszawskie). 1921, I, 1.
- 16) Viewegerowa J. Badania morfologiczno-fizjologiczne nad Colpidium colpoda Ehrb. w czasie głodu.—Ibid. 1921, I, 9.
- 17) Vieweger T. Działanie produktów przemiany materji w hodowlach wymoczków. — Ibid 1921, Nr. 12.
- 18) Woodruff L. Observations on the origin and sequence of the protozoan fauna of hay infusion. — Journ. of exper. Zool. 1912, XII, 64.
- 19) Woodruff L. The effect of excretion products of Paramecium. — Ibid. 1913, XIV, 145.

De l'Institut Epidémiologique d'État à Varsovie.

(Directeur Dr. L. Rajchman).

## La signification de la concentration en ions H<sup>+</sup>, de la quantité de la nourriture et du rapport de la surface de la culture à son volume dans le développement du flagellé

*Prowazekia (=Bodo) edax.*

Dr. HENRYK RAABE.

agregé de l'Université du Cracovie.

Les recherches de l'auteur portaient sur l'influence des différents facteurs sur la culture de *Prowazekia edax*. L'auteur a étudié l'influence de la concentration initiale en ions H<sup>+</sup>, l'influence de la quantité de la

nourriture, le rapport entre la surface de la culture et son volume, et l'influence de la température.

1) La concentration initiale en ions H<sup>+</sup> (c'est à dire la concentration que possède le milieu au moment de la mise de la culture) est importante pour l'intensité initiale de la reproduction, pour le nombre maximum d'individus évolués par jour et pour leur nombre absolu. L'intensité de la culture se traduit par le nombre des flagellés évolués pendant les journées successives d'évolution de la culture. Le nombre maximum par le nombre le plus grand d'individus développés par jour, le nombre absolu — par le nombre total des flagellés, évolués pendant tout le cours de la durée de la culture.

L'intensité initiale de la reproduction se montre la plus marquée dans les cultures possédant Ph 6,2 — 6,6 (dans les conditions de 250 ccm. de liquide = 55 ccm. × 4,5 cm., 5% de bouillon et à la temp. de 20° C.). Le nombre maximum d'individus évolués par jour s'obtient dans les cultures dont la concentration initiale est de Ph 6,8 — 7, c'est à dire d'une réaction faiblement acide ou neutre. Ce nombre maximum s'obtient au différent temps dans des différentes cultures, le temps d'apparition du nombre maximum diffère d'une culture à l'autre en dépendance de leur Ph initial, ce que donne une courbe spéciale du développement. Dans les cultures acides le nombre maximum se produit après une certaine alcalisation du milieu; avec le degré de l'alcalisation le nombre maximum et absolu tombe.

Les limites de Ph dans lesquelles se développe le *Prowazekia edax* sont de Ph 4,8 — 9,6 et au dessus. La limite supérieure de la réaction alcaline ne fut pas déterminée.

A mesure que le *Prowazekia edax* se développe, le milieu devient de plus en plus alcalin, mais les cultures dont l'alcalinité initiale est très élevée s'acidifient d'abord. L'acidification du milieu est due en première ligne aux microbes qui y pillulent.

Le rôle des flagellés dans cette action ne fut pas constaté.

A cause de l'acidification l'arrêt du développement peut avoir lieu dans une alcalinité finale moindre que celle de la mise en culture. L'alcalinité finale du milieu dans une culture dépend de la concentration initiale en ions H<sup>+</sup>; dans les cultures acides le développement s'arrête au Ph moins élevé que dans les cultures alcalines.

Ces données prouvent que l'alcalinisation du milieu (toutes conditions favorables: la température, la nourriture, le rapport de la surface à son volume) ne devient pas le facteur décisif d'arrêt du développement.

2) La quantité de la nourriture (qui se traduit par le pourcentage du bouillon et l'augmentation proportionnelle du nombre des microbes digérés par les flagellés) possède pour le développement de la culture une signification suivante. La quantité du bouillon étant moyenne comme en cas d'expérience de 30% — 40% (les autres conditions égales à: 25 ccm. de liquide = 200 ccm., × 0,12 cm., temp. 20° — 22° C. Ph 6.9) l'intensité du dé-

veloppement (c. à d l'intensité initiale, le nombre maximum et le nombre absolu de flagellés) devient la plus prononcée.

A mesure qu'on augmente la quantité du bouillon et de même le nombre de microbes — l'intensité de la reproduction diminue de plus en plus. Le développement des flagellés s'arrête, précédé des phénomènes de dégénérescence, dus probablement à l'accumulation des produits de déchet microbiens.

D'autre part la diminution de la quantité du bouillon au dessous de 30% produit l'abaissement de l'intensité de la reproduction des flagellés et la diminution de leur volume, le manque de nourriture en est la cause.

Il suit de ces études que la nourriture peut devenir nocive pour la culture des *Prowazekia edax* et que l'intensité du développement de la culture ne dépend pas strictement de la quantité de nourriture délivrée.

3) Le rapport entre la surface libre de la culture et son volume possède une influence sur le nombre maximum d'individus évolués par jour, sur l'intensité initiale du développement et sur la durée de la culture.

Les meilleurs résultats s'obtiennent dans une culture peu profonde.

Dans une culture contenant 750 ccm. de liquide, de profondeur égale à 13,6 cm. (Ph — 6,9, 5% de bouillon., surface — 55 cm.<sup>2</sup>) le nombre maximum s'obtient le deuxième jour et est égal à 2062 individus, dans une autre culture ne contenant que 25 ccm. et une profondeur de 0,12 ccm. (la surface égale à 200 cm.<sup>2</sup> et toutes choses égales d'ailleurs) le nombre d'individus était 8000 au 4-me jour. Dans une culture comme la dernière, mais ayant la quantité de bouillon augmentée à 40%, le nombre d'individus est égal à 26,250 le 3-me jour.

4) L'influence de la température ne fut étudiée qu'en passant. On a observé que dans une température plus élevée le nombre maximum par jour augmente, mais la durée de la culture diminue.

---

## Les explications des diagrammes.

### DIAGRAMME I.

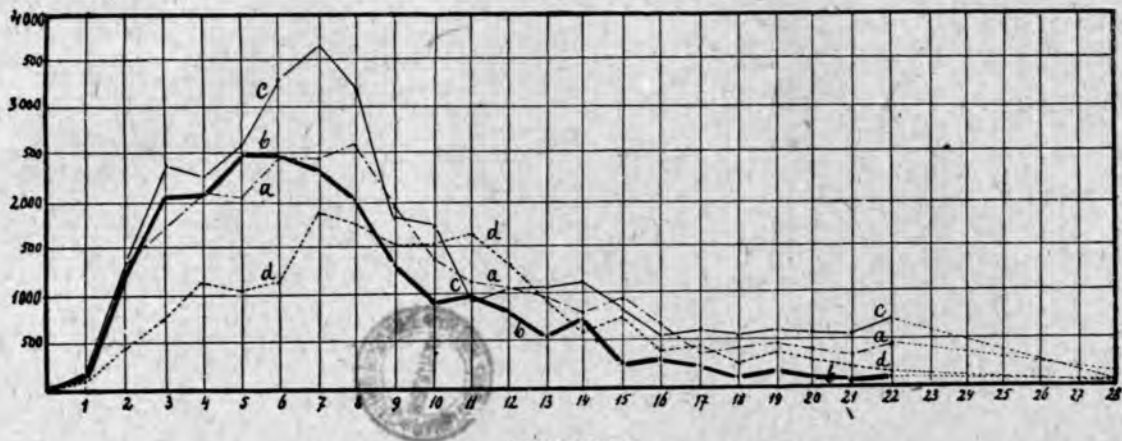
Culture *a* — bouillon à 5%, temp. 20°—21° C. Culture *b* — comme *a*, mise simultanément dans plusieurs recipients. Culture *c* — comme *a*, bouillon à 10%, Culture *d* — bouillon à 5%, temp. 15° — 18° C.

### DIAGRAMME II.

Cultures à différentes concentrations primitives en ions d'H: *m* — 5.6, *n* — 6.4. *b* — 6.9, *p* — 7.7.

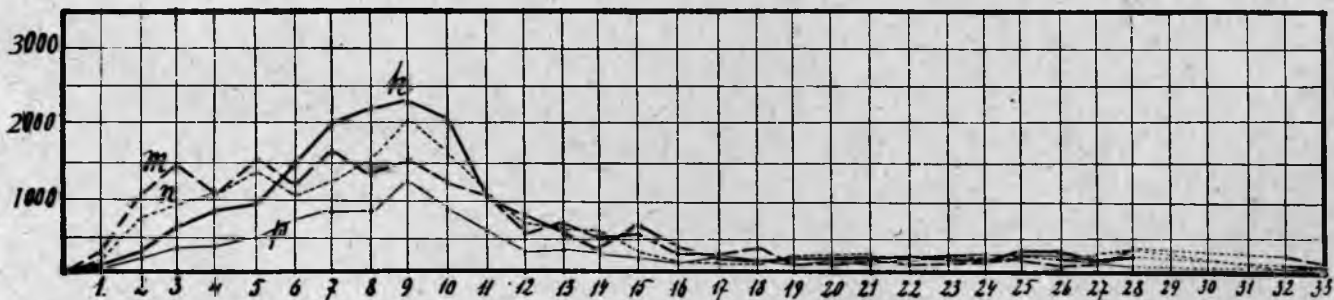
### DIAGRAMME III.

Cultures à différentes concentrations primitives en ions d'H: № 1 — moins que 4.8, № 2 — 4.8, № 3 — 6.2, № 4 — 6.6.



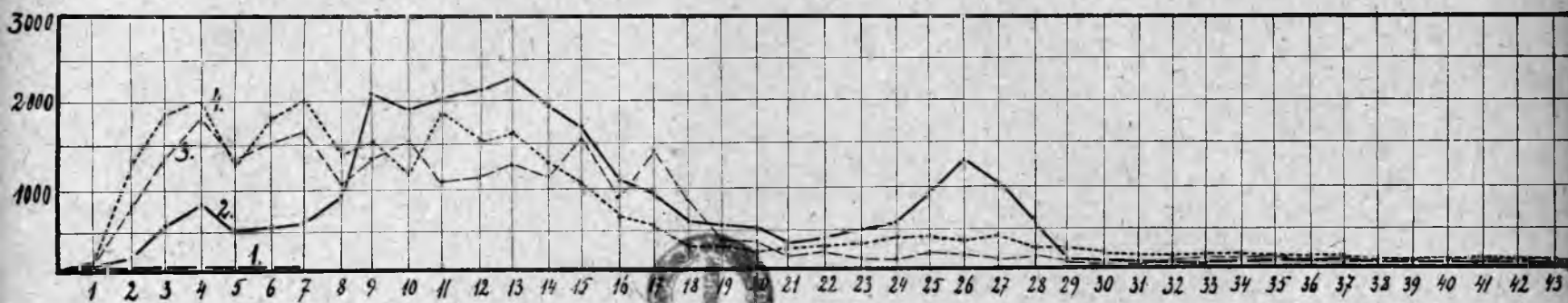
WYKRES I.

Hodowla *a* — buljon 5<sup>o</sup>/<sub>o</sub>-wy, temp. 20–21° C.; hodowla *b* — jak *a*, trzymana w kilku naczyniach równocześnie; hodowla *c* — jak *a*, buljon 10<sup>o</sup>/<sub>o</sub>-wy; hodowla *d* — buljon 5<sup>o</sup>/<sub>o</sub>-wy, temp. 15–18° C.



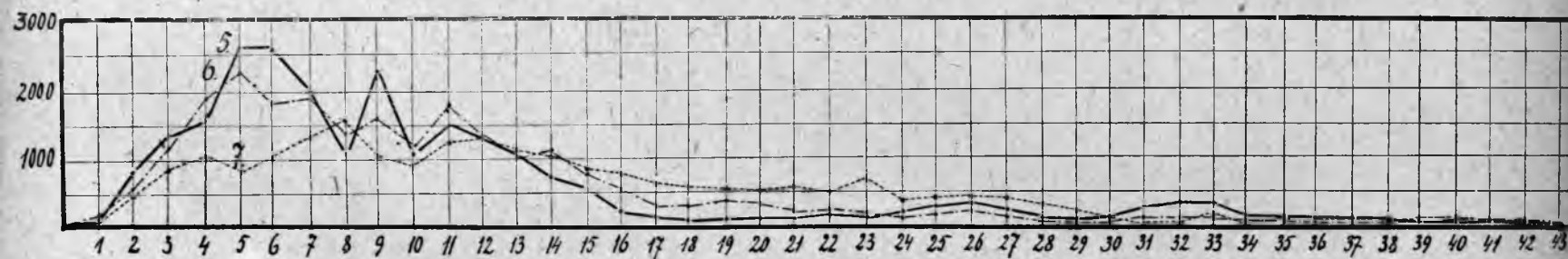
WYKRES II.

Hodowle różnią się początkowym stężeniem jonów H: *m* — 5.6, *n* — 6.4, *b* — 6.9, *p* — 7.7.



WYKRES III.

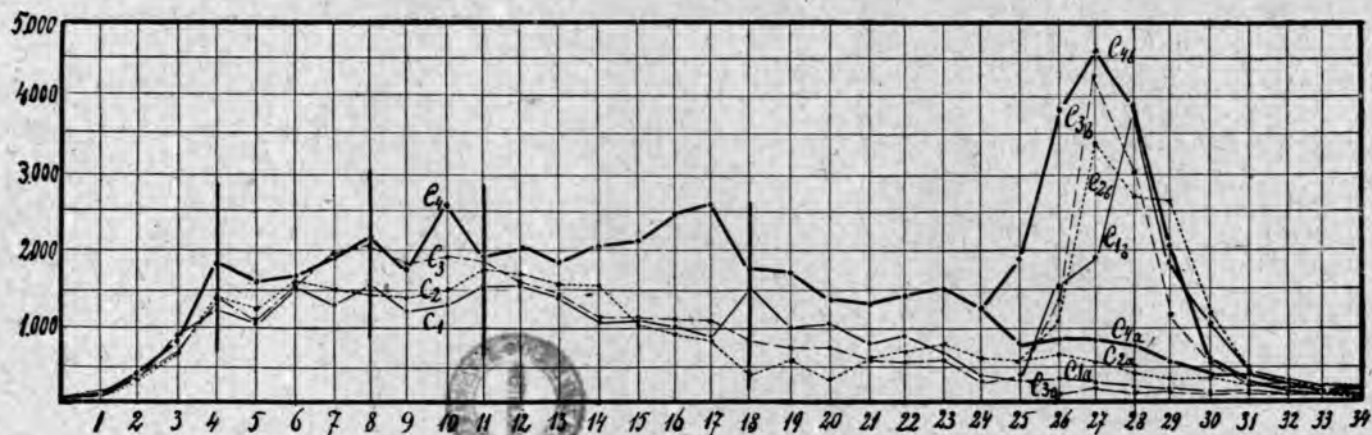
Hodowle różnią się początkowym stężeniem jonów H: Nr. 1 — mniej niż 4.8, Nr. 2 — 4.8, Nr. 3 — 6.2, Nr. 4 — 6.6.



WYKRES IV.

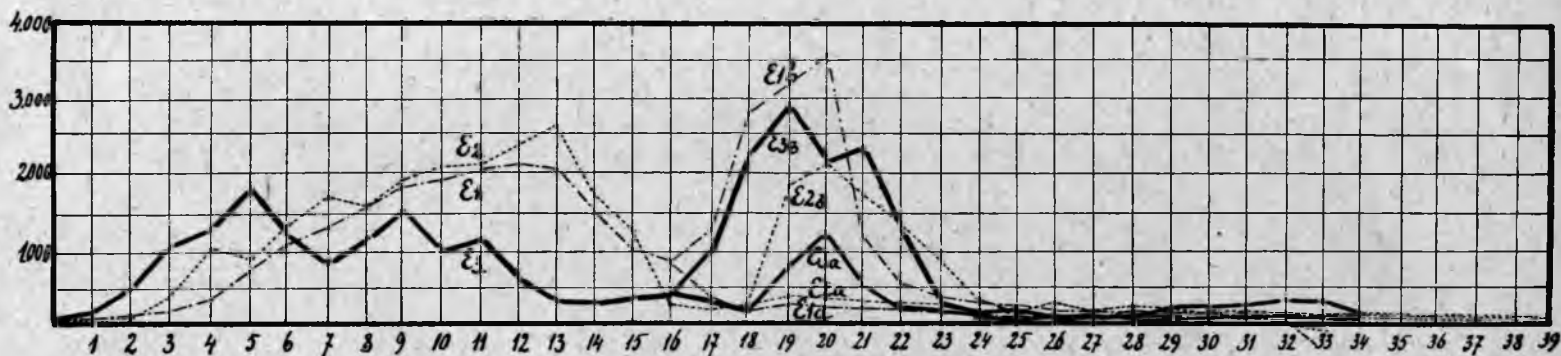
Hodowle różnią się początkowym stężeniem jonów H: Nr. 5 — 7.0, Nr. 6 — 7.3, Nr. 7 — 7.6.





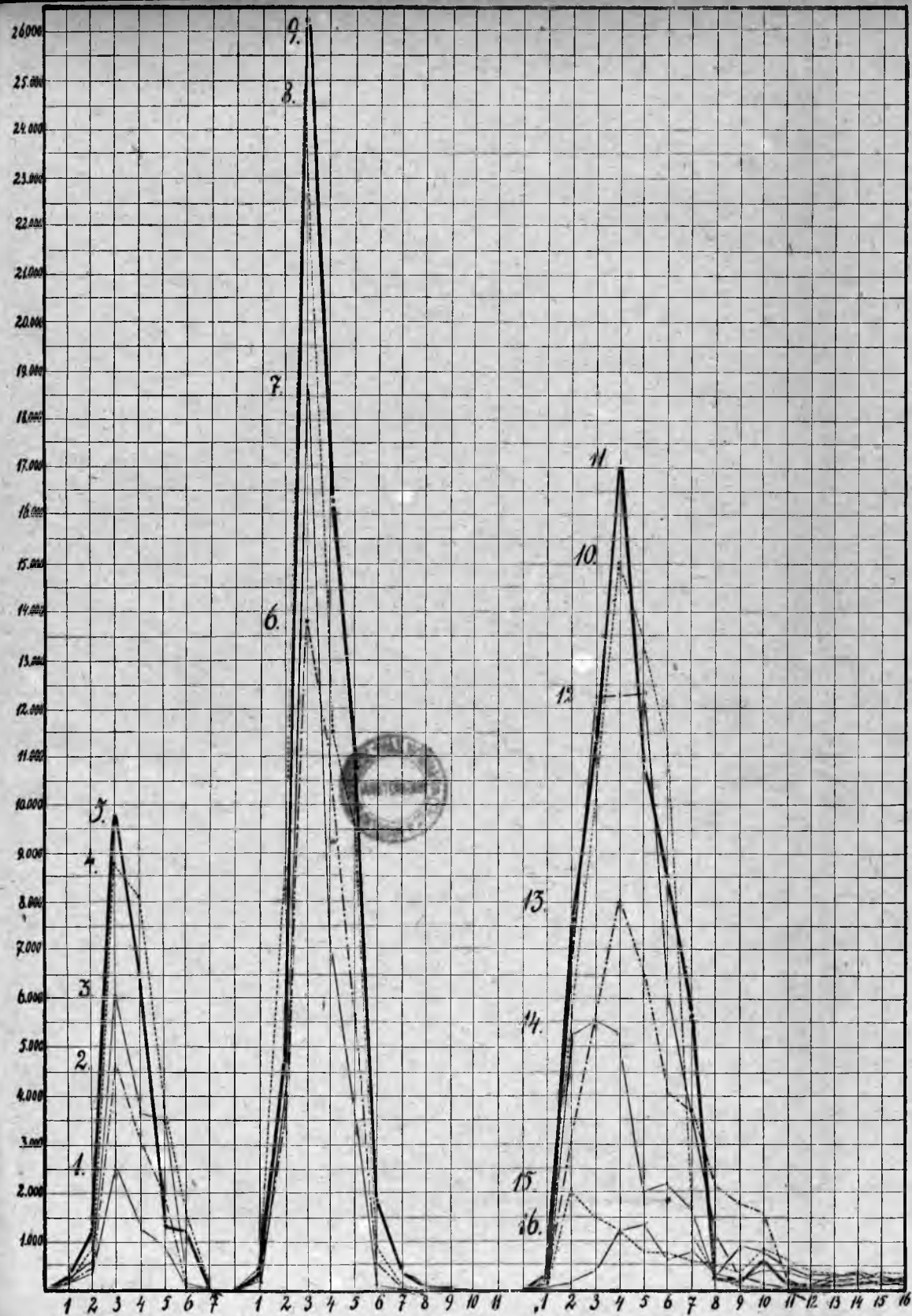
WYKRES V.

W hodowli  $C_1$  środowisko stopniowo alkalizowało się i używał się pokarm. W hodowli  $C_2$  utrzymywana była ilość pokarmu stale na tym samym poziomie. W hodowli  $C_3$  utrzymywana była kwasowość początkowa 6.5. W hodowli  $C_4$  — jedno i drugie. W hod.  $a$  i  $b$  zmieniony został stosunek powierzchni do objętości w porównaniu ze stosunkiem tym początkowo, jak 28 : 17 : 1.



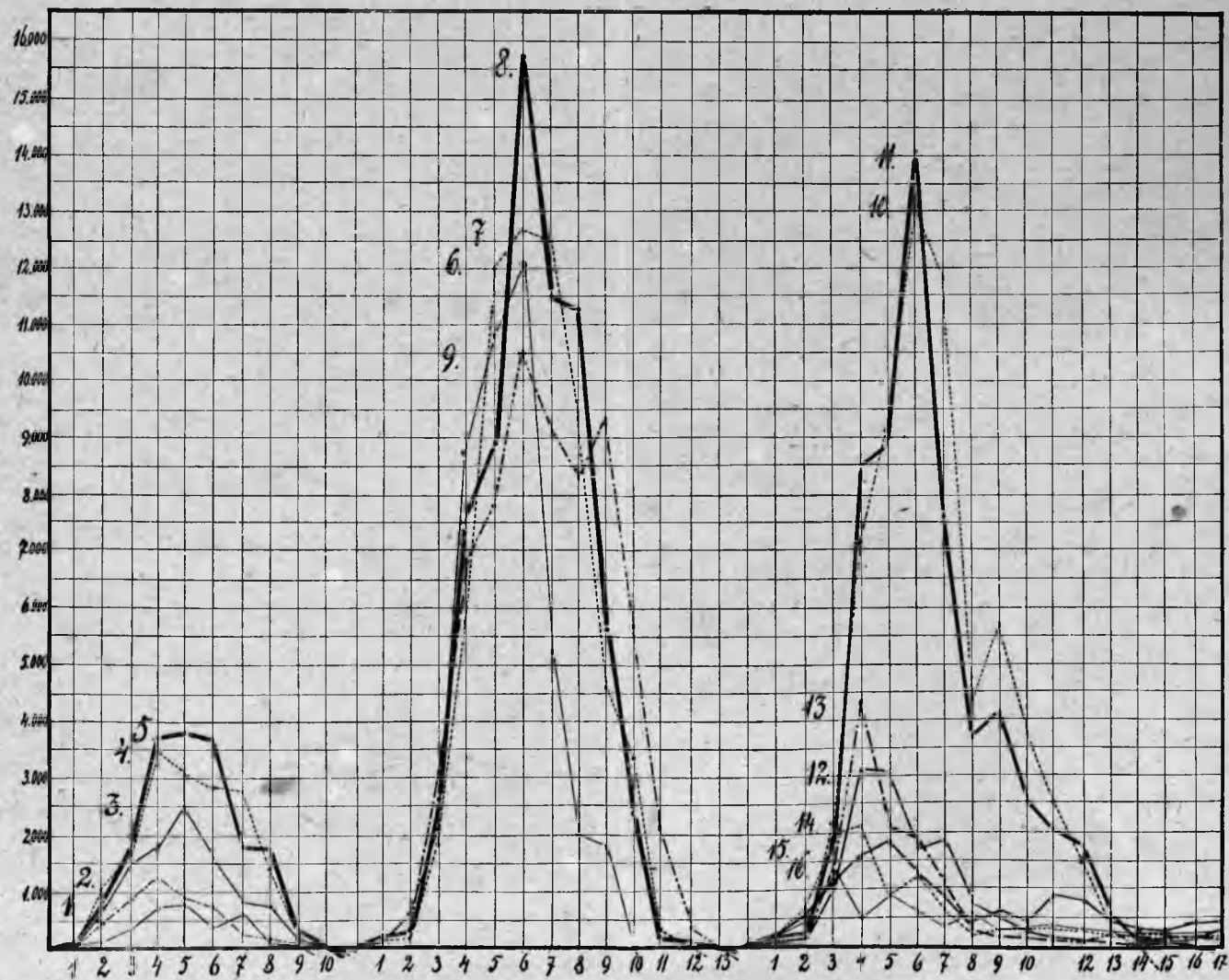
WYKRES VI.

Hodowle różnią się stosunkiem powierzchni do objętości —  $E_1 : E_2 : E_3 = 2.4 : 1.6 : 1$ . Hodowle  $b$  powstały z odlania 25 cm.<sup>3</sup> płynu na głębokość 0.12 cm.



WYKRES VII.

Wykres VIII. Hodowle, jak w Serji VII-ej. Temp. 6-9° C.



WYKRES VIII.

DIAGRAMME IV.

Cultures à différentes concentrations primitives en ions d'H: N° 5 — 7.0, N° 6 — 7.3, N° 7 — 7.6.

DIAGRAMME. V.

Culture  $C_1$  — milieu devenant de plus en plus alcalin et la nourriture s'épuisait. Culture  $C_2$  — quantité de nourriture gardée toujours au même niveau. Culture  $C_3$  — l'acidité primitive gardée toujours au même niveau, Ph = 6.5. Culture  $C_4$  — la nourriture et l'acidité comme celle des deux cultures précédentes. Dans les cultures  $a$  et  $b$  le rapport entre la surface et le volume relativement à leur rapport primitif est changé comme 28 : 17 : 1.

DIAGRAMME. VI.

Les cultures diffèrent par leur rapport entre la surface et le volume —  $E_1 : E_2 : E_3 = 24 : 16 : 1$ . Les cultures  $b$  sont enlevées des cultures précédentes et possèdent 25 ccm. de liquide en 0.12 cm. de profondeur.

DIAGRAMME VII.

Cultures ayant 25 ccm. de liquide, 200 cm. de surface et 0.12 cm. de profondeur différent par le pourcentage du bouillon. N° 1 — 300‰, N° 2 — 270‰, N° 3 — 240‰, N° 4 — 180‰, N° 5 — 150‰, N° 6 — 75‰, N° 7 — 60‰, N° 8 — 50‰, N° 9 — 40‰, N° 10 — 30‰, N° 11 — 20‰, N° 12 — 10‰, N° 13 — 5‰, N° 14 — 2½‰, N° 15 — 1‰, N° 16 — ½‰. Temp. 20° — 21° C.

DIAGRAMME VIII.

Cultures, comme en série VII. Temp. 6° — 9° C.

---

Z Zakładu Bakterjologicznego Uniwersytetu Warszawskiego  
(Dyrektor Prof. R. Nitsch).

## Przyczynek do działania bakterjobójczego wody utlenionej.

P o d a ł

Dr. D. RYWOSZ.

Od czasu, gdy *A. Shmith* w r. 1869 zwrócił uwagę na wodę utlenioną, jako na środek dezynfekcyjny, w piśmiennictwie zjawilo się wiele prac, poświęconych temu przedmiotowi. Śmiało można powiedzieć, że o żadnym środku odkażającym nie dyskutowano tyle, co o wodzie utlenionej. (Stare piśmiennictwo podają *Chamberlain* i *Fernbach* 1892, *Traugott* 1893, najnowsze: *E. R. Croner* 1909, *A. Miller* 1921).

Wodę utlenioną stosowano lub przynajmniej proponowano do dezynfekcji ścian, ustępów, naczyń, do odkażania produktów spożywczych: mleka kielbasy, do odkażania ran, w chirurgji, ginekologji, dentystryce i kosmetyce. Z biegiem czasu liczba zwolenników tego środka nietylko nie zwiększyła się, lecz przeciwnie zmalała; przyczyną jest prawdopodobnie to, że dotychczas nie wyjaśniono ani siły dezynfekcyjnej wody utlenionej, ani na czem właściwie polega jej działanie odkażające. *Kobert* <sup>1)</sup>, *Spiro* <sup>2)</sup> i inni podają, że  $H_2O_2$  jest środkiem dezynfekcyjnym o słabej sile, natomiast *Chamberlain* <sup>3)</sup>, *Houswell* <sup>4)</sup>, a w ostatnich czasach *Poulson* <sup>5)</sup> twierdzą, że 3% woda utleniona oddziaływa co najmniej tak silnie antyseptycznie, jak roztwór sublimatu 1 : 1000. *Croner* <sup>6)</sup> stara się wyjaśnić tę różnicę zdań. Według jego badań siła dezynfekcyjna wody utlenionej zależna jest od oddziaływania środowiska: najsilniej działa ona w środowisku kwaśnem, słabiej w zasadowem, najslabiej w obojętnem. Jeszcze w wyższym stopniu zależy od ciepłoty. Jak zobaczymy później, siła ta zależy także od gatunku bakteryj. Co do pytania, na czem polega właściwość odkażająca wody utlenionej, to przeważnie, jak podają *Küster* <sup>7)</sup>, *Croner*, *Beck* <sup>8)</sup>, *Poulson*, panuje pogląd, że tlen, wytwarzający się podczas rozkładu  $H_2O_2$ , jest czynnikiem, zabijającym bakterje. *Küster* stara się uzasadnić to przypuszczenie zapomocą badań nad wodą kanałową. Wiadomo, że woda kanałowa podlega czasem samooczyszczeniu; zjawisko to przypisywano różnorodnym wpływom, które *Küster* wymienia w swojej pracy, a mianowicie: 1) wpływowi

słońca, 2) ruchowi wody, 3) chemicznemu składowi gruntu, 4) faunie, 5) utlenieniu przez powietrze. *Küster* badał specjalnie wpływ powietrza. Przepuszczał on przez naczynie, w którym znajdowała się woda kanałowa, powietrze. Po pewnym czasie stwierdzał zmniejszanie się w wodzie takiej ilości drobnoustrojów, co prawda nieznaczne.

*Küster* powołuje się na fakt, że ozon jest silnym środkiem dezynfekcyjnym dzięki swej właściwości oddawania tlenu, i działalność wody utlenionej porównywa z ozonem, przyczem zaznacza różnicę: ozon oddziałuje bezpośrednio,  $H_2O_2$  musi być poprzednio rozszczepiona i to właśnie rozszczepianie wywołuje katalazę, znajdującą się w bakterjach. Z tego twierdzenia wynikałoby, że bakterje same wytwarzają dla siebie truciznę, co z biologicznego punktu widzenia byłoby niezrozumiałe. Oprócz tego *Küster* zapomina, że wobec ozonu wytwarza się tlen atomowy (O), zaś przy rozszczepieniu wody utlenionej przez platynę koloidalną albo przez katalazę wydziela się tlen molekularny ( $O_2$ ).

Pogląd, że tlen, tworzący się podczas katalazy wody utlenionej, działa zabójczo na bakterje, nie zgadza się ze spostrzeżeniami chirurgów. *Honswel* podaje, że jednocześnie z powiększeniem się siły katalitycznej środowiska zmniejsza się siła antyseptyczna wody utlenionej. W jednej z ostatnich swych prac zajmuje się tą sprawą *A. Miller*<sup>9)</sup>. Powołując się na moją pracę z 1907 r.<sup>10)</sup> „O katalizie wody utlenionej przez krwinki ssaków“, przypuszcza, że nie tlen, wytwarzający się podczas katalazy, zabija drobnoustroje, lecz sama woda utleniona. W pracy swej dowiodłem, że im silniej katalizuje pewien gatunek krwinek, tem odporniejszy jest on na działanie  $H_2O_2$ . Z tego wniosioskowałem, że proces katalityczny jest raczej czynnikiem o charakterze ochronnym niż, odwrotnie (jak to przypuszcza *Küster*). Z doświadczeń *Millera* przytaczam tylko następujące. *Jorns*<sup>11)</sup> wykazał, że w świeżych hodowlach buljonowych bakteryj w samym buljonie niema katalazy, w starych zaś hodowlach katalaza występuje i to im starsza hodowla, tem więcej katalazy. *Miller* brał filtrowany buljon ze starych hodowli *b. coli*, zasiewał nań pewną ilość świeżych *bact. coli*, dla kontroli zasiewał taką samą ilość bakteryj na świeżym buljonie, poczem zauważył, że w pierwszej porcji do zabicia bakteryj potrzeba było więcej wody utlenionej, niż w drugiej. Na zasadzie tego doświadczenia i innych podobnych, autor wnioskuje, że antyseptycznie działa nie wytwarzający się tlen, lecz nierozszczepiona woda utleniona.

Zanim jeszcze poznałem prace *Millera*, zacząłem opracowywać ten sam temat porównawczo, jak to uczyniłem z krwinkami ssaków. Praca *Marji Rywosz* i moja<sup>12)</sup> oraz praca *Jornsa* ustaliły fakt, że rozmaite bakterje rozszczepiają w różnym stopniu wodę utlenioną. Stopień rozszczepiania jest dla każdego gatunku o tyle charakterystyczny, że *Bujwid*<sup>13)</sup> proponuje na podstawie swych doświadczeń wyzyskać tę właściwość w celu szybkiego odróżniania bakteryj w czasie epidemji.

Do badań tu omawianych wybrałem następujące gatunki drobnoustrojów, różniące się między sobą własnościami katalitycznymi: *staphyl. aureus*, *bact. coli*, *paratyphus B.*, *typhus* i *vibrio cholerae*. W szeregu tym każdy następujący gatunek katalizuje słabiej, niż poprzedni.

\* Do próbek ze świeżym buljonem lub fizjol. roztworem NaCl dodawane były bakterje z hodowli na agarze aż do wyraźnego zmętnienia; otrzymane zawiesiny bakteryj, po 1 cm<sup>3</sup>, rozlewano do próbek, zawierających różne określone ilości H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Używano wody utlenionej 1%-ej. Tylko w doświadczeniach z *vibr. chol.* dla ścisłości trzeba było H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> rozcieńczać do 0,3%. Po półgodzinnem oddziaływaniu wody utlenionej zawartość próbek wylewano na płytki z płynnym agarem. Nazajutrz lub na trzeci dzień badano, wobec jakiej ilości H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> płytki pozostały jałowe. Jednocześnie dla kontroli brano z tych samych zawiesin bakterje rozcieńczone w stosunku 1 : 1000, 1 : 100,000, 1 : 10,000,000 wylewano na 3 płytki z płynnym agarem i nazajutrz lub na trzeci dzień liczono ilość kolonii. Podaję tu wynik doświadczenia z *Staphyl. aureus*. Wzięto kilka próbek z H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, których zawartość różniła się tylko o 0,1 cm<sup>3</sup> wody utlenionej. Do każdej próbki dodano 1 cm<sup>3</sup> zawiesiny bakteryj. Wobec 5,3 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> płytka pozostała jałowa, wobec 5,2 cm<sup>3</sup> wyrosły pojedyncze kolonie. Liczenie wykazało w 1 cm<sup>3</sup> zawiesiny 6,5 miliardów bakteryj. Okazuje się, że 8 mgr. wody utlenionej zabija miliard bakteryj. Tym sposobem zbadano i inne gatunki; dla *bact. coli* potrzeba 2,1 mgr. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na miliard bakteryj, *paratyph. B.* — 1,4 mgr., dla *typh.* — 0,85 mgr., dla *vibr. cholerae* 0,44 mgr. Zestawiając te dane o odporności wymienionych bakteryj z danymi o sile katalitycznej tych gatunków według pracy *Marji Rywosz* i mojej otrzymujemy tablicę następującą:

Gatunek bakteryj	Ilość tlenu, wydzielająca się z H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> po dodaniu 1 mgr. bakt.	Ilość H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , zabijająca 1 miliard bakt.
<i>Staphyl. aureus</i> .	2,0 cm <sup>3</sup>	8 mgr.
<i>Bact. coli</i> . . .	0,6 cm <sup>3</sup>	2,1 mgr.
<i>Paratyphus B.</i> . .	0,18 cm <sup>3</sup>	1,4 mgr.
<i>Typhus</i> . . . .	0,1 cm <sup>3</sup>	0,85 mgr.
<i>Vibr. cholerae</i> .	pojedyncze pęcherzyki na 2—3 mgr.	0,3—0,4 mgr.

Jak widzimy, istnieje równoległość między siłą katalityczną a ilością wody utlenionej, działającą zabójczo na bakterje. Ta równoległość nie jest jednak zupełna. Tak np. *bact. coli* katalizuje 3—4 razy silniej, niż *paratyphus B.*, a do zabicia miljaru *bact. coli* potrzebna mniej, niż podwójna ilość H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Może to być zależne od ciężaru właściwego tych drobnoustrojów. Dla określania siły katalitycznej ważono bakterje, dla określania zaś stopnia bakterjobjętości wody utlenionej liczono je. Aby się przekonać, że rozmaita odporność względem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zależna jest od obfitości katalazy, a nie ewentualnie od charakteru substancyj rozmaitych,

badalem *bact. coli* w warunkach tlenowych i beztlenowych. Jak w poprzedniej pracy<sup>14)</sup>, tak i teraz przekonałem się, że beztlenowa hodowla, jako nie wytwarzająca katalazy, jest znacznie mniej odporna na  $H_2O_2$ , niż tlenowa.

Wystarcza 0,3 mg.  $H_2O_2$  dla zabicia 1 miljarda beztlenowych *bact. coli.*, czyli drobnoustroje te są 8—10 razy słabsze niż tlenowe. Z prac *Millera* i naszej możemy wnioskować, że nie tlen, wytwarzający się przy katalizie zabija bakterje, lecz nierozszczepiona  $H_2O_2$ .

Chciałbym zwrócić uwagę lekarzy na stosunek *vibr. cholerae* do  $H_2O_2$ . Jak wykazaliśmy w swoim czasie, mętwiki słabo katalizują wodą utlenioną. Obecnie przekonałem się, że równolegle z tem odporność ich względem  $H_2O_2$  jest bardzo słaba. Proponowałbym wyzyskać tę właściwość dla celów leczniczych. Można by przemywać kiszki chorych na cholere, zamiast entereklizmą *Cantanie'go*, 0,3% wodą utlenioną.  $H_2O_2$  i w tem stężeniu jest według danych *Koberta* dla ustroju zupełnie obojętna, z drugiej zaś strony wystarcza do zabicia *vibr. chol.* Jeżeli przypomniemy, że woda utleniona działa nie tylko bakterjobójczo, lecz jak wykazują prace *Sieberowej* i *Loewenstejna*<sup>15)</sup>, niszczy również i toksyny, to mamy jeszcze jeden powód do przypuszczenia, że lawatywy z wody utlenionej mogą okazać się pożyteczne. W każdym razie leczenie takie byłoby absolutnie nieszkodliwe, korzyść zaś może okazać się znaczna. Proponowałbym przemyć w pierw kiszki 100—150 cm<sup>3</sup> 0,3%  $H_2O_2$ , następnie wlać 200—300 cm<sup>3</sup>  $H_2O_2$  tego samego stężenia i pozostawić płyn na 20—30 minut (0,3% można otrzymać przez 10-krotne rozcieńczenie wody utlenionej zwykłej). Do rozcieńczonej wodą przegotowaną wody utlenionej należałoby dodać kwasu octowego do  $\frac{1}{20}$  lub  $\frac{1}{30}$  N., ponieważ w kwaśnym odczynie woda utleniona oddziałuje silniej i nie tak łatwo rozszczepia się na wodę i tlen, czyli dłużej utrzymuje się, jako  $H_2O_2$ , co działa właśnie zabójczo na bakterje i na toksyny. Przemywanie można by powtarzać.

