

Spec. Pam. Stowi Antoniemu Rydzowi autor

St. Serkowski.

Wpływ niektórych czynników fizyko-chemicznych
na zjawisko precipitacji i aglutynacji.

ODBITKA ZE SPRAWOZDAŃ Z POSIEDZEŃ TOWARZYSTWA NAUKOWEGO WARSZAWSKIEGO,
WYDZIAŁ NAUK MATEMATYCZNYCH I PRZYRODNICZYCH,
POSIEDZENIE Z DNIA 2 GRUDNIA 1915 ROKU, ROK VIII, ZESZYT 9.

Action de certains agents physico-chimiques sur
le phénomène de la précipitation.

Extrait des Comptes Rendus de la Société des Sciences de Varsovie
1915. VIII Année. Fascicule 9.



WARSZAWA.

DRUKARNIA I LITOGRAFIA JANA COTTY, KAPUCYŃSKA 7.

1916



www.dlibra.wum.edu.pl

St. Serkowski.

Wpływ niektórych czynników fizyko-chemicznych na zjawisko precypitacyi i aglutynacyi.

ODBITKA ZE SPRAWOZDAŃ Z POSIEDZEŃ TOWARZYSTWA NAUKOWEGO WARSZAWSKIEGO.
WYDZIAŁ NAUK MATEMATYCZNYCH I PRZYRODNICZYCH.
POSIEDZENIE Z DNIA 2 GRUDNIA 1915 ROKU. ROK VIII, ZESZYT 9.

Action de certains agents physico-chimiques sur le phénomène de la précipitation.

Extrait des Comptes Rendus de la Société des Sciences de Varsovie
1915. VIII Année. Fascicule 9.



**Biblioteka Główna
WUM**

WARSZAWA.

DRUKARNIA I LITOGRAFIA JANA COTTY, KAPUCYŃSKA 7.

1916

Biblioteka Główna
WUM
Br.6315



000031402



www.dlibra.wum.edu.pl

St. Serkowski:

Wpływ niektórych czynników fizyko-chemicznych na zjawisko precypitacji i aglutynacji.

Komunikat zgłoszony dn. 15 Października 1915 r.

Spostrzegając w czasie wykonanych prób nad reakcją Widał'a i aglutynacją bakteryj pod wpływem surowicy zwierząt uodpornionych, wiele faktów, które w znacznej mierze odbiegają



od utartych wniosków, postanowiłem te dane zbadać przez systematyczne doświadczenia. Miały one głównie na celu dążenie:

1) do wyjaśnienia ilościowych stosunków i wzajemnej zależności między trzema czynnikami biorącymi udział w reakcji;

2) do zbadania, o ile w opadach swoistych biorą udział precypityny, t. j. czy opady zawierają prócz aglutynatów bakteryjnych też i precypitaty globulinowe;

3) czy niektóre odczyny (np. próba Ulenhuth'a zastosowana przez Kraus'a do bakteryjnych przesączów) dadzą się zastosować i do zawiesin bakteryjnych;

4) czy nie możnaby uzyskać precypitatów wyłącznie przez działanie katalityczne bakterij swoistych, czy też koniecznym jest udział zawiesin bakteryjnych lub ich przesączów;

5) czy spostrzegany wzrost miana precypito-aglutynacyjnego nie dałby się uzależnić od a) absolutnej ilości precypitynogeny i precypityny, b) zmian nasycenia soli NaCl od 0.85 do 8.5%, c) zamiany NaCl przez $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, d) dodatek $\text{CH}_3\cdot\text{COOH}$, e) dodatek komplementu, f) ogrzewanie zawiesin bakteryjnych i t. d.;

i 6) czy wogóle możliwa jest zmiana metodyki badania, któraby pozwoliła na otrzymanie wybitnie wyższego miana i w ten sposób umożliwiła otrzymanie wyników dodatnich przy małych zawartościach precypityny, wzgl. aglutyniny (w surowicy chorych na dur brzuszny w pierwszym okresie choroby, w czasie gruźlicy, w wydzielinach chorych, pokarmie i t. d.).

Nie będę przytaczał tu sposobów wykonywania aglutynacji makroskopowej w kapilarach, w małych wązkich rurkach, obliczonych na 1 ctm. sz., w większych probówkach, w płytkach i t. d. Wszystkie te sposoby wychodzą z tego założenia, że wynik próby makroskopowej zależy od stopnia rozcieńczenia surowicy i prawidłowego przygotowania zawiesiny bakteryjnej, niezależnie od wielkości naczyń, wzgl. od objętości zmieszanych płynów — surowicy rozcieńczonej i zawiesiny.

Według ogólnie przyjętego mniemania, można jednakowe miano uzyskać w 0.5, w 1.0, w 5 lub 10 ctm. sz. mieszaniny, chodzi tylko o ścisły stopień rozcieńczenia surowicy.

Czy takie założenie odpowiada faktom, widocznem jest z następujących doświadczeń: Różne surowice — po ustaleniu miana (w oblicz. na 1 ctm. sz.) łączono z taką objętością zawiesiny, aby stosunek pozostał bez zmiany: mieszano je w ten sposób, że w każdej następnej próbówce równolegle zwiększano ilość obydwóch substancji ze stałym zachowaniem stopnia rozcieńczenia z pierwszej próbówki, np. 1) 1 ctm. zawiesiny bakteryj + 1 kropla precypityny rozcieńczonej $\frac{1}{100}$; 2) 2 ctm. sz. zawiesiny + 2 krople precyp.; w 3-iej 3 ctm. sz. + 3 krop-
le i t. d.

Wniosek z tych badań¹⁾: na wynik precypitacji wywiera wpływ nietylko stopień rozcieńczenia swoistej surowicy, lecz i absolutna ilość użytych substancji. Jeżeli miano w obliczeniu na 1 ctm. sz. ogólnej mieszaniny wynosi: 1:200, to przy 5-krotnych dawkach można otrzymać opady nawet przy 1:2000; surowicy wysokoaglutynowej wzrost miana z 1:2500 do 1:20,000, a przy stopniowo coraz zwiększających się dozach miano surowic wzrasta coraz wyżej bez ograniczenia. Stąd i dalszy wniosek: jeżeli surowica chorego w pierwszych okresach duru brzuszego nie aglutynuje przy zwykle stosowanych rozcieńczeniach (1:25 — 50 — 100 — 200) i przy użyciu 1 ctm. sz. mieszaniny, to należy aglutynację powtórzyć w dawkach większych (5 — 10-krotnie) z zachowaniem tych samych stopni rozcień-

TABLICA I.

		50	100	200	250	500	1000	2000	4000	8000	10,000	kon- trola
Miano przy 1 ctm. sz.	Surowicy tyfusowej wyso- koaglut	+	++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—
	surowicy chorego na tyfus (10 dzień chor.)	z h	++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—
	surowicy choler. wysokoag- lutvn	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—

¹⁾ W tych i następnych doświadczeniach brali udział moi współpracownicy pp. A. Sachnowski, S. Pernak, J. Przyborowski, H. Winnicka, H. Ołtuszevska, K. Sterling, L. Szereszewski i T. Raniecki, za co Im uprzejmie dziękuję.

Tablica I (c. d.).

Aglutynacja powyżej „miana“.

dawki surowicy i zawiesiny wzrastają stopniowo, ale stosunek pierwszej do drugiej i stopień rozcieńczenia surowicy w każdej z sześciu probówek pozostaje bez zmiany.

	zawiesiny od 1-go do 6-ciu ctm. sz.						K zawiesina bez suro- wicy	Uwagi
	1	2	3	4	5	6		
Surowica tyfus. wys.-aglutyn. w rozc. 1:4000 + zawiesina tyfusowa . . .	-	-	±	+	+++	++	-	Precypitat w 5-ej i 6-ej probówce tak duży (pomimo rozcieńcz. 1:4000), jak powyżej w rozc. 1:100-1000
Surowica tyfus. wys.-aglutyn. w rozc. 1:8000 + zawiesina tyfusowa . . .	-	-	±	±	+++	++	-	Precypitat w 5-ej i 6-ej probówce przy 1:8000=precypil. przy 1:100-1000
Surowica chorego tyfusowego (10 dz. chor.) w rozc. 1:1000 + zawiesina tyfusowa	-	-	±	+++	+++	+++	-	Precyp. w 4, 5 i 6-ej probówce przy rozc. surow. 1:1000=prec. przy rozc. 1:100-200
Surowica tegoż chorego w rozc. 1:2000 + zawiesina tyfusowa	-	-	±	+++	+++	+++	-	jak wyżej, pomimo rozc. surowicy na 1:2000
Surowica cholery wys.-aglut. w rozc. 1:10,000 + zawies. wibr. cholery . .	-	±	+	+++	+++	++++	-	Precyp. w 4, 5 i 6 probówce przy rozc. surowicy na 10 tys. = prec. 1:50 do 1:4000
Surowica cholery wys.-aglut. w rozc. 1:20,000 + zawies. wibr. cholery . .	-	-	±	+++	+++	+++	-	jak wyżej, pomimo rozc. surowicy na 1:20,000
Surowica cholery wys.-aglut. w rozc. 1:20,000 + zawiesina tyfusowa . . .	-	-	-	-	-	-	-	druga kontrola, surowica bez zawiesiny też ujemna.

Te same doświadczenia były powtórzone czterokrotnie z jednakowym wynikiem dodatnim w probówkach 4 do 6-ej; drobne różnice (+ albo ±) występowały tylko w 2 i 3-ej.

czenia surowicy. To samo odnosi się do innych spraw zakaźnych, np. krwawej biegunki, gruźlicy i t. p.

Wynik opadów zależy od absolutnej ilości składników, ilości znajdującej się jedynie w takiej zależności od rozcieńczenia precypityn wzgl. aglutynin, że przy olbrzymim rozcieńczeniu ostatnich należy zamiast 3 lub 5-krotnych, zwiększyć absolutną ilość składników 8—10-krotnie: widoczną jest ta zależność z doświadczeń, zestawionych w tabl. II.

Co do wzrostu miana aglutynacyjnego pod wpływem zmian w samej surowicy, badacze spostrzegali sporadycznie taki wzrost w zależności od różnych przyczyn. Tak na przykład R. Scheller¹⁾, Glässner²⁾ i F. Eisenberg³⁾ zauważyli wzrost miana surowic po dłuższym staniu ich w porównaniu do surowic świeżo zebranych.

Szukając w teorii koloidów objaśnienia powyżej opisanych (tabl. I i II) zjawisk, polegających na roli objętości obydwóch składników w większym stopniu, aniżeli na stopniu rozcieńczenia surowicy swoistej, nie znajduję ścisłej analogii. Stwierdzono niejednokrotnie zależność ciśnienia osmotycznego od ilości cząsteczek w danej objętości⁴⁾.

Być może, że i w danym zjawisku ilość cząsteczek odgrywa pewną rolę. Często roztwory koloidalne zmieniają się stopniowo w zależności od zmian, zachodzących w samych cząsteczkach: amikrony przechodzą w submikrony i następuje w końcu koagulacja, przyczem można zauważyć spadek ciśnienia osmotycznego. Ponieważ wpływ elektrolitów na ciśnienie osmotyczne białka jest stwierdzony, więc i w danym wypadku roztwór soli, działając na większą ilość białka, obniża jego ciśnienie osmotyczne: w samych mikronach następują zmiany, a w następstwie zjawia się koagulacja. To objaśnienie nie tłumaczy nam jednak wpływu i udziału surowicy swoistej, ani też roli zwiększonych dawek precypitynogeny.

W założeniu tworzenia się swoistych opadów odróżnia się zjawisko aglutynacji od precypitacji: pod pierwszą nazwą rozu-

¹⁾ Centr. f. Bakteriöl. 1904, t. 36, str. 427 i 694 i 1905, t. 38, str. 100.

²⁾ Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 1905, t. I, str. 640.

³⁾ C. f. Bakter. 1906, t. 41, str. 96 i nast.

⁴⁾ v. R. Zsigmondy. Kolloidchemie 1912, str. 42.

TABLICA II.

Miano surowicy pozostaje bez zmiany. Ilość obydwóch substancyj wzrasta równomiernie o zawartość 1-ej probówki, w ten sposób, że w 2-ej pr. mamy $2 \times$ zaw. 1-ej, w 3-ej = 3×1 i t. d.

	Próba wielokrotna na 1 do 8 ctm. sz.								W 8 k. (kontroli) zawiesina bez surowicy.	
	1	2	3	4	5	6	7	8		8 k.
Surowica chorego tyfusow. (14 dzień choroby) rozc. $\frac{1}{2000}$ + zawiesina tyf.	—	—	±	+	+	+	+	+	—	} surowice rozcieńczo- ne na 1:1000.
Surowica świnki morskiej rozc. $\frac{1}{1000}$ + zawiesina tyfusowa.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Surowica tyfusowa wysokoaglut. $\frac{1}{4000}$ + zawiesina choleryczna	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Surowica tyfusowa wysokoaglut. $\frac{1}{4000}$ + zawiesina tyfusowa	—	—	±	+	++	+++	+++	+++	—	
Surowica tyfusowa wysokoaglut. $\frac{1}{40000}$ + zawiesina tyfusowa	—	—	—	±	++	+++	+++	+++	—	
Surowica tyfusowa wysokoaglut. w rozc. $\frac{1}{10000}$ + zawiesina tyfusowa.	—	—	±	+	++	+++	+++	+++	—	
Surowica chol. nizkoaglut. (3 kr. injekcje): rozc. $\frac{1}{20000}$ + zawiesina choleryczna	—	—	—	±	+	++	+++	+++	—	
Surowica chol. nizkoaglut. (5 kr. injek.): rozc. $\frac{1}{20000}$ + zawiesina choleryczna.	—	—	±	+	++	+++	+++	+++	—	
Surowica ludzka od osoby, przed 11 miesiącami uodpornionej wakcyką choleryczną 3-krotnie.	—	—	—	±	+	+	+	+	—	
Surowica ludzka od osoby, przed 3 mies. uodpornionej wakcyką tyfusową 2-krotnie.	—	—	—	±	+	+	+	+	—	

mie się opadanie ciał bakteryjnych, pod drugą koagulację związków rozpuszczonych w ekstraktach i przesączach bezbakteryjnych. Jedno i drugie zjawisko wymaga współzależności trzech czynników — współdziałania antygeny (aglutynogen wzgl. precypitynogen), przeciwciała (aglutynina wzgl. precypityna) i fizjologicznego roztworu soli.

Istnieje niemało prac, dążących bądź do utożsamienia lub analogii obydwóch zjawisk, bądź też do wykazania zasadniczej różnicy między nimi. Na mocy spostrzeżeń z codziennej praktyki pragnę wypowiedzieć pogląd, że zarówno pod wpływem surowicy chorych, jak i surowicy zwierząt uodpornionych w połączeniu z odpowiednią zawiesiną bakteryjną odbywają się równocześnie w jednych i tych samych próbkach obydwie zjawiska: aglutynacji prawie stale towarzyszy precypitacja. Ta ostatnia zwykle do tego stopnia przewyższa w niższych rozcieńczeniach pierwszą, że mówimy o aglutynacji dodatniej wtedy, kiedy należałoby stwierdzać obecność precypitacji. Nietylko przy zwykłym badaniu makroskopowym, ale również przez odważanie stwierdziłem, że precypitat był 10 do 20 razy większym od użytej masy ciał bakteryjnych. Również drobnowidzowo miałem sposobność wielokrotnego przekonania się, że w swoistych aglutynatach zlepki bakteryjne stanowią znikomą mniejszość, główna część zaś opadów składa się z mas i kłaczek bezkształtnych, bezbakteryjnych: precypitat więc przeważa nad aglutynatem.

Dodając do zawiesiny bakteryjnej surowicę odpowiednią swoistą w szeregu próbek w dawkach stopniowo ubywających czyli w rozcieńczeniu stale wzrastającym, stale spostrzega się wybitną „aglutynację“ (+++) w niższych i częściową (±) w wyższych rozcieńczeniach.

Ten ogólnie znany fakt objaśnia się, moim zdaniem, tem, że t. zw. wybitna aglutynacja jest połączeniem precypitacji z aglutynacją, a opady częściowe zawierają wyłącznie aglutynaty: czyli że miano surowicy aglutynacyjnej jest stale wyższem od precypitacyjnego. Jeżeli nawet niema opadów częściowych przy wykonanej reakcji, co niekiedy zdarza się przy znacznej różnicy rozcieńczeń (np. 200 — 500 — 1000 i t. d.), to jednakowoż zjawiają się one, o ile zastosujemy większe stopniowa-

nie, czyli mniejsze różnice między jednym rozcieńczeniem a następnym.

Zdarzało mi się nieraz otrzymać reakcję Widał'a częściową (czyli właściwą aglutynację) przy rozcieńczeniu serum 1:250 i wybitną przy 1:200 i tylko w tem ostatniem rozcieńczeniu stwierdziłem precypitat, oczywiście włącznie z aglutynatem.

W celu stwierdzenia własności chemicznych powstałych opadów, wykonywałem następujące badania: Płyn z ponad opadu usuwałem zapomocą pipetki włoskowatej, następnie osad przemywałem dwukrotnie fizyologicznym roztworem soli. Oczyszczony osad okazał się nierozpuszczalnym w wodzie destylowanej, rozpuszczalnym zaś w słabych roztworach soli i ługu. Po oddzieleniu rozczynu soli, pozostały osad rozpuszczałem w słabym ługu sodowym (1%). Otrzymany płyn, zawierający minimalne ilości nierozpuszczonych kłaczków, sączyłem dwukrotnie przez sączek z bibuły chemicznie czystej i z klarownym przesączem wykonałem następujące reakcje:

1) do części przesączu dodano jednakową objętość nasyconego rozczynu siarczanu amonu, przyczem otrzymano wyraźne zmętnienie, stopniowo opadające. Siarczan magnezu przy nasyceniu płynu wywołuje również osad;

2) do drugiej części dodawano kroplę rozcieńczonego kwasu octowego, i przy tej próbie tworzyło się zmętnienie, a po pewnym czasie nieznaczny kłaczkowaty osad;

3) do trzeciej części przesączu dodawano kwasu fosforowo-wolfrامowego (10%): w punkcie zetknięcia płynów powstawał biały pierścień;

4) czwarta część po zmieszaniu z alkoholem mętniała i po pewnym czasie wydzielala osad.

Wszystkie powyższe próby, a zwłaszcza pierwsza z nich — przemawiają za tem, że opady składają się ze związków, należących do grupy globulin. Tylko drobna część opadów w postaci nierozpuszczalnych kłaczków składała się z bakterii, a po części z globuliny, ponieważ niezupełna rozpuszczalność w ługu może być spowodowana przez dłuższe znajdowanie się osadów w roztworze soli: niektóre rodzaje globuliny, znajdując się przez dłuższy czas w roztworach wodnych albo solnych, stają się nierozpuszczalne.