## PIŚMIENNICTWO.

1) R. K o b e r t. Ueber einige Enzyme wirbelloser Thiere. Pflugers Arch. 1903, 99.

2) K a r l S p i r o. Die Wirkung von  $H_2O_2$  auf die Anaerobien. Münch. Medizin. Wochenschrift 1915, Nr. 15.

3) C h. C h a m b e r l a i n e t F e r n b a c h. Sur la desinfection des locaux. Annales de l'Institut Pasteur 1892.

4) A. H o u s w e l. Experim. und Klinische Untersuchun. über die Verwendbarkeit des Wasserstoffsperoxyds in der Chirurgie. Bruns Beiträge zur klinischen Chirurgie 1896.

5) E. P o u l s o n. Lehrbuch der Pharmakologie. 5 Auflage 1920.

6) F r. C r o n e r. Ueber das baktericide Verhalten des  $H_2O_2$  u. s. w. Zeitschrift für Hygiene 1909, 63.

7) K ü s t e r. Untersuchungen über Bakterienvernichtung durch den Sauerstoff der Luft und durch Wasserstoffsperoxyd. Zeitschr. für Hygiene 1901, 50.

- 8) M. Beck. Ueber die desinfizierende Eigenschaft. der Peroxyde. Archiv für Hygiene 1901, 37.
- 9) A. Miller. Ist das unzersetzte  $H_2O_2$  oder aus ihm abgespaltene Sauerstoff der Träger der Desinfektionswirkung. Zeit. für Hygiene 1921, 93.
- 10) D. Rywosch. Die Katalyse des  $H_2O_2$  durch Erythrocyten. Centralbl. für Physiol. 1907, 21.
- 11) Jorns. Ueber Bakterienkatalase. Zeit. für Hygiene 1908, 67.
- 12) D. Rywosz und Marie Rywosch. Ueber Katalyse des  $H_2O_2$  durch Bakterien. Centralbl. für Bakteriologie. 1907, 44.
- 13) O. Bujwid. Differenzierung von Bakterien Kulturen mit  $H_2O_2$ . Centralblatt für Bakteriologie. 1916, 17.
- 14) D. Rywosz. O katalizie wody utleniaonej przez bakterje. Przegląd Epidemiologiczny 1921, I, 524.
- 15) A. Loewenstein. Ueber Katalase. Wiener. Klin. Wochenschrift. 1903, 18.

Aus dem bakteriologischen Institut der Universität in Warschau.  
(Direktor Prof. R. Nitsch).

## Zur Frage der bakteriziden Wirkung von Wasserstoffsperoxyd.

von Dr. RYWOSZ.

Verschiedene Bakterien besitzen in verschiedenem Grade die Fähigkeit,  $H_2O_2$  zu spalten. Verf. untersuchte das Verhältnis zwischen der Empfindlichkeit verschiedener Bakterien und ihrem Spaltungsvermögen. Um eine Milliarde von Staphylococcus aureus abzutöten, sind 8 mgr.  $H_2O_2$  notwendig, bei B. Coli 2,1, bei B. Paratyphus B 1,4, bei Typhus 0,85, bei Cholera 0,3 bis 0,4 mgr. In derselben Reihenfolge fällt auch die katalytische Kraft der Bakterien: bei Staphylococccen am stärksten, bei Cholera am schwächsten. Die Versuche sprechen dafür, dass bei Bakterien, ähnlich wie dies Verf. früher für Erythrocyten nachgewiesen hat, der Katalase eine Schutzwirkung zukommt. Die grosse Empfindlichkeit der Cholerabakterien gegen Katalase lässt die Anwendung von Wasserstoffsperoxyd in 0,3% Lösung bei Cholerakranken als Klyisma angezeigt erscheinen.



Z pracowni do badań nad tyfusem plamistym  
(Dyrektor Prof. Dr. R. Weigl).

## Doświadczenia nad zdolnością aglutynacyjną surowic ogrzewanych.

P o d a ł

Dr. LUDWIK FLECK.

I. Zdolność aglutynacyjna surowic zmienia się pod wpływem ogrzewania bardzo rozmaicie. Niektóre surowice aglutynacyjne zachowują ją nawet po zagotowaniu, w rozcieńczeniu 1 : 10, nad wolnym płomieniem mimo zmłeczenia, inne natomiast tracą ją już przy 70°C.

Zależy to nietylko od rodzaju antygeny i zwierzęcia, ale od całego szeregu innych czynników. Zmiana, która się dokonywa w surowicy ogrzewanej, dotyczy, po za stratą miana aglutynacyjnego, także samego przebiegu aglutynacji. Okoliczności te czynią już z góry nieprawdopodobnym, aby zmiana ta polegała tylko na przemianie pewnej ilości aglutynin w t. zw. aglutynoidy (*Eisenberg i Volk, A. Wassermann*).

W literaturze serologicznej nie brak jest prac doświadczalnych nad tem zagadnieniem. Badania *Eisenberga i Volka, Joosa, Schellera, Picka, Rodelli, Widala i Secarda i in.* nie dotyczą jednak tej strony zjawiska, którą zająłem się w tej pracy, mianowicie zależności zmian surowicy od wartościowości jej i od rozcieńczenia, w którym ją ogrzewano. Ponadto poprzestawali ci autorzy na jednorazowym ogrzewaniu surowicy, nie uwzględniając kolejnych zmian podczas kilkakrotnego ogrzewania.

Badania niniejsze przeprowadzone były na 20 różnowartościowych surowicach królików, świnek i ludzi (*ty. abd., X<sub>19</sub>, Shiga—Kruise, ty. ex.—człow.*), które ogrzewałem, w rozcieńczeniach od 1 : 10 do 1 : 2560, w ciągu 1<sup>h</sup> kolejno w temperaturze od 65°C do 80°C, w niektórych wypadkach do 100°C. Aglutynacyj zrobionych było razem ponad tysiąc, wszystkie makroskopowe w rurkach. Stężenie zawiesiny prątkowej było wszędzie jednakie.

II. Zdolność aglutynacyjna surowicy, a w szczególności surowicy ogrzewanej lub zmienianej w inny sposób nie j est dostatecznie scharakte-

ryzowana przez samo podanie największego rozcieńczenia, aglutynującego zawiesinę o stałym stężeniu zupełnie lub prawie zupełnie. Konieczne jest również podanie, jak surowica ta aglutynuje w dalszych rozcieńczeniach, aż do zupełnego zniknięcia ostatnich śladów aglutynacji, ponieważ z dwóch surowic, aglutynujących w zupełności w rozcieńczeniu 1:1000, jedna może aglutynować jeszcze bardzo wyraźnie przy 1:2000, a druga w tem rozcieńczeniu wcale nie aglutynuje. Z surowic tych pierwsza ma większą zdolność aglutynowania niż druga, jakkolwiek miano ich, według przyjętego sposobu oznaczania, jest równe.

Szczególnie surowice ogrzewane wykazują bardzo różnorodny spadek stopnia aglutynacji podczas rozcieńczania, a ponieważ część ich wykazuje przy mniejszych rozcieńczeniach zjawisko zahamowania aglutynacji, więc samo podanie miana aglutynacyjnego jest zupełnie niewystarczające.

Ale i w surowicach świeżych miano nie jest miarą zjawiska aglutynacji w tem znaczeniu, aby można powiedzieć, że surowica 1:10.000 ma miano 10 razy większe od surowicy 1:1000, podobnie jak nie można temperatury 1000°C uważać za 10 razy wyższą od 100°C. Niedopuszczalne jest również procentowe obliczanie strat miana, tak jak nie można uważać, że ciało, którego temperatura ze 100°C spadła do 90°C, ochłodziło o 10%.

Miano jest bowiem rzeczywiście tylko „mieniem“, wieloznacznym wskaźnikiem, który zmienia się w sposób bardzo zawily pod wpływem różnych, niewspółmiernych przyczyn. Zwłaszcza surowice ogrzewane mają czasem w kilku próbach różne miano, jak to podaje także *A. Wassermann (Paltauf 1913)*, bo już samo rozcieńczanie może wywołać różne nieraz ustosunkowanie się działających czynników surowicy.

Dlatego prace ilościowe, jak klasyczna praca *Eisenberga i Volka (1902)* niemają dostatecznego oparcia i w każdym razie nie pozwalają wysnuwać tak dalekich wniosków, jak to uczynił *Sv. Arrhenius*.

Zdolność aglutynacyjną surowicy można scharakteryzować jedynie przez podanie całego obrazu aglutynacji <sup>1)</sup> np.:

Sur. I. (typ. surow. świeżej) 1:10 +, 1:20 +, 1:40 +, 1:80 +,  
1:160 + —, 1:320 —.

Sur. II. (typ. surow. ogrzew.) 1:10 +, 1:20 +, 1:40 +, 1:80 +,  
1:160 + + —, 1:320 + —, 1:640 śl. 1:1280 —.

Sur. III. (typ. surow. ogrzew.) 1:10 + —, 1:20 + —, 1:40 + + —,  
1:80 +, 1,60 + —, 1:320 śl., 1:640 —.

1) Do oznaczenia stopnia aglutynacji używałem następującej skali:

+	zupełna aglutynacja,
+ śl	bardzo drobny ślad opalizacji z zawieszonych bakteryj, widoczny tylko w odpowiednim świetle,
+ + —	większość bakteryj zaglutynowana,
+ —	połowa „ „
+ — —	mniejszość „ „
śl	ślady aglutynacji
—	zupełny brak aglutynacji.

Z surowic tych, których miano jest jednakie, każda bezsprzecznie ma inną zdolność aglutynacyjną. Porównać je najłatwiej przez wykreślenie krzywych aglutynacji, które można otrzymać, oznaczając na osi rzędnych stopień aglutynacji według podanej skali, a na osi odciętych każdorazowe rozcieńczenie. Krzywe, otrzymane tą drogą można porównywać i analizować, a przede wszystkim wykazują one pewne typy powtarzające się.

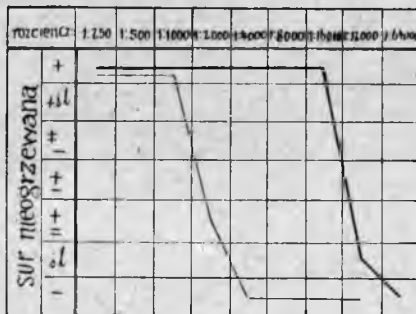
III. Surowice ogrzewane aglutynują inaczej, niż nieogrzewane. Naogół aglutynacja odbywa się wolniej, dochodzi szczytu dopiero na drugi dzień. Kłaczki są mniejsze i opadają wolno. Podobnie zmniejszona jest chwytność (*aviditas*) starych surowic<sup>1)</sup>.

Surowice ogrzewane znacznie częściej aglutynują niezupełnie, niż surowice świeże, a ma to różne przyczyny.

Normalna krzywa aglutynacji (patrz tabl. I.) składa się z ramienia poziomego, położonego na wysokości +, i z ramienia zstępującego, nachylnego pod kątem większym od 45° a mniejszym od 90°, przechodzącego przez 2—3 rozcieńczenia.

TABLICA Nr. 1.

Typ surowicy nieogrzewanej



Linja grubsza: Surowica królika Nr. 3 (X19).

Linja cieńsza: Surowica ludzka Nr. 2404, odcz. Weila.

Krzywe aglutynacji surowicy ogrzewanej składają się albo z dwóch ramion, krótkiego poziomego na wysokości + i dłuższego zstępującego, nachylnego pod kątem mniejszym od 45°, przechodzącego przez 4—8 rozcieńczeń; jest to typ pierwszy (pr. tabl. II.).

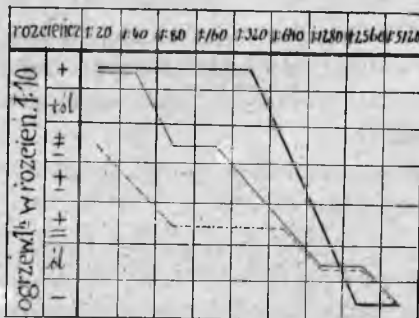
Innego rodzaju krzywa surowicy ogrzewanej składa się z trzech ramion: wstępującego, przechodzącego przez 2—4 rozcieńczenia, poziomego na wysokości + lub niżej i zstępującego, jak w krzywej poprzedniego typu. Ramię wstępujące dowodzi obecności zjawiska zahamowania, które ustę-

<sup>1)</sup> P a l t a u f. 1913, str. 586. Pojęcia *aviditas* używa się w kilku różnych znaczeniach: 1) szybkości wiązania, 2) trwałości wiązania, 3) szybkości wypadania kłaczek, 4) zupełności aglutynacji. Tu tylko użycie 1) i 3).

puje w większych rozcieńczeniach w zupełności lub częściowo. Jest to typ drugi (IIa i IIb; pr. tabl. III.).

### TABLICA Nr. 2.

Typ surowicy ogrzewanej I.



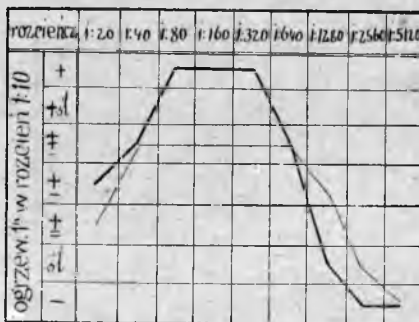
Linja grubsza: Surowica królika Nr. 3 (X<sub>10</sub>) ogrzewana przez 1<sup>h</sup> przy 70° C.

Linja cieńsza: " " " " " " " " " 75° C.

Linja przerywana: " " " " " " " " " 80° C.

### TABLICA Nr. 3.

Typ surowicy ogrzewanej II.



Linja grubsza: Typ II<sup>a</sup>): Surowica królika Nr. 2 (ty. abd.) ogrzew. przy 70° C.

Linja cieńsza: Typ II<sup>b</sup>): " " " (ty. abd. stara) ogrzew. przy 70° C.

Wreszcie trzeci typ krzywych (pr. tabl. IV.) aglutynacyjnych surowic ogrzanych składa się z dwóch ramion, jak typ pierwszy, z tą jednak różnicą, że ramię poziome nie leży na wysokości +, ale niżej. Mamy tu również zjawisko zahamowania, nie ustępujące jednak w sposób widoczny, mimo rozcieńczania surowicy.

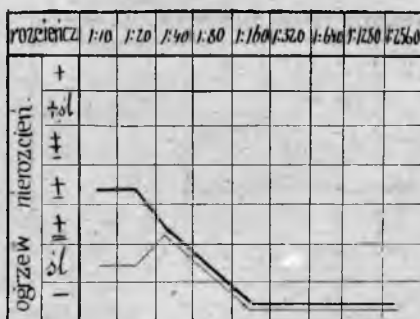
We wszystkich trzech typach krzywych zdarza się często przy końcu zstępującego ramienia krótkie ramię poziome, najczęściej na wysokości „śl” idące przez 2, najdalej przez 3 rozcieńczenia (pr. tabl. II.).

Surowice stare wykazują krzywe aglutynacyjne mniej lub więcej zbliżone do krzywych surowic ogrzewanych. Z krzywych tych wynika więc przedewszystkiem:

1) Ponieważ ramię zstępujące jest stale silniej nachylone i przeciąga się przez 4—8 rozcieńczeń, zamiast przez 2—3, jak w surowicy nie-

TABLICA Nr. 4.

Typ surowicy ogrzewanej III



Linja grubsza: Surowica królika Nr. 5 (X<sub>10</sub>) ogrzew. przez 85 min. przy 70° C.  
Linja cieńsza: Ta sama surowica po 145 min.

ogrzewanej, więc zupełność aglutynacji cierpi w wyższym stopniu, niż zdolność aglutynacji wogóle (patrz tabl. II).

Ostatnie ślady aglutynacji występują nieraz prawie bez zmian, mimo 2, 4, a nawet 8-krotnego rozcieńczenia surowicy i dochodzą do tego samego rozcieńczenia, w jakim ta sama surowica aglutynowała w śladach przed ogrzewaniem. Zjawisko to występuje najwybitniej przy wysokowartościowych surowicach.

2) Istnienie typu I-go dowodzi, że strata miana niezależna jest jedynie od powstawania aglutynoidów, gdyż w krzywych tego typu niema żadnego zahamowania, mimo nieraz dużej straty miana (patrz także tabl. V i VI). Typ ten dowodzi dalej, że strata na zupełności aglutynacji również nie zależy jedynie od powstawania aglutynoidów. Krzywe takie dotyczą głównie surowic małowartościowych.

IV. Utrata zdolności aglutynacyjnej surowicy po ogrzaniu jest stale tem mniejsza, im większe było rozcieńczenie, w którym surowicę ogrzewano. Po następnych ogrzewaniach tej samej surowicy straty są stosunkowo coraz mniejsze. Ogrzewanie ma więc pod tym względem ten sam wpływ, co rozcieńczenie.

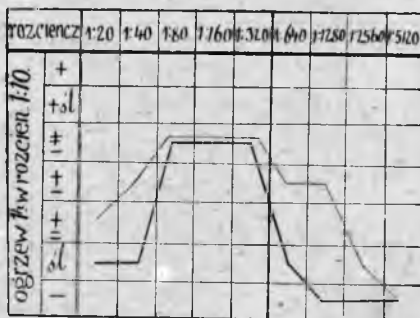
Surowica wysokowartościowa traci znacznie wybitniej, niż niskowartościowa i, po pewnym szeregu ogrzewań, miana ich mogą być prawie równe, nawet jeśli poprzednio jedno wynosiło n. p. 1 : 16000 +, a drugie 1 : 1600 +.

Surowica niskowartościowa zachowuje się więc wobec wysokowartościowej jak rozcieńczona.

Surowica, w której powstało w pewnej temperaturze zjawisko zahamowania, traci znacznie mniej na swej zdolności aglutynacyjnej, niż odpowiadałoby to stratom jej w temperaturze niższej. Czasami towarzyszy pojawianiu się zahamowania zysk miana. Zysk miana podczas ogrzewania obserwowałem wielokrotnie (pr. Scheller.).

TABLICA Nr. 5.

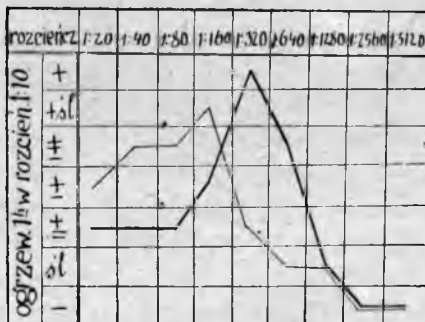
Zahamowanie zmniejsza się, równocześnie miano podnosi się.



Linia grubsza: Surowica królika ty. abd (stara) ogrzewana przy 75° C.  
Linia cieńsza: Ta sama surowica, po ogrzewaniu przy 80° C.

TABLICA Nr. 6.

Zahamowanie zmniejsza się, równocześnie miano opada.



Linia grubsza: Surowica królika (ty. abd.) Nr. 4 ogrzewana przy 75° C.  
Linia cieńsza: Ta sama surowica, ogrzewana przy 80° C.

Pojawienie się zahamowania działa więc również tak, jak rozcieńczenie surowicy.

Surowica, otrzymana przez uodpornienie ogrzewaniami bakterjami (40 — 50 min. w 65° C) jest mniej wrażliwa na ogrzewanie, niż surowica otrzymana żywymi prątkami. Ma ona ponadto szerszy zakres działania od tej drugiej, gdyż aglutynuje ogrzane bakterje prawie równie dobrze, jak nieogrzane. Do podobnych wyników doszedł Joos.

Strata zdolności aglutynacyjnej surowicy podczas ogrzewania jest więc mniejsza, jeśli: 1) ogrzewamy surowicę w większym rozcieńczeniu, 2) jeśli była już ogrzewana, 3) jeśli jest małowartościowa, 4) jeśli tworzy łatwo aglutynoid, 5) jeśli antygen był ogrzewany. *Scheller*, twierdzi, że zachowanie się surowicy podczas ogrzewania zależy również od zjadliwości antygeny, o czym zresztą nie mogłem się przekonać.

V. Powstawanie zjawiska zahamowania aglutynacji nie jest przywiązane do pewnej stałej temperatury. W surowicy *Ty. abd.* powstaje ono w temperaturze 60° — 65° C. po 1/2 h, jeśli ogrzewaniu poddano surowicę nierozcieńczoną, albo w temp. 70° C po 1 h, jeśli wysokowartościową surowicę przed ogrzaniem, 10 razy rozcieńczyć, albo w temp. 80° C. po 1 h, jeśli taką samą surowicę 100 razy rozcieńczyć.

Im mniejsze jest rozcieńczenie surowicy, im wyższe jej miano, i im starszą jest surowica, tem obfitszy powstaje aglutynoid i w niższej temperaturze.

Nierozcieńczona surowica, wysokowartościowa ( $X_{19}$ , — królik) dała aglutynoidy po 85 minutach ogrzewania w temp. 70° C; taka sama niskowartościowa dopiero po 145 minutach.

Surowica, wykazująca zjawisko zahamowania, może mimo to w większym rozcieńczeniu całkowicie aglutynować (pr. krzywe typu II-a).

Rozcieńczenie ogrzewanej surowicy, przy którym tworzą się aglutynoidy, nie jest identyczne z największym rozcieńczeniem, w którym zahamowanie jest jeszcze widoczne, lecz jest zawsze mniejsze. Np. surowica królicza Nr. 4 (*ty. abd.*), ogrzewana w rozcieńczeniu 1 : 10 w temp. 75° C., wykazuje zahamowanie aglutynacji aż do rozcieńczenia 1 : 320, a ta sama surowica, ogrzewana w rozcieńczeniu 1 : 100, nie hamuje aglutynacji ani w rozcieńcz. 1 : 100, ani 1 : 200.

Podczas dalszego ogrzewania surowicy, zawierającej ciało hamujące, znika ono i to tem prędzej, im później i im mniej obficie wystąpiło. Znikaniu temu towarzyszy czasem zysk miana: kilkakrotnie obserwowałem to przy surow. króliczej  $X_{19}$ , dwukrotnie przy starej surowicy króliczej *Ty. abd.* (patrz tabl V).

VI. Opisane zjawiska nie wyczerpują wszystkich zmian, dokonywujących się w surowicach ogrzewanych. Różne „indywidualne“ zmiany w niektórych surowicach nie zasługują na opisanie. Natomiast muszę zanotować, iż wielokrotnie skonstatowałem, że małowartościowe surowice, które w 70° C. straciły zupełnie zdolność aglutynacyjną, po dalszym ogrzewaniu do 80° C. zyskują ją napowrót, coprawda niecałkowicie (*świnka, Ty. abd.*).

VII. Najprostszym wytłumaczeniem obserwowanych zjawisk byłoby przyjęcie, że strata zdolności aglutynacyjnej jest proporcjonalna do stężenia jakiegoś czynnika, którego ilość decyduje o wartościowości surowicy, zmniejsza się podczas ogrzewania i przez rozcieńczanie, a także podczas powstawania ciała hamującego.

Czynnikiem tym mogłyby być hypotetyczne aglutyniny. W takim razie przyjęlibyśmy, że w ogrzewanej surowicy ulegają aglutyniny uszkodzeniu, proporcjonalnie do swego stężenia.

Uszkodzenie to jest tem szybsze, im wyższa jest temperatura, ale w zasadzie odbywa się i w zwykłych temperaturach pokojowych, a nawet w lodowni. Stąd pochodzi, że stare surowice zachowują się po latach, jak ogrzewane.

Uszkodzenie to polega: 1) Na zmianach we wszystkich lub w większości aglutynin, dzięki czemu zmienia się ich chwytność (aviditas). 2) Na dalej idących zmianach w pewnej części aglutynin, dzięki którym miano spada mimo, że zjawisko zahamowania nie występuje. 3) Na tworzeniu się z pewnej ilości aglutynin aglutynoidów (t. j. cząstek ciała hamującego) tem łatwiej, im większe jest stężenie aglutynin podczas ogrzewania. Aglutynoidy te ulegają jakimś dalszym zmianom i to tem prędzej, im mniej ich było.

Przynajmniej jedna z wyliczonych pod 1) 2) i 3) zmian aglutynin jest odwracalna, co tłumaczyłoby pojawianie się zysku miana (pr. tabl. V).

Zjawisko większej odporności surowic, otrzymanych przez uodpornienie ogrzany antygenem, skłaniałoby do przyjęcia zdania *Stronga*, że w skład aglutyniny wchodzi pewna ilość mniejszych aglutynin częściowych (Partialagglutinine) o różnej ciepłotrwałości. Składu takiego dla *Ty. abd.* dowodził *Joos*.

Przyczyny różnicy między typami I-b i III, a typem II-a możnaby szukać w większem powinowactwie (powinowactwo w znaczeniu trwałości wiązania, w odróżnieniu od chwytności, oznaczającej szybkość wiązania i wypadania) aglutynoidów tych pierwszych typów. W takim razie należałoby przyjąć, że powinowactwo to jest różne, zależnie od warunków, bo surowica wytworzona tym samym antygenem może należeć do różnych typów, zależnie od wartościowości i wieku lub ogrzewania.

Wszystkie te regułki posiadają naturalnie tylko mnemotechniczne znaczenie, bo pojęcia aglutyniny i aglutynoidu, jako cząstek ciała aglutynującego i hamującego, są tylko symbolami, które, podobnie jak pojęcie powinowactwa, nie mogą już zgóry rozstrzygać na korzyść chemicznej teorii aglutynacji.

Co do najważniejszej, bo zawsze występującej cechy surowic ogrzewanych, mianowicie zjawiska, że zupełność aglutynacji cierpi w wyższym stopniu, niż zdolność do aglutynacji niezupełnej, to ono właśnie wychodzi poza ramy teorii chemicznej.

Ze zmniejszeniem bowiem stężenia czynnych aglutynin, musiałyby albo równomiernie opadać zupełność aglutynacji i zdolność do aglutynacji niezupełnej, albo też, w wypadkach powstawania ciała hamującego o większem powinowactwie, aglutynacja zupełna byłaby wogóle niemożliwa, a spadek stopnia aglutynacji dawałby krzywe zasadniczo różne od podanych.

Podane zaś typy moglibyśmy jedynie otrzymać, gdybyśmy przyjęli, że powinowactwo aglutynoidów, jak i aglutynin, bywa różne, nawet w tej samej surowicy i zmienia się przy rozcieńczaniu i ogrzewaniu.

Mojem zdaniem, przemawia to raczej za fizykalną niż chemiczną naturą zjawiska aglutynacji i hamowania.



## L I T E R A T U R A.

1. P a l t a u f. Die Agglutination.—Handbuch d. Path. Mikroorg. Kolle.-Wassermann, 1913, II, 580.
2. E i s e n b e r g u. V o l k. Untersuchg. über d. Agglutination. Zeitschft. f. Hyg. u. Infectiönskht. 1902, XL (1902).
3. S c h e l l e r. Experim. Beitrag. zur Theorie d. Aggl.—Zentrblt für Bakt. XXXVI, I, 427 i 717.
4. J o o s. Untersuchg. über d. versch. Agglutinine des Ty-serums. Zentrblt. f. Bakter., XXXIII 1903, 785.
5. V o l k. Techn. u. Meth. d. Aggl.—Handbuch. d. Techn. u. Meth. d. Immunitätsforschg. Kraus-Levaditi, 1909, II.
6. W e i l. Ueber d. Einfl. der Temper. auf d. Aggl.—Zentrbl. f. Bakt. XXXVI i XXXVII.
7. C a s t e l l a n i. Die Aggl. bei gemisch. Infection.—Zeitschft. für Hyg. u. Infectiönskht. 1902, XL.

Du laboratoire des recherches sur le typhus exanthématique.  
Prof. Dr. R. Weigl.

## Recherches sur le pouvoir agglutinant des sérums chauffés.

Par le Dr. LUDWIG FLECK.

L'auteur a accompli environ 1000 agglutinations des sérums différemment dilués, chauffés jusqu'à la tem. de 65° — 80° C. En se basant sur ces expériences l'auteur a tracé des courbes représentant le degré du pouvoir agglutinant du sérum chauffé en différentes dilutions. Les courbes représentent quelques types, qui reviennent souvent, d'on peut tirer les conclusions suivantes:

- 1) La disparition du titre ne dépend pas seulement de l'apparition du corps inhibitant.
- 2) La totalité de l'agglutination souffre par le chauffage davantage que la capacité a l'agglutination incomplète.
- 3) La destruction du pouvoir agglutinant par le chauffage est inversement proportionnelle au degré de la dilution du sérum, à son titre primitif et à la facilité avec laquelle se forme le corps inhibitant.

4) L'antigène chauffé donne des sérums moins sensibles à la température.

5) L'apparition du phénomène de l'inhibition de l'agglutination n'est pas liée à une température déterminée, au contraire son apparition est plus rapide dans le sérum moins dilué, dans le sérum au titre plus élevé et plus âgé.

On peut se servir comme d'un moyen mnémotechnique d'une règle à peu près juste, c. à d. que les agglutinines dans le sérum chauffé disparaissent proportionnellement au degré de leur concentration.

---

# Cholera azjatycka w wojsku na obszarze wojennym w roku 1920—1921.

P o d a ł

Dr. STANISŁAW SASKI.

Pierwszą pewną wiadomość o szerzeniu się cholery wśród ludności cywilnej w Rosji i na Ukrainie oraz w szeregach armji rosyjskiej, podczas kampanji wojennej w r. 1920, otrzymał Szef Sanitarny Naczelnego Dowództwa w dniu 21 września 1920 r. od Szefa Sanitarnego armji, operującej na Wołyniu. W kilka zaś dni później wojska nasze, zajmując Lidę, znalazły się już na terenie, objętym przez epidemję. Dnia 30 września otrzymano w Nacz. Dow. wiadomość o szerzeniu się cholery wśród ludności cywilnej m. Lidy oraz powiatu Lidzkiego. Prawie równocześnie wpłynęło zgłoszenie pojedynczych przypadków cholery wśród mieszkańców Grodna oraz kilku wsi okolicznych, jako też wśród jeńców bolszewickich, znajdujących się na tym terenie. Rozpoznanie postawione były na zasadzie objawów klinicznych, gdyż wobec braku pracowni na miejscu przeprowadzenie badań bakterjologicznych było podówczas niemożliwe. Już w parę dni po otrzymaniu wiadomości o przypadkach cholery na obszarze wojennym mianowicie w pierwszych dniach października, stwierdzono pierwsze przypadki tej choroby w szpitalach wojskowych warszawskich (na Grochowiu i przy ul. Czerniakowskiej) wśród żołnierzy i jeńców, przybyłych z obszaru wojennego.

Na teren, toczących się w roku 1920, walk cholera azjatycka zawleczona została bezsprzecznie przez oddziały armji rosyjskiej, wśród których grasowała z większym lub mniejszym natężeniem, o czym świadczyły zarówno zeznania jeńców lekarzy, jak w znaczniejszym jeszcze stopniu obecność chorych na cholere żołnierzy, pozostawionych w naszym ręku przez cofającą się armję rosyjską oraz wielka liczba nosicieli mętników cholery wśród jeńców. Zarażeniu uległy głównie, jeżeli nie wyłącznie, części północne terenu operacyjnego, mianowicie powiaty Grodzieński, Wołkowyski i Lidzki. W pow. Grodzieńskim główne ognisko znajdowało się we wsi Wierciliszkach, oddalonych o 7 kłm. od Grodna, w której urządzony był przez wojska rosyjskie szpital prowizoryczny dla żołnierzy, chorych na cholere. Wobec braku zarządzeń ochronnych, ze szpitala tego cholera łatwo mogła się rozszerzyć na okoliczną ludność cywilną. W powiatach Wołkowyskim i Lidzkim zanotowane były przypadki cholery wśród ludności

cywilnej m. Wołkowyska, Mostów, Lidy oraz kilkunastu wsi w pobliżu położonych. Według relacji lekarzy oddziałów, operujących na północ i północny wschód od Lidy, w miejscowościach tych cholery wśród ludności cywilnej nie stwierdzono.

W armji, zajmującej Małopolskę Wschodnią, część Wołynia i Podola, przypadków cholery nie zgłoszono. Na obszarze etapowym tej armji, mianowicie w Pyszkowcach pod Buczaczem, było kilkanaście przypadków cholery wśród ludności cywilnej, które jednak zachorzeń w wojsku nie spowodowały.

W armji, rozłożonej na Polesiu, w oddziałach frontowych również przypadków cholery nie spostrzegano, w etapie natomiast, mianowicie w Brześciu n./B., zdarzały się przypadki cholery, o których mowa będzie niżej.

W armji, zajmującej Grodzieńszczyznę, zanotowano wśród żołnierzy tylko 2 przypadki cholery. Pierwszy dotyczył kanoniera K. M., który zachorował w Grodnie w dniu 8 października, drugi dotyczył szeregowca N. z oddziału rozlokowanego w Sokółce, który jako chory nie na cholere przybył do Białegostoku w dniu 29 października i przeszedłszy przez stację zborną, umieszczony został w szpitalu wojskowym. Objawy cholery wystąpiły u niego 2 listopada. Ponieważ w oddziale, z którego przybył N., przypadków cholery zarówno przedtem, jak potem nie spostrzegano, należy przypuścić, iż zaraził się on poza oddziałem w drodze z Sokółki do Białegostoku, lub, co pewniejsza, w Białymstoku na Stacji Zbornej albo już w szpitalu. Dokładniejsze dochodzenie epidemjologiczne w przypadku tym przeprowadzone nie było.

Największa liczba przypadków cholery zanotowana była w oddziałach armji, operującej w powiecie Lidzkim, a zatem w okolicy najbardziej przez epidemję nawiedzonej. Pierwszy przypadek cholery w tej armji stwierdzono wkrótce po zajęciu przez nią rejonów zakażonych, mianowicie w końcu września. Następne przypadki, ogółem w liczbie 42, przypadają na 1-szą dekadę października. Po dniu 10/X nowych przypadków nie zgłoszono.

Z powyższego wynika, iż cholera azjatycka w oddziałach armji naszej charakteru epidemji nie przybrała, nie bacząc na złe warunki sanitarne, wśród których formacje zmuszone były rozwijać swą akcję. W przeciągu miesięcy września, października i listopada w armjach, w których wogóle zdarzyły się zachorzenia na cholere, zanotowano 45 przypadków, co w stosunku do liczebności armji stanowi liczbę znikomą. Podkreślić należy przytem wczesne zlikwidowanie epidemji na froncie, gdyż jak zaznaczono wyżej, po 10 października przypadków cholery w formacjach frontowych już nie notowano.

Znacznie dłużej utrzymywały się ogniska zarazy w niektórych punktach obszaru etapowego, mianowicie w Brześciu n. Bugiem i w Białymstoku. Przebieg epidemji w Brześciu n. B. opisał *L. Szyfman*, ograniczam się przeto do podania na tem miejscu pewnych tylko szczegółów. Na istnienie ogniska cholery w Brześciu n. Bugiem naprowadziło badanie etjologii przypadków, stwierdzonych w pierwszych dniach października w warszawskich szpitalach wojskowych na Grochowie i przy ul. Czerniakowskiej. Okazało się mianowicie, iż z pośród ogólnej liczby 20 tu

bakterjologicznie stwierdzonych przypadków cholery, 11 dotyczyło chorych, którzy przybyli pociągiem sanitarnym z Brześcia n. B., gdzie dłuższy lub krótszy czas przebywali na Stacji Zbornej dla chorych i rannych. Wszyscy ci chorzy odeszli ze swych oddziałów do szpitali jako gorączkujący bez objawów, wzbudzających podejrzenie o cholere. U większości z nich stwierdzono następowo w szpitalach dur powrotny. Nasuwało się wobec tego podejrzenie, iż na Stacji Zbornej w Brześciu n. B. istniało ognisko zarazy. Dochodzenie epidemjologiczne, poparte badaniami bakterjologicznymi, przeprowadzone niezwłocznie w Brześciu, potwierdziło podejrzenie powyższe oraz wykryło ponadto drugie ognisko cholery w Punkcie Wysyłkowym dla jeńców. Bakterjologicznie stwierdzono cholere na Stacji Zbornej, po raz pierwszy w dn. 13 października. Wobec tego, że pierwsze przypadki cholery na Stacji Zbornej, jako też w P. W. J. zostały przeoczone, stało się niemożliwym stwierdzenie, gdzie mianowicie powstało pierwotne ognisko w Brześciu n. B. i skąd choroba została zawleczona. Najbardziej prawdopodobnym wydaje się przypuszczenie, iż została ona przyniesiona na P. W. J. i Stację Zborną w końcu września przez pierwsze partie jeńców wojennych, wśród których byli chorzy na cholere albo nosiciele mętwików. Przeoczenie pierwszych przypadków tłumaczy się do pewnego stopnia tem, iż wielokrotnie cholera u jeńców przebiegała pod postacią kliniczną czerwonki i przeto wypróżnienia tych chorych, jako nie podejrzanych o cholere, nie były poddawane badaniom na obecność mętwików cholery.

Dzięki energicznym zarządzeniom ognisko cholery na Stacji Zbornej zostało zlikwidowane jeszcze w październiku. W Punkcie wysyłkowym dla jeńców, mimo kontumacji, zarządzonej w 2-iej połowie października oraz izolowania nosicieli, epidemja trwała jeszcze przeszło miesiąc. Ostatni przypadek zdarzył się 9 grudnia. Dokonane w grudniu i styczniu 1921 r. masowe badanie bakterjologiczne kału wszystkich jeńców Punktu Wysyłkowego dało wynik ujemny.

Poza wyżej wymienionymi ogniskami cholery w Brześciu n. B., istniało tam jeszcze ognisko trzecie, które jednak przez dłuższy czas uchodziło uwadze miejscowych władz sanitarnych. Ognisko to znajdowało się w wojskowym szpitalu epidemicznym. Pomimo wygaśnięcia ogniska epidemji na Stacji Zbornej oraz w P. W. J. oraz mimo braku przypadków cholery w oddziałach załogi miejscowej, jako też wśród ludności cywilnej, do Oddziału dla chorych na cholere przy szpitalu tym napływały sporadycznie przypadki bakterjologicznie stwierdzanej cholery przez cały grudzień 1920 r. oraz jeszcze w początkach stycznia 1921 roku. W tym samym czasie, t. j. do końca grudnia, stwierdzane były w szpitalach w Warszawie pojedyncze przypadki cholery, względnie wykrywani byli nosiciele z pośród chorych, ewakuowanych ze szpitala epidemicznego w Brześciu n. B. Dochodzenie szczegółowe, przeprowadzone w początku stycznia 1921 r. wykazało, iż źródłem zakażenia był oddział I-szy tego szpitala, którego główny kontyngent chorych stanowili jeńcy. Niezwłoczna kontumacja szpitala, zbadanie na nosicielstwo wszystkich chorych, jako też personelu szpitala, dezynfekcja ubikacyj oraz ścisłe przestrzeganie zasad odkażania

materiału zakażonego, doprowadziły w krótkim czasie do stłumienia ogniska zarazy. Ostatni przypadek cholery w szpitalu, będący równocześnie ostatnim przypadkiem w Brześciu n. B., stwierdzony został dnia 23 stycznia 1921 r. W czasie od 10 do 23 stycznia, na ogólną liczbę 480 chorych, znajdujących się w szpitalu, wykryto nosicieli 16 i ujawniono 6 chorych na cholereę zaś z pośród 71 osób personelu wykryto 2 nosicieli (posługaczkę i jeńca-sanitarjusza) i jedną chorą na cholereę posługaczkę.