W dalszym ciągu wykonywanych doświadczeń, chciałem sprawdzić, czy do zawiesin bakteryjnych przez uwarstwienie z odpowiednią swoistą surowicą da się zastosować odczyn pierścieniowy precypitacyjny Uhlenhuth'a, stosowany przez Kraus'a do bezbakteryjnych przesączów. Stosowałem też odczyn ten w modyfikacji proponowanej do skrytego krwawienia przez Br. Kretkowskiego, mojego współpracownika (St. Petersburg. Medicin. Wochenschr. 1909). Mianowicie, do surowicy swoistej, nierozcieńczonej i rozcieńczonej, w bardzo wązkich próbkach dodawałem gęstej zawiesiny odnośnych bakterij — nie w fizjologicznym roztworze NaCl, lecz o podwójnej koncentracji; zawiesina była ostrożnie wpuszczana po ścianie zapomocą pipetki w celu otrzymania dwóch warstw. Przy skoncentrowanej surowicy zajmowała ona górną, przy rozcieńczonej dolną warstwę.

Zauważyłem, że natychmiast po uwarstwieniu tworzy się biały pierścień w miejscu zetknięcia się płynów przy użyciu homologicznych precypityny i precypitynogeny — np. surowicy chorożego tyfusowego i gęstej zawiesiny laseczników duru brzuszego w 1.7% roztworze NaCl.

Pierścień zwykle tworzy się natychmiast i nie później jak po 20 — 40 minutach przy pokojowej temperaturze. Ten odczyn występował niekiedy tak wyraźnie, że wpośród długiej seryi próbek można było stwierdzić odrazu i rozpoznać tę, w której obie znajdujące się w styczności substancje były wzajemnie swoiste.

Doświadczeń tych wykonano setki, nie będę ich przytaczał szczegółowiej, ponieważ w ostatecznym wyniku próba ta okazuje się niemożliwą do wykonania w praktycznym zastosowaniu. Mianowicie jeden i ten sam odczyn z temi samemi odczynnikami, powtórzony w kilkunastu próbkach, daje niezupełnie zgodne wyniki — w jednych dodatne, w innych ujemne. W tych ostatnich powstają zamiast pierścieni opady. Na wynik wywiera wpływ gęstość zawiesiny, mniej lub więcej ostrożne uwarstwienie, oraz częste zjawisko opadów nieswoistych z powodu nadmiernego nasycenia surowicy i gęstości zawiesiny.

Zamiast zawiesiny bakteryjnej lub przesączu w celu otrzymania precypitatatów można użyć wysuszonych preparatów bakteryjnych. Przekonałem się o tym fakcie, przez zanurzenie cieniotkich rurek włoskowatych w surowicy chorych tyfusowych,

rozcieńczonej od 1:1 do 1:1000 razy. Powierzchnia kapillarów pokryta była cienką warstwą zawiesiny tyfusowej, następnie wysuszona i dokładnie przemyta wodą przed zanurzeniem do surowicy — w tym celu, aby komórki bakteryjne znajdowały się w styczności z surowicą, lecz nie tworzyły zawiesiny. Otrzymany w niektórych probówkach wyraźny precypitat pod wpływem katalitycznego działania bakterij wewnątrz, bądź zewnątrz rurek włoskowatych, dowodzi, że opady swoiste można otrzymać nawet w warunkach nieobecności zawiesiny lub przesączu. Opady otrzymują się wyraźne przy użyciu większej ilości surowicy (do 3 — 5 ctm. sz.), niekiedy i w 1-ym ctm. sz., ale na wynik znacznie wpływa trudny do wypełnienia i skontrolowania warunek taki, aby warstwa bakterij wysuszonych była dość gęstą, przylegała ściśle do powierzchni i nie zmyła się pod wpływem prądu wody. Wykonano bardzo dużo odnośnych doświadczeń, nie przytaczam ich jednak z powyższych względów, uniemożliwiających zarówno, te próby jak i pierścieniowe w wykonaniu praktycznym.

Od chwili odkrycia reakcji Widala, mnóstwo badaczy ustaliło fakt, że przeciętnie odczyn dodatni otrzymać można nie wcześniej, jak na 7 — 11 dzień choroby. Zdarzają się (wprawdzie rzadko) przypadki pozytywnego odczynu na 3 — 5, ale więcej stwierdzono takich, w których reakcja Widala zjawiała się dopiero w 18-ym, 22-ym, 25-ym, 32-ym, nawet w 40-ym dniu choroby. W pierwszym więc okresie duru brzuszego, kiedy wczesne rozpoznanie miałooby wielką doniosłość, odczyn serodyagnostyczny zawodzi.

Zawodzi też aglutynacja w czasie gruźlicy. Jak wiadomo (Arloing i Courmont 1898), surowica chorych na gruźlicę albo wcale nie aglutynuje, albo daje opady w rozcieńczeniach niewiele wyższych ponad normę fizjologiczną=1 na 5 do 20; według Jessen'a 1:25 jest najniższem mianem. Wskutek tego otrzymano do 30% wyników dodatnich u osób zupełnie zdrowych (13—25% Paltauf, 22—55% Carrières); natomiast ludzie, dotknięci gruźlicą, niektórzy nawet prosówkową, wykazywali w surowicy odczyn dodatni w 15—88% według pierwszego i 51 do 58% według drugiego z wymienionych badaczy.

Dużo więc danych przemawia za tem, że zarówno w pierwszym okresie duru brzuszego, jak w czasie gruźlicy surowica

chorych zawiera zbyt małą zawartość przeciwciał — w porównaniu do zawartości, niezbędnej do ujawnienia odczynów serodyagnostycznych — aglutynacji i precypitacji. Musimy więc dążyć do skoncentrowania przeciwciał oraz do uczulenia samego odczynu, wzgl. spotęgowania miana.

Co do koncentracji przeciwciał w surowicach antytoksycznych proponowano niemało metod¹⁾: z bardziej znanych przytoczę metodę Gibson'a zapomocą osadzania siarczanem amonu (3-krotna koncentracja), Gibson-Banzhaf'a (5-krot. konc.), oraz nowsze metody Brieger-Krause'go za pomocą chlorku sodowego, Brunner-Pinkus'a siarczanu sodowego i t. d. Te dane nie dadzą się zastosować do koncentracji precypityn.

W ścisłym związku z zakresem zamierzonych i wykonanych przezemnie doświadczeń stoi sprawa, niezupełnie dotychczas wyjaśniona, z jaką frakcją globulinową wiążą się swoiste precypityny. Wnioski badaczy są rozbieżne i nie wiadomo jeszcze ściśle, czy precypitynę i aglutyninę wiąże euglobulina czy pseudoglobulina²⁾. Wiadomo tylko, że żadne z przeciwciał nie jest związane z albuminą. Z tego powodu w planie następnych moich doświadczeń nie mogłem uwzględnić poszczególnych frakcji, lecz starałem się dążyć do możliwego wyjaśnienia sprawy na drodze empirycznej. Tak więc stosowałem do przygotowania zawiesin ubywające koncentracje $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ od 76 do 0.59%, lub też wzrastające NaCl od 0.85 do 8.5% same, lub z dodatkiem $\text{CH}_3\cdot\text{COOH}$.

Z pośród olbrzymiej ilości dokonanych prób przytoczę część ich: p. tab. III, IV i V.

¹⁾ O koncentracji przeciwciał drogą wymrażania (metoda Bujwida), oraz wydzielenia globuliny z surowic p. Samuely w podr. Abderhalden'a—Hand. d. biochem. Arbeitsmethoden, 1910, t. 2, str. 360; w podr. Hoppe-Seyler'a—Hand. d. phys. u. path. chem. Analyse, 1909, 8 wyd., str. 406; poczęści w podr. chemii fizyol. Hammarsten'a, biochem. Oppenheimer'a i „Methoden d. Antikörperdarstellung“ M. Ficker'a (II t. Kolle-Wassermann. str. 210 i nast.).

²⁾ Tak np. precypityny są związane z euglobuliną (Pick, Bang), lub tylko częściowo z nią (Franceschelli), aglutyniny tyfusowe przeważnie z pseudoglobuliną (Pribram); zlepniki ochronne i antytoksyny w surowicy kóz, koni i królików z frakcją euglobulinową (Gibson i Collins), hemolizyny w obydwóch frakcjach (Fuhrmann), antytoksyny w eu- i pseudoglobulinie. Szczeg. patrz: Franceschelli: Arch. f. Hygiene 1909, t. 69, str. 207; Pribram w podręczniku Kraus-Levaditi, t. 2, str. 87 i Ficker w podręczniku Kolle-Wassermann, t. 2, str. 230.

TABLICA IIIa.

Precypito-aglutynacja zawiesiny tyfusowej, wykonanej w różnej % NaCl od 0.85 do 8.5%, pod wpływem surowicy tyfusowej królika, uodpornionej 9-krotnie wakcyną tyfusową. Wszystkie zawiesiny dla usunięcia opadów samoistnych stały uprzednio 2 godziny w cieplarni. Z każdej koncentracji NaCl wykonano 9 prób: rozc. serum od 1 : 50 do 1 : 20000. W każdej próbie po 1 ctm. sz. zawiesiny. Kontrola 1-a zawiera zawiesinę bez surowicy, k₂—zawiesinę z surowicą w rozc. 1:2000 (jak w 6 ej próbówce) z dodatkiem 1 kropli 10% kw. octowego.