W czasie trwania epidemji cholery w Brześciu n./B. wykonano w polowej pracowni bakterjologicznej ogółem 4081 badań na cholereę, przy czem otrzymano wynik dodatni w 121 przypadkach, a mianowicie: żołnierzy chorych na cholereę było 8-miu (zmarło 4), nosicieli — 7; jeńców chorych—72 (zmarło 33), nosicieli — 28; pracowników cywilnych chorych—3 (zmarło 0), nosicieli — 3. Ogółem więc, od października 1920 r. do 23/I, 1921 r., w Brześciu n. B. stwierdzono bakterjologicznie cholereę w 83 przypadkach (zmarło 37 cz. 44,5%) oraz ujawniono 38 nosicieli. Liczby powyższe nie obejmują przypadków cholery przeoczonych na początku epidemji. Przypadki te dotyczyły głównie, jeżeli nie wyłącznie, jeńców dostarczonych na Stację Zborną i do szpitali z Punktu Wysyłkowego dla jeńców oraz z kompanij robotniczych. Podkreślić należy, iż w oddziałach załogi Brześcia n. B. nie zaszedł ani jeden przypadek cholery. Źródłem zakażenia się żołnierzy była Stacja Zborna oraz szpital. Badanie bakterjologiczne wody ze studzien w Brześciu dało pod względem obecności mętwików cholery wyniki ujemne.

Drugim, obok Brześcia n. B., punktem obszaru etapowego, w którym stwierdzone zostały przypadki cholery wśród żołnierzy, względnie wśród jeńców wojennych, był Białystok. Przypadki te jednak, z wyjątkiem, być może jednego, były pochodzenia zamiejscowego. W garnizonie Białegostoku przypadków cholery nie stwierdzono. Pierwszy przypadek cholery w Białymstoku stwierdzono klinicznie 23 października. Dotyczył on jeńca z kompanji robotniczej, transportowanej z Brześcia n. B. do Baranowicz, Chory zmarł 24/X, a badanie bakterjologiczne, wykonane w pracowni szpitala Ujazdowskiego w Warszawie, rozpoznanie potwierdziło. Dalsze przypadki pochodziły z dwóch transportów jeńców litewskich, wysłanych celem repatrjacji z obozu w Wadowicach do Punktu Wymiany w Grodnie. W pierwszym transporcie, przybyłym do Białegostoku dnia 26/X, stwierdzono bakterjologicznie cholereę u jednego jeńca, zmarłego tegoż dnia w szpitalu. Z drugiego transportu w dniu 28/X odosobniono sześciu podejrzanym o cholereę jeńców, z których dwóch zmarło (28/X i 3/XI). W obydwu przypadkach badanie bakterjologiczne dało wynik dodatni. Dzięki natychmiastowemu izolowaniu transportów i poddaniu ich kwarantannie, przypadki te nie spowodowały dalszych zachorzeń. Stwierdzenie w Białymstoku cholery wśród jeńców litwinów przyczyniło się bezpośrednio do wykrycia nieujawnionej jeszcze podówczas epidemji w Obozie jeńców w Wadowicach. Ostatni wreszcie przypadek cholery, stwierdzony w szpitalu wojskowym w Białymstoku, dotyczył wyżej wymienionego szeregowca N., przybyłego z Sokółki. Jak zaznaczyłem wyżej, pochodzenie przypadku tego pozostało niewyjaśnione.

Zarówno Brześć n. B., jak Białystok, jako punkty, leżące na głównych drogach komunikacyjnych między obszarem wojennym a krajem, miały za zadanie filtrowanie ogółu chorych i rannych przed ewakuacją ich do kraju w celu nieprzepuszczania osobników, mogących być przenośnikami mętwików cholery. Jak wynika z powyższego, Brześć zadania tego należycie nie spełnił. Co się tyczy Białegostoku, to nie posiadam pewnych wiadomości o przypadkach cholery w kraju, zawleczonych przez Białystok, przynajmniej w okresie, w którym miejscowość ta należała jeszcze do obszaru wojennego. Oczywiście, nie jest rzeczą wyłączone, iż wśród chorych i rannych, ewakuowanych do kraju przez Białystok, znajdowali się nosiciele mętwików, gdyż odnośne badania bakterjologiczne dokonywane były tam wyłącznie w przypadkach, podejrzanych o cholereę. Co się tyczy dwu przypadków nosicieli, przybyłych z Białegostoku i ujawnionych w szpitalu przy ul. Czerniakowskiej w Warszawie, o których wspomina w swej pracy *Sterling-Okuniewski*, to należy zauważyć, iż nie przedstawiają się one dość jasno. Nie wiadomo mianowicie, jak długi czas przebywali chorzy ci w szpitalu, przed wykryciem u nich wibrjonów. W związku z tem nie można z całą pewnością wyłączyć, iż nie nabyli oni zarazków już w szpitalu, jak stało się to w 14 innych przypadkach, o których wspomina *Sterling-Okuniewski*.

Zestawiając przypadki cholery, stwierdzone od września 1920 r. do 23 stycznia 1921 r. w oddziałach, czynnych na froncie oraz na obszarze etapowym, otrzymujemy liczby następujące:

	chorzy	nosiciele
żołnierze . . . . .	53	7
jeńcy . . . . .	80	28
osoby cywilne, zatrudnione w Zakładach wojskowych }	3	3
razem . . . . .	136	38

Według zestawienia, podanego przez *Mutermilcha*, na obszarze kraju stwierdzono cholereę ogółem u 42 żołnierzy. Łącznie więc z przypadkami, stwierdzonemi na obszarze wojennym ogólna liczba przypadków cholery w armji naszej wynosi 95. Śmiertelność na cholereę na obszarze wojennym wynosiła, jak wynika z zestawienia, dotyczącego epidemji w Brześciu n. B., około 44,5%. Absolutna liczba przypadków śmierci w wojsku na obszarze wojennym w ciągu całej epidemji nie dała się, niestety, na podstawie posiadanego materiału ustalić.

Co się tyczy wpływu szczepień ochronnych na chorobność i śmiertelność na cholereę, to wobec braku ścisłej rejestracji szczepień w wojsku w okresie epidemji 1920/21 roku, zebranie odnośnych danych na szerszą skalę było niemożliwe. Z zestawienia *L. Szyfmana*, opartego wyłącznie na materiale epidemji w Brześciu n. B., wynikałoby, iż, gdy wśród nieszczepionych śmiertelność wynosiła 50% przypadków, pośród szczepionych jednokrotnie wynosiła ona 47,4%, pośród szczepionych zaś dwukrotnie — 32,2%.

Na obszarze wojennym, podobnie jak w kraju, cholera przenosiła się wyłącznie drogą kontaktu; w żadnym przypadku nie dało się stwierdzić szerzenia się jej przez wodę lub produkty spożywcze, co tembardziej zasługuje na uwagę, iż stan sanitarny osiedli na kresach pozostawał bardzo wiele do życzenia. Temu sposobowi przenoszenia się przypisać należy w głównej mierze nieznaczną liczbę ofiar epidemii wśród wojska.

Co się tyczy sposobów zwalczania epidemii, zastosowanych w wojsku na obszarze wojennym, to wymienię tutaj tylko ważniejsze zarządzenia ogólne, zaznaczając, iż w poszególnych przypadkach przestrzegane były zwykle przepisy sanitarno-higieniczne, jak oto: odosobnianie chorych i nosicieli, odkażanie, wynajdywanie źródła zakażenia i t. d. Nakazane zostało przeprowadzenie szczepienia tetrawakcyną wszystkich żołnierzy i jeńców. Oddziały, przechodzące z odcinków zakażonych do kraju lub na odcinki frontu względnie etapu, wolne od epidemii, winne były przejść na miejscu 5-cio dniową kwarantannę. To samo dotyczyło oddziałów jeńców. W połowie listopada wstrzymano całkowicie transportowanie jeńców z obszaru wojennego do kraju oraz przesuwanie kompanij robotniczych z jednej miejscowości do drugiej. W celu ograniczenia ruchu osobowego między obszarem wojennym a krajem wstrzymano (do 26/X 1920) urlopy oficerów i szeregowych, podróże zaś służbowe polecono ograniczyć do najniezbędniejszych, przyczem osoby wyjeżdżające podlegały oględzinom lekarskim w swoim oddziale. Ustanowiono stacje szczepienia ochronnego dla przejeżdżających do kraju na dworcach kolejowych w Białymstoku, Czeremsze, Brześciu n. B. i w Kowlu. Chorzy i ranni przed ewakuacją do kraju winni byli przebyć przynajmniej 5-cio dniową obserwację w szpitalach, znajdujących się na wschód od linii Grajewo — Białystok — Brześć n. B.

## P I Ś M I E N N I C T W O.

1. M u t e r m i l c h S. Epidemja cholery w Armji Polskiej i wśród jeńców bolszewickich w 1920—1921 r. Przegląd Epidem. 1922. II. 92.
2. M u t e r m i l c h S. L'épidémie du cholera dans l'armée polonaise en 1920 — 1921. Annales Past. 1922, 36, Nr. 4.
3. S t e r l i n g — O k u n i e w s k i S. przyczynek do epidemjologii cholery. Przegl. Epidem. 1920/1921. I. 305.
4. S z y f m a n L. Epidemjologja cholery w Brześciu nad Bugiem. Przegląd Epidem. 1921. I. 646.



R E S U M É.

# Le choléra asiatique dans l'Armée Polonaise dans la zone des Armées et des Etapes en 1920 — 1921.

Par le dr. St. SASKI.

L'épidémie de choléra a été importé sur le terrain des hostilités par les armées russes. Les premiers cas de cette maladie, dans les détachements polonais aux Armées, ont été constatés à la fin du mois de septembre 1920. Néanmoins la maladie n'avait pas un caractère épidémique et des cas sporadiques, seulement, se sont répétés dans le courant de la première décade d'octobre, avec un chiffre total de 45 cas.

Dans la zone des Etapes, à Bialystok et Brest s/Bug notamment, le choléra a duré plus longtemps, choisissant principalement ses victimes parmi les prisonniers de guerre. A Brest s/Bug trois foyers s'étaient formés simultanément: au point de concentration des malades et blessés, au poste de triage pour prisonniers de guerre, et à l'hôpital militaire des étapes.

Ce dernier foyer, ayant existé le plus longtemps, fut définitivement éteint en janvier 1921.

Le nombre total de cas de choléra constatés dans les détachements aux Armées et dans la zone des Etapes a été de:

soldats malades . . . . .	53;	soldats porteurs de germe .	7.
prisonniers de guerre malades	80;	prisonniers porteurs de germe	28.
travailleurs civils dans les établissements militaires ma- lades . . . . .	3;	travailleurs civils dans les établissements militaires por- teurs de germe . . . . .	3,

---

# O metodzie Harrisa szczepień przeciw wodowstrętowi.

P o d a ł

Dr. BOG. FEIERABEND (Praga Czeska).

Modyfikacje sposobu, podanego przez *Pasteura* dla szczepień przeciw wodowstrętowi, dążą przede wszystkim ku temu, aby doprowadzić do znaczniejszego stopnia odporności, aniżeli przy stosowaniu metody pierwotnej, oraz aby uzyskać odporność rychlej. Cel ten starano się osiągnąć już to drogą stosowania szczepionki o większej zjadliwości np. (*Ferran*, *Proescher*), już to zmieniając zjadliwość zarazka przez dodanie chemikaljów (*Fermi*), lub przez djalizę (*Cummings*), albo wreszcie przez równoczesne stosowanie surowicy czy też przez wstrzykiwanie szczepionki uczulonej (*Marie*). Po części należy tu i metoda *Högyesa*, która stosuje zarazek świeży, lecz w postaci zawiesiny znacznie rozcieńczonej. Z drugiej strony znowu spotykamy usiłowania, dążące do uproszczenia przyrządzania szczepionki. Pierwotny sposób *Pasteura* wymaga bowiem codziennego szczepienia królików i codziennego wyjmowania rdzenia, co kosztuje dużo roboty, czasu i materiału. Pod tym względem zastosowanie przez *Calmette'a* gliceryny dla konserwacji serji rdzeni z różnych dni oznacza już wielki postęp, upraszcza bowiem znacznie przygotowanie szczepionki oraz umożliwia wygodne przesyłanie jej pocztą i stosowanie na miejscu.

W artykule niniejszym zamierzamy zwrócić uwagę na niezwykle zajmujący sposób przyrządzania szczepionki przeciw wodowstrętowi, podany przez *Dr. Harrisa* w St Louis — sposób, który bez wątpienia zasługuje na wypróbowanie i u nas przez fachowców.

Technika przyrządzania (stosowana w pracowniach firmy Mulford C-o, Glenolden Pa), jest — pokrótce ją przedstawiając — następująca. Mózg, wraz ze rdzeniem królika, którego zabito w okresie rozwiniętego porażenia, pozbawia się opony miękiej z naczyniami i rozciera się go w moździerz o podwójnych ścianach, pomiędzy które równocześnie zostaje wpuszczony z bomby zgęszczony bezwodnik kwasu węglowego. Jeżeli rozcieranie rozpoczynamy dopiero w chwili, kiedy moździerz na całej powierzchni pokryty zostanie szronem, cała masa mózgodzeniowa rozpada się w ciągu 2 minut na delikatny proszek. Proszek ten przenosimy do miski ochłodzo-

nej w podobny sposób, jak to czyniliśmy z moździerzem, następnie zaś, wraz z miską, szybko wkładamy do eksykatora, zawierającego zgęszczony kwas siarkowy. Z eksykatora wypompowujemy, również możliwie szybko (w ciągu kilku minut), powietrze, schodząc do ciśnienia poniżej 2 mm. słupa rtęci. Tak ewakuowany eksykator zanurzamy w mieszaninie lodu i chlorku wapniowego ( $-18^{\circ}\text{C}.$ ). W ciągu 36—48 godzin następuje zupełne odwodnienie proszku. Proszek, wysuszony w ten sposób, rozdziela się i zatapia w tutkach szklanych, przyczem znowu należy zważać, aby działanie wilgoci ograniczyć do minimum. Chcąc następnie użyć sproszkowanej szczepionki do wstrzykiwań, przyrządzamy zawiesinę proszku w roztworze fizjologicznym.

Jeżeli materiał roztarto dokładnie, jeśli zamrożono i wysuszono go w ciepłocie, nie przekraczającej  $18^{\circ}\text{C}.$ , proszek wykazuje prawie taką samą zjadliwość, jak i materiał świeży. Fakt ten pozostaje w pozornej sprzeczności z spostrzeżeniami, poczynionymi przy stosowaniu pierwotnej metody *Pasteura*, gdzie ręka w rękę z utratą wody (podczas suszenia nad ługiem) idzie zmniejszanie się zjadliwości. *Harris* uważa tę sprzeczność za pozorną i tłumaczy ją w następujący sposób. W ciągu powolnego odwodniania, jakie odbywa się w metodzie *Pasteura*, podnosi się w komórce rdzeniowej stężenie roztworu soli i innych substancyj rozpuszczalnych, aż wreszcie dosięga on stopnia, przy którym działa niszcząco na zarazek wścieklizny, wprost drogą chemiczną. Jeżeli natomiast rdzeń, zupełnie jeszcze zmarznięty, poddajemy wysuszeniu — i to szybkemu i w niskiej temperaturze, pozbawiamy wtedy kolejno jedną komórkę, względnie jedną drobinę za drugą, wody niejako przez bezpośrednie ułatwienie się lodu, wskutek czego nie powstają warunki, w których mogłyby się wytworzyć zgęszczone roztwory soli albo innych substancyj rozpuszczalnych. Jak długo przechowujemy proszek w bezwzględnej zabezpieczeniu przed działaniem wilgoci, jadowitość jego zmniejsza się bardzo nieznacznie. Skoro jednak sproszkowaną szczepionkę, która jest nader hygroskopijna, wystawimy na działanie powietrza, pochłania ona chciwie wodę, rozplywa się, zakaźność jej zaś opada szybko. Stopień zakaźności sproszkowanej szczepionki zależy więc od stopnia zimna, działającego w ciągu rozcierania rdzenia oraz w ciągu suszenia proszku, warunkiem zaś utrzymania pierwotnego stopnia zakaźności jest bezwzględna ochrona szczepionki przed wilgocią.

Preparat gotowy poddaje się następnie miareczkowaniu. *Harris* posługuje się przy tem miarą, zaprowadzoną w roku 1907 przez *Harveya* i *Mc. Kendricka*, którzy „najmniejszą dawką zakaźną“ (M. I. D.) nazywają najmniejszą ilość proszku, która, wstrzyknięta pod oponę twardą królika, powoduje u niego porażenie 7-go dnia; wynosi ona zwykle około 0,004 mg.

Jeżeli proszek, zatopiony w rurkach, trzymamy w ciepłocie  $0^{\circ}\text{C}.$ , zakaźność jego nie doznaje przez okres kilku miesięcy prawie żadnego obniżenia. Natomiast w rurkach, trzymany w zwykłych lodowniach (w ciepłocie  $+ 8^{\circ}$  do  $+ 12^{\circ}\text{C}.$ ), obniża się zakaźność szczepionki w tempie, które można wyrazić krzywą paraboliczną. M. I. D. wynosi bowiem po 21 dniach 0,008 mg., po 50 dniach 0,01 mg., 100 dniach 0,02 mg., po 200

dniach 0,05 mg, po 500 dniach 0,1 mg. (dla porównania warto zaznaczyć że zakaźność proszku 200-dniowego dorównuje zakaźności rdzenia, 2-dniowego, spreparowanego według metody *Pasteura*). *Harris* sam przechowuje sproszkowaną szczepionkę w ciepłocie  $+ 10^{\circ} \text{C}$  i osłabia w ten sposób celowo jej zakaźność w przekonaniu, popartem przez doświadczenie, że szczepionka nie traci przy tem na własnościach immunizacyjnych. Zdanie to nie zgadza się z doświadczeniem, poczynionem przy stosowaniu pierwotnej metody *Pasteura*. Tutaj bowiem — według przyjętego zapatrywania — zdolność immunizacyjna szczepionki jest zależna od stopnia zakaźności. Jednakowoż i w tym kierunku wytłumaczenie możemy znaleźć w różnicach w sposobie suszenia. Tak samo bowiem, jak u szczepionek bakteryjnych, zdolność immunizacyjna pozostaje w odwrotnym stosunku do stopnia dezintegracji komórki bakteryjnej, i w tym przypadku można sobie wyobrazić, że zarazek wścieklizny, pomimo częściowej utraty zakaźności, zachowuje własności ochronne, skoro przez nagłe zamrożenie i wysuszenie w próżni zapobieżono daleko idącemu jego rozpadowi.

Układając swój schemat szczepienia, dąży *Harris* do możliwie ścisłego dawkowania. Wstrzykuje on w lekkich przypadkach około 5.000 M. I. D. w ciągu 6 dni, w przypadkach poważniejszych 10.000 M. I. D. w ciągu dni 8, w przypadkach niebezpiecznych ugryzień 30.000 jednostek w ciągu dni 15-tu; w jednym przypadku stosował nawet 70.000 jednostek. (Dla porównania zauważymy, że przy stosowaniu metody *Pasteura* szczepi się około 2.000 M. I. D., zaś przy sposobie *Högyesa* około 2.000 — 4 000 jednostek.) Szczepienie rozpoczyna *Harris* od 250 M. I. D. pierwszego dnia i, nie powtarzając dawki, względnie nie wracając do dawek poprzednich, niższych, dochodzi do 3.000 — 5 000 jednostek. Na początku daje zwykle proszek 500-dniowy i, podnosząc dawkę, przechodzi równocześnie do szczepionki świeższej, aż wreszcie do proszku zupełnie świeżego.

Według listownych danych autora, wyniki statystyczne, osiągnięte opisaną metodą do końca roku 1920, są następujące. Ogółem leczono 3.500 osób, pomiędzy nimi 1.300 ugryzionych przez psy, u których wściekliznę stwierdzono dowodnie. Z tej ogólnej liczby szczepionych, zmarły na wściekliznę trzy osoby — jednak po tak krótkim okresie wylegania, że śmiertelność, obrachowana według *Pasteura*, dorównuje zeru. Nie doniesiono o żadnym przypadku porażenia *Landryego*.

Sposób *Harrisa* stosuje się w Stanach Zjednoczonych, w państwie Indiana oraz w miastach St. Louis i New Orleans. Oprócz tego zajmują się wyrobem szczepionki według *Harrisa* dwie duże firmy prywatne, rozsyłając je po całym kraju obok oryginalnej szczepionki *Pasteura*.

Już na podstawie podanego tu streszczenia metody zdaje się być uzasadniony sąd, że uodpornianie zapomocą sproszkowanej szczepionki, sporządzonej według *Harrisa*, łączy zalety sposobu *Pasteura* i metody *Högyesa*, t. j. stosowanie materiału osłabionego, pozbawionego własności zakaźnych dla człowieka (wedle metody pierwszej) z prostotą ilościowego rozcieńczenia (sposobem drugiego). Jeżeli zaś dalej, w myśl przyjętych ogólnych zapatrywań, stopień osiągniętej odporności zależy od ilości wstrzykniętych jednostek zakaźnych, metoda *Harrisa* daje większe szanse od obydwuch

poprzednich, stosuje bowiem 2 — 10 razy więcej M. I. D. od tamtych. Wreszcie skraca ona znacznie okres szczepienia.

Największą jednak zaletą opisaney metody jest jej strona ekonomiczna. Oszczędza ona bowiem ogromnie nakład czasu, pracy i kosztów. Zużywając mózg wraz z rdzeniem, otrzymuje się tą metodą z jednego królika szczepionkę dla 20 — 25 kompletnych seryj. Wystarczy zaszczepienie kilku królików jednocześnie, aby sporządzić następnie, również za jednym razem, ilość szczepionki wystarczającą na przeciąg 12 miesięcy dla pokażnej liczby osób i będącą stale pod ręką w gotowym stanie. Oto zalety, które potrafi najlepiej ocenić ten, kto stosuje oryginalną metodę *Pasteura*.

Zastanawiając się nad sposobem *Harrisa*, nie można nie zwrócić uwagi na pewne wątpliwości. I tak, przy oznaczaniu M. I. D. nowej szczepionki napotyka się na trudności, mogące spowodować błędy, idące nawet do 100%, — wobec tego trudno następnie oceniać i stopień obniżenia zakaźności, jaki wykazuje szczepionka, trzymana w + 10° C.; nie jest niemożliwem dalej, że nawet w samej zawieszynie przed wstrzyknięciem zmienia się zjadliwość szczepionki. Trudno jednak przypuścić, aby wspomniane nieściśłości były znaczniejsze od nieściśłości sposobów dotąd używanych, przyczem są one zrównoważone przez zalety, których innym metodom brak. Według mojego przekonania drogą, wskazaną przez *Harrisa*, można dojść do bardzo dobrych wyników.

## P I Ś M I E N N I C T W O .

1) *Harris*. The properties of dessicated rabies virus. Journ. Inf. Dis. 1912, X.

2) *Harris*. Further studies on the effects of dessication of the virus of rabies, Journ. Inf. Dis. 1913, XIII.

3) *Harris*. Comparative results in antirabic treatement. Journ. Am. Med. Ass. 1916, LXVIII.

---

Z Państwowego Zakładu Badania Surowic.  
(Dyrektor Dr. L. Hirszfeld).

## Zmiany anatomo-patologiczne u zwierząt, zatrutych maksymalnymi dawkami neo- arsenobenzolu.

P o d a ł

J. SUPNIEWSKI.

Asystent Państwowego Zakładu Badania Surowic.

Własności chemoterapeutyczne pierwiastków grupy azotu są bardzo do siebie zbliżone. Pod względem własności fizycznych, chemicznych i biologicznych bardzo są podobne pierwiastki: fosfor, arsen, antymon, bizmut. Pod względem toksykologicznym wszystkie te pierwiastki są truciznami mięszowemi, wywołującymi ciężkie zwyrodnienia białkowe i lipidowe komórek zwierzęcych. Wrażliwość gatunkowa komórek na te trucizny jest różna: np. na związki trójwartościowe tych pierwiastków większa jest drażliwość komórek pierwotniaków, niż komórek zwierząt wyższych. Na tej podstawie oparta została chemoterapia grupy azotu.

Własności zabójcze trójtlenku arsenu dla pierwotniaków znane były już dość dawno. W leczeniu zimnicy środek ten zastosowali po raz pierwszy *Laveran* i *Mesnil*. *Blumenthal* pierwszy wprowadził do terapii pochodną benzolową arsenu „atoksyl“ ( $p\text{-NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{AsO OH ONa}$ ). *Thomas* zbadał działanie jego na wiciowce chorobotwórcze, a *Koch* na świdorowce (trypanosomy). Związek ten zawiera w składzie swym arsen w postaci pięciowartościowej. Postać ta, jak to wykazał *Ehrlich*, jest bardziej toksyczna dla tkanek zwierząt wyższych (*neuritis optica*), niż postać trójwartościowa. *Ehrlich* wytworzył preparat, w którym arsen występuje w postaci trójwartościowej, związany z węglem pierścienia benzolowego obok silnie redukującej grupy orto-amidophenolu, przeszkadzającej w utlenianiu arsenu w organizmie zwierzęcym na postać pięciowartościową. Związek ten nazwano salwarsanem ( $\text{HCl NH}_2 \text{OH C}_6\text{H}_3 \text{As}=\text{As C}_6\text{H}_3 \text{OH NH}_2 \text{HCl}$ )

Wadą salwarsanu była mała jego rozpuszczalność w płynach obojętnych. *Ehrlich* zaradził temu przez dodanie do salwarsanu formolsulfoksylatu sodu ( $\text{NaO}$ ) ( $\text{OH}$ )  $\text{S. HCOH}$ ); wytwarza się przytem grupa sulfoksy-

metylenowa, wiążąca się z grupą amidową salwarsanu, która nadaje rozpuszczalność preparatowi. Preparat ten nazwano neosalwarsanem ( $\text{NH}_2\text{OH}$   $\text{C}_6\text{H}_3$   $\text{As}=\text{C}_6\text{H}_3$   $\text{OHNH}$   $\text{CH}_2$   $\text{OSONa}$ ). Neosalwarsan, dzięki silnym własnościom etjotropowym w całej serii chorób ludzkich i zwierzęcych, wywołanych przez pierwotniaki, oraz przez niektóre bakterje, wywalczył sobie jedno z pierwszych miejsc, jako środek leczniczy.

Chemoterapia związków antymonowych zapoczątkowana została przez szkołę *Ehrlicha*. Badania w tej dziedzinie nie są jeszcze zakończone. W ostatnich czasach *Brahmahari* stwierdził silne działanie etjotropowe pochodnej benzolowej antymonu „ureasubaminy“ ( $\text{p}-\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SbO}(\text{OH})_2$   $\text{NH}_2\text{CONH}_2$ ) w leishmaniozie (Kala-azar). Badania nad bizmutem doprowadziły do wprowadzenia przez *Sazerac'a* i *Levaditi'ego* „luesolu“ ( $\text{NaO}_2$   $\text{COBiO}$   $\text{HC}-\text{CHOBiO}$   $\text{CO}_2\text{K}$ ) do leczenia kiły.

Szerokie zastosowanie arsenobenzolu w terapii ludzkiej i zwierzęcej wywołało wzrost jego produkcji oraz zjawienie się całej serii falsyfikatów tego drogiego produktu.

Aby uchronić ludność od uszkodzeń na życiu lub mieniu przez działanie złych preparatów, rządy państw (Polska, Stany Zjednoczone, Anglja, Włochy i t. d.) zaprowadziły przymusową kontrolę tych związków.

Cel kontroli jest potrójny.

Po pierwsze, chodzi o stwierdzenie, czy dany preparat jest arsenobenzolem. Wobec badań nad zwierzętami wystarcza badanie chemiczne ilości arsenu, która winna wynosić koło 19%.

Po drugie, stwierdzić trzeba, czy preparat nie jest zbyt toksyczny. W tym celu nastrzykuje się dożylnie zwierzęta dawkami maksymalnemi (według dawnej instrukcji angielskiej 0,2 pro kg. dla królika, 0,18 dla szczura, 0,25 dla myszy).

Następnie w celu stwierdzenia własności etjotropowych preparatu zastrzykuje się dawki minimalne zwierzętom, zarażonym świdrowcami i kontroluje się krew tych zwierząt (dawka minimalna dla króla 0,01 na kg. wedł. *Hata*). Pewnym miernikiem może być obserwacja kliniczna chorých, zastrzykniętych preparatami. Preparat, który przeszedł te próby, winien być uważany za dobry.

Państwową kontrola arsenobenzolów jest niezbędna, jak to wykazały smutne doświadczenia lat ostatnich (wzrost śmiertelności wskutek arsenobenzolów złych w Niemczech). Zły arsenobenzol wywołuje w organizmie ludzkim dość ciężkie zmiany patologiczne, które mogą doprowadzić w szybkim tempie do śmierci. Porażeniu ulegają przedewszystkiem: ośrodkowy system nerwowy, wątroba, nerki, przewód pokarmowy, obok mniej niebezpiecznych porażen skóry, ślinianek i t. d.

Klinicznie obserwowano często po wlewaniach arsenobenzolu objawy porażen ośrodkowego systemu nerwowego. W rdzeniu i w mózgu znajdowano (*Finger, Rille*) zmiany naczyniowe, a mianowicie nacieki komórkowe około drobnych naczyń, rozluźnienie śródbłónka naczyniowego, następczo wybroczyny krwawe do substancji nerwowej i, co za tem idzie, wtórne zmiany teje. Zmiany te prowadzą do porażen ośrodków nerwowych, szlaków i następczo do porażen nerwów obwodowych, w sferze zaś

psychicznej do zespołu objawów *Korsakowa*. W naczyniach większych obserwowano często zakrzepy (*Vena magna Galeni* przez *Schmurla*, *Bielchowskiego*, *Wechselmanna*). Obserwowano również ociek opon mózgowych, który prowadzić może do napadów padaczki (*Buschke*, *Wechselmann*).

Zmiany wątrobowe opisywane są najczęściej. Arsenobenzol, a właściwie jego składnik arsen, wywołuje, podobnie jak fosfor, zwyrodnienie rome komórek wątrobowych, oraz stłuszczenia i degeneracje lipidowe tychże. Proces zwyrodnienia prowadzi często do żółtego zaniku wątroby, albo rzadziej do *cirrosis atrophica*. Obok tego widziano nacieki komórek plazmatycznych wzdłuż systemu żyły wrotnej. Klinicznie obserwować można często żółtaczkę, która wskazuje na porażenie wątroby, nawet przez preparaty, wytrzymujące przepisowe próby toksyczności.

Przewód pokarmowy reaguje na działanie toksyczne arsenobenzolu biegunką. Badania anatomiczne wykrywały przekrwienia jelit, ew. wybroczyny krwawe, które prowadzić mogą do owrzodzenia ścian jelit. Zmiany nerkowe spostrzega się u ludzi stosunkowo rzadko (anurja, białkomocz). Pod względem anatomicznym opisywane są zwyrodnienia rome kanalików krętych. Sporadycznie zauważano zwyrodnienia rome i lipidowe mięśnia sercowego oraz zmiany w *glandula parotis*. Skóra reaguje bardzo często na toksyczne działanie preparatu rozmaitego rodzaju wysypkami i rumieniami.

W Rzeczpospolitej Polskiej obowiązuje państwowa kontrola arsenobenzolu. Każdy preparat, czy to wyprodukowany w kraju, czy sprowadzony z zagranicy, podlega badaniu chemicznemu, biologicznemu i klinicznemu. Badania biologiczne prowadzone są w Państwowym Zakładzie Badania Surowic. Podczas badań arsenobenzolów, tak krajowych, jak i zagranicznych, zauważono całą serję zmian anatomo-patologicznych, wywoływanych w zwierzętach doświadczalnych przez preparaty zbyt toksyczne. Występowanie tych zmian może być użyte do celów określania toksyczności preparatu. Doświadczenia wykonywa się w następujący sposób.

Królikom, wagi około 1700 gr., wstrzykuje się 10%-wy roztwór preparatu w wodzie świeżej destylowanej i sterylizowanej w ciągu 5 minut w *vena auricularis*, w stosunku 0,2 gr. na kilogram wagi. Zwierzęta zastrzyknięte podlegają ścisłej obserwacji (ważeniu) w przeciągu 10 dni. Gdy zwierzęta przeżyją 7 dni, preparat uważany jest za przepisowo nietoksyczny. Podobne badania prowadzi się na myszach i szczurach, którym zastrzykuje się 5%-wy roztwór w stosunku 0,25 gr. ew. 0,18 gr. na kilogram w żyłę ogonową.

Podajemy tu nieco danych symptomatologicznych i anatomo-patologicznych, zebranych w badaniach nad toksycznością preparatów, głównie na królach. Po zastrzyku preparatu, zwierzęta zazwyczaj silnie krwawią w miejscu nakłucia, wskutek zmniejszonej krzepliwości krwi pod wpływem arsenobenzolu (pr. *Helmanowa* 1921). W parę godzin po zastrzyku występuje mniej lub więcej wyraźna biegunka, wskutek czego w ciągu pierwszych dwóch dni waga zwierzęcia spada. Dalszy los zwierzęcia zależy od jakości preparatu. Preparaty bardzo toksyczne zabijają zwierzęta w cięgu 12—24 godzin z objawami enterytu. Pod względem anatomo-patologicznym



stwierdzić można silne nastrzyknięcie jelit, niekiedy obrzęk odcinków jelitowych, oraz wybroczyny krwawe podśluzówkowe i podsurowicze. W okresie tym wyraźnych zmian w nabłonku jelitowym skonstatować nie można. Czasami zmiany takie jednak występują. Na miejscu krwawienia tworzy się naciek komórek plazmatycznych i limfocytów mniej lub wyraźniej widoczny, nabłonek jelitowy ulega złuszczeniu, jednym słowem wytwarza się mniej lub więcej wyraźne, powierzchowne owrzodzenie kiszkowe.

Zwierzęta, zastrzyknięte preparatami mniej toksycznymi, żyją dłużej. Waga ich zachowuje się rozmaicie; naogół spada w dość silnem tempie. Niekiedy, po pewnym spadku, waga podnosi się na krótki czas przed śmiercią zwierzęcia, co tłumaczy się zatrzymaniem wody w organizmie, stanowiącym wynik schorzeń nerkowych.

Podczas sekcji rzucają się w oczy nerki białe, duże, o powierzchni zlepką granulowanej, szorstkiej. Niekiedy powierzchnia posiada pola, leżące naprzemian, białe obok normalnie zabarwionych. Otoczka zewnętrzna nerek tych odchodzi bardzo łatwo. Na przekroju widać wyraźne rozgraniczenie w nerce na białą twardą substancję korową i zwykle przekrwiony rdzeń. Zmiany mikroskopowe zależne są od okresu, w ciągu którego zwierzę żyło. U zwierząt, zastrzykniętych salwarsanem złym i zabitych drugiego dnia, można zauważyć miejscami zwyrodnienie 6me kanalików krętych. Substancja plazmatyczna komórek nabłonka kanalików krętych mętnieje, jądra przestają się barwić i miejscami ulegają karjolizie. U zwierząt, padłych na czwarty dzień, obok zmian wymienionych, występuje odkładanie się węgla i fosforanu wapnia w odcinkach kanalików patologicznie zmienionych. Często można widzieć krwotoki z kłębków *Malpighiego* do torebek *Baumana*, miejscami bezpośrednio krwotoki do miąższu, ew. do kanalików nerkowych.

U zwierząt, padłych na 7-my i 8-my dzień, kanaliki kręte substancji korowej ulegają prawie zupełnemu zwapnieniu. Miejscami można zauważyć pod złogami wapniowemi regenerację kanalików nabłonkowych, miejscami zaś przerost tkanki podpierającej kory. Krwotoki kłębkowe są częstsze, podobnie jak i krwawienia miąższowe. Kanaliki proste substancji rdzennej wypełnione są zwykle wałeczkami szklistemi, niekiedy występuje łuszczenie się całych nabłonków tychże kanalików i tworzenie wałeczków nabłonkowych. Niekiedy kanaliki proste wypełnione są krwinkami i tworzą się wałeczki krwiste. Na mrożonych skrawkach takich nerek można wykazać, w początkowych okresach, degenerację lipidową kanalików krętych. Substancja lipidowa, wydzielająca się w postaci małych kropelek w miąższu komórek, wykazuje z sudanem reakcję tłuszczów, a miejscami z błękitem nilowym reakcję estrów cholesterynowych. W złogach wapna wykrywamy również obecność lipidów. W okresach późniejszych zmiany lipidowe występują w mniejszych kanalikach prostych, oraz w pętlach *Henlego*.

Nerki zwierząt, padłych po 10—14 dniach, zawierają zupełne zwapnienie substancji kanalików krętych korowych, silne krwotoki kłębkowe, oraz niekiedy przerost tkanki łącznej podpierającej.

Zwierzęta, zastrzyknięte preparatami niezbyt toksycznymi i zabite po 10 dniach, posiadają w nerkach, pierwotnie zmienionych, pewne *restitutio ad integrum*. Zwapnienia ulegają wchłanianiu, miejscami widać silną rege-

nerację nabłonków kanalików krętych, oraz łuszczenie się nabłonków kanalików prostych. Zwierzęta, zastrzyknięte nawet dobrymi preparatami, nie wywołującami po upływie 6—10 dni zmian nerkowych, mogą jednak wykazywać je przy zastrzyku dawek większych. Np. zwierzęta, zastrzyknięte preparatami niemieckimi w dawce 0,4 pro kilo, posiadały po zabiciu już drugiego dnia analogiczne zmiany nerkowe. Zwierzęta, zastrzyknięte arsenianem sodu w dawce 0 008 pro kg. i padłe na drugi dzień z objawami uduszenia arsenikowego, wykazały przy sekcji początkowy obraz anatomoopatologiczny opisanych zwyrodnień nerkowych. Należy przeto sądzić, że zmiany nerkowe przy użyciu arsenobenzoli wywołuje przede wszystkim arsen i to prawdopodobnie niezwiązany swoiście (postać jonizująca się).

Podobne zmiany nerkowe znajdowano u szczurów, padłych wskutek toksycznego arsenobenzolu, jednakowoż nie zjawiały się tu tak charakterystyczne dla króli zwapnienia, oraz wyraźne krwotoki kłębkowe.

U zwierząt, padłych z obrazem zapalenia nerek, symptomatologicznie występowały drgawki kloniczne, przypominające drgawki podczas uremji ludzkiej. W jamie ciała tych zwierząt znajdowano zwykle dość wyraźny ascyt; pęcherz słabo wypełniony, mocz zawiera białko, wałeczki, krwinki. W nadnerczach sporadycznie można było wykazać przekrwienie. Kiszki zwykle wzdęte (atonja). W ściankach kiszki ślepej i okrężnicy wybroczyny krwawe. W jednym wypadku wystąpiła zgorzel odbytnicy.

Zmiany w wątrobie są mniej częste, niż nerkowe. Najczęściej spotykamy mniej lub więcej wyraźne tłuszczenie komórek wątrobowych, rzadko słabo zaznaczone zwyrodnienie ćme. Wzdłuż naczyń i kanalików żółciowych spostrzega się niekiedy nacieki komórkowe. Często można obserwować przekrwienie wątroby. W paru przypadkach nastąpił wyraźny przerost tkanki łącznej podpierającej.

Króliki z wątrobą, zmienioną patologicznie wskutek *coccidiozy* lub nacieku tłuszczowego, normalnego dla ciąży, są bardziej wrażliwe na działanie toksyczne arsenobenzoli. Króliki takie padają często od preparatów dobrych, lecz nigdy nie spostrzegano zmian nerkowych. Tłumaczyć to możnaby w ten sposób, że wątroba zmieniona nie może odtruwać tak energicznie organizmu, jak normalna, wskutek czego zwierzę podlega zatruciu ogólnemu i śmierci. Tłumaczyłoby to również śmiertelność samic królików, będących w ciąży. Parę samic ciężarnych padło po zastrzyku salwarsanu, zupełnie dobrego, w dniach 5—7-ym. Pod względem anatomoopatologicznym znajdowano nacieki tłuszczowe wątroby, fizjologiczny przerost serca i nerek, oraz fizjologiczny naciek tłuszczowy w kanalikach prostych nerek. U żadnej z tych samic nie nastąpiło poronienie.