	Rozcieńczenia surowicy									kontrola	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	k ₁	k ₂
I. 0.85% NaCl	+	+	+	+	+	□	—	—	—	—	+
I. 0.85% NaCl + 1 kr. 10% CH ₃ COOH	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
II. 1.70 NaCl.	++	++	++	++	++	±	±	±	—	—	+
III. 2.55 NaCl	++	++	++	++	++	±	±	—	—	—	+
IV. 3.40 NaCl	++	++	++	++	+	±	±	±	—	—	+
V. 4.25 NaCl.	+	+	+	—	—	□	—	—	—	—	□
VI. 5.10 NaCl	+	+	+	±	—	□	—	—	—	—	□
VIII. 6.80 NaCl	+	+	+	±	—	□	—	—	—	—	□
IX. 8.5 NaCl.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
X. 8.5 NaCl + 1 kr. 10% CH ₃ COOH	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

Wyniki sprawdzane 3-krotnie: po 8, 16 i 24 godz. Po 8 godzinach najsilniej wystąpiła precypitacja w próbkach, zawierających dodatek CH₃ COOH; po 24 godzinach, jak i po 16. Spotęgowanie miana przez kwas octowy nastąpiło tylko w mniejszych koncentracjach NaCl (0.85 i 1.70). Opady nieswoiste wypadły tylko przy 8.5% NaCl bez kwasu. Najwyższe miano w bezkwasowych aglutynacjach dały konc. NaCl: 1.70 i 2.55%

Obecność kwasu octowego stale zwiększa miano, o ile nasycenie soli w zawieszynie nie przekracza 2.55%; w wyższych zaś nasyceniach działanie jest wprost odwrotne: kwas octowy zmniejsza miano. Zresztą w nasyceniach zbliżających się do 8.5% wypadają osady samoistne w kontrolach bez udziału surowicy.

Tak na przykład, surowica chorego tyfusowego (14 dzień choroby) dała swoiste opady w rozcieńczeniach nast. z zawiesziną swoistą (na 1 ctm. sz.).

TABLICA IIIb.
Szczepy cholery №№ 26 i 37.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	kontr.	
										10	11
NaCl:	1:500										
I — 0.85	100	200	500	1000	2000	5000	10000	20000	bez surow.	z kw.	oct.
II — 1.70	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
III — 2.25	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
IV — 3.40	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
V — 4.25	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
VI — 5.10	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
VIII — 6.80											
X — 8.50											

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	kontr.	
										10	11
I — 0.85											z kw. oct.
II — 1.70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III — 2.55	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV — 3.40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V — 4.25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VI — 5.10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VIII — 6.80											
X — 8.50											

	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/20000	1/30000

Czyli:

przy konc. NaCl. 1.70 i 2.25 obecność kwasu (1 kropla 10% kwasu octowego) sprzyja precyp., daje miano 1:2000 + tam gdzie bez kwasu miano = = 1:1000 +

Natomiast

przy stężeniach > 3.40 NaCl obecność kwasu hamuje precypitaty.

w NaCl 0.85% bez kwasu 1:200 z kwasem 1:2000
w potr. roztworze (2.55%) „ 1:200 „ 1:2000
w 5% siarczanie amonu „ 1:500 (zabrakło serum)

Surowica królika uodporn. (tyfusowa aglut.) z odpowiednią zawiesiną tyfusową (na 1 ctm.³):

w NaCl 0.85% bez kwasu 1:2000 z kwasem 1:5000
w potr. NaCl (2.55%) „ 1:2000 „ 1:5000
w 5% siarczanie amonu „ 1:2000 „ 1:2000

TABLICA IV.

Miano precypitacyjno-aglutynacyjne po 15 minutach, 4 godzinach i 24 godzinach. Surowica królika, uodpornionego mieszaną wakcyzną choleryczną 5-krotnie; krew zebrana szprycą z serca; próby wykonane w kilka godzin później po oddzieleniu surowicy; zawiesina wykonana ze szczepu cholery № 36, tj. jednego z kilkunastu szczepów, wchodzących w skład wakcyny. W rachubę wzięto tylko \dagger , nie uwzględniono $+$.

Miano w obliczeniu na 1 ctm. sz.

	po 15 min.	po 4 godz.	po 24 godz.
I. 0.85 NaCl . .	1:50	1:50	1:100
II. 1.70 NaCl . .	1:100	1:100	1:200
III. 2.55 NaCl . .	1:200	1:200	1:200
IV. 3.40 NaCl . .	1:200	1:200	1:200
V. 4.25 NaCl . .	1:200	1:500	1:2000!
VI. 5.10 NaCl . .	1:200	1:200	1:500
VII. 5.95 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
VIII. 6.80 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
IX. 7.65 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
X. 8.5 NaCl . .	1:200	1:200	1:5000

w IX mniejsze, w X większe opady samoistne w próbkach kontrolowych: zawiesina bez surowicy.

Na drugi dzień powtórzono to samo doświadczenie: i znów najwyższe miano ze szczepem w. cholery № 36 otrzymano w V próbie, tj. przy 4.25% NaCl; w kontrolach tylko X próba (8.5% NaCl) dała nieswoiste opady. Przy modyfikacji tychże prób z b. rzadką, zaledwie opalizującą zawiesiną otrzymano w V próbówce nawet wyższe miano: 1 na 2500. Niezupełnie identyczne wyniki otrzymano z innymi szczepami cholery (tablica V.)

Surowica królika uodpornionego (paratyfusowa B aglut) z odpowiednią zawiesiną paratyfusową (na 1 ctm. sz.):

z fizjol. roztworem soli	bez kwasu	1 : 1200	z kwasem	1 : 2000
w potrójn. (2.55%)	„	1 : 2000	„	1 : 4000
z 5% siarczanem amonu	„	1 : 500	„	1 : 1000

Przez inaktywację surowicy 1 godz. przy 60° udało się tylko wzmocnić precypitat w większych koncentracjach, t. j. usunąć t. zw. „zonę hamującą“ — bez podniesienia ogólnego mia-

TABLICA V. (na 1 ctm. sz.)

Każdą próbę wykonano w 9 próbkach po 1 cm. zawies. z nbyw. dawkami surowicy i 2 kontrolami.

Szczep cholery N 26 z sur. swoistą: „pa“ = 1 : 2000 (zaw w fiz. NaCl)
 „ „ „ „ „ „ = 1 : 2000 („ w 2.25% NaCl)
 „ „ „ „ „ „ = 1 : 5000 („ „ „ + 1 kr. 10% CH₃ COOH)

„ „ „ „ „ „ („ w 10% (NH₄)₂ SO₄)
 Szczep cholery N 18 z sur. swoistą: „pa“ = 1 : 1000 (zaw. w fizyol. NaCl)
 „ „ „ „ „ „ = 1 : 5000 („ „ + 1 kr. 10% CH₃ COOH)
 „ „ „ „ „ „ = 1 : 500 („ w 5% Na₂ SO₄)

Szczep b. typhi abdom. z sur. swoistą: „pa“ = 1 : 2000 (zaw. w fizyol. NaCl)
 „ „ „ „ „ „ „ 1 : 5000 („ „ + 1 kr. 10% CH₃ COOH)
 „ „ „ „ „ „ „ 1 : 20000 („ w 5% Na₂ SO₄)
 [w 5% Na₂ SO₄ zawiesina v. cholerae daje ubytek, b. typhi wzrost miana].

Szczep cholerae asiat. „pa“ = 1 : 1000 (przy zawiesinach od 1.70 do 3.40% NaCl)
 „ „ = 1 : 2000 (zawiesina 1.70% NaCl + 1 kr. 10% CH₃ COOH).
 „ „ = 1 : 500 (zawiesina > 3.40 do 5.10% NaCl)
 „ „ = 1 : 200 (zaw. 5.10% NaCl + 1 kr. 10% CH₃ COOH)

Szczep v. cholerae as. N 19 „pa“ = 1 : 1000 (zaw. 1.70 i 2.55% NaCl)
 „ „ 1 ; 2000 („ „ też i „ + 1 kr. 10% CH₃ COOH)
 „ „ 1 : 200 (zaw. > 3.40 do 5.10% NaCl)
 „ „ 1 : 200 (to samo z dod. 10% CH₃ COOH)
 „ „ 0 („ „ nadm. kw. octowego).

Vibrio berolinensis z surowicą swoistą cholerae „pa“ = 1 : 50 ± (zaw. fizyol. NaCl)
 „ „ „ „ 1 : 50 ± (to samo z zaw. do 3.40% NaCl)
 „ „ „ „ 0 (zaw. > 4.25% NaCl)
 „ „ „ „ 0 (wszystk. konc. NaCl + kw. oct.)

Większe dawki kwasu octowego 3 — 4 krople tegoż 10% roztworu dawały pseudoprecypitaty nawet w rozc. 1 : 1000 w zawies. v. berolinensis. Te same wyniki otrzymano z v. non phosphorescens.

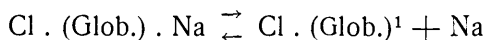
Zawiesina tyfus. 1 ctm. sz. + sur. chorego (9' dzień choroby): „pa“ = 1 : 200 (zaw. w fiz. NaCl)
 „ „ „ „ „ „ 1 : 1000 („ w fizyol. + 1 kr. 10% CH₃ COOH).
 „ „ „ „ „ „ ∞ (pa i w kontrolach, zawies. wykonana w 10% (NH₄)₂ SO₄).

Zaw. tyfus. 1 ctm. sz. + sur. chorego (14 dz. choroby): „pa“ = 1 : 200 (w fiz. NaCl te i następne)
 „ „ „ „ „ „ 1 : 1000 (dodano do poprzedn. po 24 godz. powt. sur. chorego rozc. 1/100).
 „ „ + sur. mała uodp. królika: „pa“ = 1 : 200 } do próbek dod. i ujem-
 „ „ „ „ „ „ 1 : 2000 } nych dodano po 24 godz. ilość tegoż serum., odpow. rozc. 1/100.

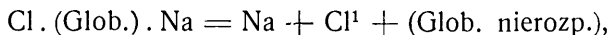
na; natomiast ogrzewanie zawiesin bakteryjnych (p. tabl. X) wznosi miano:

Z bardzo wielu doświadczeń, których część zestawiona jest w tablicach w pracy niniejszej, wynika ten fakt niezbity, że z substancji, wywierających wpływ na zawiesinę, podnosi miano precypitacyjne mała obecność kwasu octowego przy niezbyt wysokiej zawartości soli.

Uzasadnianie tego faktu znajdujemy w teorii chemii koloidów. Właściwością globulin jest ich rozpuszczalność w rozcieńczonych roztworach soli obojętnych i przeciwnie nierozpuszczalność w wodzie czystej. Nadmiar soli strąca globuliny, które ponownie rozpuszczają się przy rozcieńczeniu¹⁾. Według Hardy'ego²⁾, globulina jest ciałem w wodzie nierozpuszczalnym, a rozpuszczalność jej w solach alkaliu uważać trzeba za tworzenie się związków podwójnych. Podobnie jak to ma miejsce przy związkach nieorganicznych, globulina tworzy z chlorkiem sodu związek Na. (Glob). Cl, związek ten rozszczepia się (dysocjacja) w następujący sposób:



Obecność chlorku sodu powstrzymuje do pewnego stopnia rozszczepianie. Przy bardzo znacznym rozcieńczeniu rozpada się powyższy związek, tworząc nierozpuszczalną globulinę według następującego wzoru:



przyczem zwiększa się zmętnienie. Przy średnim nasyceniu soli kuchennej większa część globuliny zostaje w roztworze, jako elektrolit, a mniejsza w postaci submikronów. W bardziej skoncentrowanych roztworach NaCl rozszczepienie związku globuliny z chlorkiem sodu zostaje powstrzymane i następuje tworzenie się osadu.

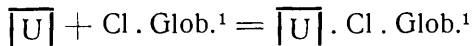
W zgodzie z temi poglądami znajdują się wyniki doświadczeń Michalisa³⁾, który stwierdził, że roztwory globuliny, roz-

¹⁾ Richard Zsigmondy. Kolloidchemie, Lipsk, 1912, rozdz. Eiweisskörper, str. 246.

²⁾ Hardy. Journ. of Physiol. 1905, 33, str. 251—337.

³⁾ Virch. Arch. f. path. Anat. u. Phys. 1905(179, str. 195—208.

cieńczone wodą, zawierają daleko większą ilość ultramikronów, niż roztwory rozcieńczone fizyologicznym roztworem NaCl. Roztwory koloidalne są więcej stałe i nie wypadają z nich cząsteczki globuliny, co można najłatwiej objaśnić naładowaniem elektrycznym ultramikronów globulinowych. Schematycznie te dane możnaby przedstawić według następującego wzoru:



Co do połączenia globulin z kwasami i zasadami, Hardy przypuszcza powstawanie rzeczywistych jonów białkowych, którym przeciwdziała hydroliza. Związki globuliny ze słabszymi kwasami podlegają hydrolizie, tworząc ultramikrony w znacznie większej ilości, niż połączenia z silniejszymi kwasami. Powstałe ze związków soli z globuliną ultramikrony są naładowane elektrycznie, jak wyżej wskazano. Naładowane ultramikrony odznaczają się daleko większą ruchliwością od właściwych jonów białkowych; na mocy tego Hardy odróżnia właściwe jony od rzekomych, to jest naładowanych ultramikronów.

Zależność precypitatów od większej lub mniejszej ilości dodanego kwasu octowego można objaśnić własnościami elektrolitów. Jak wiadomo, sole alkali i magnezu, dodane w większej ilości, strącają białko surowicze; wypadanie białka zależy od anionów. Jeżeli weźmiemy na przykład sole sodowe różnych kwasów, to działanie strącające zależne jest tylko od kwasu i postępuje w następującym porządku: Najsilniej działa:

cytrynian > winian > siarczan > octan > chlorek > azotan > jodek i >rodanek. Octan działa silniej, niż chlorek: wprowadzając więc jony kwasu octowego do środowiska, zawierającego tylko jony chloru, zwiększamy tem samem zdolność precypitacyjną. Te dane objaśniają nam przyczynę, dlaczego kwas octowy tylko w pewnych koncentracjach NaCl zwiększa precypitat, przy nadmiernem zaś nasyceniu (p. tabl. III) wpływ CH_3COOH zostaje paraliżowany nadmiarem jonów chloru.

O wpływie kwasów, a w szczególności kwasu octowego na przebieg aglutynacji znajdujemy w piśmiennictwie dość dużo danych¹⁾. Stwierdzono, że wibryony cholery pod wpływem 1%^o

¹⁾ Szczegóły patrz u Paltauf'a i Kraus'a w II-gim i Fornef'a w III-cim tomie podr. Kolle-Wassermann, 2-gie wyd.

ługu potasowego tracą charakter aglutinogenu odnośnie do surowic swoistych (Neufeld). Neisser i Friedemann zauważyli zdolność osadzania laseczników tyfusowych przez minimalne dawki kwasu. Przy każdym odczynie precypitaty tworzą się szybciej i prędzej (Kraus), kwaśna reakcja sprzyja tworzeniu się opadów, o ile powodują ją kwasy organiczne — kwas octowy lub kwaśne sole (fosforan sodu) (Rostowski). Spadek zdolności opadowych zauważyli w bakterjach duru brzuszego Wassermann przy użyciu silnie zasadowych podłoży, Lentz i Tietz przy stosowaniu agaru z zielenią malachitową, Kirstein przy hodowaniu las. tyfusowych w bezbiałkowym agarze z moczem. Ostatni z autorów spostrzegł wzrost miana przez hodowanie laseczników tyfusowych na kartoflu z dodatkiem 1% kwasu octowego. We wszystkich tych przypadkach zarówno spadek jak wzrost miana wracał do normy po zastosowaniu podłoży zwykłych. Eisenberg¹⁾ przez zmieszanie I cz. surowicy z I cz. HCl $\frac{1}{2}$ N otrzymywał inaktywację, również przez dodatek H₂SO₄, co poczęści udało się aktywować przez szybkie zobojętnienie kwasu. Ze nadmiar kwasu octowego szkodzi aglutyninom, wiadomo też z prac Winterberg'a.

Większość badaczy uznała cechy zbliżone między aglutynacją bakteryj a opadami zawiesin koloidalnych przez elektrolity i niekiedy przez nie-elektrolity; różnicę stwierdzono tylko w działaniu soli i ziem alkali. W ostatnich latach zajmowano się niemało t. zw. kwasową aglutynacją bakteryj, zwłaszcza tyfusowych. Michaelis²⁾ sądzi, że optimum koagulacji białka denaturowanego schodzi się z punktem izoelektrycznym, jaki powstaje przy słabokwaśnej reakcyi roztworów białkowych. Co do bakteryj, te opadają tylko przy pewnym stopniu kwasowości, nie jednakowej dla różnych gatunków bakteryj, wskutek czego aglutynacją kwasową — zdaniem M. — można posiłkować się przy różnicowaniu bakteryj. Według Beniasch'a³⁾, aglutynacja kwasowa nie zależy ani od kwasu ani od anionów, lecz wyłącznie od jonów wodorowych, i występuje tylko przy pewnej określonej koncentracji H—jonów (H): dla bakteryj tyfusowych optimum = 4×10^{-5} . W granicach tejże koncentracji znajduje się

¹⁾ Centr. f. Bakteriolog. 1906, t. 41 str. 760 i nast.

²⁾ Deut. Medic. Wochenschr. 1911, str. 969 i Centr. f. Bakter.

³⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1912, t. 12, str. 368.

grupa bac. enteritidis: paratyphus B i A znajdują się w jednakowych granicach koncentracji H—jonów; również nie da się na tej drodze odróżnić bac. diphteriae od pseudodiphteriae i wogóle bakteryi swoistych od zbliżonych. Sole wywierają wpływ hamujący na aglutynację kwasową.

W dążeniu do uzyskania jaknajwyższego miana precypitacyjno-aglutynacyjnego („pa“), wykonałem jeszcze następujące badania nad wpływem kwaśnych i zasadowych podłoży na własności bakteryj. Do tego celu użyłem ściśle mianowanych podłoży według skali Madsen'a: mianowicie słabo-kwaśnych (+20°), słabo zasadowych (-20°), zasadowych (-60°) i (-105°). Na takich podłożach agarowych zaszczerpiono b. typhi abdomin. i w. cholerae asiat. (szczep. N 36). Hodowla przy 37°C trwała 20 godzin, poczem z nich (po uprzednim przesianiu na podłoża neutralne 0° Madsen'a) wykonano zawiesiny, postawiono je na 3 godziny dla kontroli w cieplarni, i wreszcie agl. z surowicami choleryczną i tyfusową wysoko-aglutynującą w rozc. od 1:50 do 1:20.000, t. j. znacznie powyżej miana tych surowic (p. tabl. VI).

Ponieważ okazało się, że wzrost miana do 1:20.000 nastąpił tylko przy zastosowaniu zawiesin bakteryj z podłoża kwaśnego (+20 M.), to dodatkowo wykonano z 2-dniowej kultury zawiesinę w celu określenia miana najwyższego. Okazało się, że „pa“ dodatnia wyraźnie.

dla zawiesiny tyfusowej przy rozcieńczeniu serum do 1:200.000 !
„ „ cholerycznej nie podniosła się wyżej 1:20.000

Zmniejszenie miana z podłoży alkalicznych również wyraźniejsze było dla bakteryj tyfusowych, jak i wzrost miana.