W płucach można często spotkać miejsca silnie przekrwione. Badania mikroskopowe wykazują przekrwienie naczyń w częściach zmienionych makroskopowo. Pęcherzyki płucne wypełnione są krwinkami, nieznaną ilością nabłonkowych komórek alveolarnych oraz neutrofilami i płynem surowicznym. Podobne zmiany znajdujemy w mniejszych oskrzelikach. Serce wykazuje w rozkurczu zwykle jakby rozszerzenie komory lewej, co możnaby tłumaczyć zmianami nerkowymi. W systemie

nerwowym ośrodkowym nie udało się wykazać wyraźnych zmian, ani drogą mikroskopową, ani makroskopową.

Podkreślić tu należy, że część zwierząt pada po zastrzyku mniej więcej 10-go do 31-go dnia, bez jakichkolwiek zmian patologicznych, tłumaczących ich śmierć.

## P I Ś M I E N N I C T W O .

- 1) Brahmahari. The Indian Journal of Medical Research. 1922, 492.
- 2) H. Dale—C. White. The Lancet. 1922, 779.
- 3) Dtto. Ueber die Pathogenese der Salwarsantodesfalle. Urban-Schwarzenberg. 1913.
- 4) Fournier—Guenot. Annales de l'Institut Pasteur. 1922, XXXVI, 14.
- 5) P. Fildes—J. Parnell. Medical Research Committée 1919, 41.
- 6) Ehrlich-Hata. Die experimentelle Therapie der Spirillosen J. Springer. 1910.
- 7) Kolle. Deutsch. Medizin. Wochenschrift. 1921, 43, 44.
- 8) A. Marie—F. Fourcade. Annales de l'Institut Pasteur. 1922, XXXVI, 34.
- 9) Sazeraç-Levaditi. Annales de l'Institut Pasteur. 1922, XXXVI, 1.
- 10) Schindler. Der Salwarsantod. S. Kager. Berlin. 1914.
- 11) Uhlenhut. Chemotherapie der Spirillosen. Med. Klin. 1911.
- 12) " Experimentelle Grundlagen der Chemoterapie der Salwarsan. Urban-Schwarzenberg. 1911.
- 13) Wechselmann. Behandlung der Syphilis durch Salwarsan. N. Coblenz. 1911.

De l'Institut des Recherches Serologiques d'État.

(Directeur Dr. L. Hirszfeld).

## Lésions anatomopathologiques des animaux empoisonnés avec les doses maximales d'arsenobensol.

Par. J. SUPNIEWSKI.

On exécute dans l'Institut des Recherches Sérologiques le contrôle des produits d'arsenobensol employés en Pologne. L'auteur nous expose quelques données anatomo-pathologiques observés pendant ces recherches. Le contrôle en Pologne est basé sur l'ancienne instruction anglaise et exécuté sur les lapins, les souris et les rats.

1. Les produits d'arsenobensol très toxiques tuent les lapins dans 12—24 heures avec des symptômes d'enterite. On trouve des changements sur la muqueuse et ecchymoses qui peuvent provoquer des ulcerations superficielles.

2. Les produits moins toxiques tuent les lapins dans quelques jours, avec des symptômes de néphrite. Les lésions rénales se trouvent dans les tubes contournés. Ces tubes présentent des dégénérescences albumineuses et lipidales, ensuite desquelles apparaissent des calcifications. On peut observer souvent des hémorragies glomérulaires et interstitielles et des dégénérescences lipidales des tubes droits et des desquamations de leurs épithéliums. Les reins atteints régénèrent leur épithélium. Nous observons aussi l'accroissement du tissu interstitiel. On a trouvé chez les rats des changements semblables mais sans calcification.

3. Les produits bien préparés ne causent pas ces lésions, mais injectés en double dose provoquent les mêmes lésions.

4. L'arsenate de soude injectée en dose dix fois plus petite cause des lésions semblables.

5. On a observé des dégénérescences lipidales des cellules du foie et des infiltrations cellulaires le long de la veine porte.

Les lapins ayant le foie modifié pathologiquement périssent même après l'injection d'arsenobensol bien préparé.

6. On a trouvé dans les poumons des hémorragies limitées, des desquamations et des exsudats séreux dans les alvéoles pulmonaires.

Les recherches ultérieures nous montrent que les signes de la dégénérescences rénales peuvent servir de base du contrôle pour élimination des produits trop toxiques.

L'auteur suppose que les dégénérescences rénales sont causées par arsène ionisé.

---

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Warszawie.  
(Dyrektor Dr. L. Rajchman).

## Oznaczanie stopnia zakwaszania cukrów przez bakterje zapomocą mierzenia ilości jonów wodorowych.

P o d a ł

Dr. STANISŁAW SIERAKOWSKI.

Zastępca Dyrektora Zakładu, Kierownik Działu Szczepionek.

Badanie zachowania się różnych gatunków bakteryj wobec cukrów stanowi obecnie jedną z metod, najbardziej używanych w bakterjologii. Zapomocą tej metody różnicujemy cały szereg gatunków bakteryj. Niekiedy jest ona prawie jedynym sprawdzianem, dotyczącym różnic pomiędzy poszczególnymi gatunkami bakteryj, np. w odróżnianiu bakteryj czerwonych typu *Flexner, Y, Strong*.

Do tej pory większość badaczy zadowalniała się stwierdzeniem, że dany gatunek bakteryj zakwasza cukry, nie uwzględniano jednak stopnia tego zakwaszenia. Obecnie wiemy, że nie wszystkie gatunki bakteryj zakwaszają cukry jednakowo. Jedne gatunki bakteryj zakwaszają dane podłoże z cukrami mniej, inne więcej, a następnie jeden i ten sam gatunek bakteryj może zakwaszać poszczególne gatunki cukrów niejednakowo. Miarą stopnia zakwaszenia jest ilość  $H^+$ , jakie znajdujemy w środowisku, zakwaszonym przez bakterje. (Ilość jonów wodorowych przyjęto oznaczać symbolem  $Ph$ ; jest to logarytm liczby  $H^+$  ze znakiem ujemnym. Roztwory obojętne mają  $Ph$  równe 7, kwaśne  $Ph$  mniejsze od 7, zasadowe większe od 7, pr. *Sierakowski* <sup>1)</sup>).

Stopień zakwaszenia pożywki zależy: 1) od gatunku bakteryj, 2) od gatunku cukru, 3) od ilości cukru, 4) od ilości t. zw. ciał buforowych w pożywce. Jeżeli ilość cukru w pożywce jest zbyt mała, to wytworzone z nich kwasy nie mogą zakwasić pożywki, tembardziej jeżeli w tej pożywce jest dużo „ciał buforowych“, które wiążą wytwarzające się z cukrów kwasy i wskutek tego stężenie  $H^+$  w pożywce zmienia się bardzo nieznacznie. Ilość cukru, większa od 0,2%, w zwykłych naszych pożywkach powoduje, pod wpływem odpowiednich bakteryj (*Laurens, F. Forster*), zakwaszenie zupełne.

*Laurens* i *Forster* <sup>3)</sup> wykazali, że *Streptococcus hemolyticus* zakwasza  
glukozę do Ph 4,8  
maltozę „ „ 5,1  
mannozę „ „ 5,2  
laktozę „ „ 5,4.

*Sheer* <sup>4)</sup> podaje, że bakterja okrężnicy (*Bac. coli*) zakwasza cukier mleczny do Ph 4,5, gronowy do 4,7.

Są bakterje, które zakwaszają znacznie silniej. *Sheer* <sup>4)</sup> pisze, że *Bac. bifidus* z kału oseska zakwasza cukry do Ph 3,7.

*Mc Intosh*, *Warwick James*, *Lacrus Barlow* <sup>5)</sup> opisują bakterje, powodujące próchnicę zębów, które zakwaszają cukry do Ph 3,4—2,2.

W pracy tej zbadano, jak zakwasza cukry cały szereg bakteryj. Badania były wykonywane w ten sposób, że do 1%-ej wody peptonowej dodawaliśmy 1% różnych gatunków cukrów chemicznie czystych. Ph określano w 24 godz. hodowli metodą kolorymetryczną. Wyniki tych badań zestawione są na załączonej tablicy, str. 359.

Widzimy z tej tablicy, że bakterje z grupy *coli* zakwaszają cukry w granicach 4,9—5,3. Znacznie słabiej zakwaszają je wibrjony cholery. Wibrjony rzekomo-choleryczne zakwaszają cukry silniej niż cholera, ale słabiej wogóle, niż bakterje grupy *coli*. Z badanych bakteryj najslabiej zakwaszają cukry prątki dyfterytyczne: dekstrozę do Ph 6,3.

Wobec tego, że poszczególne gatunki bakteryj zakwaszają cukry w różnym stopniu, nauka zyskuje jeszcze jedną cechę, różniącą między sobą te gatunki. Obecnie nie wystarcza oznaczenie, że bakterje zakwaszają dany rodzaj cukru, lecz bardzo ważnem jest zbadanie, do jakiego Ph zakwaszenie dochodzi. Do tej pory, przy oznaczaniu stopnia zakwaszenia pożywek cukrowych przez bakterje, posługiwano się jako wskaźnikiem czerwieni obojętną lub lakmusem. Wybór czerwieni obojętnej w tym wypadku jest mało uzasadniony, gdyż wskaźnik ten zmienia barwę czerwoną na żółtą w granicach od Ph 6,6 — 8,0, t. zn., że przy Ph 6,6 otrzymujemy już maksimum natężenia barwy: wszystko więc, co ma Ph mniejsze od 6,6, posiada takie same zabarwienie. Zapomocą więc tego wskaźnika nie można zupełnie określić stopnia zakwaszenia poszczególnych gatunków bakteryj. Co więcej, mogliśmy stwierdzić, że niektóre gatunki bakteryj zakwaszają pożywki przefermentowane przez drożdże, a więc pozbawione cukrów, w pewnych warunkach do Ph 6,6, czyli do punktu, w którym czerwien obojętna daje zabarwienie prawie zupełnie czerwone. A zatem, używanie tego wskaźnika prowadzić może do mylnych wniosków. Bardziej uzasadnionem jest używanie jako wskaźnika lakmusu, który posiada nieco szerszą skalę zmiany barwy w sferze kwaśnej, mianowicie od Ph 7,0 do 6,4. Ale i ten wskaźnik nie pozwala na oznaczenie stopnia zakwaszenia pożywki przez poszczególne gatunki bakteryj wskutek tego, że bakterje zakwaszają silniej niż wskaźnik ten może wykazać, po za tem zmiana barw nie jest dość ostra. Wogóle lakmus niechętnie jest używany do oznaczania stężenia jonów wodorowych metodą kolorymetryczną.

Wobec tych trudności zwróciliśmy się do innych wskaźników. Ponieważ przy zakwaszaniu cukrów przez bakterje musimy liczyć się ze zmianą

	Laktoza	Dekstroza	Sacharoza	Mannit	Maltoza	Lewuloza	Rafinoza	Arabinoza	Inulina	Dulcyt	Kontrola
Coli . . . . .	5,1	4,9	4,9	5,1	5,1	4,9	6,3	5,3	8,1	7,7	7,3
Tyfus . . . . .	7,9	4,9	—	4,9	4,9	4,9	8,2	7,7	8,3	7,9	7,1
Para-Tyfus A. . .	7,9	5,1	8,2	5,1	5,1	5,1	8,2	4,9	8,3	7,9	7,1
Para-Tyfus B. . .	8,2	4,9	8,4	5,1	5,1	5,1	8,4	4,9	8,3	6,6	7,3
Para-Tyfus C. . .	8,2	4,9	8,2	5,1	5,1	4,9	7,8	5,1	8,2	5,3	7,1
Shiga . . . . .	7,7	5,1	7,9	7,7	7,7	5,3	7,9	7,2	7,7	7,9	7,3
Flexner . . . . .	7,9	4,9	8,0	5,1	5,2	5,1	7,9	5,4	7,9	7,9	7,3
Cholera . . . . .	7,7	5,6	5,7	6,8	6,3	5,5	7,9	7,5	7,5	7,7	7,3
Vibrio . . . . .	8,1	5,3	5,3	5,4	5,3	5,5	7,9	7,7	7,8	7,9	7,1
Coli . . . . .	5,1	5,2	8,4	5,4	5,1	4,9	8,4	5,2	8,3	8,1	7,3
Proteus . . . . .	8,3	5,3	5,1	5,4	5,5	5,5	8,3	8,2	8,4	8,2	6,8
Staphylococ. albus	7,3	6,4	7,0	7,4	7,6	>7,6	7,1	>7,6	6,6	5,3	>7,6
Staphyloc. aureus	6,6	5,0	7,0	5,2	>7,6	>7,6	>7,6	>7,6	5,3	5,1	>7,6
Pseudo-Diphtheria .	>7,6	5,6	>7,6	>7,6	>7,6	>7,6	>7,6	>7,6	7,4	>7,6	>7,6
Diphtheria po 48 godz.	7,1	6,3	6,7	6,7	7,2	7,7	6,7	—	7,6	6,2	7,3

Ph od 7,5 — 4,0 a nawet niżej 4,0, to zmian tych nie można oznaczyć za pomocą jednego tylko wskaźnika. Wiadomo bowiem, że najlepsze nasze wskaźniki dają praktycznie zmianę barw najwyżej w obrębie Ph, różniących się o 2,0 (*Kohltopf*<sup>o</sup>).

Czerwień metylowa (metylred) zmienia swą barwę w granicach od Ph 4,4 — 6,0, błękit bromo-tymolowy (brom thymol blue) od Ph 6,0 — 7,6. Wobec tego, ażeby określić zmianę stężenia jonów wodorowych przy zakwaszaniu się cukru, należy skombinować przynajmniej dwa wskaźniki. W tym celu zmieszaliśmy dwa wskaźniki, czerwień metylową i błękit bro-

mo-tymolowy (0,1 czerwieni metylowej, 0,4 błękitu bromo-tymolowego i 100 ccm. alkoholu do 2 cm<sup>3</sup> pożywki 0,1 roztworu). W ten sposób otrzymano mieszaninę wskaźników, która zmienia swą barwę w granicach od Ph 4,4 — 7,6. Mieszanka tych wskaźników daje następujące zabarwienie: około Ph 7,0 jest zieloną, około 6,0 — żółtą, około 5,0 — czerwoną. Jeżeli chodzi o dokładne określenie Ph, należy zabarwienie danego płynu porównać z zabarwieniem skali, przyrządzonej z roztworów o określonym Ph. Ponieważ pożywki z cukrami mają własną barwę i zmętnienie, których skala nie posiada, przeto przy dokładnych określeniach Ph należy je skompensować. Posługiwać się można w tym wypadku komparatorem Walpole'a, w razie braku tegoż zwykłym statywem, który ma dwa rzędy otworów na jednym poziomie. Po lewej stronie komparatora stawiamy pożywkę cukrową z odpowiednim wskaźnikiem, a przed nią probówkę z wodą; po prawej stronie odpowiednią probówkę ze skali, a za nią probówkę z wyrośniętymi bakteriami na tejże pożywce, lecz bez wskaźnika, w celu skompensowania własnej barwy i zmętnienia pożywki. W ten sposób można określać Ph z dokładnością do 0,1

Zapomocą mieszaniny błękitu bromo-tymolowego i czerwieni metylowej, można zupełnie ściśle określać stopień zakwaszenia cukru przez bakterie, o ile to zakwaszenie nie sięga poniżej Ph 4,4. Różnice w barwach są bardzo wyraźne. Kombinację tych dwóch wskaźników można dodawać jedynie do pożywki z wyrośniętymi bakteriami. Nie można jej dodawać do pożywki niewyrośniętej, ponieważ bakterie wyeliminują zupełnie czerwień metylową, czy to pochłaniając ją, czy rozkładając, tak że w pożywce z wyrośniętymi bakteriami pozostaje wyłącznie błękit bromo-tymolowy; fakt ten notuje również *Medalia* <sup>7)</sup>). Wynika z tego, że mieszaninę tych wskaźników można dodawać do hodowli już wyrośniętej, przyczem wynik należy odczytać natychmiast, gdyż po upływie 30 minut czerwień metylowa zostaje wyeliminowana. Ma to tę wadę, że nie można obserwować postępujących zmian w reakcji, co niekiedy bywa rzeczą ważną. Trudności te można obejść w ten sposób, żeby do pożywek, przed posianiem bakterij, dodawać jedynie błękitu bromo-tymolowego, który nie zmienia się pod wpływem bakterij, a jeżeli bakterie zakwaszają pożywkę poniżej 6,2, można dodać czerwień metylowej i odczytać ostateczne wyniki

Zamiast błękitu bromo-tymolowego można używać purpury bromo-fenolowej (*brom cresol purple*) w roztworze wodnym 0,02%, dodając 0,1 na 2 ccm. pożywki. Wskaźnik ten zmienia, w granicach Ph 5,2 — 6,8, barwę żółtą na fioletową, przytem rozpuszcza się lepiej, niż błękit bromo-tymolowy. Ponieważ purpura bromo-tymolowa zmienia barwę do Ph 5,2, przeto zakwaszenie wielu gatunków bakterij można oznaczyć przy pomocy tego jednego wskaźnika. Gdy zakwaszenie idzie dalej, można dodawać następnie czerwień metylowej, podobnie jak przy błękitcie bromo-tymolowym.

Jeżeli mamy do czynienia z bakteriami, które zakwaszają poniżej Ph 4,4, to już czerwień metylowa nie wystarczy i należy uciec się do innych wskaźników, jak błękitu bromo-fenolowego (*brom phenolblue*) 0,04% ego, w ilości 0,1 ccm. na 2 ccm. pożywki, który zmienia barwę żółtą na błękitną od Ph 3,0 — 4,6 oraz błękitu tymolowego (*thymolblue*) 0,04%-ego,



w ilości 0,1 ccm. na 2 ccm., który zmienia barwę czerwoną na żółtą w granicach od Ph 1,2 — 2,8. Te dwa wskaźniki można skombinować razem; otrzymujemy wtedy skalę od 1,2 — 4,6.

Wszystkie wskaźniki, wymienione powyżej, znoszą dobrze sterylizację, nie wpływają na wzrost bakteryj, nawet w stężeniach kilkakrotnie większych i nie ulegają zmianie pod wpływem krótkiego hodowania bakteryj, z wyjątkiem czerwieni metylowej, którą, jak wspominaliśmy, bakterje wyeliminują bardzo szybko.

## S T R E S Z C Z E N I E.

Poszczególne gatunki bakteryj zakwaszają cukry do Ph w różnej wysokości. Stopień zakwaszania cukrów jest charakterystyczny dla danego gatunku bakteryj. Dotychczasowe metody badania zakwaszania cukrów przez bakterje nie pozwalają na określenie tego stopnia. Dodając do pożywek cukrowych błękitu bromo-tymolowego lub purpury bromo-kresolowej, można określić stopień zakwaszenia, podłoża przez bakterje, słabo zakwaszające cukry. Jeżeli zakwaszenie idzie dalej, niż do Ph 6,0, poniżej Ph 5,2, należy dodać do wyrosniętej już hodowli czerwieni metylowej. W ten sposób można określić stopień zakwaszenia do Ph 4,4. W razie jeszcze silniejszego zakwaszenia, należy użyć wskaźników błękitu bromofenolowego i błękitu tymolowego, z pomocą których można określić stopień zakwaszenia do Ph 4,6 — 1,2.

## P I Ś M I E N N I C T W O.

- 1) Sierakowski. Przegląd Epidemjologiczny. 1922, I, 549.
- 2) Laurens i F. Forster. Journ. of Bact. 1921, 6.
- 3) Sheer. Bioch. Zeitschr. 1922, 130, 534.
- 4) Sheer. Zeitschr. für Kinderheilkunde. 1921, 29, 252, cytowane według Berichte ü. d. Ges. Phys. 1921, 9, 403.
- 5) Mc. Intosh, Warwick James, Laurens Barlow. Brit. Journ. of Exp. Path. 1922, 10, 138.
- 6) Kohltopf. Farbenindikatoren.
- 7) Medalia. Journ. of Bact. 1920, 5, 441.

De l'Institut Epidémiologique d'État à Varsovie.  
(Directeur Dr. L. Rajchman).

# Signification du degré de l'acidification des milieux sucrés par les bactéries à l'aide de la méthode de détermination de la concentration en ions d'hydrogène.

Par le Dr. STANISLAS SIERAKOWSKI.  
Vice-Directeur de l'Institut.

## R E S U M É.

Certaines bactéries acidifient les milieux sucrés jusqu'à un Ph différent. Le degré de cette acidification est caractéristique pour le genre déterminé des bactéries.

Les méthodes employées jusqu'à maintenant pour examiner l'acidification des milieux sucrés par les bactéries ne permettent pas de faire cette détermination.

En ajoutant aux milieux sucrés du bleu de bromo-thymol ou de la pourpre de bromo-crésol, nous pouvons définir l'acidification du milieu produite par les bactéries ayant une action fermentative faible. Si l'acidification va plus loin que Ph 6,0 au dessous de Ph 5,2 — il faut ajouter à une culture déjà développée de la rouge de méthyle. Ainsi on peut définir l'acidification jusqu'à Ph 4,4. Dans les cas d'une acidification plus forte il faut se servir comme indicateur du bleu de bromo-phénol et du bleu de thymol à l'aide desquelles nous pouvons définir l'acidification allant jusqu'à Ph 4,6 — 1,2.

---

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Łodzi.  
(Kierownik Prof. Dr. F. Venulet).

## O wyodrębnianiu drobnoustrojów zapomocą t. zw. „Metody włoskowatego przenoszenia się bakteryj po bibule”.

P o d a ł a

KAZIMIERA STERLING

st. asystentka Zakładu.

Wymieniona w nagłówku metoda, podana przez *Friedbergera* i *Pü-  
ttera*, pozwala na różniczkowanie bakteryj dzięki ich niejednakowym wła-  
snościom adsorbcyjnym. Zanim ją opiszemy, zaznaczmy, iż na zjawisko ad-  
sorbcji u bakteryj, przed badaniami *Friedbergera*, zwrócił uwagę *Eisenberg*.  
Z licznych doświadczeń tego autora wynika, że naogół bakterje gramdo-  
datnie o wiele silniej się adsorbują przez różne substancje, jak węgiel  
zwierzęcy, glina i t. p., niż bakterje gramujemne. Uwidocznic to można  
w doświadczeniu, dokonaniem z mieszanymi zawiesinami tych dwóch ga-  
tunków bakteryj: ponieważ adsorbcja usuwa z zawiesiny bakterje gram-  
dodatnie w znacznie wyższym stopniu, niż gramujemne, przeto otrzymu-  
jemy w przesączu znaczne wzbogacenie się ilości bakteryj gramujemnych.

Dzięki niejednakowej adsorbcji bakteryj przez błonnik różne bakterje  
z różną szybkością wznoszą się po skrawku bibuły, zanurzonem w zawie-  
sinie, podobnie jak przy tak zwanej „analizie kapilarnej” różne ciała, rozpu-  
szczone w wodzie, mają niejednakowe zdolności wznoszenia się pod górę.

Oparta na powyższych zasadach metoda *Friedbergera* polega na tem,  
że do zawiesiny odnośnych bakteryj autor zanurza na głębokość 0,5—  
1,0 cm. pasek bibuły, szerokości 5 cm. i długości 20 cm.; zanurzenie trwa  
15 m.; po usunięciu zawiesiny *Friedberger* czeka jeszcze 30 m., a następnie  
wysiewa bakterje z oddzielnych odcinków bibuły, przez odciskanie ich, na  
płytkach *Endo*. W ten sposób udało się wykazać, że bakterje gramdo-  
datnie zajmują dolne odcinki bibuły, czyli że silniej ulegają adsorbcji przez  
błonnik bibuły, niż gramujemne, które się unoszą znacznie wyżej; według  
doświadczeń *Friedbergera* lasecznik wąglika podnosi się do wysokości  
1,1 cm., a lasecznik tyfusu do wysokości 4,1 cm. Przytoczone przykłady  
stoją na przeciwległych krańcach skali, podanej przez *Friedbergera*; prze-

ciężna dla dwunastu gatunków bakteryj gramdodatnich wynosi 1,7 cm., a dla 17 gatunków gramujemnych 3,2 cm.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że wśród gramujemnych bakteryj znajdują się gatunki: adsorbowane silniej, niż inne, np. lasecznik okrężnicy i słabiej, np. lasecznik duru. To też w doświadczeniu laseczniki durowe zazwyczaj górują nad lasecznikami okrężnicy, w dosłownem tego słowa znaczeniu, co ułatwia różnicowanie tych dwóch gatunków bakteryj.

Jeszcze kilka wyjaśnień, dla lepszego zrozumienia interesującego nas tu zjawiska. O ile sama adsorbacja bakteryj jest czynnikiem czysto fizykalnym, to nie ulega natomiast wątpliwości, że różnice w podatności adsorbcyjnej poszczególnych grup bakteryj zależą od ich własności koloidowo-chemicznych. Według *Klingera* większe lub mniejsze powinowactwo bakteryj do wody jest przyczyną nierównomiernego wiązania wody przez powierzchnię bakteryj; dzięki temu, część bakteryj (do których należą bakterje gramujemne), posiada jakby osłonki wodne, gające rolę izolatorów, które je chronią od zlepiania się przy zetknięciu się z innymi cząsteczkami i utrudniają adsorbowanie ich przez ciała obce. Bakterje gramdodatnie odznaczają się, odwrotnie, zmniejszonym powinowactwem do wody, prawdopodobnie dzięki większej zawartości lipidów (*Eisenberg*), są zatem pozbawione owych wodnych osłonek ochronnych, wskutek czego łatwo się zlepiają i adsorbują. Zatem, w warunkach doświadczeń *Friedbergera*, bakterje o powierzchni gorzej uwodnionej, stykając się z włóknami bibuły, łatwiej się do nich przymocowują i nie są porywane przez włoskowatość tak wysoko, jak bakterje o dobrych osłonkach wodnych. Ruch własny bakteryj nie odgrywa żadnej roli w danem zjawisku.

Doświadczenia nasze dotyczyły wzajemnego zachowania się laseczników duru i okrężnicy w różnych warunkach, zarówno fizycznych, jak chemicznych i biologicznych. Technikę stosowaliśmy nieco odmienną od techniki *Friedbergera*, używając pasków bibuły szerokości 1 cm., długości 15 cm. Dolny koniec przymocowanego w statywie paska, zanurzaliśmy w zawieszynie na głębokość około 0,5 cm. na przeciąg 30 m. poczem najniższy zanurzony odcinek odcinaliśmy jałowemi nożyczkami, a pozostały skrawek odciskaliśmy na powierzchni pożywki *Endo*. Już pierwsze próby w zupełności potwierdziły dane *Friedbergera*, gdyż laseczniki duru zawsze wędrowały wysoko po bibule, przy stosowaniu zarówno laboratoryjnych, jak i świeżo hodowanych szczepów. Laseczniki okrężnicy zachowywały się różnie: najgorzej podnosiły się stare szczepy laboratoryjne (do  $\frac{1}{4}$  wysokości, osiągniętej przez laseczniki duru); inne podnosiły się do połowy papierka, pojedyncze zaś kolonie osiągały jeszcze większą wysokość.

Najwrażliwszym na różne bodźce zewnętrzne okazał się laboratoryjny szczep okrężnicy. Wyraźny wpływ na zwiększenie podatności adsorbcyjnej wywierał dodatek soli kuchennej do zawiesziny; w zawieszynie, przygotowanej nie jak zwykle, w roztworze soli fizjologicznej, lecz w roztworze 5% -ym NaCl, lasecznik okrężnicy zajmował najniższą część skrawka bibuły lub nie unosił się zupełnie, gdy lasecznik duru był porywany bez zmian w górę. Nawet przy 3% -ym roztworze soli widoczna była różnica w własnościach adsorbcyjnych badanych bakteryj. Różnice, w porównaniu

z jednocześnie dokonanymi próbami kontroli, były tak rażące, iż zdawało się, że metoda ta znajdzie szerokie zastosowanie praktyczne. Niestety, świeżo wyhodowane szczepy okrężnicy nie odznaczały się podobną wrażliwością. Gdy więc szczepy durowe laboratoryjne nie różnią się od szczepów świeżo wyhodowanych, właściwości szczepu okrężnicy, przez czas dłuższy hodowanego na podłożach sztucznych, musiały ulec znacznym zmianom (prawdopodobnie wskutek różnicy w przemianie materji). Obniżenie temperatury (całe doświadczenie wykonano w ciepłocie 0° — 3° C.) nie wywiera wyraźnego wpływu na przebieg zjawiska. Ponieważ istnieje wiele odmian laseczników okrężnicy, nie można mówić ogólnie o ich własnościach adsorbcyjnych; spotykają się np. szczepy świeżo wyodrębnione, które wędrują również wysoko po bibule, jak laseczники duru (*Friedberger, Hofman*). Odmienne wyniki dała zawiesina obydwuch powyższych szczepów z dodatkiem 1% go cukru gronowego: laseczники duru uniosły się zaledwie do połowy zwykłej wysokości i tylko trochę ponad laseczники okrężnicy. Analogiczne spostrzeżenia z 1%-wą i 2%-wą żelatyną odnotował *Hofman*; czynniki te utrudniają prawdopodobnie wysysanie zawiesiny przez bibułę. Nasycając bibułę 5%-ym peptonem lub 5%-ym roztworem soli i następnie wysuszając ją, również zmieniamy jej własności adsorbcyjne; w takich warunkach laseczники okrężnicy unoszą się znacznie wyżej, niż na bibule zwykłej lub zmoczonej wodą destylowaną i wysuszonej. Jaki wpływ na adsorbcję bakterij przez bibułę wywiera wielkość unoszących się po niej cząsteczek, dowodzą doświadczenia z lasecznikami durowemi, zlepionemi surowicą wysokowartościową. Odnośną zawiesinę przygotowano w fizjologicznym roztworze Na Cl z dodatkiem wysokowartościowej surowicy durowej, przy zachowaniu poza tem techniki zwykłej. Okazało się, że laseczники duru prawie wcale się na bibule nie uniosły, gdy laseczники okrężnicy uniosły się tak jak poprzednio, po uwolnieniu zaś od zlepników przez zmycie zawiesiny, laseczники duru unosiły się jak przed dodaniem surowicy zlepiającej.

Ostatnia grupa badań naszych dotyczyła pośredniego wpływu czynników chemicznych na adsorbcję. W tym celu dodawaliśmy do zawiesiny bakteryjnej barwników anilinowych, karbolu, kwasu octowego, sody i innych związków chemicznych. Aby osiągnąć intensywniejsze oddziaływanie, dodawane substancje pozostawiano w zawieszynie w ciągu kilku godzin, a nawet w ciągu doby, zarówno w temperaturze pokojowej, jak w cieplarni, przy 37°. Z pośród sporej liczby doświadczeń tego rodzaju część tylko wykazała wyraźny wpływ dodawanych substancyj na badane przez nas zjawisko. Fiolet kryształowy, w rozcieńczeniach 1/100,000 i 1/500,000, nie wykazywał po trzygodzinnem oddziaływaniu w cieplarni wyraźnego wpływu na adsorbcję; natomiast po 24 godzinach różnica była dość znaczna: w rozcieńczeniu 1/100,000, laseczники okrężnicy zajęły połowę paska bibuły, zamiast 3/4, jak poprzednio, a w rozcieńczeniu 1/500,000 laseczники okrężnicy uniosły się w małym stopniu, resztę zaś papierka zajął wyłącznie dur.

Dodatek do zawiesiny z i e l e n i m a l a c h i t o w e j nie wpływał wyraźnie na zdolność bakterij do unoszenia się po bibule. Odbywało się

ono po 2-godzinnem działaniu barwnika na zawiesinę. Rozcieńczenia braliśmy takie, jakie są używane do miareczkowania pożywki z zielenią malachitową (1 : 9,000, 1 : 18,000, 1 : 27,000, 1 : 36,000, 1 : 54,000). Najwrażliwszym na działanie tego barwnika okazał się laboratoryjny szczep okrężnicy, szczepy zaś świeżo wyodrębnione były odporniejsze nawet od szczepów durowych, zarówno laboratoryjnych, jak i świeżych. W związku z omawianem tu zjawiskiem zasługują na uwagę badania zawiesin bakteryjnych odnośnie ich napięcia powierzchniowego; wykazały one równie znaczną różnicę pomiędzy lasecznikami duru a lasecznikami okrężnicy (*Gildemeister*).

Metoda unoszenia się bakterij wzdłuż bibuły zasługuje niewątpliwie na uwagę z teoretycznego punktu widzenia; praktyczne jej zastosowanie wydaje się narazie problematycznym, zwłaszcza, gdy chodzi o wyodrębnienie duru z kału. O ile łatwo wykryć jest laseczki duru w kale, sztucznie zakażonym, o tyle w warunkach naturalnych metoda ta daje wyniki znacznie gorsze, niż posiewy na podłożach barwnych. Przyczyny tego należy upatrywać w zbyt ścisłym połączeniu bakterij z cząsteczkami kału, co oczywiście musi wpływać ujemnie na zdolność unoszenia się po bibule laseczek durowych.

### W n i o s k i.

1) Różne gatunki drobnoustrojów unoszą się w górę po zanurzonej w zawieszynie bibule na różną wysokość, wskutek niejednakowego adsorbowania ich przez błonnik

2) Zjawisko to pozwala na wyodrębnianie bakterij drogą zaszczepiania bakterij przez odciskanie z różnych okolic skrawków bibuły na podłożu *Endo*.

3) Laseczki duru zazwyczaj wędrują w górę o wiele wyżej, niż laseczki okrężnicy; wręcz odwrotnie zachowują się laseczki duru, zlepione surowicą wysokowartościową.

4) Dodatek do zawiesiny bakteryjnej różnych środków bakterjobójczych (barwników anilinowych, karbolu), jako też soli kuchennej, może wpłynąć na adsorbcję; najwrażliwszym pod tym względem okazał się laboratoryjny szczep laseczka okrężnicy.

5) Z uzyskanych wyników nie zdaje się możliwym wyciągnięcie narazie wniosków o znaczeniu praktycznym.

### P I Ś M I E N N I C T W O.

- 1) Friedberger. Münch. Med. Wochenschr. 1919. LXVI (№ 48).
- 2) Friedberger i Pütter. Münch. Med. Wochen. 1920. LXVII. 398.
- 3) Pütter. Archiv für Hygiene 1919. LXXXIX
- 4) Klingler. Münch. Med. Wochenschr. 1920. LXVII. 74.
- 5) Hofmann. Münch. Med. Wochenschr. 1921. LXVIII. 71.
- 6) Gildemeister. Centralbl. f. Bakteriologie. Orig. 1919. LXXXIII. 497.
- 7) Eisenberg. Przegląd Epidemiologiczny. 1921. I. 233.

ZUSAMMENFASSUNG.

Aus dem Staatlichen Epidemiologischen Institut in Łódź.  
(Direktor Prof. Dr. F. Venulet).

Ueber Isolierung der Mikroorganismen durch  
Steigen auf dem Filtrirpapier.

KAZIMIERA STERLING

Asistentin d. Institut.

Verfasserin bestätigt die Angaben von *Friedberger* und *Pütter*, dass verschiedene Arten von Bakterien auf Fliesspapier verschieden hoch steigen. *Typhus*-bakterien steigen höher als *Coli*; agglutinierte Bakterien weniger hoch, als nichtagglutinierte. Der Zusatz von kleinen Mengen desinficirender Substanzen beeinflusst die Steighöhe. Für Isolierung der *Typhus*-bakterien aus dem Stuhl wird die Methode kaum eine Anwendung finden.

---

Z Państwowego Zakładu Epidemiologicznego w Krakowie.  
(Kierownik Prof. D-r J. Nowak).

## Witaminy a bakterje.

(STRESZCZENIE POGLĄDOWE)

Podał

D-r FILIP EISENBERG

Kierownik Oddz. Bakterjologicznego.

### 1.

Nauka o odżywianiu się bakteryj przechodzi w rozwoju swym zasadniczo te same okresy, co wyprzedzająca ją nauka o odżywianiu się roślin i zwierząt. W okresie wstępnym empirja, powoli się rozwijająca i skrępowana częstokroć warunkami przyrodzonymi, niejednokrotnie genialna, stwarza system odżywiania dla roślin użytkowych i zbytkownych, dla zwierząt domowych, hodowlanych i człowieka, uczy wykorzystywać materiały, dostarczany przez przyrodę, obrabiać go i zmieniać w różnych kierunkach, konserwować i przyrządzać przez najrozmaitsze zabiegi. W drugim okresie nauka, zbrojna metodami chemji analitycznej, w XX-ym wieku przystępuje do charakterystyki jakościowej i analizy elementarnej pokarmów roślinnych i zwierzęcych, różnych gleb, nawozów i t. p., stwierdza trzy zasadnicze grupy chemiczne ciał, wchodzących w skład ustrojów zwierzęcych i roślinnych—ciała białkowe, węglowodany i tłuszcze—i określa ich znaczenie w mechanizmie życia. Równocześnie, opierając się o zdobycze i metody termochemji, fizjologia odżywiania przeprowadza analizę energetyczną pokarmów, nawozów itp. i stwarza bilans chemiczno-kaloryczny ich funkcji. W trzecim okresie, który bierze punkt wyjścia z fizjologii roślin, okazuje się, że ten dotychczasowy szemat odżywiania jest niewystarczający i że ciała, które dotychczasowa analiza uważała za, nieuchronny wprawdzie, ale zbyteczny i niezbyt ważny balast, mianowicie woda i sole, odgrywają w mechanizmie przemian życiowych pierwszorzędną rolę, że te dotąd nieco pogardliwie traktowane „zanieczyszczenia” są regulatorami ważnych własności podkładu życia — współokreślając i modyfikując jego „stan koloidalny”, stwarzając warunki dla funkcji fermentów itp. Wreszcie w ostatnim, czwartym okresie, chlubnie związanym z nazwiskiem naszego



rodaka *Kazimierza Funka*, udało się stwierdzić, że poza ciałami białkowatymi, węglowodanami, tłuszczami, poza solami i wodą, znajdują się w wielu środkach odżywczych ciała o mało określonym charakterze chemicznym (aminy o stosunkowo prostej budowie), obecne w tych pokarmach w znikomych ilościach, a konieczne potrzebne dla prawidłowego przebiegu ważnych spraw odżywczych i wzrostowych. Brak tych ciał wywołuje cały szereg poważnych spraw chorobowych, obejmowanych dziś zbiorową nazwą „awitaminoz”. Na miejsce pierwotnie rozróżnianej mnogości witamin, dziś badacze przyjmują witaminę „A”, rozpuszczalną w tłuszczach i rozpuszczalnikach lipidowych i witaminę „B”, rozpuszczalną w wodzie, niektórzy nadto witaminę przeciwnilcową „C”.

Nauka o odżywianiu bakterij (i innych drobnoustrojów), najmłodsza wśród swoich sióstr, przechodzi podobne koleje — tylko te okresy są krótsze, wielokrotnie ze sobą splecione.

Pierwsi bakterjolodzy starali się drogą empiryczną odtwarzać w podłożach warunki odżywcze, jakie bakterje znajdują w przyrodzonych środowiskach. W drugim okresie poddano ściślejszej analizie jakościowo-chemicznej i energetycznej wymogi życiowe różnych bakterij i stwierdzono niesłychanie rozległą ich skalę i ogromne bogactwo typów, zależnych od przystosowań życiowych. W trzecim okresie zwrócono baczniejszą uwagę na rolę wody i soli, wzgl jonów w życiu bakterij, stwarzając ściślejsze podstawy dla zagadnień bakterjologii rolniczej, dla nauki o dezynfekcji, oświetlając różne sprawy biologii bakterij z punktu widzenia chemii koloidalnej. Najnowsze badania nad znaczeniem złączenia jonów wodorowych dla rozwoju bakterij, a zwłaszcza dla funkcij fermentacyjnych, są może najciekawszą zdobyczą tego kierunku bujnie się rozwijającego. Wreszcie w ostatnich latach wchodzi ta nauka, nie zaniedbując trzech dotąd wymienionych dróg, w okres badań witaminowych, które choć dopiero zapoczątkowane obiecują wyjaśnienie niejednego zagadnienia mikrobiologicznego, a może i osiągnięcie ważnych zdobyczy praktycznych. Te to badania będą przedmiotem niniejszego streszczenia.

## II.

Z pośród dwóch możliwych sposobów omawiania tych spraw, historycznego i rzeczowego, wybieram ten drugi, jako pozwalający na czystsze i ściślejsze ujęcie zagadnień. Rozwój ich wysunął trzy zasadnicze pytania, nierównomiernie dotąd opracowane doświadczalnie, na które w miarę możliwości postaramy się odpowiedzieć. Chodzi mianowicie o to: 1) czy bakterje zawierają witaminy, przydatne dla wyżej uorganizowanych jestestw roślinnych i zwierzęcych, 2) czy same bakterje potrzebują dla swej przemiany materji i swoich spraw wzrostowych witamin i jakich, wreszcie 3) czy ew. jedne bakterje mogą drugim dostarczać witamin.

Pierwsze z zagadnień budzi osobliwe zainteresowanie biologiczne. Dotychczasowe badania wykazały z dużym prawdopodobieństwem, że głównym źródłem witamin, potrzebnych do życia zwierząt wyższych, są

ustroje roślinne, ponieważ same zwierzęta zdają się być niezdolne do syntezy tych ciał i pobierają je w formie gotowej od roślin, objawiając i w tej dziedzinie swój charakter pasorzytniczny, heterotroficzny, podobnie jak to się dzieje w zakresie głównych pokarmów energetycznych. Zapasy witamin, nagromadzone w niektórych narządach i sokach zwierzęcych, zdają się pochodzić wyłącznie z pokarmów; gdy wykluczyć z tych pokarmów witaminy, zapasy się wyczerpują po pewnym czasie i rozwija się obraz „awitaminozy“. Mamy tu, jak się zdaje, do czynienia z kardynalną różnicą ustrojową obu królestw życia i dlatego można szczególną wagę przywiązywać do stwierdzenia, jak pod tym względem zachowują się bakterje. O blisko spokrewnionych drożdżach wiemy, że są bogatym źródłem witamin i jako takie często były używane w doświadczeniach nad awitaminozami (angielski produkt handlowy „Marmite Food“ jest wytworem zautolizowanych drożdży). Co do bakteryj, w tym kierunku niewiele wiemy. *Paccini* i *Russell* mogli zapobiec następstwom zgubnym djetę bezwitaminowej przez podawanie wyciągu alkoholowego z bakteryj durowych, hodowanych na podłożu mineralnem *Uszyńskiego*. Zwierzęta doświadczalne okazywały stały przyrost na wadze, podczas gdy kontrolne wszystkie zginęły w ciągu 4 tygodni. *Damon* natomiast twierdzi, że *Bac. subtilis*, *Bact. paratyphi B.* i bakterje okrężnicowe nie wytwarzają witamin typu *B.* przynajmniej na podłożu syntetycznem *Uszyńskiego* (podobnie *Cooper* co do bakt. okrężnicowych)<sup>1)</sup>.

Za możliwością wytwarzania witamin przez bakterje przemawiają też spostrzeżenia *Portiera* i *Pni Randoin* wykazujące, że króliki znoszą dobrze djetę bezwitaminową, o ile mają możliwość, co zwykły czynić, pożerania własnego kału. Podobnie i gołębie znoszą bezkarnie taką djetę, o ile do niej dodać kału króliczego. Autorzy przypuszczają, że bakterje jelitowe królika wytwarzają w tych doświadczeniach brakujące witaminy.

Zagadnienie, czy bakterje są zdolne do wytwarzania witamin wzgl. które ich gatunki, ma specjalne znaczenie ze względu na bardzo ciekawą sprawę „życia jałowego, tj. bez bakteryj“. Wiadomo, że podobne doświadczenia często dają bardzo mierne wyniki, że jałowo hodowane zwierzęta są charłaczami i łatwo giną. Otóż zabiegi, służące do wyjałowienia pokarmów, niszczą przeważnie witaminy w nich zawarte i mogą w ten sposób szkodzić zwierzętom, możnaby jednak także przypuścić, że bakterje przewodu pokarmowego potrzebne są dla gospodarza, jako wytwórcy witamin i że stąd pochodzą szkodliwe następstwa jałowego odżywiania. Z poglądem takim, jednak znacznie rozszerzonym, spotykamy się u *Portiera*. Twierdzi on, że w tkankach wyższych zwierząt, a zwłaszcza w tkance tłuszczowej narządów wewnętrznych i płciowych, znachodzą się liczne bakterje, uprawiające symbiozę z makroorganizmem (t. zw. „symbioty“) i dostarczające mu drogą syntezy witamin. Wyjałowienie pokarmów działałoby szkodliwie przez to, że znosiłoby odnowę symbiotów, potrzebną dla utrzymania w odpowiedniej ilości tych współpracowników ustroju. Hipoteza ta spotkała się zresztą z surową (jak się zdaje słuszną) krytyką wielu autorów.

1) Nie mogłem dotąd poznać należącej tu pracy *Eijkmana i van Hoogenhuij-*

Wychodząc z zagadnień „życia jałowego“, *Wollman* badał wytwarzanie witaminy przeciwgnilcowej przez bakterje fermentacji mlecznej (*Bac. bulgaricus*) i witaminy przeciwnerwicowej przez *Amylomucor B.* Wyniki tych doświadczeń były zupełnie ujemne, podobnie jak drugiej serji doświadczeń, wykonanych ostatnio przez *Wollmana* i *Vagliano*, dotyczących wytwarzania witamin wzrostowych A i B przez te same drobnoustroje. Wyników tych jako ujemnych nie można oczywiście uogólniać; może w innych warunkach doświadczalnych te same gatunki pozwoliłyby uzyskać wynik dodatni. Tak np. *Scheunert* i *Scheiblich* stwierdzają leczniczy wpływ hodowli bakteryj jelitowych i drożdży na awitaminozę gołębi, karmionych łuskany m ryżem, podczas gdy *Weill*, *Arloing* i *Dufourt* wpływu takiego nie znajdują.

### III.

Przystępujemy z kolei do rozpatrzenia drugiego pytania, czy mianowicie bakterje potrzebują witamin do życia i rozwoju. Uprzednio jednak wypadnie zastanowić się nad tem, czy rośliny wogóle potrzebują witamin, skoro zaliczamy bakterje do królestwa roślinnego. *Bottomley* i Pna *Mockeridge* rozszerzyli pojęcie witamin na życie roślin: wykazali oni, że w wyciągach alkoholowych lub wodnych torfu, poddanego działaniu rozkładowemu tlenowców gruntowych w temp. 26°, znajduje się ciało mocno pobudzające rozwój różnych części składowych roślin wyższych. Z wyciągu wysokowego, rozpuszczonego w wodzie, strąca się to ciało zapomocą kwasu fosforowolframowego a po frakcjonowaniu zapomocą azotanu srebrowego, otrzymuje się wyciąg czynny w minimalnych dawkach (0.35 na 1.000.000). Szczególnie uderzający jest wpływ tego ciała na wzrost kielkującej pszenicy lub na rozwój kaczeńca (*Lemna minor*), hodowanego na podłożu mineralnem *Detmera*. Ciałom tym *Bottomley* nadał nazwę „auksymonów“ (wzmagających wzrost), nie chcąc narazie przesądzać ich tożsamości z witaminami. Oprócz torfu, stwierdził on, że źródłem tych ciał, mogą być nawozy organiczne, zwłaszcza po gniciu i narośle korzonkowe roślin strączkowych. Uderza ich wybitna ciepłotałość (wytrzymują ogrzewanie półgodzinne do 134°), którą jednak stwierdzono także u niektórych witamin typu A. Nasuwa się tu ważne pytanie, czy ciała te są identyczne z witaminami, pochodzącymi z roślin, ale pełniącymi funkcję bodźców w rozwoju i w zachowaniu równowagi metabolicznej zwierząt. *A priori* można przypuścić, że wobec bardzo różnego typu przemian życiowych u roślin i zwierząt, ciała spełniające tę samą funkcję biologiczną niekoniecznie muszą być identyczne co do swej budowy chemicznej i różnych innych własności. Co do t. zw. „auksymonów“, *Bottomley* stwierdził, że w skład ich wchodzi zasady purynowe i pirimidynowe w połączeniu z kwasem fosforowym (jako produkty rozkładu kwasu nukleinowego w torfie pod wpływem bakteryj). Podobne składniki znalazła Pna *Mockeridge* w nawozach organicznych, nadto zaś prawdopodobnie wytwory syntetyczne bakteryj i niższych grzybków. Naogół sprawa „dodatkových czynników odżywczych i wzrostowych“ w biologji roślin nie jest jeszcze rozstrzygnięta. Na podstawie ogólnych rozwa-

zań biologicznych można jednak przypuścić, że ciała te, tak rozpowszechnione w królestwie roślin, zwłaszcza w narządach rezerwowych, nie są tylko ubocznie i przypadkowo niejako uposażone w swe ważne funkcje dla rozwoju zwierząt, że chyba w mechanizmie życia roślinnego mają przewidzianą jakąś ważną i poczesną rolę. Z drugiej natomiast strony można być przygotowanym na to, że skoro rośliny potrafią syntetycznie wytwarzać witaminy, trudniej będzie wykazać konieczność tych ciał w roślinach dla wzrostu i prawidłowego funkcjonowania, aniżeli w zwierzętach, które skazane są na pobieranie gotowych witamin z zewnątrz, a których zapasy witaminowe rychło się wyczerpują.

Jeśli z kolei zejdziemy do najniższych roślin, blisko spokrewnionych z bakterjami, to tutaj spotkamy się z szeregiem danych bardzo ciekawych i biologicznie ważnych. Wiemy, że drożdże stanowią obfite źródło witamin użytecznych dla zwierząt, zwłaszcza, o ile uprzednia autoliza je wyzwoli. W pewnych warunkach jednakże można wykazać, że drożdże same potrzebują witamin (ew. ciał wzrostowych). Dawniej już spostrzegano (*Pasteur, Ad. Meyer, Nägeli*), że rozwój drożdży w pożywkach, zawierających sole amonowe jako źródło azotu, odbywa się z pewną trudnością. Otóż w r. 1901 *Wildiers* wykazał, że o ile na takiej pożywce mineralnej zasiał małą ilość drożdży (*Saccharomyces cerevisiae, Hansen*), to wzrostu brak, natomiast drożdże się rozmnażają przy tej samej ilości zasiewu, o ile dodać do pożywki kilka  $\text{cm}^3$  odwaru drożdżowego, moszczu, wyciągu mięsnego, peptonu lub brzeczki. Te ciała wzrostowe rozpuszczają się w wodzie i 80%-ym wysokoku, nie rozpuszczają się w czystym wysokoku i eterze, są odporne na działanie kwasów, wrażliwe na działanie zasad, djalizują, giną przez gotowanie w 20%-ym kwasie siarkowym — brak ich w popiele wymienionych dodatków. *Wildiers* przypuszcza, że obok nieorganicznego azotu, drożdże potrzebują jeszcze specjalnych związków azotowych organicznych, którym nadaje nazwę „*bios*“, podkreślając ich wielkie znaczenie życiowe. Drożdże mają wprawdzie zawierać owe ciała, ale są rzekomo niezdolne do wytwarzania go. Zbyt skąpy zasiew ma być bezskuteczny, bo zawiera zamało tego ciała; przy dostatecznym zasiewie nowowytwarzające się komórki pobierają je z rozpadających się starych. Sprawa „*biosu*“ doczekała się wielkiej dyskusji w literaturze mikrobiologicznej, mimo to dotąd niezupełnie jest rozstrzygnięta. Ważny jest przedewszystkiem fakt, stwierdzony przez *Henry'ego*, że wbrew twierdzeniu odkrywcy, drożdże zdolne są do wytwarzania nowego „*biosu*“ — *Kossowicz* zaś wykazał, że i inne gatunki, jak *Penicillium glaucum* i pewien rodzaj *Mycoderme*, potrafią również wytwarzać ciała wzrostowe dla drożdży. Według badań *Devloo'a* chodzi tu o organiczny związek azotowy, zawarty w lecytynie. Czy „*bios*“, odkryty w okresie przedwitaminowym, pozostaje w jakim związku z witaminami właściwymi, niewiadomo. Z nowszych autorów *Williams* wykazał, że hodowle drożdży w podłożach syntetycznych rozwijają się znacznie szybciej i bujniej w obecności małych ilości witamin, niż bez nich, i skłonny jest uważać witaminy te za identyczne z witaminami zwierzęcymi typu B (typ A nie ma znaczenia dla wzrostu drożdży). Dzięki wielkiej swej wra-

żliwości na działanie witamin, mogłyby jego zdaniem drożdże służyć za odczynnik na te ciała.

Wychodząc z tych badań, *W.* podał metodę określania ilościowego witamin na podstawie rozmnożenia się jednej komórki w podłożu mineralnym z dodatkiem badanego wyciągu. Ponieważ ta metoda dawała wyniki niezupełnie zadowolające, zastąpił ją potem metodą grawimetryczną, zapomocą której porównuje plon z podłoża mineralnego i z takiegoż podłoża z dodatkiem badanego wyciągu. Że chodzi tu o prawdziwe działanie witaminowe, a nie o działanie innych ułoczných ciał odżywczych, dowodzi według *W.* spostrzeżenie, że dodatek aminokwasów, zawartych w wyciągach drożdżowych, do podłoża mineralnych nie poprawia ich wartości odżywczej. Podobną metodę określania ilościowego witamin na podstawie pobudzenia wzrostu drożdży podali *Funk* i *Dubin*; miarą funkcji wzrostowej jest plon drożdżowy, mierzony wysokością osadu, uzyskanego przez odwirowanie drożdży. Przy pomocy tej metody badali autorzy wpływ różnych czynników chemicznych na witaminy drożdżowe: co do ich tożsamości z witaminą B, nie wypowiadają ostatecznego sądu. Zdania innych badaczy, co do uzasadnienia i wartości wymienionych metod, są rozbieżne: *Mac Donald* i *Mc. Collum* przeczą, jakoby drożdże w podłożu mineralnym nie mogły żyć bez dodatku witamin, podobnie *Fulmer*, *Nelson* i *Sherwood*. Fakt ten jednak tłumaczy się na podstawie prac *Nelsona*, *Fulmera* i *Pny Cessna*, jakoteż *Hardena* i *Zilvaya* w ten sposób, że drożdże posiadają zdolność syntezy witamin w podłożu mineralnym, a zwiększa się ona przez dodanie witamin (potwierdzenie dawniejszych prac nad „Biosem”). Ujemną krytykę metod ilościowych wypowiadają *Emmet* i *Pna Stockholm*, *Souza* i *Mc. Collum*, *Fleming*, polecają ją natomiast *Eddy*, *Heft*, *Stevenson* i *Pna Johnson* jakoteż *Swoboda*. Ciekawe jest, że według badań *Pny Miller* drożdże, oprócz witaminy wzrostowej, zawierają różniące się od niej ciało rozpuszczalne w wodzie i w wyskoku 70% — 90%-ym, a wydatnie pobudzające wytwarzanie inwertazy.

O ile w tych doświadczeniach wzrost drożdży jest sprawdzianem działania witamin, o tyle *Fraenkel* i *Schwarz* znowu użyli za taki sprawdzian sam akt fermentacji. Znaleźli oni, że różne produkty roślinne, zawierające witaminy zwierzęce, w pierwszym rzędzie otręby ryżowe i wyciągi z drożdży, pobudzają energicznie fermentację drożdżową i to stale w całym jej przebiegu (inne katalizatory działają tylko w początkowym okresie). Skuteczne ciało w drożdżach może być oczyszczone przez szereg strącań i stanowi w tym stadium około 2% pierwotnej masy drożdży.

Działanie witamin na fermentację drożdżową stwierdził również *Sammartino*; chodzi tu nie o wpływy wzrostowe, a o bezpośrednie pobudzenie funkcji zymazy; działanie to jest swoiste, bo pepsyna i trypsyna niedostępne są wpływowi witamin.

Znaczeniem witamin dla grzybków zajmują się ciekawe prace *Linosier'a*. Stwierdził on, że *Oidium lactis* rośnie lepiej na podłożach z cukrem gronowym handlowym, niż chemicznie czystym, nadto zaś, że przy zasiewach ze starych hodowli (osłabionych) i w podłożach mineralnych dodatek soku z winogron, pomidorów lub liści kapusty poprawia znacznie

wzrost lub wogóle go umożliwia, przyczem stopień efektu zależy od ilości dodatku. Podobne wyniki uzyskał z *Penicillium glaucum* — ujemne natomiast z drożdżami piwnymi i *Sterigmatocystis nigra*. W dalszych badaniach, używając podłoży syntetycznych z dodatkiem cukru gronowego (ogrzanych do 135° celem wykluczenia witamin), stwierdził, że w obecności witamin drożdże zużywają podany cukier szybciej, dają wagę plonu wyższą, niż bez witamin. Różne gatunki grzybków okazują różną wrażliwość na witaminy, doprowadzane zewnątrz — im więcej same ich wytwarzają, tem mniej ich potrzebują zewnątrz. Płyńy, hodowane po odbytych wroście, mogą skutecznie zastępować soki roślinne, jako źródła witaminowe. Witaminy te nie są swoiście nastawione na potrzeby gatunku wytwarzającego je. Wytwarzania tych ciał dowodzi fakt, że w podłożach, pozbawionych pierwotnie własności witaminowych, można je wykazać po hodowli. Ważna jest zależność zapotrzebowania od stanu biologicznego (osłabiony zasiew!). Według *Linossiera* grzybki stanowią ogniwo pośrednie między wyższymi zwierzętami, koniecznie potrzebującymi witamin, lecz niezdolnemi do ich wytwarzania, a pewnemi drobnoustrojami, nie potrzebującemi ich a produkującemi je w nadmiarze. Według *Goy'a* różne grzybki, drożdże i bakterje mogą rość w podłożach bezwitaminowych, jednak wzmaga się szybkość wzrostu, o ile dodać małą ilość płynu hodowanego tego samego lub innego gatunku. Z hodowli *Mucor mucedo* wyosobnił *G.* zapomocą eteru związek organiczny kwaśny, krystaliczny, wolny od fosforu i azotu. Ciało nabiera własności witaminowych dopiero przez ogrzanie do swego punktu topliwości (168° — 170°), różni się nadto od znanych witamin tem, że znajduje się także w łuskany m ryżu. Ciało to wpływa również korzystnie na wzrost b. błonniczych i różnych beztlenowców (*Bac. histoliticus, perfringens i sporogenes*).

Jak już wspomniano wyżej stosunek tych „ciał wzrostowych“ do właściwych witamin niezupełnie jeszcze jest wyjaśniony. Nie można *a priori* wykluczyć możliwości, że wobec ustrojów tak różnych, jak wyższe zwierzęta i najniższe rośliny, różne chemicznie ciała będą pełniły funkcje witaminowe. Za tą możliwością przemawiają wyniki badań *Lumière'a*; wykazuje on: 1) że świeże drożdże piwne, ogrzane do 135°, tracą własności lecznicze w awitaminozie gołębi (*Polyneuritis*), natomiast dają wyciągi skuteczne dla wzrostu grzybków w ubogich podłożach (z winianem amonowym i gliceryną), 2) że wyskok wyciąga z drożdży witaminy skuteczne dla zwierząt, zaś ciała wzrostowe dla grzybków dadzą się wyciągnąć z drożdży, wytrawionych wyskokiem, 3) że płyny organiczne tracą swe własności witaminowe dla zwierząt przez filtrowanie przez ziemię walcowniczą (*fuller earth, terre à foulon*), równocześnie jednak wzmaga się ich skuteczność dla grzybków, 4) że kwas fosforowo-wolframowy i inne strącalniki alkaloidów strącają witaminy zwierzęce, nie zaś grzybkowe, 5) że ogrzewanie do 250° niszczy pierwsze, nie naruszając drugich. Na tej podstawie *Lumière* zaprzecza identityczności tych ciał — może jednak przedwcześnie wobec skąpych wiadomości, jakie o nich posiadamy. Sytuacja jest tu dziś podobna, do tej która była niedawno jeszcze w sprawie mnogości ciał ochronnych i wywoływaczy w immunologii—być może, iż niezadługo, po okresie coraz dalszej analizy, nastanie okres jednoczenia i upraszczania.

Dodatkowo wreszcie należy wspomnieć o badaniach, dotyczących wpływu witamin na wiciowce, które z pośród pierwotniaków są najbardziej spokrewnione z bakterjami. P-na *Flather* stwierdziła, że o ile do hodowli *Paramaecium* w mleku słodowym dodać wyciągu z ryżu, to szybkość podziałów maleje — jednak znacznie w obecności wyciągu z ryżu łuskanego (pozbawionego witamin), niż niełuskanego (częstość dzienna = 0.84, wzgl. 0.58, wzgl. 0.34). Sok z cytryny (skuteczny środek przeciwnilcowy) okazał się tutaj nieskutecznym. Pna *Chambers* do podobnych hodowli dodawała soku kartoflanego z małym skutkiem, wyciąg drożdżowy natomiast wyraźnie przyspieszał tempo podziałowe, podobnie wyciąg z nadnerczy. Wobec hodowli w wyciągu z siana, zarówno ten wyciąg, jak wyciąg z przysadki mózgowej, był skuteczny.

*Legroux* i *Jimenez* badali warunki wzrostu *Leishmania Donovanii* (gruszkowce choroby *Kala Azar*) na agarze z krwią; w tym wypadku krwinki czerwone przemyte nie wystarczają, jako dodatek do hodowli, która wymaga pełnej krwi odwłóknionej, surowicy (wzrost mierny) lub wyciągu ze śledziony lub szpiku kostnego, zawierającego krwinki białe. Ciała wzrostowe, zawarte we krwi lub wyciągach, słabną przy ogrzewaniu ponad 75.5°, giną pomiędzy 90° — 100°.

#### IV.

Przechodzimy obecnie do samych bakteryj. Z góry już musimy sobie powiedzieć, że prawdopodobnie sprawa witamin u różnych gatunków wzgl. ugrupowań naturalnych będzie miała różny wygląd. Z punktu widzenia fizjologii odżywiania, podobnie jak z wielu innych, bakterje stanowią zapewne nie rodzaj lub rodzinę, jak chcieli niektórzy systematycy, a całe królestwo o wielkiem bogactwie typów odżywczych, uwarunkowanem różnorodnością przystosowań życiowych. Od autotroficznych bakteryj, zdolnych do przyswajania węgla w postaci CO<sub>2</sub>, względnie wolnego N atmosferycznego, poprzez bakterje, żywiące się odpadkami organicznymi ze szczególnem uwzględnieniem czy to ciał białkowych i ich pochodnych, czy to węglowodanów, czy to tłuszczów, aż do gatunków ściśle pasorzytniczych o niesłychanie ciasno zakreślonych możliwościach odżywczych, mamy szeroką skalę — niemal tak szeroką, jak całe królestwo roślinne i zwierzęce razem wzięte. Biologicznie, jak już wspomniałem, przedstawiają się te różniczkowania odżywcze, jako wyraz różnorodnych przystosowań do pewnych podłoży życiowych — to ujęcie jednak nie zwalnia od obowiązku ściślejszej analizy mechanizmu tych różnych typów przemiany materji. Analiza taka pokazuje nam bardzo różnorodne zdolności analityczne, oparte na wielorakich fermentach — obok nich zaś bogactwo funkcji syntetycznych — jedne i drugie ponadto wyposażone są w wielką plastyczność i zdolność przystosowawczą, celem uzgodnienia mechanizmu odżywczego ze zmiennymi warunkami życia.

I w sprawie witamin możemy, na podstawie przytoczonych wyżej danych co do roślin wogóle, a drobnoustrojów w szczególności, oczekiwać również pewnej różnorodności. Zasadnicze trzy czynniki będą tu rozstrzy-

gały o zachowaniu się poszczególnych gatunków: 1) fakt, czy dany gatunek sam wytwarza witaminy, wzgl. w jakiej ilości w stosunku do swych zapotrzebowań i w jakim tempie; 2) fakt, czy w naturalnem wzgl sztucznem środowisku ma możność znalezienia gotowych witamin, czy też skazany jest wyłącznie na własną produkcję; 3) wreszcie całości kształt innych warunków odżywiania będzie niewątpliwie także wpływał wydatnie na zapotrzebowanie witamin jakościowe i ilościowe — im uboższe będą źródła odżywiania, im mniej pomyślny ogół warunków życia, tem zapotrzebowanie to bardziej się uwydatni i naodwrot. Łatwiej będzie wykazać istnienie i potrzebę witamin u gatunków wybrednych, ściśle przystosowanych do życia pasorzytniczego, a niezdolnych do ich wytwarzania, niż u banalnych gatunków wszędobylskich, łatwo zaspokajających swe wymagania, a wytwarzających witaminy. W pierwszych będzie można ewentualnie pójść drogą, którą poszły dotąd klasyczne doświadczenia witaminowe u zwierząt wyższych, t. j. wykazać, że brak witamin, powodując głębokie zaburzenia, uniemożliwia rozwój i życie tych drobnoustrojów. W drugim przypadku sprawa będzie trudniejsza; aby móc wykazać potrzebę witamin, trzeba będzie zapomocą niekorzystnych warunków zmniejszyć lub znieść ich wytwarzanie, wzgl. zadowolić się wykazaniem, że dostatek tych ciał w tych warunkach wzmagają bujność rozrostu i przyspieszają jego tempo. Wreszcie jedno jeszcze zastrzeżenie ogólnej natury: wobec ogromnych różnic, jakie dzielą świat bakterij od wyższych ustrojów, nie możemy pojęcia „witamin“ z góry sprowadzać do tych ram, jakie dla nich zdołały dotąd ustalić badania u zwierząt wyższych. Powiedzmy sobie, że funkcje witaminowe będą tu mogły pełnić ciała chemicznie może różne od tamtych — określimy tedy tutaj witaminy, jako ciała konieczne lub korzystne dla wzrostu i rozmnażania się bakterij, nie przedstawiające bezpośredniej wartości energetycznej (kalorycznej), wzgl. budulcowej, a nie będące jonami.

Pierwszą pracą, w której wprowadzono pojęcie witamin do bakterjologii była praca *Lloyda* (później też *Cole'a i Lloyd'a*) o wymaganiach odżywczych meningokoków. Nie jest chyba przypadkiem w myśl tego, co wyżej wyłuszczyłem, że za pierwszy przedmiot badań wybrano ten gatunek wybredny i kapryśny, ściśle pasorzytniczy. Autorzy znaleźli, że meningokoki potrzebują do wzrostu z jednej strony pewnych aminokwasów, z drugiej zaś ciał typu witaminowego, ciepłochwiejnych, rozpuszczalnych w wodzie i w wysoku, łatwo ulegających przychłanianiu (adsorbcji) przez bibułę, mniej przez wełnę szklaną. Zapotrzebowania obu rodzajów ciał są wzajem od siebie zależne. Naogół podłoża używane zwykle zawierają tem więcej aminokwasów, im mniej witamin, i naodwrot. Przystosowując się stopniowo do życia na podłożach sztucznych, obfitujących w aminokwasy, meningokoki ograniczają z wolna swe zapotrzebowanie witaminowe (a może też uczą się wytwarzać witaminy w większej ilości). Idąc śladami tych autorów, *Huntoon* poleca dla hodowli, zwłaszcza wybredniejszych gatunków, wyciągać koloidy z materiałów surowych, roślinnych i zwierzęcych na zimno przed gotowaniem, przy wyjaławianiu nie przekraczać 100°C



i możliwie nie przesączać przez materiały mocno przychłaniające, jak wata, bibuła i t. p. Modyfikując w tym czasie przepisy *Cole'a i Lloyda, Huntoon* daje następujący przepis dla sporządzania agaru. Do 500 gr. mięsa wołowego, możliwie świeżego, drobno posiekanego, dodaje się litr wody, 10 gr. peptonu „Bacto“, 16 gr. napęczniałego agaru, 5 g. soli i jedno całe jajko — ogrzewa się mieszając ciągle do 68°, alkalizuje się zapomocą 1 cm<sup>3</sup> sody normalnej na 1 litr, ogrzewa się 1 godzinę na łaźni wodnej do 100°, dekantuje się płyn z ponad osadu, ogrzewa się dalej przez pół godziny do 100°, oziębia się w nachylonej pozycji, zdejmuje się pipetą płyn z ponad osadu, zbiera się wydzielony tłuszcz, uwalnia się od ew. strąków przez odwirowanie, sedimentację lub przesączenie przez azbest lub wełnę szklaną. Dla meningokoków lub gonokoków okazał się korzystnym agar półpłynny (5 gr. zamiast 16), zapewniający hodowiom żywotność 3 wzgl. 2 miesięczną (może korzystny wpływ ograniczonego dostępu tlenu). Dla paciorkowców okazuje się korzystną w podobny sposób przyrządzona żelatyna (10 grm.) z 0.15% cukru gronowego z dodatkiem krwi zhemolizowanej; na tem podłożu kolonie paciorkowców mają po 18 godzinach wielkość kolonij b. okrężnicowych. Opisany agar, z dodatkiem 1% aminokwasów zamiast peptonu i 5% gliceryny, daje bujne hodowle b. gruźliczych. W ostatnim czasie *Torrey* i *Buckell* stwierdzili bujny wzrost gonokoków na podłożu *Huntoon*a, jako też długą żywotność takich hodowli; wyjałowienie podłoża przez 5' przy 120° osłabia zdatność jego wzrostową, zaś przez 30' niemal ją znosi.

Bardziej zasadniczo stawia sprawę *Kligler*, poszukując w wyciągach narządów zwierzęcych „dodatkowych ciał wzrostowych“ (*growth accessory substances*) dla bakterij chorobotwórczych. Aby wykazać potrzebę witamin, używa on podłoży ubogich i małych stosunkowo zasiewów. Działanie witaminowe uwidocznia się w tych warunkach przez skrócenie okresu wylegania (wzgl. zahamowania wstępnego wzrostu) hodowli. Wyciągi z serca wołowego, z wątroby, śledziony, nerki, serca, płuc, mięśni, mózgu, jąder i żołądka królików i kotów okazały się skutecznymi, o ile były uzyskane zapomocą roztworu soli, natomiast wyciągi zapomocą alkoholu z eterem okazały się nieskutecznymi, zbliżają się zatem te ciała do witamin typu B. Same przez się wyciągi użyte, w odpowiednich rozcieńczeniach, nie nadają się do hodowli — również nie wchodzi w ich skuteczności w rachubę ich zawartość białkowa, bo można, nie zmniejszając skuteczności strącić z nich ciała białkowe zapomocą wysokoku. Wrażliwość na ogrzewanie zbliża je do znanych witamin. W podobnym kierunku podążają prace *Mueller*a; starając się stworzyć najpomyślniejsze warunki rozwojowe dla krwiobójczych (hemolitycznych) paciorkowców i pneumokoków, znalazł on w wyciągach z mięsa wołowego, serca wołowego, sernika i z innych ciał białkowatych, ciało wzrostowe, które łatwo ulega adsorbcji, a strąca się z roztworu zapomocą siarczanu rtęciowego. O ile do takiego roztworu, unieczynnionego przez gotowanie z węglem zwierzęcym, dodać peptonu handlowego lub kwaśnego hydrolizatu sernika lub mięsa, to własności wzrostowe znów się zjawiają, choć oba składniki z osobna są bezskuteczne. Ciało uczynniające w hydrolizacie strąca się zapomocą siarczanu rtęcio-

wego (podobnie jak znane witaminy) i napewno nie jest identyczne z żadnym aminokwasem.

Przez cząsteczkowe strącania można jeszcze w tym ciełe wyróżnić dwa składniki X i Y, tak że ostatecznie funkcja wzmagania wzrostu paciorkowców okazuje się wynikiem współdziałania trzech czynników, tj. X, Y i ciała w unieczynnionym wyciągu.

Wymogom odżywczym paciorkowców chorobotwórczych poświęcone są również badania *Ayersa* i *Mudge'a*, wykazujące, jak krytycznie należy traktować należące tu zjawiska. W wyciągu drożdży autolizowanych znaleźli ci badacze ciało, wzmagające wzrost paciorkowców, ale nie identyczne ze znaną witaminą B (zwierzęcą). Podobne własności wyciągu z kapusty dały się sprowadzić do zawartości cukru gronowego. Również rozmaite ciała tłuszczowe pobudzają wzrost paciorkowców; — nie chodzi tu wszakże o zawartość witaminy A, bo i tłuszcze, mało jej zawierające, okazują się równie skuteczne, jak bogate w nie masło lub tran, nadto zaś węglowodory naftowe, waselina i parafina.

Sprawę znaczenia witamin dla bakterij stanowczo posunęły naprzód ogłoszone niedawno badania *Mc Leoda* i *Wyona*. W pierwszej części autorzy ci badali wpływ całego szeregu wyciągów i ciał chemicznych na wzrost gronkowca złocistego i bakterij czerwonych typu *Shiga*. Celem uproszczenia zagadnienia, hodowali je na 2,5%-ym agarze z dodatkiem  $4\text{‰}$  kwaśnego fosforanu potasowego a bez dodatku ciał odżywczych. Stwierdzali, jakie najmniejsze zgęszczenie tego dodatku umożliwia wzrost bakterij a mianownik tego zgęszczenia określili, jako „potencję“ wzrostową danego ciała (P). Ponieważ stwierdzono u zwierząt i u bakterij (p. *Lloyd*), że w odżywianiu ich aminokwasy odgrywają dużą rolę i że brak ich, podobnie jak brak witamin, może wywoływać poważne zaburzenia wzrostowe, przeto należało, w analizie spostrzeganych wpływów wzrostowych badanych ciał, wykluczyć możliwość, że polegają one na zawartości aminokwasów. (Por. tabl. str. 379).

W tym celu autorzy określają porównawczo tę zawartość (A), a następnie porównują między sobą iloczyn P/A. Gdyby ten iloczyn dla wszystkich ciał badanych był identyczny lub conajmniej bardzo zbliżony, należałoby przyznać aminokwasom decydujące znaczenia w badanych zjawiskach, skoro zaś, jak się pokaże, stosunek ten dla różnych ciał jest bardzo zmienny, można przypuścić przynajmniej dla ciał o dużych wartościach P/A zasadnicze znaczenie innych ciał typu witaminowego. W grupie A zestawione są wyciągi z ciał, znanych z doświadczeń na zwierzętach, jako źródła witamin, w grupie B szereg znanych ciał chemicznych, nie zawierających witamin, w grupie zaś C ciała o wątpliwej zawartości witaminowej. Przegląd iloczynów P/A wykazuje niedwuznacznie, że o sprowadzeniu spostrzeganych wpływów wzrostowych wyłącznie do zawartości aminokwasów mowy być nie może. Wystarczy w tym kierunku zestawić wartości dla nerki I, dla glicyny i dla hodowli pleśni (w roztworze fosforanów bezwitaminowym z pewnością ubogim w aminokwasy). Naogół autorzy uważają, że przedstawione wyniki przeważnie zgadzają się z hipotezą witaminową, jakkolwiek w pewnych szczegółach wyciągi te zachowują się inaczej, niż znane

Gr.	C i a ł o	Wyciąg zap.	Potencja	Zaw. aminokwasów	P/A
A	Nerka św. morsk. I	80% <sup>o</sup> wysk.	2000	3,0	667
	Nerka św. morsk. II	80% <sup>o</sup> wysk.	277	9,4	30
	Nerka wołu	80% <sup>o</sup> wysk.	1000	20,8	48
	Żółtko jaja	50% <sup>o</sup> wysk.	1385	16,8	80
	Wątrob. św. morsk.	50% <sup>o</sup> wysk.	500	10,0	50
	Drożdże	H <sub>2</sub> O	500	12,8	39
	Drożdże	100% <sup>o</sup> wysk.	500	16,3	31
	Buljon	—	416	10,6	40
	Mięsień	H <sub>2</sub> O	357	5,0	71
	Mięsień	50% <sup>o</sup> wysk.	62	1,25	49
	Mleko	—	10	2,4	72
	B	Sernik	—	3,3	5
Sernik hydroliz.		—	200	38	5,3
Glukoza		—	< 1	—	—
Glicyna		—	< 5	133	0,04
Asparagina		—	< 10	—	—
C	Surow. ludzka	50% <sup>o</sup> wysk.	72	3,2	22,5
	Pepsyna świńska	H <sub>2</sub> O	167	11,7	14,3
	Pepton	H <sub>2</sub> O	62	11,25	5,5
	Hodowla pleśni	H <sub>2</sub> O	5000	—	—

witaminy skuteczne u zwierząt. W drugiej części swej pracy autorzy starali się bliżej określić naturę ciał, zawartych we krwi i w surowicy, a umożliwiających wzrost pneumokoków i meningokoków. Celem lepszego przeglądu niech służy następujące zestawienie.

№	Dodatek do buljonu	Pneumokoki		Meningokoki	
		Prób; z tego +		Prób; z tego +	
1	3—20% krwi lub surowicy . . . . .	75	70	56	45
2	id. ogrz. 5—15' do 100° . . . . .	17	15		17
3	id. ogrz. 20' do 115° . . . . .	48	35	60	52
4	5—10% jaja całego ogrz. 20' do 115°	3	3	3	3
5	węgiel zwierzęcy . . . . .	3	3	3	2
6	2—5% wyciągu drożdżowego . . . .	6	2	6	0
7	surowica ogrzewana do 115°, mocno zalkalizowana, potem zobojętniona	6	0	6	3

Z tych doświadczeń autorzy wysnuwają wniosek, że witaminy tutaj zdają się nie odgrywać szczególnej roli (wyciąg drożdżowy bezskuteczny, natomiast dodatni wynik z węglem!) i że ogrzewanie surowicy jest korzystne dla meningokoków, a niekorzystne dla pneumokoków. Z własnościami znanych witamin nie zgadza się również fakt, że własności wzrostowe surowic giną przez trawienie peptyczne i tryptyczne, podczas gdy znane witaminy normalnie drogą przewodu pokarmowego dostają się do ustroju. Zapomocą wysokości nie można z surowic uzyskać skutecznych wyciągów, zapewne tedy własności wzrostowe są związane ze stanem koloidalnym.