Z hodowli zaszczerpionych na obojętne podłoża (0° M.) wykonano po 2 godzinach emulsje w celu stwierdzenia rewersybilności zjawiska, t. j. czy zjawiska ubytku i wzrostu są odwracalne czy stałe. Szczegóły i wyniki tej seryi doświadczeń są zestawione w Tabl. VI.

I w tych doświadczeniach, jak i w poprzednich wyjaśniło się, że uczulenie bakteryj zapomocą kwasu octowego więcej wpływa na bakterye tyfusowe, aniżeli na wibryony choleryczne pod względem precypitatów i wzrostu miana precypitacyjnego.

Badania nad zamianą NaCl przez siarczan amonu (tabl. VII i VIII) dowodzą, że zawiesiny mogłyby być przygotowane na 5%

TABLICA VI a.

„Pa“ tyfusowa. Zawiesina bakteryj z jednodniowych kultur na podłożach mianowanych według Madsen'a od +20 do -105. Surowica swoista zwierząt uodpornionych.

Miano „Pa“	Stopnie Madsen'a				odwracalność zjawiska z podłoża 0° M. : pasaze			
	+20	-20	-60	-105	z +20 na 0°	z -20 na 0°	z -60 na 0°	z -105 na 0° M.
1/50	+	+	+	+	+	+	+	+
1/100	+	+	+	+	+	+	+	+
1/200	+	+	+	+	+	+	+	+
1/500	+	+	+	+	+	+	+	+
1/1000	+	+	+	-	+	+	+	+
1/2000	+	+	+	-	+	+	+	+
1/5000	+	+	-	-	+	+	+	+
1/10000	+	+	-	-	+	+	+	+
1/20000	+	-	-	-	+	+	+	+

(na 1 ctm. sz.)

W 4 pion. rubrykach z prawej strony „pa“ w zawiesinach tyfusowych z podłoży 0° M, na których materiał wyszczepiono z podłoży kwaśnych +20° i zasadowych do -105° M.
Wynik zawiesin z 0° = +20° M.

kontrole w 9 próbkach (bez surowicy) ujemne.

Wobec osiągnięcia najwyższego miana w zawiesinach z podłoży słabo-kwaśnych +20 M. (1/20000) wykonana dodatkowo „pa“ z takichże dwudniowych podłoży dała miano aż do 1:200,000!

B. typhi abdom.	+20 M.
1/5000	+
1/10000	+
1/20000	+
1/50000	+
1/100·000	+
1/200·000	+

(NH₄)₂SO₄, ale taka zamiana nie miała żadnego wpływu na przebieg reakcji, ani na wysokość miana.

Cały szereg oznaczeń meiostagminowych wykonano w celu stwierdzenia różnic w napięciu powierzchniowym w precypitynogenach w porównaniu do napięcia pow. mieszanin po związaniu precypitonogenów i precypityny z takim obliczeniem czasu

TABLICA Vlb.

„Pa“ chleryczna (też na 1 ctm. sz.) Zawiesina wibrjonów cholery (szczep № 36) z 1-dniowych hodowli na podłożach mianow. od +20° do -105° Madsen'a. Surowica swoista zwierząt uodpornionych. W prawej części tablicy zjawisko odwracalności: z poprzednich podłóż materyał przeszczepiono na obojętne podłoża (0° M) i z tych ostatnich wykonano zawiesiny.

Miano „pa“	stopni Madsen'a				odwrac. zjawiska				
	+20	-20	-60	-105	z +20 na 0°	z -20 na 0°	z -60 na 0°	z -105 na 0°	
1/50	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/100	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/200	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/500	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/1000	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/2000	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/10000	+	+	-	-	+	+	-	-	
1/20000	+	+	-	-	-	-	-	-	
1/50000	-	-	-	-	-	-	-	-	
1/100000	-	-	-	-	-	-	-	-	

(na 1 ctm. sz.)

Widzimy więc, że wzrost miana cholery z podłóż kwaśnych jest wprawdzie znaczny, ale mniej wybitny niż w zawiesinach tyfusowych; to samo odnosi się do zjawiska odwracalności.

TABLICA VII.

Precypitaty bez udziału surowic swoistych. Zawiesiny przygotowane:

w siarczanie amonu o stężeniu:	b. typhi abd.	v. cholerae asiatic.
76 %	+	+
38 „	+	+
19 „	+	+
9.5 „	-	-
4.75 „	-	-
2.38 „	-	-
1.19 „	-	-
0.59 „	-	-

„Pa“: zawiesiny laseczników tyfusowych i wibrjonów cholery (szczep. № 21) w siarczanie amonu o nasyceniu 19% i 9.5%; surowice wysoko-aglutynujące swoiste w rozc. od 1 : 50 do 1 : 200000. Każda próba wykonana w 10 prob. i 2 kontrolach.

konc. 19% (NH₄)₂ SO₄ zawiesiny : 1 ctm. sz.
 b. typhi + serum typh. „pa“ = 1 : 1000
 v. cholerae 21 + ser. chol. „ = 1 : 2000
 w kontrolach niema opadów

konc. 9.5% (NH₄)₂ SO₄ zawiesiny : 1 ctm. sz.
 b. typhi + serum typh. „pa“ = 1 : 1000
 v. cholerae 21 + ser. chol. „ = 1 : 2000
 (takie same miano otrzymano w fizyol. roztw. NaCl.)

surow. chorego (4 tydzień) tyfusowego + zawiesina w 20% siarcz. amonu:

	b. typhi abd.	b. paratyphi B.
1/50	+	+
1/100	+	+
1/200	+	+
kontr. bez surowicy	-	+

} taki sam wynik i w zwykłym fizyol. roztw. NaCl.

(bez surowicy!)

TABLICA VIII.

Zmiany fizyczne w zawiesinach bakteryjnych bez udziału surowicy i z dodatkiem serum w granicach „pa“. *Vibrio cholerae* asiatic. + serum cholerae. (rozc. 1 : 1000).

Reakcja meiostragminowa *Ascoli* wykonana za pomocą stalagmometru (na ctm. sz. płynu).

Stężenie roztworu (NH ₄) ₂ SO ₄ :	Roztw. siarcz. am. + bakterie (bez serum)	Zawiesina bakterii w siarcz. am. + serum (2 godz. w cieplarni)	Przyrost (w stalagm.)
5 %	17,0	18,2	1,2
10 %	17,1	18,3	1,2
15 %	17,5	18,2	0,7
20 %	18,5	19,1	0,6
25 %	17,5	19,0	1,5
30 %	17,6	19,6	2,0
35 %	18,0	19,6	1,6
40 %	17,7	21,2	3,5

Tylko w 5 i 10% roztworze nie było w kontrolach opadów samoistnych.

Określenie przewodnictwa elektrycznego zawiesiny bakt. tyfusowych w 5% roztw. (NH₄)₂ SO₄ (przy porównawczym oporze 80 Ohm.)

1) 5% roztwór	79.4 Ohm.	} przewodn. przec. 0.00107
2) zawies. tyfus. w 5% roztw.	79.9 "	
3) " + sur. agl. 1 : 500	79.5 "	
4) " + sur. chor. 1 : 60	79.5 "	
5) " + sur. chor. 1 : 500	79.7 "	

w 0.85% roztw. NaCl (przy porównawczym oporze 70 Ohm.)

1) bez bakterij 0.85% roztw.	76.5 Ohm.	} przewodn. 0.00174
2) zawies. tyfusowe	77.3 "	
3) " + sur. aglut. 1 : 500	77.5 "	
4) " + sur. chor. 1 : 60	77.7 "	
5) " + sur. chor. 1 : 500	77.7 "	

w 2.55% roztw. NaCl (przy porównawczym oporze 80 Ohm.)

1) sam roztwór 2.55%	79.4 Ohm.	} przewodn. 0.00126
2) zawiesina bakterij w nim	79.7 "	
3) " + sur. aglut. 1 : 500	79.6 "	
4) " + sur. chor. 1 : 60	79.8 "	
5) " + sur. aglut. 1 : 500	79.5 "	

że reakcja była powtarzana po 2 godzinach, t. j. między pierwszym („periode d'impresion“ *Bordet'a*) a drugim okresem (agglutination proprement dite“) precypitacji.

Antygeny do niektórych z tych doświadczeń były wykonane metodą *Ascoli*. Różnice między 2-ma oznaczeniami okazały się tak drobne i niestałe, a często nawet biegunowo sprzeczne, że nie można z nich wyciągać dalej idących wniosków i potwierdzić poglądu *Pauli*, według którego zarówno w precypitacji koloidalnej, jak i aglutynacji bakteryjnej zjawiska zależne są od zmian w napięciu powierzchniowym. Należy zaznaczyć, że wiele teorii, mających objaśnić zjawisko precypitacji, brały pod uwagę zależność koloidów od soli, zjawiska adsorbcyjne, zależne od kwasów i zasad, jak również i metali, zmian w napięciu po-

wierzchniowem lub lepkości (Pauli), ale te dane nie posiadają ściślej analogii do wzajemnego oddziaływania dwóch ciał białkowych, wzajemnie swoistych, dających opady w obecności soli; oraz braku opadu w tych wypadkach, jeżeli jedno z tych ciał było nie swoistem względem drugiego. Według nowszych badań Pribrama, bakteryjne zawiesiny mają charakter emulsyi, która pod działaniem surowicy swoistej aglutynującej nabiera suspensoidowego charakteru kolloidów.

Nie będę przytaczał całego szeregu teoryj, mających na celu udowodnienie, że aglutynacja jest reakcją wybitnie koloidalną, i że tworzenie się swoistych precypitatów zależne jest i od napięcia powierzchniowego i od zmian w stosunku roztworów (bakteryjno-białkowe zawiesiny należą do hydrophilowych albo lyophilowych kolloidów).