Ze zagadnienie witamin bakteryjnych nie ogranicza się do bakterij chorobotwórczych, tego dowodzą badania Pny *Mockeridge* nad wpływem wyciągów torfowych na 4 główne grupy bakterij ziemnych. Okazało się, że wyciągi te działają wybitnie pobudzająco na wiązanie azotu atmosferycznego przez *Azotobacter chroococcum* i przez *Bact. radicola* z korzeni roślin strączkowych, tak samo na nityfikację, zarówno w ziemi, jak w czystych hodowlach bakterij nityfikujących. Przeciwnie, wyciągi te nie objawiają działania na funkcje bakterij amonizujących czy to w ziemi, czy w hodowlach czystych, są obojętne, a czasem nawet szkodliwe dla funkcji bakterij denityfikujących. Wynikałoby stąd, że „auksymony“, zawarte w wyciągach torfowych, nie działają jednolicie pobudzająco na wzrost i na funkcje wszelkich bakterij, lecz że specjalnie pobudzają drobnoustroje, budujące skomplikowane związki azotowe — może nawet biorą udział

w tej syntezie. Nie potrzeba chyba podkreślać, jak wielkiego znaczenia mogą nabrać te badania, dotyczące tak ważnego rozdziału gospodarki przyrody i człowieka. Podnoszone niejednokrotnie różnice w zachowaniu się ciał wzrostowych, skutecznych wobec bakterij i innych drobnoustrojów, a znanych witamin, znajdują może wytłumaczenie w ostatniej pracy *Funka* i *Dubina*, znanej mi dotąd, niestety, tylko z krótkiego streszczenia. Autorzy ci wyosobnili z witaminy B ciało, swoiście pobudzające wzrost drożdży i bakterij, któremu nadali nazwę witaminy D. Co do paciorkowców, okazało się, że potrzebują do rozwoju współdziałania conajmniej dwóch ciał wzrostowych (p. wyżej prace *Mueller*). Udało się uzyskać ciało D, wolne od B, natomiast nie potrafili autorowie uwolnić ciała B od D. O ileby to się w przyszłości powiodło, należałoby według nich powtórzyć z tem ciałem oczyszczonym wszystkie dotychczasowe doświadczenia witaminowe na zwierzętach, o ile dotyczyły one witaminy B. Autorzy ci wypowiadają przypuszczenie, że może ciało wyosobnione z drożdży, podobnie jak ciała witaminowe z sernika, spełnia jakieś specjalne funkcje w ustroju zwierzęcym.

## V.

O ile przedstawione dotąd prace nad rolą witamin w życiu bakterij noszą jęszcze piętno okresu przygotowawczego, orientacyjnego, o tyle dla jednego gatunku bakterij, dla bakterij grypowych *Pfeiffer*, badania okresu wojennego oświetliły sprawę mechanizmu wzrostowego w sposób nieoczekiwany. Mamy tu przed sobą gmach wiadomości, którego budowa skomplikowana, a misterna, uderza, wobec zaledwie położonych podwalin w dziedzinie spraw wzrostowych innych bakterij. Znaczenie tych zdobyczy jest tem większe, że chodzi tu o gatunek niezmiernie wrażliwy i kapryśny, ciekawy nietylko z punktu niezupełnie dotąd wyjaśnionej etjologii grypy, ale także ze względów ogólnobiologicznych. Zgodnie z tem, co wyżej podkreślałem, właśnie ta wyłączność wymagań odżywczych może ułatwiła, a raczej umożliwiła, ścisłą analizę i odkrycie ciekawego jej mechanizmu. Im gatunek jest wyłączniejszy, im ciaśniejsza skala jego możliwości życiowych, tem czulszym jest odczynnikiem na każdy brak, tem jaśniejsze daje odpowiedzi na pytania, które mu stawiamy w analitycznych doświadczeniach odżywczych.

Jak wiadomo, już odkrywca tego gatunku, *Pfeiffer*, w r. 1892, gdy po długich daremnych usiłowaniach udało mu się go wyhodować na agarze z krwią, zadał sobie pytanie, na czem polega ta potrzeba krwi dla wzrostu tego gatunku. Proste doświadczenia pouczyły, że czynnikiem działającym we krwi są krwinki czerwone, a w nich część płynna (zooïd), specjalnie zaś hemoglobina. Nasuwało się oczywiście przypuszczenie, że zdolność hemoglobiny do wiązania tlenu jest istotną podstawą jej funkcji wzrostowej, tembardziej że, jak wiadomo, należy ona do gatunków ściśle tlenożądnych (aerofilnych). Ale następujące doświadczenie, według *Pfeiffer*, przemawia przeciw temu przypuszczeniu: w czystej atmosferze tlenu węgla

bakterje grypowe nie rosną na agarze krwawym, bo brak im tlenu; gdy natomiast do tego naczynia wpuścić nieco powietrza, zjawia się bujny wzrost, jakkolwiek, w obecności nadmiaru CO, wobec wielkiego swego powinowactwa do CO, hemoglobina istnieje w hodowli tylko jako CO-Hb (*Olsen* na podstawie prawa mas podaje w wątpliwość siłę dowodową tego doświadczenia). Na tej podstawie *Pfeiffer* przypuszczał, że hemoglobina zawdzięcza swe funkcje wzrostowe zawartości żelaza, które miałyby służyć za pożywkę dla b. grypowych, podobnie jak np. dla bakteryj żelazistych. Coprawda białczan żelazowy dał mu w tym kierunku wyniki ujemne. Z pośród różnych gatunków krwi najlepiej się nadaje krew gołębia i ludzka.

Cały szereg badaczy starał się w następstwie znaleźć inne ciała, któreby mogły skutecznie zastąpić krew w hodowli bakt. grypowych, spodziewając się stąd uproszczenia metody hodowlanej i wyjaśnienia „hemoglobino-filji“ b. grypowych. *Nastiukow* twierdził, że można uzyskać bujny wzrost na podłożach z żółtkiem jaja i przypisywał skuteczność zawartemu w żółtku związkowi organicznemu żelaza, hematogenu. Inni autorzy nie mogli tego potwierdzić, jedynie *Huber* obserwował wzrost do 7-go pokolenia na podłożu z alkalicznym przetworem „hematogenu *Hommla*“ (specyfik leczniczy). *Richter* uzyskał zaledwie bardzo skąpy wzrost, dodając tego przetworu do podłoża, podobnie jak wyjałowioną płwocinę, żółc, żółtko jaja kurzego i gołębiego — wyniki ujemne dała wolna od krwi ropa, roztwory hematyny i połączenie białkowo-żelazowe, ferratyna. *Cantani* hodował przez 30 pokoleń b. grypowe na podłożach z dodatkiem nasienia i soku jądrowego. Starając się głębiej wniknąć w mechanizm funkcyj wzrostowych tych ciał, zbadał on cały szereg ciał odżywczych, pochodzenia przeważnie zwierzęcego: pobudzającymi wzrost okazały się surowica ludzka, płyn puchlinowy, żółtko jaja, globulina surowicza, cholesteryna, mucyna, protalbumoza, disalbumoza, protagon, żółc bogata w mucynę, oksyhemoglobina i hemoglobina zredukowana, cholesteryna, albumina surowicza i z jaja. Bezskuteczne były dodatki lecytyny, nukleiny, hematyny, mleka, somatozy, nutrozy. Na tej podstawie przypuszczał *Cantani*, że nie składnik barwikowy, a składnik białkowy hemoglobiny jest czynnikiem wzrostowym w hemoglobinie. Na podstawie zjawisk t. zw. „faworyzacji wzrostowej“ przez obce bakterje, przypuszcza C., że i białko bakteryjne może odgrywać podobną rolę.

Jeszcze przed *Cantanim* stwierdził był *Grasberger* wspomniane zjawisko, polegające na bardzo bujnym wzroście b. grypowych w otoczeniu kolonij innych gatunków, zwłaszcza gronkowców (na wysiewach z płwociny). Także na agarze, zmieszanym z zabita przez ogrzanie młodą hodowlą gronkowców, występował wzrost olbrzymi. Próby zastąpienia krwi żółcią lub solami żelazowymi w obecności gatunków faworyzujących, dały wyniki ujemne, natomiast uzyskał G. wzrost na agarze z dodatkiem zasadowego roztworu hematogenu *Hommla*. W symbiozie okazał się również możliwym wzrost b. grypowych na podłożach z krwią gotowaną, zawierającą methemoglobinę, które były niestosownymi dla wzrostu hodowli czystych. Istotę działania „faworyzującego“ upatruje G. w przemianie barwika krwi, która, jużto z hemoglobiny, jużto z powstałej z niej hema-

tyny, wyzwala ciało wzrostowe dla b. grypowych. Analogiczną przemianę można uzyskać przez ogrzewanie krwi, stosowane z pomyślnym skutkiem w metodach hodowlanych *Vogesa* i w nowszej metodzie *Levinthala*. Dowodzi tego fakt, że bujny wzrost, uzyskany na agarze *Vogesa*, nie wzmagają się już przez równoczesny wysiew gronkowców.

Także systematyczne badania *Gibona* i *Preyssa* nie potwierdziły w wielu punktach wyników *Cantaniego*. Ani dodatek bakterij obcych, ani nasienia, wolnego od krwi, nie umożliwia wzrostu b. grypowych na podłożach bez krwi. Wyniki *Cantaniego* byłyby według nich złudzeniem, spowodowanym wskutek tego, że badania spektroskopowe podłoży, stosowane przez tego autora, nie mogą upewnić co do braku minimalnych domieszek krwi wzgl. hematyny, pochodzącej z mięsa, użytego do wyciągu. Czysta hematyna okazała się niezdatną do zastąpienia krwi, natomiast dała wyniki dodatnie dla hodowli symbiotycznych. Działanie „faworyzujące” polega według tych autorów na przenikaniu produktów bakteryjnych do podłoża, ponieważ i dodatek bakterij gotowanych wzmagają wzrost b. grypowych. Podobnie jak inni badacze, także G. i P. nie zdołali zastąpić barwika krwi i jego pochodnych zapomocą różnych nieorganicznych i organicznych związków żelazowych.

Częściowe potwierdzenie wyników *Cantaniego* przynosi praca *Luersena* (z Instytutu Pfeiffera), któremu udało się hodować b. grypowe w symbiozie z pewnymi innymi gatunkami na agarze bez krwi. Dodatkowo wyniki dały tu gronkowce, *B. coli*, *B. prodigiosum*, *violaceum*, *V. Metchnikovi*, ujemne—b. błonicze. Dodatkowo wyniki dały też bakterje, zabite przez ogrzanie do 60° (przez 3 godziny), ujemne natomiast ogrzewane do 100° (1,5') (szczegół, który się zgadza z hipotezą witaminową). Ciało faworyzujące zawarte jest w samej komórce bakteryjnej i po jej obumarciu dyfunduje w podłoże. Faworyzacja zapomocą zabitych bakterij jest możliwa tylko, gdy je zmieszać z agarem, zawodzi natomiast, gdy pokryć niemi tylko powierzchnię agaru. Ciekawe jest spostrzeżenie, że krew sama nie wystarcza do wyżywienia b. grypowych, bo domieszana do agaru wodnego bez peptonu i wyciągu mięsnego nie umożliwia ich wzrostu, podobnie jak domieszka zabitych bakterij do takiego agaru. Podobnie *Neisser* hoduje przez szereg pokoleń bakterje na zwykłym agarze w symbiozie z *Corynebact. xerosis* — podczas gdy czyste hodowle zawodzą.

Poszukując za podstawą swoistej własności wzrostowej hemoglobiny, *Davis* (1907) badał inne barwki zwierzęce o funkcji oddechowej, podobne do hemoglobiny, ale ani hemocyjanina, ani hemoerytryna, ani echinochrom nie nadały się do hodowli b. grypowych, podobnie zresztą, jak ciała łatwo odszczepiające tlen drobinowy, jak woda utleniona lub platyna koloidalna, jak wreszcie różne nieorganiczne i organiczne związki żelaza. Na podstawie faktu, że bardzo słabe zgęszczenia hemoglobiny (1 : 200,000) umożliwiają już w pewnych warunkach wzrost, przychodzi D. do przekonania, że chodzi tu o funkcję katalityczną.

Taki stan naszych wiadomości o biologii wzrostowej bakterij zastała wielka wojna. Wspomniane wyżej pierwsze prace o znaczeniu witamin w mikrobiologii, zwłaszcza zaś wielka nowa pandemia

grypy w r. 1918, stały się potężnym bodźcem do wznowienia badań nad tem ciekawem zagadnieniem. Badania te poszły w trzech kierunkach i wydały bardzo poważne wyniki, choć jeszcze zagadnienia naszego ostatecznie nie rozwiązały. Z jednej strony starano się wyjaśnić związek między barwikiem krwi a wzrostem b. grypowych, z drugiej zaś pójść nową drogą, wskazaną przez badania witaminowe, wreszcie poddano bliższej analizie intrygujące zjawisko „faworyzacji symbiotycznej”, niemal unikat w bakterjologii.

W pierwszym kierunku naczelne stanowisko zajmuje praca *Olsena*; do doświadczeń swych użył on 3 różnych szczepów, które nigdy nie rosły na zwykłym agarze. Surowice krwi, jak również wyciąg eterowy z dobrze przemytych krwinek czerwonych, okazały się bezskuteczne — natomiast dały prawidłowy wzrost chemicznie czyste preparaty oksyhemoglobiny i methemoglobiny. Przeciwnie hematyna D (uzyskana przez trawienie peptyczne wedł. *Zeyneka*), hematyna alkaliczna (wedł. *Hamsika*) i hemina nie umożliwiały wzrostu hodowli czystych, pozwalały natomiast na wzrost symbiotyczny. Ujemne wyniki w jednym i w drugim przypadku dała hemotoporfiryna i bilirubina, chlorofil i pyrrol. Wyniki te dają już wyraźne wskazówki co do natury wpływu wzrostowego barwika krwi: wyniki dodatnie daje hemoglobina i izomeryczna z nią methemoglobina, warunkowo dodatnie hematyna, tj. barwik pozbawiony składnika białkowego (globiny), a zawierający żelazo i jego połączenie chlorowe, tj. heminę. Wraz z usunięciem żelaza z drobin barwika znika działanie jego faworyzujące; to też hemotoporfiryna, bilirubina nie dają faworyzacji, podobnie jak chlorofil, blisko spokrewniony z barwikiem krwi (*Nencki*, *Marchlewski* i *Willstätter*) i pyrrol, który jest składnikiem wspólnym barwikom zwierzęcemu i roślinnemu. Zgodnie z tem nie uzyskał O. także wzrostu na agarze z dodatkiem hemocyjaniny, tj. barwika krwi mięczaków, zawierającego miedź w połączeniu z ciałem białkowym, a zatem również pozbawionego żelaza. Roli globiny, tj. białkowego składnika hemoglobiny, O. nie badał; jego brak w hematynie i heminie uwidoczniła się potrzebą symbiozy do uzyskania wzrostu b. grypowych — tu jest punkt zaczepny dla drugiego szeregu badań, o których poniżej będzie mowa. Wobec stwierdzonej roli żelaza w funkcji wzrostowej hemoglobiny nasuwały się 3 możliwości: 1) że hemoglobina działa, jako przekaźnik tlenu dzięki swej własności luźnego wiązania tlenu i łatwości oddawania go, 2) że hemoglobina jako związek żelazowy jest przyswajana przez b. grypowe podobnie jak niektóre związki żelaza przez bakterje żelaziste (*Crenothrix*), 3) że hemoglobina działa katalitycznie jako peroksydaza. Przeciw pierwszemu przypuszczeniu przemawia po części przytoczone wyżej doświadczenie *Pfeiffera* z hemoglobina tlenko-węglową, ujemne wyniki z hemocyjaniną, również wiążącą luźnie tlen, a nadewszystko dodatni wynik z methemoglobina, która nie zawiera wcale luźnie związanego tlenu, a tylko mocno związane i także wyniki z hematyną i heminą. Przeciwko drugiemu przypuszczeniu przemawia nieprawdopodobieństwo przyswajania całej wielkiej drobin hemoglobiny, jak również brak rozkładu jej przez b. grypowe i ujemne wyniki doświadczeń różnych autorów z solami żelazowymi. Pozostawałaby zatem trzecia możliwość, t. j. funkcja katalityczna peroksy da-



zowa, przejawiająca się między innymi także w znanych odczynach na krew, tj. gwajakowym i benzydynamowym. I rzeczywiście, dokładne porównanie funkcji wzrostowej z zakresem tych odczynów w grupie pochodnych barwika krwi przemawia niedwuznacznie za ścisłym związkiem tych funkcji, jak o tem przekonywa następujące zestawienie:

ZWIĄZEK	Zdolność luźnego wiązania O	Odczyn gwajakowy wobec H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wzrost b. grypowych	
			w symbiozie	samych
Oksyhemoglobina	+	+	+	+
Methemoglobina .	—	+	+	+
CO-hemoglobina	—	+	+	+
Hematyna . . . .	.	+	+	—
Hemina . . . .	.	+	+	—
Hematoporfiryna	—	—	—	—
Hemocyanina . .	+	—	—	—
Bilirubina . . . .	—	—	—	—
Chlorofil . . . .	—	—	—	—
Pyrrol . . . . .	—	—	—	—

Zestawienie to wykazuje z jednej strony, że brak jest równoległości między funkcją wzrostową a zdolnością wiązania tlenu, natomiast istnieje zupełna zgodność między funkcją peroksydazową a wzrostową symbiotyczną. W tym samym duchu przemawiają także następujące spostrzeżenia: agar, używany przez O., okazywał się stale niezdatnym do hodowli b. grypowych, to też wyciąg mięsny, używany do przyrządzania tego agaru, dawał zawsze ujemny odczyn benzydynamowy i gwajakowy. Naodwrot, według spostrzeżeń *Davisa*, krew umożliwia wzrost jeszcze aż do rozcieńczenia  $1/200.000$ , a właśnie w tym rozcieńczeniu oba odczyny peroksydazowe wypadają jeszcze dodatnio. Słusznie tedy żąda O., aby ci badacze, którzy stwierdzają możliwość wzrostu na zwykłym agarze bez krwi, upewniali się zapomocą odczynów chemicznych, czy użyty wyciąg mięsny nie zawiera śladów krwi, niewidocznych dla oka. Przy sporządzaniu pożywki wedł. *Levinthala* gotuje się mieszaninę agaru z krwią i przesącza się następnie przez bibułę—czysty

i bezbarwny przesącz, który pozwala na bujny wzrost b. grypowych daje zawsze dodatni odczyn benzydynowy. Jaką rolę w przemianie materji b. grypowych odgrywa funkcja peroksydazowa barwika krwi i jego pochodnych, tego nie udało się *Olsenowi* stwierdzić. Ta sztuczna peroksydaza *Wolffa* (mieszanina  $\text{Fe So}_4$  i  $\text{K}_4 \text{Fe Cy}_6$  w mocnem rozcieńczeniu) nie jest w stanie zastąpić krwi mimo, że daje odczyn benzydynowy. Podczas wzrostu b. grypowych w ustroju zakażonym prawdopodobnie znajdują one wszędzie rozporządzalny barwik krwi, choćby w śladach (np. w płynie mózgo-rdzeniowym), tembardziej że funkcja krwotoczna ich jadów działa w tym samym kierunku.

Przytoczone wyniki znalazły w wielu kierunkach potwierdzenie w późniejszych badaniach *Fildesa*. Podczas trawienia pepsynowego krwi uzyskuje on strąć heminy (chlorowodoru hematyny); ten, użyty sam przez się jako dodatek do agaru, nie umożliwia hodowli b. grypowych, natomiast udaje się ona, gdy ponadto dodać małą ilość przesączu od strątu heminy, nie zawierającego barwika krwi, a bezskutecznego bez heminy. W tym przesączu nie odgrywają roli wzrostowej składniki surowicy, bo podobne wyniki można uzyskać z przetworami przemytych krwinek czerwonych. Dalsze badania ogranicza *F.* do składnika pierwszego, pochodzącego od barwika krwi. Ilość tego składnika potrzebnego do hodowli jest bardzo mała, bo wystarczy rozcieńczenie  $\frac{1}{500\,000}$  —  $\frac{1}{62\,000}$  i ta okoliczność tłumaczy rzekomo dodatnie wyniki niektórych autorów z podłożami bez krwi. Czysta hemoglobina według *F.* jest niezdatna dla hodowli b. grypowych, podobnie hematoporfiryna, skutecznymi natomiast okazały się methemoglobina i hematyna. Rola tych barwików polega niewątpliwie na zaopatrywaniu b. grypowych w tlen (jak wiadomo są one bardzo wybitnie tlenożądne) — przyczem, albo barwik miałby charakter nadtlenu, łatwo odszczepiającego tlen (co jest nieprawdopodobnem), albo też charakter peroksydazy, wyzwalającej tlen z jakiegoś nadtlenu, zawartego w podłożu. Z taką hipotezą zgadza się fakt, że ani świeża hemoglobina, ani też zhemolizowana nie dają odczynu gwajakowego, dają go zaś pochodne hemoglobiny, umożliwiające wzrost b. grypowych. Dodatek świeżej lub zhemolizowanej krwi do przetworu trawienia pepsynowego hamuje nadto, zarówno odczyn gwajakowy tegoż jak i funkcje wzrostowe. Dalsza zgodność obu funkcyj (wzrostowej i odczynu *in vitro*) objawia się w tem, że z różnych gatunków krwi, krew gołębia jest jedyną, która w stanie świeżym daje odczyn gwajakowy i nadaje się do hodowli. Ujemne wyniki hodowlane ze świeżą hemoglobiną tłumaczą się zapewne wielkiem jej powinowactwem do tlenu, który przez to odciąga ona od tlenożądnych b. grypowych. Przemiany barwika obniżają lub znoszą to powinowactwo i przez to pozwalają się ujawniać funkcji katalitycznej.

Podczas, gdy tym pracom udało się do pewnego stopnia wyjaśnić znaczenie barwika krwi dla wzrostu b. grypowych, inny szereg prac zajął się analizą innych czynników wzrostowych, tutaj dotkniętych tylko ubocznie. Prace *Lloyda* oraz *Colego* i *Lloyda* wprowadziły pojęcie witamin do bakterjologii—już *a priori* bakterje hemoglobinofilne nasuwają się jako przypuszczalnie wdzięczny przedmiot dla doświadczeń w tym kierunku. W roku 1918 *Agulhon* i *Legroux* starają się uzyskać ze krwi ciało o funkcji witaminowej

dla b. grypowych. Strącają oni krew zapomocą 4 objętości wysoku absolutnego, następnie dygerują strat w równej objętości fizjologicznego rozczynu soli, w ciepłocie pokojowej lub przy 80° C. przez jedną godzinę i oddzielają odeń niemal bezbarwny wyciąg przez odsączenie, odwirowanie lub przesączenie przez filtr *Chamberlanda F.* Praktyczniejsem okazuje się dygerowanie krwi z 4 objętościami rozczyntu fizjologicznego przez 15' przy 80' i następowe oddzielenie wyciągu od stratów zapomocą jednej ze wspomnianych metod. Wyciągi takie w zgęszczeniu 5%-em umożliwiają bujną hodowlę naszych bakterij — 1% dodatku pozwala na słaby wzrost. Ciała witaminowe, uzyskane w ten sposób, pochodzą z krwinek czerwonych, a nie z surowicy; przemywanie krwinek usuwa z nich witaminy, podobnie hemoliza, ogrzewanie i wyciąganie wysokiem. Wyciągi acetonowe są bezskuteczne. Wyciągnięte witaminy znoszą ogrzewanie do 80°, słabną przy 90° — w agarze słabną dopiero przy 100°, a tracą skuteczność przy 120°. Wodne roztwory znoszą przesączenie przez bibułę lub świeczkę *Chamberlanda F.* Autorzy skłaniają się do przypuszczenia, że te „katalizatory wzrostowe“ działają raczej przez swoją konstytucję fizykalną, niż przez swój skład chemiczny. Według nowszej pracy *Legroux i Mesnarda* ciała te (podobnie jak witaminy dla zwierząt) są bardzo wrażliwe na działanie śladów zasad, przechodzą przez błony pergaminowe i kolodjonowe, same przez się nie posiadają wartości odżywczej dla bakterij. Ich zawartość w surowicy, płynie puchlinowym, łożysku ludzkim jest nieznaczna, brak ich w mięśniach, pozbawionych krwi, obficie znajdują się w żółci, wątrobie i nerce. Mieszanina równych części wyciągu wątrobowego z wyciągiem krwinek czerwonych zapewnia bujny bardzo wzrost (osad bakterij przeszło na 1 cm. wysoki) i żywotność ponad 100 dni. Gdy po tym czasie dodać nieco świeżego wyciągu z wątroby, zahamowany wzrost rozpoczyna się na nowo; to też autorzy przeczą istnieniu t. zw. samozahamowania wzrostowego na podstawie autotoksyn, a przyjmują tylko wyczerpanie witamin („hormonów wzrostowych“) w podłożach. Obecnością tych hormonów tłumaczą oni skuteczność wzrostową dodatku różnych tkanek i soków roślinnych i zwierzęcych, używanych w bakterjologii.

Ważny postępek ku rozwiązaniu naszego zagadnienia stanowią nowsze prace *Davisa* (1917 — 1921). Punktem ich wyjścia było potwierdzone przezeń spostrzeżenie *Ghona i Preyssa*, że na agarze z hematyną rosną b. grypowe tylko w obecności innych bakterij faworyzujących, żywych lub zabitych. Analizując bliżej ten fakt, stwierdził *D.*, że w obecności hemoglobiny i niektórych jej pochodnych, takie działanie pobudzające lub umożliwiający wzrost właściwe jest różnym gatunkom bakterij, drożdżom, nadto różnym tkankom roślinnym (marchwi, ziemniaka) i zwierzęcym, zwłaszcza, o ile ich nie poddać działaniu wysokiej ciepłoty. Na płytkach agaru z hemoglobina lub krwią wzrost b. grypowych, skromny zresztą, okazuje się bujnym dokoła obcych kolonij lub włożonych w podłoże kawałków tkanki, stwarzając obłok drobnych, rozsianych kolonijek lub dając kolonje olbrzymy (t. z. objaw satelityzmu). Na agarze z hematyną otrzymuje on typowe zjawisko synergetyczne umożliwienia wzrostu przez dwie substancje, które same przez się nie mogą umożliwić wzrostu, t. j. przez hematynę

z jednej strony a bakterje, drożdże lub tkanki roślinne lub zwierzęce z drugiej. Podobne powstają stosunki na agarze z krwią autoklawowaną, na którym b. grypowe nie rosną, o ile nie dodać wyżej wymienionych dodatków. Wyniki są bardziej przekonujące z tkankami roślinnymi i ich wyciągami, bo te nie zawierają hemoglobiny. Z tkanek zwierzęcych okazały się skutecznymi mięsień sercowy, wątroba, śledziona, mózg, nerka z różnych gatunków zwierząt, podobnie różne gatunki bakteryj, drożdży, pleśni, sporotrichon i t. p., w postaci zawieszin i wyciągów. Ciała, zawarte w tkankach, bakterjach, drożdżach są rozpuszczalne w wodzie i ciepłochwienne — ogrzewanie osłabia ich swoiste własności wzrostowe, autoklawowanie przez pół godziny niszczy je zupełnie. Inaczej zachowuje się czynnik wzrostowy zawarty, we krwi. Funkcja wzrostowa krwi nieogrzonej lub hemoglobiny krystalizowanej jest słaba, dobre wyniki daje krew ogrzewana przez 5 godzin do 60° lub przez 5 minut do 100°; krew autoklawowana, jak wspomniane było wyżej, jest niezdatna (już po kilku minutach przy 120°). Do uczynnienia krwi autoklawowanej nadaje się, obok tkanek, bakteryj i drożdży, także surowica (sama przez się nieczynna) przez zawartość ciała ciepłochwiejnego, ginącego podczas autoklawowania. Ciało, zawarte we krwi, zdaje się być identyczne z hematyną lub heminą — stąd słaba skuteczność krwi świeżej, zawierającej mało tych domieszek, a dobra krwi ogrzonej, w której przez ogrzanie powstały te ciała. Bezskuteczność krwi autoklawowanej polega na zniszczeniu drugiego ciała ciepłochwiejnego, zawartego w krwinkach i w surowicy (które można zastąpić przez tkanki lub drobnoustroje) o funkcjach witaminowych („*growth or food accessory factors*“). Przemiana hemoglobiny w ciało wzrostowe (heminę) odbywa się też przy bakteryjnym jej rozkładzie, wzgl. gniciu — dalej posunięte gnicie niszczy jednak ciało witaminowe tak, że mocno zgniła krew wymaga dodatku tkanek lub surowicy, celem umożliwienia hodowli.

Do podobnych wniosków dochodzą niemal współcześnie, a na odmienniej nieco drodze, *Thjötta* i *Thjötta* i *Avery* (1921). *T.* stwierdza, że w buljonie zwykłym, z dodatkiem zabitych (przez ogrzewanie do 60°) bakteryj z grupy otoczkowców lub odmieńca, mogą rość b. grypowe, przeszczepione z agaru z krwią i to nawet przez kilka (do 10) pokoleń. Wzrost związany jest z obecnością bakteryj i staje się najbujniejszy w ich bezpośrednim sąsiedztwie — szczególnie korzystny dla wzrostu jest śluz otoczkowców, wskutek zawartości węglowodanów. Skuteczne są również wyciągi z tych bakteryj wolne od ciał bakteryjnych. Już małe ilości ( $1/_{100}$  hodowli agarowej na 5 cm<sup>3</sup> buljonu) wystarczają do umożliwienia wzrostu, który przy większych ilościach jest bujniejszy, niż na podłożach z krwią. Idąc o krok dalej, *T.* i *A.* zastosowali, na podstawie badań *Wildiersa* i *Amanda*, wyciągi z drożdży piwnych, pomidorów, groszku zielonego i fasoli. Dodatek tych wyciągów do zwykłego buljonu umożliwia bujny wzrost b. grypowych przy zasiewach, pochodzących z buljonu z krwią, a są one skuteczne jeszcze w rozcieńczeniach  $1/_{100}$  do  $1/_{1000}$ . Bardzo mała zawartość ciał białkowych (w wyciągu drożdżowym 0.14% związków azotowych) nie pozwala przypisywać wyciągom bezpośredniej funkcji odżywczej. Za charakterem witaminowym ciał, skutecznych w wyciągach, przemawiają i inne ich własności: wytrzymują

one 10 minutowe gotowanie, natomiast głą przez autoklawowanie, przechodzą przez świeczki *Berkefelda* bez większej szkody, ulegają adsorbcji (przychłanianiu) przez węgiel zwierzęcy. Bardzo ważny jest fakt, że wzrost w buljonie, z dodatkiem tych wyciągów, możliwy jest tylko przy przeszczepieniu bezpośrednim z buljonu z krwią — przeszczepianie z buljonu z wyciągami na to samo podłoże albo okazuje się niemożliwym, albo też serja urywa się po drugim pasażu (przeszczepie). Widocznie zatem do wzrostu b. grypowych potrzeba dwóch ciał wzrostowych synergetycznych, które autorzy oznaczają symbolami  $v$  („*vitamin-like*“ — ciało wyciągowe) i  $x$  (ciało zawarte we krwi) — brak drugiego ciała wzgl. wyczerpanie się szczupłego zapasu, przeniesionego z pierwotnej hodowli w buljonie krwawym, powoduje przerywanie się serji. Za tem przemawia spostrzeżenie, że niepodobna uzyskać wzrostu w buljonie z wyciągiem, o ile do zasiewu użyć bakterij z buljonu krwawego, przemytych. trzykrotnie roztworem soli. We krwi zawarte są oba ciała i wytrzymują w niej 10 minutowe ogrzewanie do  $100^{\circ}$  — natomiast krew autoklawowana pół godziny do  $120^{\circ}$  jest bezskuteczna wskutek zniszczenia ciała  $v$ , może jednak uzyskać skuteczność przez dodatek tego ciała w postaci wyciągów. Specjalne doświadczenia miały na celu wykazanie, w jakich zgęszczeniach ciała  $x$  i  $v$  zawarte są we krwi i w jej pochodnych. Do buljonu zwykłego, z dodatkiem różnych ilości krwi i jej pochodnych, szczepiono b. grypowe z hodowli w buljonie wyciągowym (zatem nie zawierającym nadmiaru  $x$ ); dla kontroli — do takiego samego podłoża z dodatkiem wyciągu drożdżowego (sam wyciąg jest bezskuteczny w 10%-ym roztworze!).

Znak + oznacza wzrost, — brak wzrostu, cyfry obok tych znaków oznaczają dzielniki rozcieńczeń (zatem 100 oznacza najniższe skuteczne zgęszczenie  $1/100$ ):

Płyn puchlinowy: . . .	bez wyciągu	—2	z wyciągiem	+5
Surowica ludzka: . . .	„	—10	„	+1000
Wyciąg ze krwi: . . .	„	+100	„	+1000
Roztwór krwinek rozpuszczonych (10% Hb): .	„	+1000	„	+100.000
Roztwór Hb Krystal. 10%:	„	—10	„	+200.000

Widzimy stąd, że  $x$  zawarty jest we krwi a przede wszystkim w krwinkach czerwonych w wielkim zgęszczeniu; skuteczność roztworu krwinek wzgl. hemoglobiny, obliczana na zawartość czystej hemoglobiny, wynosi  $1/1.000.000$  wzgl.  $1/2.000.000$  zawartości w surowicy i w płynie puchlinowym jest bardzo skromna. Czynniki  $v$  zawarty jest również przede wszystkim w krwinkach czerwonych — ale potrzebny jest widocznie do wzrostu w większej ilości niż czynniki  $x$ , stąd niskie cyfry pierwszej kolumny wzgl. wyniki ujemne. Wielka wrażliwość tego czynnika uwidocznia się w fakcie, że skuteczność jego ginie przy procesie krystalizacji hemoglobiny, choć roztwór krwinek zawiera go względnie dużo. Skuteczność czynnika  $x$  jeszcze w bardzo mocnych rozcieńczeniach pozwala przypuszczać, że funkcja jego jest katalityczną.

Zasadniczo ważne zdobycze przynosi wreszcie ostatnia praca tych samych autorów. Co do czynnika  $x$ , stwierdzają obecnie, że ma on cały szereg własności wspólnych z ciałem, dającym odczynu peroksydaz, a zwłaszcza odczyn benzydynamowy: podobnie jak ono, jest ciepłostały, wskutek czego węgiel zwierzęcy daje odczyn benzydynamowy i umożliwia wzrost b. grypowych w buljonie z wyciągiem drożdżowym. Z roztworów hemoglobiny krystalicznej można zapomocą węgla zwierzęcego usunąć jedno i drugie ciało (wzgl. funkcję) — obładowany węgiel daje odczyn benzydynamowy i wzrostowy. Inne ciała białkowe pochodzenia zwierzęcego, jak owalbumina, pepton, erepton i ich pochodne, wyciągi lipoidalne z narządów, nie zawierają czynnika  $x$ . Natomiast owocniejszym okazało się poszukiwanie obu czynników w tkankach roślinnych. Widzieliśmy już wyżej, że stanowią one obfite źródło czynnika  $v$ . Co do czynnika  $x$ , wiadomo było, że działa on najprawdopodobniej katalitycznie, jako peroksydaza — skierowano tedy poszukiwania przede wszystkim ku przedmiotom znanym z zawartości peroksydaz, mianowicie ku ziemniakom.

Doświadczenia te dały ważny a niespodziewany wynik, że w zwyczajnym buljonie, w którym pogrążone są kawałki surowego, jałowego ziemniaka b. grypowe rosną bujnie i to w głębi podłoża, dokoła ziemniaka, niezgodnie z wybitnie zresztą zaznaczoną swoją naturą tlenożadną. Jeżeli ziemniak ogrzewać w autoklawie przez 45 minut do 120°, funkcja wzrostowa znika, może jednak być przywrócona przez dodatek wyciągu drożdżowego. Znaczy to, że ziemniak, podobnie jak krwinki czerwone, zawiera oba czynniki wzrostowe  $v$  i  $x$  — gdy przez ogrzanie zniszczyć pierwszy, to jeszcze można uczynić pozostały czynnik  $x$  przez dodanie czynnika  $v$  w postaci wyciągu drożdżowego lub roślinnego. Aby doświadczeniom tym nadać większej siły dowodowej, nade wszystko zaś, aby usunąć ostatnie możliwe ślady czynnika  $x$ , które mogłyby być zawarte w buljonie (wzgl. w wyciągu mięsny, użytym do jego sporządzenia), autorowie użyli podłoża, nie zawierającego zupełnie, ani pochodnych krwi, ani ciał wyciągowych lub peptonów zwierzęcych, a mianowicie syntetycznego podłoża *Uszyńskiego* albo też zwykłego roztworu buforowego fosforanów, sodowego i potasowego (M/15, p H 7,5). W pożywkach takich mogą rósć b. grypowe o ile do nich dodać kawałek ziemniaka — okazuje się zatem, że białko i węglowodany ziemniaka łącznie z zawartymi w nim czynnikami  $v$  i  $x$  mogą w zupełności zastąpić skomplikowane podłoża krwawe. Podobnie, jak ziemniak, zachowuje się pod tym względem banan (choć zawiera tylko katalazę, a nie daje odczynu benzydynamowego!) Nie potrzeba chyba specjalnie podkreślać zasadniczego znaczenia tego odkrycia, które, analizując zagadkowe dotąd zjawisko „hemoglobi-nofilji“, sprowadza je do czynników prostszych i dostępniejszych badaniu, a nade wszystko ułatwia niesłychanie hodowlę tych wybrednych bakteryj.

W uzupełnieniu tych danych wspomnę jeszcze o pracy *Riversa* i *Poole'a*, którzy również dochodzą do wniosku, że b. grypowe wymagają do wzrostu dwóch ciał, jednego ciepłostałego, drugiego ciepłochwiejnego. Jedno z nich znajdują w wyciągu ze skrzepu krwi autoklawowanego (=  $x$  powyższych autorów), drugie w przesączonym wyciągu drożdżowym (=  $v$ ), każde samo dla siebie nieczynne. W poszukiwaniu za ciałem  $x$  użył *Rivers*

jaja kurzego, opierając się na wyżej wzmiankowanych doświadczeniach z hematogenem Hommla. Do 250 cm<sup>3</sup> 2%-ego roztworu peptonu *Fairchila* (pH 7,6) dodaje on 3 jaja świeże, gotuje przez jedną minutę, przesącza przez watę, autoklawuje przez kwadrans, poczem ewentualnie rozbija duży osad powstały w płynie. Na 100 cm<sup>3</sup> dodaje 10—20 cm<sup>3</sup> wyciągu drożdżowego, rozlewa pożywkę do próbek po 10 cm<sup>3</sup>. W pożywce tej rosną b. grypowe, zasiane z agaru krwawego, dość bujnie, dalsze przesiewy serjami udają się poza 15 pokoleń, wzrost jednak jest słabszy. Pepton, zawarty w pożywce, nie jest źródłem ciała *x*, bo w wodzie peptonowej (bez jaja) z dodatkiem wyciągu drożdżowego, nie uzyskuje się wzrostu. Można zresztą otrzymać także wzrost na podłożu bez peptonu, ale z jajem i wyciągiem drożdżowym o następującym składzie: Gliceryny 30·0, NaCl 5·0, CaCl<sub>2</sub> 0·1, Mg SO<sub>4</sub> 0·2, K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> 2·0, Ammon. lact. 12·0, Asparaginy 0·5, Tryptofanu 2·5, Wody 1000·0, PH 7·4.

Wątpliwymi natomiast wydają się, w oświetleniu nauki o witaminach, przypuszczenia, wypowiedziane przez *Tocunaga*: według niego b. grypowe żywią się na podłożach z hemoglobina białkową jej częścią, tj. globiną i dlatego też wzrost ma być lepszy na agarze z krwią ogrzaną z alkalicznymi, niż na agarze z hemoglobina nieograną, bo przytem następuje rozkład hemoglobiny na hematynę i globinę. Przystosowanie się do globiny ma obniżać wrażliwość b. grypowych na kwasy i zasady i umożliwiać po pewnym czasie wzrost na agarze surowicznym. Przeczą tym poglądom *Jacoby* i *Pna Frankenthalówna*: nie uzyskali oni bowiem wzrostu na agarze z hematyną lub globiną, natomiast słaby wzrost na agarze z 1 — 2‰ histydyny lub 3 — 6‰ leucyny (t. j. aminokwasów pochodzących z globiny).

## VI.

Wypada nam jeszcze rozważyć trzecie z zagadnień, poruszonych we wstępie, mianowicie czy pewne gatunki bakterij mogą wytwarzać witaminy, pobudzające wzrost innych gatunków. Wspomniane już wyżej, a odkryte w r. 1897 przez *Grossbergera* zjawisko faworyzacji wzrostowej, daje potwierdzającą odpowiedź na to pytanie, o ile się uda stwierdzić, że podstawą tego zjawiska, jedyne zresztą dotąd w bakterjologii, są pewne wytwory bakterij a nie sprawy bezpośrednio związane z życiem bakterij i od niego nieodłączne. Ze względu na ważność ogólnobiologiczną tego zjawiska, jak również celem wykończenia skreślonego wyżej obrazu fizjologii wzrostowej b. grypowych, warto będzie bliżej się z nim zapoznać. Z góry musimy stwierdzić, że nie chodzi tu, jakby się na pierwszy rzut oka zdawać mogło, o fakt współżycia (symbiozy) z tego powodu, że korzyść z wspólnoty wzrostowej wynikająca jest w tym wypadku ściśle jednostronna. Można by raczej myśleć o stosunku pasorzytniczym (o ile chodzi o wydzielinę żywych bakterij obcych) albo też o wypadku sprzężenia warunków życiowych, których liczne przykłady znane są, jako następstwo różnych faz spraw rozkładowych, związane z następstwem różnych gatunków roztoczy, których jedne stwarzają warunki rozwojowe dla następujących. Według *Riversa* i *Poole'a* objaw

satelityzmu polega na jednym z następujących czynników lub na kombinacji kilku z nich: a) mogłyby gatunki faworyzujące unieczyniać ciała hamujące, zawarte w niektórych rodzajach krwi (ludzkiej, kurzej), b) mogłyby zmieniać (H) na korzystniejszą dla b. grypowych, c) mogłyby przez rozkład krwi czynić ją lepiej przyswajalną dla naszych bakterij, d) wreszcie mogłyby umożliwiać ich wzrost przez wytwarzanie witamin.

Faworyzacja, opisana przez *Grassbergera*, dotyczyła kolonij gronkowca złocistego, *Allen* stwierdził ją dla różnych bakterij, znajdujących w płwocinach grypowych, dla pneumokoków, *B. Coli*, *B. acidi lactici*, *Micr. paratetragenus*, *Cantani* jako też *Luerssen* dla gronkowców, gonokoków, b. błoniczych, durowych, *v. cholerae*, *v. Metchnikovi*, *B. prodigiosum*, *Neisser* dla *Corynebact. xerosis*. *Wolf* uzyskał wybitną faworyzację przez *Microc. catarrhalis* i *flavus*, wyraźną przez paciorkowce, pneumokoki, gronkowce, meningokoki i b. błonice, słabą przez gonokoki, b. durowe, rzekomodurowe, czerwonkowe, żadnej przez *B. pyocyaneum* i *Bac. subtilis* (te dwa gatunki działają nawet hamująco). Spostrzeżenia *Grassbergera*, *Cantaniego*, *Ghona* i *Preyssa*, *Allena*, *Thjötty* i innych autorów, którzy uzyskali faworyzację przez dodatek zabitych bakterij lub ich wyciągów, dowodzi niedwuznacznie, że nie chodzi tu o jakąś funkcję witalną gatunków faworyzujących. Ważne dla oceny zjawiska jest pytanie, czy ten objaw „satelityzmu“ (nazwapodana przez *Meuniera* w r. 1898), podobnie jak wzrost czystych hodowli, uwarunkowany jest obecnością hemoglobiny i jej pochodnych, czy też w obecności bakterij faworyzujących zmniejszają się wymagania odżywcze naszych bakterij. Według *Grassbergera* w obecności gronkowców możliwy jest wzrost tylko na podłożach z hemoglobina, met-hemoglobina i hematyną; podobne wyniki uzyskali *Ghon* i *Preyss. Olsen*, *Putnam* i *Gay* badali 16 szczepów b. grypowych w symbiozie z *Corynebact. xerosis*, *Corynebact. diphtheriae* (4 szczepy), *B. Coli*, *M. pyogenes* (2 szczepy), *Streptoc. lanceolatus* (3 szczepy) — ale uzyskali również wzrost wyłącznie w obecności hemoglobiny lub jej pochodnych — najróżniejsze inne dodatki do agaru okazały się bezskuteczne. W przeciwieństwie do tych autorów, *Cantani*, *Luerssen* i *Neisser* twierdzili, że obecność gatunków faworyzujących umożliwia wzrost na podłożach bez krwi — ostatni nawet hodował b. grypowe razem z *Corynebact. xerosis* przez 30 pokoleń na zwykłym agarze. Dodatnie wyniki z hodowlami symbiotycznymi na agarze bez krwi miał *Wolf*. Na agarze z płynem puchlinowym, z pośród wyżej wymienionych gatunków, umożliwiały wzrost b. grypowych (w czystej hodowli niemożliwy) *microc. catarrhalis* i *flavus*, gronkowce i meningokoki, na agarze peptonowym zwykłym i glicerynowym tylko dwa pierwsze gatunki, natomiast na surowicy *Loefflerowskiej* wszelkie kombinacje zawodziły. Hodowle bakterij faworyzujących, zabite przy 100° (10—15'), dawały zawsze wyniki ujemne, hodowle zabite przy 60° (3 godz.), domieszane do agaru glicerynowego, pozwalały na skromny nieco wzrost b. grypowych (wyniki dodatnie z *Microc. catarrhalis* i *flavus*, gronkowcami, paciorkowcami i meningokokami).

Wreszcie najnowsza praca *Kalkbrennera* (z instytutu Pfeifferowskiego) poświęcona jest temu samemu zagadnieniu. Autor ten potwier-



dził przedewszystkiem spostrzeżenia *Ghona* i *Preysa* jako też *Olsena*, że b. grypowe w czystej hodowli rosną na agarze z hemoglobina lub met-hemoglobina, w mieszanej nadto na agarze z hematyną lub hema — nie rosną zupełnie na podłożu z hematoporfiryną. Stwierdziwszy objaw satelityzmu w symbiozie z różnemi drobnoustrojami (drożdżami różowemi, *Sarcina lutea*, *M. pyogenes aureus* i *albus*, *Streptococcus longus*, *Micr-catarrhalis*, *Diploc. intracellularis*, *B. prodigiosum*, *B. violaceum*, *B. pyo-cyaneum*, *B. fluorescens*, *B. pneumoniae*, *B. typhi*, *B. paratyphi*, *B. dysen-teriae Shiga*, *Flexner*, *V*, *B. coli*, *B. vulgare*, *X<sub>25</sub>*, *B. acidi lactici*, *Corynebact. diphtheriae*, *Bac. anthracis*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*, *Bac. subtilis*) starał się uzyskać symbiozę w warunkach, któreby pozwoliły wyklu-czyć obecność barwika krwi i jego pochodnych. W tym celu przeprowa-dzał doświadczenia nietylko na agarze, sporządzonym na wyciągu mięsnym (który zawsze może zawierać ślady hemoglobiny lub jej pochodnych), ale także na agarze wodnym, zawierającym 1% nutrozy, 1% peptonu *Wittego* obok 0,5% NaCl. Na takim to agarze udało mu się uzyskać mierny wzrost delikatnych kolonij b. grypowych w sąsiedztwie obcych kolonij i to nie-stale z *B. typhi*, *B. paratyphi B*, *B. coli*, *B. dysenteriae Flexner*, *B. pneu-moniae*, stale z *B. dysenteriae Shiga* i *Corynebact. diphtheriae*. Zasiew b. grypowych pochodził z agaru Levinthalowskiego, a był rozcieńczany w roztworze fizjologicznym celem wykluczenia śladów barwika z zasiewu. Bakterje błonicze, zabite chloroformem lub przez ogrzewanie do 60—70°, okazały się równie skutecznemi, jak żywe; ogrzanie do 90° osłabia, a do 100° niszczy ich skuteczność. Wyciąg wyskokowy tych bakteryj pozba-wiony jest własności wzrostowych, które są związane z ciałami bakteryj-nemi. Uderza bądź co bądź, że w tych wypadkach nie udało się hodować serjami po za 3—4 pokoleń (może jednak tu skuteczne były ślady barwika z zasiewu, szybko się wyczerpujące, bo minimalne?). Istotę działania faworyzującego upatruje K. w pewnych, swoistych ciałach białkowatych bakteryjnych, zdolnych do zastąpienia hemoglobiny, a nie dających się zastąpić nawet większemi ilościami innych ciał białkowatych, zawartych np. w surowicy lub w płynie puchlinowym; może i pepton zawarty w użytych podłożach odgrywa tu pewną rolę odżywczą (domieszka pochodnych he-moglobiny?).

Bardzo gruntowną analizę zjawiska satelityzmu przynoszą prace *Da-visa*. Stwierdza on przedewszystkiem ciekawy fakt, że w podłożach płyn-nych zaciera się to zjawisko, ponieważ wybitniej, niż na podłożach stałych, wchodzi tu w grę konkurencyjne działanie obcego gatunku, zwykle obda-rzonego większą energią wzrostową, niż b. grypowe. W hodowlach płynnych, mieszanych z paciorkowcami lub b. rzekomobłoniczemi, giną b. gry-powe po kilku pokoleniach, z gronkowcami już w drugim pokoleniu. Na agarze zwykłym uzyskał D. wzrost w obecności b. rzekomob-łoniczych przez 7 pokoleń, zauważa jednak słusznie, że siłę dowo-dową tego spostrzeżenia osłabia fakt, że pierwszy zasiew pochodzi z podłoża z krwią, a wobec minimalnej ilości hemoglobiny, potrzebnej do wzrostu, już ten ślad nawet, przy następowem rozcieńczeniu w dal-szych pokoleniach, może wystarczyć. Zakres działania faworyzujący,

dokoła obcych kolonij na płytkach, zwykle jest kolisty o średnicy 1 — 10 mm. Jako gatunki faworyzujące, wylicza *D.*: gronkowce złociste i białe, *Streptococcus haemolyticus* i *viridans*, *pneumokoki*, *meningokoki* *Micr. catarrhalis*, *Corynebact. diphtheriae*, *pseudodiphthericum* i in., *Sarcina lutea*, *B. coli*, *B. typhi*, *B. paratyphi A* i *B*, *B. dysenteriae*, *B. pneumoniae*, *B. enteritidis*, *B. alcaligenes*, *B. pyocyaneum*, *B. prodigiosum*, *B. sporogenes*, *V. Metchnikowi*, gonokoki, 15 różnych gatunków bakterij powietrznych, różne gatunki z plwocin. Ujemne wyniki dała tylko pewna laseczka z grupy las. siennych, mocno hamująca wzrost b. grypowych, nadto pewne gatunki, zbyt powoli rosące w stosunku do naszych bakterij, jak niektóre drożdże, b. gruźlicze, drożdżaki chorobotwórcze, *Sporotrichum*, *Achorion quinqueangulum* i t. p. Faworyzacja jest niezależna od funkcji hemolitycznej obcych gatunków, ani od rodzaju krwi użytej. Wyżej wspomniano, że efekt z faworyzacji może być uzyskany na agarze z dodatkiem zabitych bakterij; jeśli natomiast masę zabitych bakterij położyć na agarze z krwią, to brak wpływu wzrostowego. Widocznie tedy czynnik wzrostowy przenika tylko z żyjącej kolonji do podłoża, nie zaś z zabitych bakterij — te muszą być ściśle zmieszane z podłożem, jeśli mają ujawnić swój wpływ. Podobnie, jak obce kolonje, działają rozmaite świeże tkanki roślinne lub zwierzęce, których kawałki składa się na płytkach agaru z krwią: ogrzanie tkanek w autoklawie niszczy tę własność. Różne ciała chemiczne, nie wykluczając organicznych i nieorganicznych związków żelaza, nie mogą zastąpić bakterij faworyzujących. Szczególnie dobrze uwidacznia się objaw satelityzmu z obcemi kolonjami lub tkankami zwierzęcemi i roślinnemi na agarze z krwią autoklawowaną, który sam przez się jest niezdatny dla wzrostu b. grypowych. Skuteczność obcych bakterij według *D.* ma polegać: a) na wytwarzaniu ciał ciepłochwiejnych o charakterze witaminowym, b) na przemianie hemoglobiny w hematynę, która bardziej sprzyja wzrostowi b. grypowych, niż czysta hemoglobina.

W dalszej pracy *Davis* przedstawia znaczenie satelityzmu dla klasyfikacji krwiożądnych (hemofilnych) bakterij. Stwierdza przedewszystkiem, że wśród kilkuset szczepów b. grypowych, pochodzących z różnych źródeł, nie znalazł ani jednego, któryby nie dawał objawu satelityzmu. Powtórę, że b. grypowe nie działają faworyzująco na własny wzrost, wzgl. na wzrost innych szczepów tego samego gatunku, nawet pochodzących z odmiennego materiału zakaźnego lub różniących się własnościami biochemicznymi (np. co do wytwarzania indolu) lub serologicznymi (zlepność, zjadliwość). Ciekawe jest natomiast zachowanie się innych członków grupy bakterij krwiożądnych; 3 szczepy *B. pertussis*, 1 *B. duplex Morax-Axenfeld*, 1 *B. ulceris cancris Ducrey* — *Unna* okazały się faworyzującemi wobec b. grypowych, natomiast same niedostępne są faworyzacji przez bakterje obce. Zatem b. grypowe bardzo wybitnie się różnią biologicznie od innych członków tej grupy, których krwiożądność zresztą jest mniej ścisła, niż b. grypowych. Tylko kilka szczepów *B. aegyptiacum Koch-Weeks* zachowało się podobnie jak b. grypowe, t. j. nie objawiało faworyzacji wobec b. grypowych, a doznawało jej w obecności kolonij gronkowców i paciorkowców, tak że *D.* skłonny jest uznać ich przynależność do b. grypowych. Pny *Williams*

i *Povitzky*, badając zjawisko satellityzmu, hodowały b. grypowe na wyciągach z pszenicy (bez wszelkich dodatków zwierzęcych celem wykluczenia domieszki krwi!). Uzyskały one wzrost w całym szeregu pokoleń w obecności gronkowców, paciorkowców krwiobójczych, dwoinek wiewiórowych, b. błoniczych, *Monilia* lub świeżych tkanek roślinnych. Dodatek bakteryj, zabitych przez ogrzewanie do 100° ponad 10 minut, nie umożliwia wzrostu; podobnie i tkanki roślinne tracą skuteczność przez ogrzewanie. Autorki przypuszczają, że ciepłostały czynnik X (katalityczny) nie zawsze jest obecny w żywych bakterjach i tkankach roślinnych, i że w pewnych przypadkach sam ciepłochwiejny czynnik V (witaminowy) wystarcza do umożliwienia wzrostu b. grypowych. Wreszcie, wypada wspomnieć o pracy *Twortów*, którzy uzyskali wzrost b. grypowych na agarze z krwią w obecności pełzaków (i przedłużenie żywotności), nadto na agarze bez krwi z krętkiem z nastoju siennego lub laseczką ziemną.

Ogół przedstawionych badań nad zjawiskami satellityzmu, choć sprzecznych w niektórych szczegółach, najłatwiej się da wytlómaczyć na podstawie poglądów, do których większość badaczy doprowadziły doświadczenia nad mechanizmem wzrostowym czystych hodowli b. grypowych. O ile wraz z *Ghonem* i *Preysem*, *Davisem*, *Olsenem*, *Thjöttą* i *Averym* przyjmujemy, że do wzrostu ich potrzeba współdziałania dwóch ciał, z których jedno zawarte jest w barwiku krwi i jego pochodnych (i w ziemiakach), drugie również w krwinkach czerwonych, w różnych tkankach roślinnych i zwierzęcych, a także w różnych bakterjach, drożdżach i pleśniowcach, sprawa satellityzmu wchodzi w zakres zjawisk witaminowych i znajduje (tymczasowo przynajmniej) wystarczające tłómaczenie. Dodatnie wyniki z pożywkami bez krwi mogą być wyjaśnione, o ile się uwzględni niesłychaną skuteczność czynnika katalitycznego, zawartego we krwi (p. wyniki *Davisa*, *Olsena*). Minimalne ślady, uchodzące oku a nawet badaniu spektroskopowemu, a wykrywalne ewentualnie zapomocą odczynu benzydynowego, mogą być zawarte w wyciągu mięsny. Niewystarczające same przez się, mogą one umożliwić wzrost naszych bakteryj, łącznie z czynnikiem witaminowym ciepłochwiejnym z bakteryj faworyzujących.

## VII.

W omówionych dotąd badaniach zagadnienie „krwiożądności“ b. grypowych znalazło swe wytłómaczenie — może jeszcze niezupełne co do swego mechanizmu. Wobec ważności biologicznej tego klasycznego przykładu specjalizacji wymagań odżywczych, warto poświęcić kilka uwag także biologicznej stronie omawianego zespołu zjawisk. Zespół ten niewątpliwie musimy sobie wyobrażać, jako wynik długotrwałego przystosowania do warunków życia pańszczytniczego w ustrojach zakażonych. Być może, że zgodnie z hipotezą *Olsena* działanie jądów b. grypowych, powodując objawy krwotoczne, stwarza dla naszych bakteryj podatne podłoże na błonach śluzowych czy w obrębie tkanek. Minimalne ilości barwika krwi wzgl. jego pochodnych, potrzebne do ich wzrostu, nie trudno się znaleźć w ustroju za-

każonym. Ponadto b. grypowe znajdują tam też łatwo drugi czynnik, ułatwiający wzgl. umożliwiający im wzrost, t. j. bakterje obce, jako mnoga i różnorodną florę wtórnych (?) zakażeń, tak często spotykaną w sprawach grypowych. Jak wszystkie podobne przystosowania, tak i to okazuje obszerną skalę jakościową i ilościową. Znamy bakterje chorobotwórcze, które często, przebywając poza ustrojem, a przygodnie tylko we wnętrzu ustroju, zadowolają się podłożami zwyczajnymi (choć i te przeważnie zawierają składniki ustrojów zwierzęcych lub ich pochodne). Ale nawet u nich przystosowanie do życia pasorzytniczego przejawia się w tem, że pewne specjalne właściwości fazy pasorzytniczej ujawniają się tylko w obecności surowic lub krwi (otoczkowanie las. wąglikowych, t. z. „bakterje zwierzęce“ *Baila*). Wiele gatunków z pośród nich, choć rośnie na podłożach zwykłych, rozmnaża się bujniej i szybciej wobec surowic, wobec krwi lub tkanek zwierzęcych. Są dalej takie, które prawie że wyłącznie w tych warunkach mogą się rozmnażać—wzgl. potrzebują dłuższego przystosowania, aby mogły rość na zwykłych podłożach, a i w tym okresie jeszcze wzrost będzie bujniejszy, gdy im dodamy krwi lub surowicy (pneumokoki, meningokoki, gonokoki i in.). Wreszcie bakterje krwiożadne przedstawiają może najwyższy typ przystosowania, najskrajniejszą wybredność odżywczą.

Blizsze rozpatrzenie się w tej grupie bakteryj okazuje jednak i pośród niej, a nawet pośród różnych szczepów b. grypowych, pewną różnorodność, będącą może wyrazem różnych etapów przystosowania. Dane z literatury zdają się przemawiać za tem, że bezwzględna krwiożadność, uważana dotąd za cechę charakterystyczną i obowiązkową u b. grypowych, nie zawsze może jest ich właściwością, że pewne szczepy mają ew. po dłuższym pobycie na podłożach pracownianych obniżone w tym kierunku wymagania wzgl., że może niesłusznie zacieśniamy granice tego gatunku, z góry narzucając mu jako obowiązek tę wyłączność odżywczą. Być może, że pewne szczegóły, rozbieżne w doświadczeniach różnych autorów, tłómaczą się właśnie odmiennymi właściwościami szczepowemi. Bądź co bądź jednak względnie jednolicie przedstawiają się co do swych badań wzrostowych b. grypowe i bakterje krwiożadne, wywołujące zapalenie opon mózgo-rdzeniowych (*Cohen, Carini, Bujak, Rivers, Rivers i Kohn* i in.), niewiadomo, czy będące odrębnym gatunkiem, czy też tylko odmianą o wyspecjalizowanej funkcji chorobotwórczej i antygenowej. Do b. grypowych w tym względzie najbardziej się zbliżają *B. ulceris cancrisi* (*Ducrey—Unna*), które wszyscy autorzy uważają za ściśle krwiożadne; tylko *Serra* opisuje powolne przystosowanie do wzrostu bez krwi, czemu *Stein* stanowczo przeczy. *B. aegyptiacum Koch—Weeks* zbliża się, co do własności wzrostowych, do b. grypowych, o ile z niemi nie jest identyczne (*Rymowicz*). *B. aeg.* jest ściśle krwiożadne i okazuje objaw satellityzmu, zwłaszcza wobec *Corynebact. xerosis*. Dwa blisko pokrewne gatunki, również z zapaleń spojówek, opisane przez *Mc Kee'a* i *Müllera* (*Bac. Trachomatis*), rosną i bez krwi. Znacznie mniejszy stopień wyłączności odżywczej objawia *B. pertussis Bordet—Gengou*; normalną jego pożywkę stanowi agar wodny bez peptonu na soku ziemniaczanym z dodatkiem krwi, rośnie jednak także na agarze su-

rowiczym, agarze glicerynowym, a nawet na żelatynie i stosunkowo łatwo przyzwyczajają się do wzrostu bez krwi (*Scheller, Klimenko, Finizio*). Natomiast trzy inne gatunki, uważane przez odkrywców również za zarazek koklusz, zachowują się odmiennie: *Bac. pertussis Eppendorf Jochmanna* i *Krausego* ma być ściśle krwiożadnym i nie daje się odzwyczaić od krwi, podczas gdy *Coccobac. pertussis Vincenzi'ego* od początku ma rość na podłożach bez krwi, podobnie jak *Bac., minutissimus sputi Luzzato'a*. Dwa gatunki, wyosobnione z psa: *Bact. haemoglobino-philus canis Friedbergera* i *Bact. septicaemiae canis Paranhos'a* są ściśle krwiożadne, natomiast *Rivers* donosi w ostatnim czasie o szczepie, który odpowiada *Friedbergrowskiemu*, a który rośnie na agarze z krwią lub zautoklawowaną hematyną, natomiast nie rośnie na agarze z 2% peptonu lub takimże agarze z dodatkiem wyciągu drożdżowego. Jest to zatem ciekawy gatunek, który do swego wzrostu potrzebuje tylko katalitycznego ciepłostalego czynnika X, nie zaś ciepłochwiejnego witaminowego czynnika V. Ciekawą jest również *Bact. septicaemiae anserum exsudativae*; szczep oryginalny, opisany przez *Riemera*, nie okazywał krwiożadności, natomiast wyosobniony przez *Frischa* i *Bierbauma* był z początku ściśle krwiożadny, a dopiero po 2-miesięcznej hodowli dał się przenieść na zwykły agar bez krwi. Do względnie krwiożadnych gatunków należy, według *Adama*, *Bac. bifidus*, beztlenowiec, rosnący wprawdzie i bez hemoglobiny (wzgl. hematyny), najlepiej jednak w jej obecności. Stopień krwiożadności *Bact. pyosepticum viscosum (Sachweh)*, zarazka pomoru kurcząt, nie jest dotąd ściśle określony.

Ogólne wrażenie, jakie się wynosi z tego przeglądu grupy bakterij krwiożadnych (p. odnośny rozdział w podręczniku *Lehmanna* i *Neumanna*) jest to, że mamy tu do czynienia z kilkoma zasadniczymi typami, właściwymi pewnym formom zakażeń, z których każdy przedstawia się jako „plejada” gatunków, czy raczej odmian o różnym stopniu przystosowania do pewnych warunków życia pasorzytniczego i pochodzącej stąd różnorakiej wyłączości odżywczej. Nie jest również wykluczonem, że znamy lub poznamy jeszcze w przyszłości należące tu szczepy lub gatunki, pasorzytujące na prawidłowych błonach śluzowych, skórze i t. p., a okazujące jeszcze mniejsze wymagania odżywcze, i że w nich upatrywać będziemy gatunki macierzyste, z których, drogą przystosowania lub przemiany skokowej (mutacji), powstały gatunki krwiożadne. Takie przypuszczenie byłoby np. możliwe co do *Streptobacillus urethrae Pfeiffera*, bardzo zbliżonego do *Bact. ulceris cancrosi*, tylko mniej wybrednego odżywczo. Być może, że takim gatunkiem jest nadzwyczaj ciekawy beztlenowiec, wyhodowany przez *Olitsky'ego* i *Gatesa* z wydzielin nosogardłowej przy grypie, a nazwany przez nich *B. pneumosintes* i wywołujący w doświadczeniach ciężkie sprawy płucne u zwierząt. Przy pierwszym wyhodowaniu rośnie on tylko w płynie puchlinowym z dodatkiem nerki króliczej (*met. Noguchiego*). Po dłuższem jednak hodowaniu na tem podłożu obniża swe wymogi odżywcze i może rość na zwykłym buljonie peptonowym (na wyciągu mięsnym), o ile doń dodać świeżej krwi, tkanki roślinnej (kartofla, pasternaku, rzepy) lub posiać zapomocą laseczki kartoflanej lub

każonym. Ponadto b. grypowe znajdują tam też łatwo drugi czynnik, ułatwiający wzgl. umożliwiający im wzrost, t. j. bakterje obce, jako mnoga i różnorodną florę wtórnych (?) zakażeń, tak często spotykaną w sprawach grypowych. Jak wszystkie podobne przystosowania, tak i to okazuje obszerną skalę jakościową i ilościową. Znamy bakterje chorobotwórcze, które często, przebywając poza ustrojem, a przygodnie tylko we wnętrzu ustroju, zadowolają się podłożami zwyczajnymi (choć i te przeważnie zawierają składniki ustrojów zwierzęcych lub ich pochodne). Ale nawet u nich przystosowanie do życia pasorzytniczego przejawia się w tem, że pewne specjalne właściwości fazy pasorzytniczej ujawniają się tylko w obecności surowic lub krwi (otoczkowanie las. wąglikowych, t. z. „bakterje zwierzęce“ *Baila*). Wiele gatunków z pośród nich, choć rośnie na podłożach zwykłych, rozmnaża się bujniej i szybciej wobec surowic, wobec krwi lub tkanek zwierzęcych. Są dalej takie, które prawie że wyłącznie w tych warunkach mogą się rozmnażać—wzgl. potrzebują dłuższego przystosowania, aby mogły rość na zwykłych podłożach, a i w tym okresie jeszcze wzrost będzie bujniejszy, gdy im dodamy krwi lub surowicy (pneumokoki, meningokoki, gonokoki i in.). Wreszcie bakterje krwiożadne przedstawiają może najwyższy typ przystosowania, najskrajniejszą wybredność odżywczą.

Blizsze rozpatrzenie się w tej grupie bakteryj okazuje jednak i pośród niej, a nawet pośród różnych szczepów b. grypowych, pewną różnorodność, będącą może wyrazem różnych etapów przystosowania. Dane z literatury zdają się przemawiać za tem, że bezwzględna krwiożadność, uważana dotąd za cechę charakterystyczną i obowiązkową u b. grypowych, nie zawsze może jest ich właściwością, że pewne szczepy mają ew. po dłuższym pobycie na podłożach pracownianych obniżone w tym kierunku wymagania wzgl., że może niesłusznie zacieśniamy granice tego gatunku, z góry narzucając mu jako obowiązek tę wyłączność odżywczą. Być może, że pewne szczegóły, rozbieżne w doświadczeniach różnych autorów, tłómaczą się właśnie odmiennymi właściwościami szczepowemi. Bądź co bądź jednak względnie jednolicie przedstawiają się co do swych badań wzrostowych b. grypowe i bakterje krwiożadne, wywołujące zapalenie opon mózgo-rdzeniowych (*Cohen, Carini, Bujak, Rivers, Rivers i Kohn* i in.), niewiadomo, czy będące odrębnym gatunkiem, czy też tylko odmianą o wyspecjalizowanej funkcji chorobotwórczej i antygenowej. Do b. grypowych w tym względzie najbardziej się zbliżają *B. ulceris cancrosti* (*Ducrey—Unna*), które wszyscy autorzy uważają za ściśle krwiożadne; tylko *Serra* opisuje powolne przystosowanie do wzrostu bez krwi, czemu *Stein* stanowczo przeczy. *B. aegyptiacum Koch—Weeks* zbliża się, co do własności wzrostowych, do b. grypowych, o ile z niemi nie jest identyczne (*Rymowicz*). *B. aeg.* jest ściśle krwiożadne i okazuje objaw satellityzmu, zwłaszcza wobec *Corynebact. xerosis*. Dwa blisko pokrewne gatunki, również z zapaleń spojówek, opisane przez *Mc Kee'a* i *Müllera* (*Bac. Trachomatis*), rosną i bez krwi. Znacznie mniejszy stopień wyłączności odżywczej objawia *B. pertussis Bordet—Gengou*; normalną jego pożywkę stanowi agar wodny bez peptonu na soku ziemniaczanym z dodatkiem krwi, rośnie jednak także na agarze su-

rowiczym, agarze glicerynowym, a nawet na żelatynie i stosunkowo łatwo przyzwyczajają się do wzrostu bez krwi (*Scheller, Klimenko, Finizio*). Natomiast trzy inne gatunki, uważane przez odkrywców również za zarazek koklusz, zachowują się odmiennie: *Bac. pertussis Eppendorf Jochmanna* i *Krausego* ma być ściśle krwiożądnym i nie daje się odzwyczaić od krwi, podczas gdy *Coccobac. pertussis Vincenzi'ego* od początku ma rość na podłożach bez krwi, podobnie jak *Bac., minutissimus sputi Luzzato'a*. Dwa gatunki, wyosobnione z psa: *Bact. haemoglobino-philus canis Friedbergera* i *Bact. septicaemiae canis Paranhos'a* są ściśle krwiożadne, natomiast *Rivers* donosi w ostatnim czasie o szczepie, który odpowiada *Friedbergrowskiemu*, a który rośnie na agarze z krwią lub zautoklawowaną hematyną, natomiast nie rośnie na agarze z 2% peptonu lub takimże agarze z dodatkiem wyciągu drożdżowego. Jest to zatem ciekawy gatunek, który do swego wzrostu potrzebuje tylko katalitycznego ciepłostalego czynnika X, nie zaś ciepłochwiejnego witaminowego czynnika V. Ciekawą jest również *Bact. septicaemiae anserum exsudativae*; szczep oryginalny, opisany przez *Riemera*, nie okazywał krwiożądnosci, natomiast wyosobniony przez *Frischa* i *Bierbauma* był z początku ściśle krwiożądny, a dopiero po 2-miesięcznej hodowli dał się przenieść na zwykły agar bez krwi. Do względnie krwiożądnych gatunków należy, według *Adama*, *Bac. bifidus*, beztlenowiec, rosnący wprawdzie i bez hemoglobiny (wzgl. hematyny), najlepiej jednak w jej obecności. Stopień krwiożądnosci *Bact. pyosepticum viscosum* (*Sachweh*), zarazka pomoru kurcząt, nie jest dotąd ściśle określony.

Ogólne wrażenie, jakie się wynosi z tego przeglądu grupy bakterij krwiożądnych (p. odnośny rozdział w podręczniku *Lehmann*a i *Neumann*a) jest to, że mamy tu do czynienia z kilkoma zasadniczymi typami, właściwymi pewnym formom zakażeń, z których każdy przedstawia się jako „plejada“ gatunków, czy raczej odmian o różnym stopniu przystosowania do pewnych warunków życia pasorzytniczego i pochodzącej stąd różnorakiej wyłączości odżywczej. Nie jest również wykluczonem, że znamy lub poznamy jeszcze w przyszłości należące tu szczepy lub gatunki, pasorzytujące na prawidłowych błonach śluzowych, skórze i t. p., a okazujące jeszcze mniejsze wymagania odżywcze, i że w nich upatrywać będziemy gatunki macierzyste, z których, drogą przystosowania lub przemiany skokowej (mutacji), powstały gatunki krwiożadne. Takie przypuszczenie byłoby np. możliwe co do *Streptobacillus urethrae Pfeiffera*, bardzo zbliżonego do *Bact. ulceris cancrisi*, tylko mniej wybrednego odżywczo. Być może, że takim gatunkiem jest nadzwyczaj ciekawy baztlenowiec, wyhodowany przez *Olitsky'ego* i *Gatesa* z wydzieliny nosogardłowej przy grypie, a nazwany przez nich *B. pneumosintes* i wywołujący w doświadczeniach ciężkie sprawy płucne u zwierząt. Przy pierwszym wyhodowaniu rośnie on tylko w płynie puchlinowym z dodatkiem nerki króliczej (*met. Noguchi'ego*). Po dłuższem jednak hodowaniu na tem podłożu obniża swe wymogi odżywcze i może rość na zwykłym buljonie peptonowym (na wyciągu mięsny), o ile doń dodać świeżej krwi, tkanki roślinnej (kartofla, pasternaku, rzepy) lub posiać zapomocą laseczki kartoflanej lub

b. okrężnicowych, które się następnie zabija przez ogrzanie, skoro tylko zjawi się pierwsze lekkie zmęczenie buljonu.

Poza tem autorzy obserwowali także symbiozę *B. pneumosintes* z b. grypowemi, pneumokokami, paciorkowcami i gronkowcami. Mamy tu tedy dość bliską analogję z wymaganiami odżywczymi b. grypowych, odpada tylko potrzeba czynnika katalitycznego X. Do b. grybowych zbliża się *pneumosintes* także swojemi drobnymi rozmiarami: hodowle pierwotne okazują twory na granicy widzialności, przechodzące przez filtry bakteryjne—po przystosowaniu do sztucznych podłoży zjawiają się formy nieco większe, aż do 1  $\mu$  długości w podłożach buljonowych wyżej wspomnianych—jednak powrót do pożywki pierwotnej znowu ujawnia ledwie widzialne formy pierwotne. Co do mechanizmu takiego przystosowania możliwe są dwa przypuszczenia: albo, że dany gatunek przystosował się do specjalnych warunków odżywczych życia pasorzytniczego w ustroju, t. j. do barwika krwi, a możliwość życia wobec wytworów roślinnych jest tylko przypadkowym następstwem tamtego przystosowania, albo też, że dany gatunek był może przystosowany do pokarmu roślinnego z jego zawartością witamin i peroksydaz, i że to właśnie przystosowanie umożliwiło mu następnie wtargnięcie do ustroju i rozwinięcie funkcji chorobotwórczej.

Jasną jest rzeczą, że poruszone tu zagadnienia, których opracowanie dopiero zostało podjęte, rokują wielkie nadzieje dla rozwoju bakterjologii, zarówno teoretycznej jak praktycznej. Wystarczy przypomnieć chroniczny kryzys, który od lat szeregu przebywa systematyka bakterjologiczna: wobec niewystarczających cech morfologicznych trzeba tem ściślej i gruntowniej poznać cechy fizjologiczne i zakres ich zmienności, aby kombinując jedne z drugimi dojść stopniowo do mniej lub więcej „naturalnego“ układu bakteryj. Poza tem zaś nie ulega wątpliwości, że dokładny wgląd w sprawy przemiany materji jest koniecznym warunkiem do poznania praw życia drobnoustrojów. Ze strony praktycznej nie potrzeba chyba podkreślać, jak ważnym czynnikiem postępu w poznaniu wybredniejszych zarazków może się stać ułatwienie i uproszczenie metod hodowlanych i że to jest niewątpliwie jedna z dróg, wiedząca do odkrycia nieznanych dotąd zarazków lub umożliwienia hodowli znanych dotąd tylko ze strony morfologicznej. Dla przykładu wspomnę o zastosowaniu kartofla do hodowli bakteryj gruzliczych (Pawłowski, Krompecher-Zimmermann, Sander, Lewandowsky, Rabbinowicz, Jurjewicz) i kokluszowych (Bordet-Gengou), dalej o znakomitych wynikach hodowli b. gruzliczych na podłożach z jajem kurzem (Dorset, Lubenau, Krumwiede-Park, Besredka-Jupille, Petrow). Sanders poleca do hodowli b. gruzliczych obok ziemniaków marchew, kalarepę, rzodkiew, Löwenstein płynną pożywką na wyciągu z fasoli cukrowej. Wspomnę również o całym szeregu prób hodowlanych zarazków niewidzialnych lub stojących na granicy widzialności (badacze amerykańscy, zwłaszcza Flexner i Naguchi) i krętowłosdów (Flexner, Kligler i Robertson) i in. — wreszcie o wspomnianej wyżej hodowli *B. pneumosintes* (Olitsky-Gates). Być może także, że uda się zapomocą dodatków witaminowych ułatwić i przyspieszyć hodowlę wyborową niektórych zarazków, zwłaszcza w celach rozpoznawczych. Tak np. Leichentrett uzyskuje na płytkach agarowych z dodat-



kiem wyciągu słodowego lub buraczanego lub zobojętnionego soku, z cytryny bujny i przyspieszony wzrost b. błoniczych, podobnie jak na surowicy Loeflerowkiej. Pewien szczep gronkowców z ropienia szpikowego, który nie chciał rość na agarze zwykłym, surowicznym, krwawym, wyrósł dopiero na agarze z wymienionymi dodatkami. *Twortowi* udało się wyhodować kręto włosy z padłej myszy na stałym podłożu, zawierającym wyciąg glicerynowy z bakterij błoniczych i jajo kurze; hodowanie ich szczepami udało się dopiero po dodaniu do tego podłoża 1% zabitych bakterij tymotejki (*B. phlei*). Na podstawie tych wyników kierunku niedawno dopiero poczętego, wolno w najbliższych latach spodziewać się wydatniejszego jeszcze plonu, zarówno pod względem teoretycznym, jak praktycznym.

## PI ŚMIENNICTWO.

- 1) Abderhalden E.—Köhler A. Pflüg. Arch. 1919. CLXXVI. 209.
- 2) Adam A. Zschr. f. Kinderheilk. 1921. XXIX. 65—67.
- 3) Agulhon H.—Legroux R. Compt. Rend. Acad. Sc. 1918. CXLVII. 597—8.
- 4) Allen. Lancet. 1910. I. 1263.
- 5) Amand A. Cellule 1903. XX. 223.—1904. XXI. 327.
- 6) Ayers S. H., Mudgett S. M. Proc. Soc. Amer. Bacter. Dec. 1921. Philadelphia. Streszez. Abstr. of Bacter. 1922. VI. 3. № 8.
- 7) Ayers S. H.—Mudgett S. M. Journ. of Bacter. 1922 VII. 449—464.
- 8) Bierry H.—Portier P. Compt. Rend. Ac. Sc. 1918. CLXVI. 963.
- 9) Bottomley. Proc. Roy. Soc. B. 1918. LXXXIX. 102—108, 487—507.
- 10) Cantani A. Centralbl. f. Bakter. I A. 1897. XXII. 601—604.
- 11) " ibid. 1900. XXVIII. 743—747.
- 12) " ibid. 1902. XXXII. 692—694.
- 13) " Zschr. f. Hyg. u. Infkr. 1901. XXXVI.
- 14) Chambers M. H. Biolog. Bull. 1919. XXXVI. 82—91.
- 15) Cheekmur F. Journ. Inf. Dis. 1922. XXXI. 461—467.
- 16) Coles-Lloyd J. D. Journ. of Path. a. Bacter. 1916. XXI. 267.
- 17) Cooper. Przytoczony u Damona.
- 18) Damon S. R. Journ. Biol. Chem. 1921. XLVIII. 379.
- 19) Davis J. A. Journ. Infect. Dis. 1907. IV. 73.
- 20) " ibid. 1917. XXI. 392—178.
- 21) " ibid. 1918. XXIII. 248—251.
- 22) " ibid. 1921. XXIX. 171—178, 178—186, 187—189.
- 23) " Journ. Amer. Med. Ass. 1921. LXXXVII. 683—685.
- 24) Devloer R. La Cellule 1906. XXIII. 359.
- 25) Eddy W. H.—Heft H. K.—Stevenson H. C.—Johnson R. Journ. Biol. Chem. 1921. XLVII. 249.
- 26) Eijkman C. von Hoogenhuijze C. J. C.—Derks T. J. G. ibid. 1922. L. 311—315.
- 27) Emmett A. D.—Stockholm M. ibid. 1920. XLIII. 288.
- 28) Fichtner. Cbl. f. Bakter. I A. Or. 1904. XXXV. 374—384.
- 29) Fildes P. Brit. Jour. Exper. Path. 1921. II. 16—25—1920. I. 129—130.
- 30) Fildes P. Brit. Journ. Exp. Med. 1922. III. 210—215.
- 31) Flather M. D. Biolog. Bull. 1919. XXXVI. 54—82.
- 32) Fleming W. D. Journ. Biol. Chem. 1921. XLIX. 119.
- 33) Fraenkel S.—Hager I. Biochem. Zeitsch. 1922. CXXVII. 189.