Wreszcie w ostatniej seryi doświadczeń przekonałem się, że wpływ dodatni¹⁾ na wysokość miana „pa” wywiera inaktywacja zawiesin w ciągu 1 godziny przy 56—64°, słabo oddziaływa dodatek komplementu, niema wpływu ogrzewanie surowicy.

Wnioski:

1) Dążenie do otrzymania wzrostu miana precypitacyjnego i aglutynacyjnego ma na celu taką zmianę metodyki badania, aby umożliwić wykrycie swoistych precypityn i aglutynin w surowicy krwi (wczesne okresy duru brzuszego, gruźlica), w wydzielinach chorych i wogóle w tych wszystkich stanach chorobowych, przy których ujemne wyniki agl. i prec. objaśniają się małą zawartością przeciwciał, odpowiadającą w znaczeniu ilościowym wyższym rozcieńczeniu surowic swoistych powyżej ich miana.

2) Wzrost miana aglutynacyjnego bakteryj tyfusowych i cholerycznych uzyskać można przez zwiększenie równomierne surowicy i zawiesiny 3—5 do 10 razy, w ten sposób jednak, aby stopień rozcieńczenia surowicy i stosunek wzajemny składników pozostał bez zmiany. Naprz. w razie ujemnej reakcji Widala można surowicę rozcieńczyć w dowolny sposób, naprz. 1:100

¹⁾ Por. C. Moreschi. Beschleunigung und Verstärkung der Bakterienagglutination durch Antieiwessera, Centr. f. Bakteriol. 1907, t. 46, str. 456.

TABLICA IX-a*).

Reakcja meiostragminowa Asc o li. Wpływ łączenia aglutynin z aglutynogena mi bez udziału lub z udziałem dopełniacza (komplementa) na napięcie powierzchniowe.

Surowica tyfusowa wysokoaglutynująca.

Surowica tyfus. rozc. 1:20	Surow. tyfus. + antyg. 24 g. tyf. (Asc o li)	Surow. tyfus. + antyg. 24-h tyf. + komplem.	Sur. tyf. ogrzew. + antyg. 24-h tyf. + komplem.	Surow tyfusowa + antyg. cholera.	Surowica tyfus. + ant. cholera. + komplem.
- 0.5	+ 0.6	+ 0.9	+ 1.0	+ 1.4	+ 0.6
- 0.5	+ 0.5	+ 0.6	- 0.2	+ 0.5	+ 0.5
- 0.2	+ 0.5	- 1.0		- 0.4	+ 1.5
+ 0.3	- 0.5	+ 0.3			
	+ 0.3				

Surowica choleryczna wysokoaglutynująca.

Surowica choleryczna w rozc. 1:20	Sur. cholera. + 24 g. ant. cholery (Asc o li)	Surow. chol. + 24-h ant. chol. + kom.	Sur. chol. ogrz. + 24-h antyg. cholery	Sur. cholera. ogrz. + 24-h antyg. chol. + komplem.	Sur. cholera. + 24-h ant. tyfusowy	Sur. cholera. + antyg. tyf. + komplem.	Sur. cholera. ogrz. + ant. tyf. + komplem.
+ 0.3	+ 2.1	+ 1.6	+ 1.4	+ 0.4	+ 0.3	+ 0.3	+ 0.1
	- 0.7	+ 1.5		0	- 1.0	0	0
	0	+ 0.4			- 0.4		

*.) W wykonaniu reakcji meiostragminowej (tabl. VIII, I X-a, IX-b) pomagała mi K. Sterlinżanka.

TABLICA X*)

Komplementowanie aglutynin i precypityn surowicą normalną (aglut. na 1 ctm. sz.).

1 ^h term. 37°	2 ^h bez term.	noc bez term.
Szczep chol. N 36 1:4000 aglut.-prec. bez komplem. + komplem 1:10000	1:5000 1:10000	1:10000 —
Szczep chol. N 37 1:4000 agl. prec. bez. komplem. + z komplem. 1:10000	1:10000 1:10000	— —
B. typhi abd. agl. prec. bez komp. (sur. wysokoagl. " + kompl.	14 godz. w cieplarnie 1:5000 1:20000	
z zaw. tyfusową: sur. chor. tyf. " " " + kompl. " " ogrzew. 1 ^h 56° " " " + kompl.	16 ^h ^t 1:500 1:1000 1:1000 1:3000	30 ^h term. 1:500 1:1000 1:1000 1:5000
Sur chor. tyf. " + komplem. Zaw. ogrz. 1 ^h 56° + kompl. " " " bez komp.	1:200 1:500 1:20000 1:200	1:500 1:500 d-tto 1:500
Sur. chor. tyf. " " + komplem. " " inakt. 1 ^h 56° . " " " + kompl.	1:100 1:200 1:200 1:200	— — — —
Em. ogrz. 1 ^h 56 - 64 . . . " " + kompl. " " + sur. ogrzew. Ein. in. + Ser. in. + kompl.	16 ^h : 1:100 1:500 1:1000	Osad nieznaczny 1:500 1:1000 1:500 1:1000
	24 ^h w term.	
r. Widala (23 dni chor.) " + kompl. " + kompl. in. 58° " + k.; ser. ogrz. 58° " + ser. agl. 1/10000	1:50 1:100 1:100 1:50 1:50	

36 ^h w term.		
r. Widala (13 dzień chor.) 1:200 " " + komplem. 1:500 " " + " ogrz. 58° 1 ^h 1:500 " " + " ; sur. ogr. 58° 1:500 " " + ser. aglut. 1/10000 1:1000	} osady wszędzie małe bez pre- cipitatu.	
r. Widala (16 dni) " + kompl. " + sur. agl. tyf. 1/10000	16 ^h 1:200 1:500 1:100! 24 ^h	36 ^h term. 1:500 1:1000 1:100! 36 ^h
r. Widala (19 d. ch.) " + kompl. " + sur. agl. tyf. 1/10000	1:100 1:200 1:100! 24 ^h	1:100 1:200 1:100!
r. Widala (14 d. chor.) " + kompl. " zaw. tyfus. inakt. 1 ^h 56°—64° " + kompl. inakt.	24 ^h — 1:100 1:200 1:100	
r. Widala (31 dni) " " + komplem. " " + " (surow. inaktyw.) " + kompl. inaktyw.	16 ^h 24 ^h term. 1:50 1:50 1:100 1:100 — — 1:50 1:50	

*) w wykonaniu zawart. w X tabl. badań oraz zbieraniu krwi chorych szpitalnych pomagał mi współpracownik p. Leon Szereszewski.

i 1:1000 lub wyżej, i z każdego rozcieńczenia wykonać aglutynację na 3—5 lub więcej (do 10) centm. sześ.

3) Należy przy oznaczaniu miana zwracać uwagę na ilość użytych substancji, czyli nie tylko wiedzieć stopień rozcz. surowicy, ale i objętość mieszaniny (1, 3, 5 i t. d. ctm. sz.).

4) Przy badaniu prec. i agl. w większej objętości płynów zwracać trzeba uwagę na próby kontrolowe: naprz. sama zawiesina w jednej, surowica chorego + zawiesina odmiennych bakterij w drugiej probówce (p. tabl. I i II: mieszanie surow. chol. z zawiesinami tyfusowymi i odwrotnie).

5) Bardzo wybitny wzrost miana „pa“ uzyskać można przez hodowanie bakterij, zwłaszcza tyfusowych, na podłożach — 20°, C° i + 20° stopni Madsena; koniecznym jest przy takich próbach ściśle oznaczać stopień kwasowości lub zasadowości podłoża: nie wystarcza wyrażenie „kwaśne“, „alkaliczne“ i t. d.

6) Wzrost miana otrzymuje się też przez dodatek kwasu octowego (5 do 10%) w minimalnych ilościach, naprz. 1 kropla na 1 ctm. sz. zawiesiny, o ile koncentracja NaCl odpowiada fizjol. roztworowi (0.85) lub podwójnej i potrójnej (2,55%). Natomiast minimalny dodatek CH₃.COOH do bardziej stężonych roztworów soli hamuje zjawisko „pa“ i zmniejsza miano.

7) Nie można dodawać większej koncentracji CH₃.COOH. w obawie zupełnego powstrzymania danej reakcji. Nie można też łączyć dwóch sposobów w dążeniu do uzyskania jaknajwyższego miana, ponieważ mogą wypaść opady samoistne bez udziału surowicy: naprz. do zawiesiny tyfusowej z podłoż + 20° M. nie trzeba dodawać CH₃.COOH, ponieważ wypadają osady nie swoje.

8) Zwiększanie konc. soli powyżej 1.70% lub zamiana NaCl przez (NH₄)₂SO₄ i inne sole nie może być zalecane, jako ogólna metoda, chociaż odnośnie do poszczególnych gatunków bakterij (naprz. jednego ze szczepów cholery) może wykazywać wzrost miana „pa“.

9) Próba pierścieniowa, jakkolwiek wypada dodatnio, nie może być zalecana do praktyki aglutynacyjnej ze względu na trudności metodyczne; to samo odnosi się i do prób z wysuszo-nymi preparatami bakterijnymi.

10) Wzrost miana „pa“ otrzymuje się też przez ogrzewanie zawiesin bakteryjnych do 56° i nie wyżej 64°C.; natomiast ogrze-

wanie surowic ani komplementowanie świeżą surowicą nie wywiera w tym kierunku wybitniejszego wpływu, prócz jedynie wzmożenia precypitatów w niższych rozcieńczeniach i osłabienia t. zw. zony hamującej.