- 34) Fraenkel S.—Scharf A. *ibid.* 227.  
35) Fraenkel S.—Schwarz. *ibid.* 1920. CXII. 203.  
36) Francis E. *Publ. Health. Rep.* 1922. 20. I. 102.—*J. Am. M. Ass.* 1922. LXXVIII. № 14, 1015—1018.  
37) Fulmer E. I.—Nelson V. E.—Sherwood F. F. *Journ. Amer. Chem. Soc.* 1921. XLIII. 126. 191.  
38) Fulmer E. S.—Nelson V. E. *J. Biol. Chem.* 1922. LI. 77—83.  
39) Funk E.—Dubin H. E. *Journ. Biol. Chem.* 1920. XLIV. 487.  
40) " " *ibid.* 1921. XLVIII. 437.  
41) Ghon A.—v. Preyss W. *Centralbl. f. Bakter. I A. Or.* 1902. XXXII. 90—105.  
42) Goy P. *Compt. Rend. Acad. Sc.* 1921. CLXXII. 242.  
43) " *Compt. Rend. Soc. de Biol.* 1922. LXXXVII. 1007—1008.  
44) Grassberger R. *Cbl. f. Bakter. I A. Or.* 1903. 353—*Zschr. f. Hyg. u. Infkr.* 1897. XXV. 453.  
45) Harden A.—Zilva S. S. *Biochem. Journ.* 1921. XV. 438.  
46) Henry I. *Ann. de brass. et de distill.* 1902. 129.  
47) Hitchens A. P. *Proc. Labor. Sect. Amer. Publ. Health. Ass. Nov.* 1921. N.-York. *Streszcz. Abstr. of Bacter.* 1922. VI. 35. № 93.  
48) Huber. *Zeitsch. f. Hyg. u. Infkr.* 1893. XV.  
49) Huntoon F. M. *Journ. Infect. Dis.* 1918. XXIII. 169—172.  
50) Jacoby M.—Frankenthal K. *Bioch. Zeitschr.* 1921. CXXII. 100.  
51) Kalkbrenner. *Cbl. f. Bakter. I A. Or.* 1921. LXXXVII. 277—283.  
52) Kligler S. *Journ. Exper. Med.* 1919. XXX. 31—44.  
53) Kondo S. *Tohoku Journ. Exp. Med.* 1922. III. 70—74.  
54) Kossowicz A. *Zschr. f. landwirtsch. Versuchswesen Oest.* 1903. VI. 27. 241.  
55) Legroux R.—Jimenez I. *Compt. Rend. Ac. Sc.* 1921. 19. XII. CLXXIII.  
56) Legroux R.—Mesnard. *ibid.* 1920. CLXX. 901—904.  
57) Lehmann K. B.—Neumann R. O. *Atlas u. Grundriss der Bakteriologie.* 6 Aufl. München. 1920 str. 265—276, 757—760.  
58) Leichentritt. *Berl. Klin. Woch.* 1921. № 24. 631—634.  
59) Levinthal. *Zschr. f. Hyg. u. Infkr.* 1918. LXXXVI.  
60) Linossier G. *Compt. Rend. Soc. de Biol.* 1919. LXXI. 381—384.  
61) " *ibid.* LXXXIII. 1920. 346—349.  
62) Lloyd J. D. *Journ. of. Path. a. Bact.* 10, 16. XXI. 113.  
63) Luerssen O. *Cbl. f. Bakter. I A. Or.* 1904. XXXV. 434—439.  
64) Lumière A. *Compt. Rend. Ac. Sc.* 1920. CLXXI.  
65) McCoy G.—Chapin C. W. *Publ. Health. Bull.* 1912. № 53.  
66) " " *J. Infect. Dis.* 1912. X. 61—72.  
67) McDonald M.—McCullum E. V. *J. Biol. Chem.* 1920. XLV. 307.  
68) McDonald M. B. *Journ. Biol. Chem.* 1922. LIV. 243—249.  
69) McLeod S. W.—Wyon G. A. *J. of. Path. a. Bacter.* 1921. XXIV. 205—210.  
70) Meunier. *Sem. méd.* 1898. XVIII. 268.  
71) Miller E. W. *J. Biol. Chem.* 1921. XLVIII. 329.  
72) Mockeridge F. *Proc. Roy Soc. B.* 1917. LXXXIX. 508—533.  
73) " *Biochem. Journ.* 1920. XIV. 432.  
74) Mueller I. H. *Proc. Soc. Exp. Biol. Ac. Med. N.-York.* 1920—21. XVIII. 14—17. 225—228.  
75) Mueller I. H. *Journ. of. Bacter.* 1922. VII. 309—324. 325—338.  
76) Nastjukow M. M. *Dyss. Petersburg* 1894. *Streszcz. Cbl. f. Bakt.* 1896. XIX. 474—481.  
77) Neisser M. *Deutsch. med. Woch.* 1903.

- 78) Nelson V. E.—Fulmer E. I.—Cesna R. J. Biol. Chem. 1921. XLVI. 77.
- 79) Olitsky P. M.—Gates F. L. J. Exper. Med. 1921. XXXIII. 125. 713.
- 80) " " J. Am. M. Ass. 1922. LXXVIII. 1020—1022.
- 81) Olsen O. Cbl. f. Bakter. IA. Or. 1920. LXXXV. 12—27.
- 82) Paccini A. I. P.—Russell D. W. J. Biol. Chem. 1918. XXXIV. 43.
- 83) Pfeiffer R. Zschr. f. Hyg. u. Infkr. 1892. XIII.
- 84) Portier P. Les symbiotes. Paris Masson. Cie. 1919.
- 85) " " Compt. Rend. Soc. Biol. 1919. LXXXII. 59.
- 86) " —Randoïn L. Compt. Rend. Ac. Sc. 1920. CLXX. 478.
- 87) Putnam-Gay. J. Med. Res. 1920. XLII. 1.
- 88) Richter. Wien. klin. Wochenschr. 1894.
- 89) Rivers M. Journ. Am. M. Ass. 1921. LXXVI. 1744—1745.
- 90) " " Proc. Soc. Amer. Bacteriolog. Philadelphia. 1921. Streszcz. Abstr. of Bacteriol. 1922. VI. 3. 34.
- 91) Rivers M. John. Hopkins Hosp. Bull. 1922. XXXIII. 149—151.
- 92) " —Poole A. K. ibid. 1921. XXXII. 202—204.
- 93) Sahweh P. Berl. tierärztl. Woch. 1922. III. Ref. w Bull. Inst. Past. 1922. XX. 603.
- 94) Sammartino U. Biochem. Ztschr. 1921. CXXV. 25.
- 95) Scheffer G. Bull. de l'Inst. Past. 1919. XVII. 1—21. 41—59.
- 96) Shearer C. Lancet 1917. CXCII. 59.
- 97) Souza P. G.—McCollum E. V. J. Biol. Chem. 1920. XLIV. 113.
- 98) S woboda F. K. ibid. 531.
- 99) Terada M. Kitas. Arch. Exp. Med. 1922. V. 34—67.
- 100) Terada M. Jap. Med. World. Tokyo. 1921. I. 8. Streszcz. Abstr. of Bauer. 1922. VI. 70. № 279.
- 101) Thjö tta Th. J. Exp. Med. 1921. XXXIII. 763—771.
- 102) " —Avery O. T. ibid. XXXIV. 96—114.
- 103) " " ibid. 455—466.
- 104) Tocunaga H. Deutsch. med. Woch. 1920. 1358.
- 105) T wort F. W.—T wort D. N. Journ. of Hyg. 1921. XX. 85.
- 106) " " Lancet 1921. 798.
- 107) Voges. Berl. Klin. Woch. 1894. № 38.
- 108) Weill E.—Arloing F.—Dufourt A. Compt. Rend. Soc. de Biol. 1922. LXXXVII. 50—52.
- 109) Wildiers E. La Cellule 1901. XVII. 313—329.
- 110) Williams R. I. J. Biol. Chem. 1919. XXXVIII. 465.
- 111) " " ibid. 1920. XLII. 259.
- 112) " " ibid. 1921. XLVI. 113.
- 113) Williams A.—Povitzky O. Proc. Labor. Sect. Amer. Publ. Health. Ass. Nov. 1921. N.-York. Streszcz. Abstr. of Bacter. 1922. VI. 34. № 92.
- 114) Williams A.—Povitzky O. Journ. Med. Research. 1921. XLII. 405—417.
- 115) Wolf I. E. Cbl. f. Bakter. IA. Or. 1920. LXXXIV. 241—255.
- 116) Wollman E. E. Compt. Rend. Soc. Biol. 1921. LXXXV. 801—833.
- 117) " —Vagliano M. ibid. 1922. LXXXVI. 832—833.

## REFERATY.

G. Blanc, C. Mélanidi i J. Caminopetros. Badania doświadczalne nad wysypkowem schorzeniem kóz, spotykanem w Grecji. (Recherches expérimentales sur une maladie éruptive de la chèvre observée en Grèce). *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1922, **36**, 614.

Badania autorów dotyczą wysypkowego schorzenia kóz, często spotykanego w Grecji; ludność miejscowa przyczynę tego schorzenia upatruje w spożywaniu pewnych roślin. Pod względem klinicznym choroba ta przedstawia się jako stomatitis pustulosa i peristomatitis crustacea, trwa zwykle 2—3 tygodnie i kończy się wyzdrowieniem. Nieznany zarazek okazał się chorobotwórczym dla zwierząt doświadczalnych, przesączalnym przez filtry i dobrze przechowującym się w glicerynie. Zwierzęta, po odchorowaniu, stają się odporne na ponowne zakażenie. Autorzy utożsamiają obserwowane schorzenie z podobnym, opisanym przez H. Zellera (1920 r.) w Afryce Niemieckiej i, przypuszczalnie, też z chorobą Aynaud (1921 r.). Zarazek należy prawdopodobnie do grupy, obejmującej „krowiankę — ospę — ospę owczą“ (épithélioses du groupe vaccine — variole — clavelée).

---

M. Glussman i L. Kandiba. O wynikach badań bakterjologicznych krwi chorych na dur osutkowy. (Ueber die bakteriologischen Blutbefunde bei Fleckfieberkranken) *Zeitschrift f. Hyg. und Infektionskr.* 1922, **93**, 336.

W 63% przypadków ze krwi chorych na dur osutkowy wyosobniono prątek beztlenowy, opisany przez Plotza (jako zarazek duru osutkowego). Hodowle wyosobnionego prątka, zwłaszcza w pierwszym i drugim pokoleniu, udają się tylko ściśle według metody Plotza — na kwaśnych podłożach (agar z ascytem). Prątek ten u świnki morskiej nie wywołuje duru osutkowego; nie jest dla niej, również jak dla królika, chorobotwórczy. W innych schorzeniach prątka Plotza nie spostrzegano; również ze krwi świnek morskich, które uprzednio zakażano krwią chorych na dur osutkowy, prątka nie wyhodowano. Należy tu zaznaczyć, iż autorzy u żadnej z 22 świnek morskich zakażonych nie widzieli objawów chorobowych — ani podniesienia ciepłoty, ani zmian ogólnego stanu zwierząt. We krwi ozdowieńców po durze osutkowym, w 66% — 70% przypadków, autorzy znaleźli przeciwciała (metodą Bordet-Gengou) przeciw prątkowi Plotza. Jednak te same przeciwciała można wykryć w 40% przypadków u ludzi, którzy na dur osutkowy nie chorowali. Zastrzyki prątków Plotza wprawdzie są nieszkodliwe, ale

i nie wywołują odporności na zakażenie durem osutkowym: z 145 osób personelu lekarskiego, uodpornionych tym prątkiem, zachorowało wkrótce na dur osutkowy 4 osoby, 1 zmarła. Nie można więc uważać prątków *Plotza* za zarazek duru osutkowego, najwyżej można go uważać za czynnik współzakażający.

**R. Otto i C. C. Chou.** O odporności zarazka duru osutkowego w mózgu świnek morskich. (Ueber die Widerstandsfähigkeit des Fleckfiebervirus im Meerschweinchengehirn). Centrbl. f. Bakt. Originale 1922, 88, 467.

Zarazek duru osutkowego (zawiesina mózgu świnki morskiej, zakażonej durem osutkowym) zachowuje swą zjadliwość przez pewien określony czas, zależny od temperatury, w której zawiesinę przechowujemy: w lodowni (około  $+ 8^{\circ} \text{C.}$ ) do 4 dni, w poszczególnych przypadkach do 7 dni; w temperaturze pokojowej (około  $20^{\circ} \text{C.}$ ) — tylko 3 dni; w cieplarni (przy  $37^{\circ} \text{C.}$ ) — traci zjadliwość już po 24 godzinach. Dodanie do zawiesiny surowicy świnki morskiej przedłuża ten okres przy  $8^{\circ}$  — do 10 dni i przy  $20^{\circ}$  — do 6 dni.

Doświadczenia z odmiejcem  $X_1$ , w zawiesinie z normalnym mózgiem świnki morskiej wykazały, że zachowuje się on inaczej, niż zarazek duru osutkowego, zachowując dłużej zjadliwość dla świnek morskich; przy  $8^{\circ}$  nie traci zjadliwości jeszcze na 10 dzień, przy  $20^{\circ}$  zachowuje ją jeszcze po 5 — 10 dniach, przy  $37^{\circ}$  nie traci zjadliwości po 3 — 5 dniach. Doświadczenia te, również jak i to, że świnki morskie po zastrzykach zawiesiny mózgowej, zawierającej odmiejca  $X_1$ , nie są odporne na zakażenie durem osutkowym, przemawiają przeciw etjologicznemu znaczeniu odmiejca  $X_1$ .

**K. Sato.** Badania nad działaniem leczniczej surowicy błoniczej na doświadczalną błonicę królików. (Untersuchungen über die Wirkung des Diphterie-Heilserums auf die experimentelle Kaninchendiphtherie). Zeitschrift f. Immunitätsf. 1922, 34, 365.

U królików, po wykonaniu tracheotomji, przez silne wcieranie do słuzówki tchawicy materiału zakażającego (szczepu prątków błoniczych o wystarczającej zjadliwości), można wywołać proces błoniczy, wyrażający się zmianami o wielkiem podobieństwie do błonicy człowieka (tworzenie się błon, zaledwie nieznacznie różniących się od pseudo-błon człowieka). Sposób ten zakażenia królików okazał się dość pewnym (z 23 królików — 20 uległo zakażeniu, przeważnie po 3 — 4 dniach, u 2 — wystąpiły objawy wątpliwe, 1 tylko oparł się zakażeniu), by zbadać przy jego pomocy lecznicze działanie surowicy błoniczej. Protokoły autora wyliczają 100 królików. Wprowadzając królikom dożylnie i śródmięśniowo bardzo duże ilości anty-toksyny autor dowiódł, że nieszlusznem jest zdania *Dietricha*, jakoby działanie surowicy błoniczej ograniczało się do okresu wylegania i w zasadzie było tylko zapobiegawczem. Błonica tchawicza królików daje się uleczyć przez surowicę błoniczą, nawet przy silnem zakażeniu i w daleko posunię-

tym okresie (8 — 12 godzin po zakażeniu), ale surowicę należy według autora stosować dożylnie lub śródmięśniowo w bardzo dużej ilości (1200—3600 J.) Z tego, że stosowana równorzędnie i w takich samych warunkach, normalna surowica końska zupełnie zawodzi, wynika, iż chodzi tu o swoiste działanie antytoksyn. Małe ilości antytoksyny (200 — 250 J.) nie okazują wyraźnego wpływu leczniczego: nie są więc istotnie bardziej czynne od normalnej surowicy końskiej. Autor wspomina w końcu, że, z przerachowania dawek leczniczych surowicy u królików na wagę ciała, możnaby wnioskować, iż dawki antytoksyny, stosowane u człowieka, często są zbyt małe.

**G. Apt. i G. Loiseau. Odczyn podłoża a wydajność toksyny błoniczej. (Réaction du milieu et production de la toxine diphtérique). Annales de l'Inst. Pasteur, 1922, 36, 535.**

Instytut Pasteurowski w Paryżu stale używa podłoża Martin'a o odczynie wahającym się pomiędzy Ph 7,5 — 7,9; otrzymana (bardzo równomiernie) toksyna, w dawce 1/700 ccm., zabija przeciętnie świnkę morską, ważącą 350 gr., po 4 dniach. Toksyny, tej samej siły i w tym samym okresie czasu, otrzymuje się, jeśli odczyn podłoża wynosi początkowo Ph 6,8 aż do 7,8 i jeszcze więcej. Dawka śmiertelna jest prawie ta sama 7-go dnia co 11-go. Powyżej Ph = 8,6 lub poniżej 6,8 siła toksyny znacznie słabnie; tak n. p. przy początkowym odczynie podłoża, wynoszącym Ph. 5,8 do 6,1 nawet dawka 0,1 ccm. nie zabija po 4 dniach świnki morskiej.

Odczyn, wyraźnie kwasowy lub zasadowy, źle wpływa na przechowywanie się toksyny. Nie wyjaśnia to jednak spostrzeżonego faktu, że na podłożach o początkowym odczynie zbyt kwasowym, chociaż po 2 lub 3 dniach odczyn podłoża odpowiada już wymaganym warunkom (Ph wynosi 6,8 do 8,4.), toksyny nie wytwarzają się.

Odczyn podłoża Martin'a, w pierwszych dniach hodowli, zależy od tego, czy odczyn początkowy utrzymywał się poniżej lub powyżej Ph. 7,3—7,4. W pierwszym przypadku staje się on zasadowym, w drugim staje się kwasowym. Jednak po 4 dniach, nieco później w podłożu bardziej zasadowym, krzywe odczynu prawie że się stykają.

**R. Kaneko. O odczynie tkankowym i wytwarzaniu antytoksyn u koni po zastrzyku do płuc toksyny błoniczej. (Ueber die Gewebsreaktion und Antitoxinbildung bei Pferden nach Intrapulmonaren Injektionen von Diphterietoxin). Zeitschr. f. Immun. 1922, 34, 424.**

Autor prowadził badania nad 7 końmi, otrzymującymi zastrzyki do płuc, po części też podskórnie i domięśniowo i nad jednym (kontrolnym), zastrzykiwanym tylko podskórnie. Czterokrotna dawka śmiertelna toksyny, stosowanej przez autora, wahała się między 0,005 — 0,01 dla 250 — gramowej świnki morskiej. Wyniki pracy są następujące. Zmiany w płucach, wywołane przez liczne zastrzyki toksyny błoniczej, polegają głównie na przewlekłym, proliferacyjnym zapaleniu, z mniej lub więcej sil-

nemi wylewami krwawymi. Bardzo silnych zmian zwyrodnienia, opisanych n. p. przez *Lurie*, który stosował toksynę stężoną—nie widziano. Autor przypuszcza, iż zapewne ogniska martwicze na miejscach wczesnych zastrzyków u koni, długo uodpornianych, zabiłiły się i dla tego nie można ich było rozpoznać. Ilość antytoksyny w wewnętrznych narządach (w płucach, wątrobie, śledzionie, nerkach, nadnerczach) u koni wysoko-uodpornionych zastrzykami do płuc zawsze jest mniejsza, niż w surowicy krwi i jest zależna od zawartości krwi w danym narządzie, przyczem we krwi tętniczej jest większa niż w żylniej. Uszkodzone przez zastrzyki miejsca płuc często zawierają bardzo znaczne ilości antytoksyny (więcej niż inne narządy); do pewnego stopnia zależy to od rozległych wylewów krwawych. Śledziona (w danym okresie uodpornienia) zawiera jedynie bardzo małe ilości antytoksyny, mniejsze niż inne narządy. Tak więc autor niema żadnych danych któreby przemawiały za tem, iż płuca, po zastrzyku toksyny do nich, są głównem miejscem wytwarzania antytoksyny. Bardziej uprawnionem zdaje się być przypuszczenie, iż wytwarzanie antytoksyny jest czynnością całego organizmu.

---

J. E. Dauvergne. Prątek błoniczy i bakterje rzekomo-błonicze, cechy różniczkowe — rozpoznanie. (Le bacille diphtérique et les bactéries diphterimorphes, caractères différentiels — diagnostic). *Revue d'Hygiene*, 1922, 44, 826.

Lasecznik błonicy (*bac. Klebs — Löffler*) — *Corynebacterium diphtheriae* (*Löffler*), w celu lekarskiego rozpoznania, należy umieć odróżnić od następujących trzech roztoczy: 1) *Corynebacterium commune*, *L. Martin* (*Bac. Hoffman*, *Bac. pseudodiphtheriae*) — który znajduje się w gardle i nosie. 2) *Corynebacterium xerosis*, *Neisser* i *Kuschbret* (*Bac. xerosis*) — który znajduje się w worku spojówkowym. 3) *Corynebacterium cutis*, według nomenklatury autora (*Bac. cutis commune*, *Ch. Nicolle*, *Bac. para-diphthericus* *Lubiński*), znajduwany na skórze i bardzo rzadko spotykany w gardle. Różniczkowanie czterech tych laseczników opiera się na sposobie wzrastania na głębokim agarze (*L. Martin* i *G. Loiseau*), na wytwarzaniu kwasów kosztem cukrów i węglowodanów oraz na ich własnościach hemolitycznych (*Costa*, *Troisier* i *Dauvergne*).

---

Cavaillon i Wibaud. Walka z czerwonką bakteryjną. Badania nad epidemią w departamencie Aisne w r. 1921. (La lutte contre la Dysenterie bacillaire. Etude d'une epidemie dans le departement de l'Aisne en 1921) *Revue d'Hyg.* 1922, 44, 800.

Czerwonka bakteryjna w Aisne wybuchła w 1921 r. w dwu ogniskach wielkich, trzech pomniejszych i w znacznej ilości przypadków zupełnie odosobnionych. Wszystkie te przypadki, w ilości 250 (zejść śmiertelnych 40), z wyjątkiem jednego, wywołane były przez b. *Shiga*.

Środki, przedsięwzięte przez władze sanitarne, stłumiły epidemię; rezultat ten wszędzie osiągnano tem prędzej, im wcześniej wykryte zostały

pierwsze przypadki czerwonki. Otrzymane wyniki przemawiają za tem, iż pojedynczy przypadek czerwonki bakteryjnej nie wywołuje epidemji i że istniejącą epidemję można zwalczyć szybko, uwzględniając następujące warunki. 1) Konieczność zgłaszania przez lekarzy pierwszych przypadków i nadzór nad każdym ogniskiem, wykonywany przez służbę sanitarną. 2) Stosowanie zwykłych klasycznych środków dezynfekcyjnych przez kompetentną obsługę, wyposażoną w wystarczającą ilość potrzebnych materiałów. 3) Stosowanie seroterapii leczniczej i ochronnej. U wszystkich osobników, wchodzących w styczność z chorymi, zastępowano seroterapię ochronną uodpornianiem szczepionką przeciwczerwonkową z wynikami doskonałemi.

---

**Ch. Nicolle i E. Conseil.** Uodpornianie ochronne człowieka przeciwko czerwonce bakteryjnej i gorączce maltańskiej drogą pokarmową. (*Vaccinations préventives par voie digestive chez l'homme dans la dysenterie bacillaire et la fièvre méditerranéenne*). *Annales Pasteur*. 1922, **XXXVI**, 59.

Niniejsza praca dowodzi możności uodporniania człowieka drogą przewodu pokarmowego: doświadczenia autorów dotyczą tylko czerwonki bakteryjnej (*Shiga*) i gorączki maltańskiej. Pierwsza jest, zdaniem autorów, chorobą ściśle umiejscowioną, mianowicie schorzeniem jelita grubego, ale gorączka maltańska jest posocznicą, niema tu więc miejsca na przypuszczenie, że i w danym przypadku w wytwarzaniu przeciwciał odgrywają rolę jelita. Dlatego otrzymanie wyników dodatnich w obu schorzeniach posiada znaczenie ogólniejsze,—przemawia za możnością uodporniania *per os* w durze brzuszny, durach wrzekomych, cholery i t. p. Co do gorączki maltańskiej, to autorzy dowiedli, że przeciwko niej również łatwo uodpornić człowieka drogą *per os*, jak i podskórnymi zastrzykami zabitych ziarników. Przechodząc do czerwonki bakteryjnej, autorzy przede wszystkim zaznaczają, iż niezmiernie ciekawe spostrzeżenia *Besredki* nad uodpornieniem królików nie wyświetlają jeszcze kwestji, gdyż miarodajne są tylko doświadczenia nad tym samym gatunkiem. *N.* i *C.* przekonali się w toku swej pracy, iż nawet rasa może tu odgrywać poważną rolę: mianowicie krajowcy w Tunisie okazali się odpornymi na zakażenie czerwonką (również na dur brzuszny, prawdopodobnie dzięki picciu brudnej, zakażonej prątkami duru i czerwonki, wody). Musiano więc czynić doświadczenia na europejczykach. Hodowla prątka czerwonkowego powinna być świeżo wyosobniona: zjadliwość (ale nie jadowitość) hodowli starych znacznie bywa osłabiona. Szczepienia podskórne i domięśniowe wywołują zbyt silny odczyn miejscowy. Uodpornianie wlewaniem dożylnymi wywołuje niebezpieczny odczyn ogólny. Natomiast doskonale, bez niepożądanych objawów, znosi człowiek *per os* podawane zabite prątki *Shiga*. Autorzy stosowali szczepionkę płynną, w wielkich dawkach. Ostateczne doświadczenie wykonano na 2 osobnikach uodpornionych i 2 nieuodpornianych. Dwaj pierwsi nie mieli żadnych objawów chorobowych, dwaj ostatni zapadli na typową czerwonkę. Uodpornianie nie wywołuje znaczniejszego wytwarzania aglutyna-



nin. Trwania odporności, ani też najmniejszej uodporniającej dawki szczepionki (prawdopodobnie daleko mniejszej od stosowanej przez autorów) — N. i C. nie określali.

P. Tessier, P. Gastinel, J. Reilly, Rivalier. Przyczynek do studjów nad Pasteurellozą z powodu przypadku Pasteurellozy u człowieka (*Contribution à l'étude des Pasteurelloses à propos d'un cas de Pasteurellose humaine*). Journ. de Phys. et de Path. Gen., 1922, 20, 212, i 241.

Przypadek, zbadany przez autorów, wraz z opisanym poprzednio przez *Debré* (1919) i *Ortscheidta*, potwierdza istnienie w patologji człowieka zakażenia, wywołanego przez *Pasteurellae*, do niedawna znanego jedynie w patologji zwierząt. W trzech wspomnianych przypadkach (w przypadku opisanym przez autorów podczas autopsji znaleziono między innymi obfity zakrzep w lewym sercu) — Pasteurelloza przebiegała jako schorzenie miejscowe, szczególnie porażające opłucną. Jest to obraz zasadniczo różny od posocznicy, obserwowanej u zwierząt, z maximum zmian na błonach surowiczych i w tkance podskórnej, jedynie bowiem Pasteurelloza u królika, według *Nicollea*, przebiegać może z zapaleniami opłucnej, a bez posocznicy. W 1918 r. *W. von Boer* opisał przypadek jelitowego zakażenia człowieka zarazkiem cholery kury, a *Commes* w 1918 i *G. Bouffard* w 1921 opisali pyomyositis, Pasteurellozę w Afryce (Bamako).

Dane hodowlane i serologiczne, oraz doświadczenia porównawcze nad własnościami antygenowemi zarazka wyosobnionego z płynu wysiękowego, *Coccobacillus G.* i zarazków cholery kury i Pasteurellozy królików, pozwalają autorom umieścić *Coccobacillus G.* w grupie *Pasteurellae*. Przeszczep na człowieka nie zmienia własności biologicznych *Pasteurellae*. Pewne morfologiczne i biologiczne różnice, zachodzące pomiędzy *Coccobacillus G.* a *Pasteurellami*, wyosobnionemi przez *Debré* i *Ortscheidta*, pozwalają przypuszczać, że człowiek może się zakazić rozmaitemi rasami *Pasteurellae*, istniejącymi w przyrodzie. Autorzy skłaniają się jednak do zdania *Chamberlanda* i *Jouana*, iż zasadniczych różnic pomiędzy poszczególnymi rasami *Pasteurellae* niema. Różni je tylko stopień przystosowania (zjadliwość) względem zwierząt, na których pasorzytują; przez szereg zaś przeszczepów można szczep *Pasteurellae*, pierwotnie dla zwierzęcia nieszkodliwy, uczynić dla niego zjadliwym. Z doświadczeń nad wcieraniem w skórę świnek morskich zjadliwej hodowli *Coccobacilli G.* (zabijającej zwierzęta doświadczalne prawie bez wyjątku), z braku w takim wypadku, jeśli zachowano pewne ostrożności, ogólnego zakażenia i ograniczenia infekcji jedynie do odczynu miejscowego, jako też z nabywania przez zwierzę miejscowej, a potem ogólnej odporności i niewystępowania zlepek w krwi uodpornionej świnki morskiej, autorzy wysnuwają następujące wnioski: 1) W pewnych warunkach skóra bierze na siebie walkę z zarazkiem, podczas której organizm nabywa odporności tkankowej, niezależnej od jakiegokolwiek bądź odporności humoralnej. 2) Zarazek, niezmiernie zjadliwy, w pewnych warunkach, jeśli tylko naskórek wchodzi z nim w styczność, ogranicza swe własności chorobotwórcze do prostego zapalnego odczynu miejscowego.

**A. Schnabel. Badania nad nadwrażliwością wśród bakteryj. (Ueber Empfindlichkeitsversuche an Bakterien). Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. 1922, 96, 351.**

Autor wychodzi z założenia, iż, jeśli wogóle możliwe jest u bakteryj wywołanie nadwrażliwości na działanie pewnych substancyj, to można ją otrzymać już w zwykłych jednodniowych hodowlach, bowiem przypuszczalnie nadwrażliwość i przyzwyczajenie do trucizny w ścisłym stoją związku, a przecie to drugie zjawia się już po parogodzinnem działaniu jadu (trucizny). Wrażliwość badanych hodowli określano (redukcja) zapomocą metody z użyciem błękitu metylowego. Z bakteryj używano: pneumokoków, gronkowców, bakteryj czerwonych i prątków okrężnicy. Do doświadczeń stosowano: optochinę, sublimat, formalinę, chininę, fenol i azotan srebra.

1) W hodowlach buljonowych pneumokoków (z dodatkiem optochiny), po 24-godzinnem przebywaniu w t. 37° C., zauważono, zależnie od stężenia optochiny, następujące różnice. Hodowle, wzrastające przy wysokiem stężeniu optochiny (około 1 : 500000), stają się odporne, natomiast hodowle ze stężeniem optochiny nieznacznem (1 : 5 aż do 1 : 30 milionów) są na ten alkaloid mniej lub więcej nadwrażliwe. W pewnych tylko wypadkach nadwrażliwość ta nie jest swoista i nadwrażliwe na optochinę pneumokoki okazują się również do pewnego stopnia nadwrażliwemi na (chemicznie zbliżoną) chininę. W największych stężeniach optochiny hodowane pneumokoki odznaczają się wysoką wrażliwością na tę truciznę, ale nie noszącą już zupełnie cech swoistości: chodzi tu prawdopodobnie o nieswoiste uszkodzenie bakteryj.

2) Pneumokoki, hodowane w różnych stężeniach formaldehydu, wykazują też w rozmaitem stopniu wrażliwość na tę truciznę. Rozcieńczenie formaldehydu 1 : 80000 do 1 : 320000 wywołuje nadwrażliwość; niezupełnie jest ona swoistą, gdyż pneumokoki okazują się nadwrażliwemi i na optochinę (ale nie na fenol).

3) Analogicznie do 1) zachowują się gronkowce, hodowane na pożywkach z sublimatem. Jednak gronkowce, nadwrażliwe na sublimat, są nadwrażliwe, chociaż cokolwiek mniej, i na  $\text{AgNO}_3$  (ale nie na fenol lub optochinę). Być może, że gra tu rolę bliski pod względem chemicznym charakter działania obu substancyj, jako soli metali. Mniej pomyślne otrzymano wyniki z bakterjami z grupy czerwonej i okrężnicy. Jednak i tu, chociaż rzadziej, udaje się osiągnąć nadwrażliwość swoistą wobec sublimatu. Jest rzeczą ciekawą, że również próby przyzwyczajania do trucizny nie dają z temi bakterjami zadowalających rezultatów. Jednak nawet u bakteryj, nadających się do wywoływania nadwrażliwości, nie zawsze to okazuje się możliwe.

Jeszcze rzadziej udaje się wykryć nadwrażliwość w pasażach na podłożach toksycznych. Otrzymuje się wrażenie, że nadwrażliwe bakterje już w najbliższych pasażach (wzrastając na podłożach toksycznych) utracają nadwrażliwość i nabywają, wprost przeciwnie, oporności. Przemawia to za znanem przypuszczeniem, iż między nadwrażliwością a przyzwyczajaniem do toksyn zachodzi bliski związek. Wyjaśnienie tych zjawisk należy do przyszłości; muszą być uwzględnione przytem również stężenia jadów, jak i czas ich działania.

**R. Doerr i Berger W.** Analiza odpornościowa białka surowicy. (Immunologische Analyse der komplexen Struktur des Serumeiweisses). *Zeitschrift f. Hyg. und Inf.* 1922, **96**, 191.

Autorzy sprawdzają i uzupełniają wyniki pracy *Dale'a i Hartley'a*. Fizyko-chemicznymi metodami wyosobniane frakcje białek surowicy krwi różnią się wysoce między sobą, jako antygeny, a mianowicie dzięki różnicom „swoistości“ i różnicom „działania biologicznego“. A) „Swoistość“ (Spezifität) wyraża się w tem, że świnka morska, uczulona euglobuliną, nie oddziaływa na albuminę nawet w wielkich dawkach. I odwrotnie, zwierzęta uczulone albuminą nie są nadwrażliwe na euglobulinę. Odczyn nadwrażliwości (anafilaksja) pozwala na zróżniczkowanie także obu frakcyj albuminy: albuminy C i D. Nasycając surowicę siarczanem ammonu, autorzy otrzymują: frakcję A — zawierającą euglobulinę (0—33% nasycenia), frakcję B — zawierającą pseudoglobulinę (33% — 50%), frakcję C — albuminę (56% — 66%) i frakcję D — albuminę (66% — 99%). Frakcję 50% — 56% autorzy odrzucają. B) Pojęcie „działania biologicznego“ (biologischen Aktivität, lub Intensität des Antigenreizes) oznacza pewne szczególne własności antygeny, jego funkcji, zależnej nietylko od ilości stosowanej dawki, ale i od jakości samego antygeny. Wyraża się to w wielkości dosis sensibilisantis minimae i w długości minimalnego okresu wylegania. Są to stałe wielkości dla poszczególnych protein surowicy krwi. Obie własności przebiegają równolegle. Więc frakcje białkowe surowicy, według zmniejszania się tych wielkości, ustawiają się w następującym szeregu: euglobulina — pseudoglobulina — albumina C — albumina D. Trzecią cechą jest wielkość dawki, potrzebnej do wywołania ostrego i śmiertelnego wstrząsu u uczulonej świnki morskiej: wzrasta ona w tym szeregu również od euglobuliny do albuminy.

Z powyższego wynika, iż: 1) osocze krwi posiada przynajmniej 5 antygenowych ciał białkowych (o ile do zróżniczkowanych frakcyj surowicy doliczyć jeszcze fibrino-globulinę według Ascoli), 2) proteiny te dają się rozróżnić dzięki swoistości i intensywności swej funkcji antygenowej, 3) wzajemne stosunki ilościowe tych protein wahają się u różnych osobników danego gatunku i u tegoż osobnika w różnych okresach czasu,

**R. Doerr i W. Berger.** O swoistości frakcyj białek surowicy (Ueber das Verhältnis der Fraktionsspezifität bei den Eiweisskörper der Blutsera). *Zeitschr. für Hyg. und Inf.* 1922, **96**, 258.

Poszczególne ciała białkowe surowicy ciepłokrwistych, otrzymywane przez frakcjonowane wysalanie siarczanem ammonowym, posiadają swoistość podwójną: swoistość gatunku i swoistość frakcji. Swoistość gatunkową posiadają tak samo wyrażoną — albuminy jak i globuliny. Jakiegokolwiek „reakcji grupowej“, przynajmniej dla dotychczas zbadanych albumin surowicy koni, świni, bydła lub królika w doświadczeniach z nadwrażliwością czynną, nie stwierdzono. Doświadczenia krzyżowe z nadwrażliwością czynną wykazują w tym samym stopniu swoistość frakcyjną, co i gatunkową.

Dr. Henryk Raabe: Znaczenie stężenia jonów wodorowych (H<sup>+</sup>), ilości pokarmu i stosunku powierzchni hodowli do jej objętości w rozwoju wiciowca *Prowazekia* (= *Bodo*) edax. — La signification de la concentration en ions H<sup>+</sup>, de la quantité de la nourriture et du rapport de la surface de la culture à son volume dans le développement du flagellé *Prowazekia* edax, str. 283.

Dr. D. Rywosz: Przyczynek do działania bakterjobójczego wody utlenionej.—Contribution à l'étude bactericide de l'eau oxygenée, str. 324.

Dr. Ludwik Fleck: Doświadczenia nad zdolnością aglutynacyjną surowic ogrzewanych. — Recherches sur le pouvoir agglutinant des sérums chauffés, str. 329.

Dr. Stanisław Sasaki: Cholera azjatycka w wojsku na obszarze wojennym w roku 1920—1921. — Le choléra asiatique dans l'Armée Polonaise dans la zone des Armées et des Etapes en 1920—1921, str. 339.

Dr. Bog. Feierabend: O metodzie Harrisa szczepień przeciw wodowstrętowi. — Sur la méthode des Vaccins contre la rage Harris, str. 346.

J. Supniewski: Zmiany anatomo-patologiczne u zwierząt, zatrutych maksymalnemi dawkami neoarsenobenzolu. — Lésions anatomo-pathologiques des animaux empoisonés avec les doses maximales d'arsenobenzol, str. 350.

Dr. Stanisław Sierakowski: Oznaczanie stopnia zakwaszenia cukrów przez bakterje zapomocą mierzenia ilości jonów wodorowych. — Signification du degré de l'acidification des milieux sucrés par les bacteries à l'aide de la méthode de détermination de la concentration en ions d'hydrogène, str. 357.

Kazimiera Sterling: O wyodrębnianiu drobnoustrojów za pomocą t. zw. „Metody włoskowatego przenoszenia się bakterji po bibule“. — Sur l'isolement des microorganismes à l'aide de la méthode nommée „Méthode du transport capillaire des bactéries sur papier-buvard“, str. 363.

Dr. Filip Eisenberg: Witaminy a bakterje. — Vitamines et les bactéries, str. 368.

Referaty. — Analyses, str. 402.

W roku 1923 zmiana tytułu czasopisma na „Medycyna Doświadczalna i Społeczna“. W r. 1947 ponownie okazało się „Przeгляд Epidemiologiczny“ jako organ Państwowego Zakładu Higieny i Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaznych.

Institut Epidemiologique de l'Etat

Chocimska 2b.

(Distribué le 15. I. 1923).

ZAKŁADU HIGIENY