11) Koncentracja przeciwciał, jaka stosuje się do surowic antytoksyecznych, nie może mieć zastosowania do potęgowania aglutynin i precypityn.

12) Pod wpływem surowicy chorych jak i surowicy zwierząt uodpornionych w połączeniu z odpowiednią zawiesiną bakteryjną (nietylko z przesączem ostatniej) odbywają się równorzędnie w jednych i tych samych próbach obydwie zjawiska — aglutynacja i precypitacja, przyczem opady prec. są 10—20 razy większe od opadów bakteryjnych. Z powodu wyższego miana aglutyn. od precypitacyjnego tylko w wyższych rozcieńczeniach otrzymujemy opady bakteryjne.

13) Zapomocą powyższych sposobów osiągnąć można wzrost miana precyp. aglutynacyjnego różnych gatunków, ale nie wszystkich w jednakowym stopniu: z pośród zbadanych najwybitniej wzmożnić można miano aglut. i precyp. tyfusowe, znacznie słabiej v. cholerae (negatywnie b. coli com.). Praca niniejsza miała przedewszystkiem na celu opracowanie metod, dążących do „wzrostu miana“, nie rozstrzyga jednak zgoła, w jakich granicach metody te znajdują praktyczne zastosowanie w klinice lekarskiej.

RÉSUMÉ.

St. Serkowski:

**Action de certains agents physico - chimiques
sur le phénomène de la précipitation.**

Communication annoncée le 15 X. 1915.

Au cours des expériences sur la réaction de Widal et l'agglutination bactérienne sous l'action du sérum des animaux immunisés, j'ai observé nombre de faits qui s'écartent considérablement des inductions admises; j'ai donc résolu d'examiner ces données à l'aide des expériences systématiques. Elles ont eu pour but capital:

1. d'établir les relations quantitatives et la dépendance mutuelle de tous les trois agents participant à la réaction.

2. d'examiner, si les précipitines participent aux précipités spécifiques, c. à d. si les précipités — en dehors des agglutinats bactériens—renferment encore des précipités globulineux.

3. d'examiner, si certaines réactions (par ex. l'épreuve de Uhlenhuth, appliquée par Krause aux filtrats abactériens) peuvent être utilisées également pour les émulsions bactériennes.

4. d'établir si les précipités ne peuvent pas être obtenus exclusivement par l'action catalytique des bactéries spécifiques, ou bien, si les émulsions bactériennes ou leurs filtrats y doivent participer absolument.

5. d'éclairer si l'élévation observée du titre agglutinatif ne pourrait pas être subordonnée à: 1) la quantité absolue du précipitinogène et de la précipitine; 2) aux modifications des degrés de saturation des sels de NaCl depuis 0.85 à 8.5%; 3) à la substitution de NaCl par $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, NaSO_4 , 4) à l'addition de CH_3 , COOH et autres.

et 6) d'établir, s'il aurait été possible de modifier la méthode des recherches et la rendre capable de faciliter l'obtention d'un titre considérablement plus élevé et, en conséquence, des résultats positifs dans les cas où le contenu de précipitine, resp. de l'agglutinine est insignifiant (dans le sérum des malades typhiques pendant la première période de la maladie, dans la tuberculose, et de suite).

Je renonce à décrire les procédés d'effectuer l'agglutination macroscopique dans les capillaires, dans de petites éprouvettes minces, rapportées à 1 cc., dans des éprouvettes plus grandes sur des plaques et de suite. Tous ces procédés sont basés sur cette supposition que le résultat de l'épreuve macroscopique dépend du degré de dilution du sérum et de la préparation convenable de l'émulsion bactérienne, sans égard à la grandeur des récipients, resp. au volume des liquides mêlés—c. à d. du sé-

rum dilué et de l'émulsion. Suivant l'opinion admise les titres égaux sont à obtenir dans 0.5, 1.0, 5 ou 10 cc. de mélange; il ne s'agit que du degré exact de dilution du sérum.

Les expériences suivantes démontrent, si la supposition ci-dessus répond aux faits réels. Les sérums divers — après le titrage (rapporté à 1 cc.) furent mêlés avec un tel volume d'émulsion, que leur relation en resta invariable: on effectua ce mélange par l'augmentation simultanée de la quantité de deux substances dans chaque éprouvette suivante, tout en maintenant le degré de dilution de la première éprouvette; ainsi par exemple: 1) 1 cc. d'émulsion bactérienne 1 goutte de précipitine diluée à 1/100; 2) 2 cc. d'émulsion + 2 gouttes de précipitine; 3) 3 cc. 3 gouttes et de suite.

Inductions de ces recherches: sur le résultat de la précipitation réagit non seulement le degré de dilution du sérum spécifique, mais aussi la quantité absolue des substances employées. Si le titre, rapporté à 1 cc. du mélange général, égale 1:200, dans les doses 5 fois plus fortes il va s'évaluer à 1:200; le sérum de haute agglutination augmente le titre de 1:2500 jusqu'à 1:2000; dans les doses augmentant progressivement le titre des sérums s'élève toujours, sans limites. De là la conclusion ultérieure: lorsque le sérum du malade dans les premières périodes du typhus abdomin. n'agglutine pas, la dilution étant usuelle (1:25 — 50 — 100 — 200) et la quantité du mélange employée montant à 1 cc. — alors l'agglutination est à renouveler en doses plus fortes (de 5 à 10 fois), la dilution du sérum maintenue invariable. Cela se rapporte également aux autres processus infectieux, par exemple, à la dysentérie, la tuberculose etc. Les précipités dépendent de la quantité absolue des éléments, laquelle de son côté n'est subordonnée à la dilution des précipitines, resp. des agglutinines, que de manière suivante: lorsque la dilution des agglutinines est immense, il est nécessaire

TABLE I.

		50	100	200	250	500	1000	2000	4000	8000	10.000	contrôle
Titre rapporté a 1 cc.	De sérum typhique de haute agglutination .	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	De sérum d'un malade du typhus abd. (10-me jour de maladie) . .	z h	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	De sérum de choléra de haute agglutination .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Agglutination au-dessus de titre.

Les doses de sérum et d'émulsion augmentent progressivement, mais leur relation et le degré de dilution dans chacune des six éprouvettes restent invariables.

	Les émulsions rapportées— 1 à 6 cc.						K émulsion sans sérum	Rémarques
	1	2	3	4	5	6		
Sérum typhique de haute agglutination, dilué de 1:4000 + émulsion typhique	-	-	+	+	+	+	-	Le précipité dans la cinquième et sixième éprouvette reste le même (quoique la dilution de sérum = 1:40000) comme ci-dessus, étant dilué de 1:100 — 1000
Sérum typhique de haute aggl. dilué de 1:8000 + émulsion typhique	-	-	+	+	+	+	-	Précipité dans la 5-ème et 6-ème éprouvette dilué de 1:8000 = précip. dilué 1:100 — 1000
Sérum d'un malade typhique dilué de 1:1000 + émulsion typhique	-	-	+	+	+	+	-	Préc. dans la 4-ème, 5-ème et 6-ème éprouvette, le sérum étant dilué de 1:1000 = précip. dilué de 1:100 — 200
Sérum du même malade dilué de 1:10000 + émulsion typhique	-	-	+	+	+	+	-	Comme ci-dessus quand même le sérum est dilué de 1:2000
Sérum cholérique de haute aggl. dilué de 1:10000 + émulsion de vibr. chol.	-	+	+	+	+	+	-	Précipité dans la 4-ème, 5-ème et 6-ème éprouvette, le sérum étant dilué de 1:10000 = précip. 1:50 — 1:4000
Sérum cholérique de haute aggl. dilué de 1:20000 + émulsion de vibr. chol.	-	-	+	+	+	+	-	Comme ci-dessus quand même le sérum est dilué de 1:20000
Sérum cholérique de haute aggl. dilué 1:20000 + émulsion typhique	-	-	-	-	-	-	-	Contrôle 2-ème: sérum sans émulsion négative

Les expériences pareilles furent exécutées quatre fois, le résultat en restait toujours le même: positif dans les éprouvettes 4, 5 et 6. On a remarqué les différences insignifiantes dans des éprouvettes 2 et 3.

d'augmenter la quantité absolue des éléments 8 — 10 fois, au lieu de 3—5; cette dépendance est démontrée par les expériences comparées dans la table II.

Nombre d'auteurs ont observé sporadiquement l'élévation du titre agglutinatif sous l'action des modifications dans le sérum même, amenées par des causes diverses. Ainsi par exemple

TABLE II.

Titre de sérum reste invariable. La quantité de deux substances augmente simultanément et relativement au contenu de cette éprouvette ainsi que la 2-e épr. contient 2 X contenu de la 1-ère; la 3-ème = 3 X 1 etc.

	L'expérience pour 1 — 8 cc.								Dans 8 K (contrôle) sérum sans émulsion.	
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Sérum d'un malade typhique (1-er jour de maladie) dilué de $\frac{1}{2000}$ + émulsion typh.	—	—	±	+	+	+	+	+	—	} sérum dilué de 1:1000.
Sérum d'un cobaye, dilué de $\frac{1}{1000}$ + émulsion typh.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Sérum typhique de haute agglut. $\frac{1}{4000}$ + émulsion cholérique	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Sérum typhique de haute agglut. $\frac{1}{4000}$ + émulsion typhique.	—	—	±	+	++	++	++	++	—	
Sérum typhique de haute agglut. $\frac{1}{40000}$ + émulsion typh.	—	—	—	±	++	++	++	++	—	
Sérum typhique agglut. dilué de $\frac{1}{10000}$ + émulsion typh.	—	—	±	+	++	++	++	++	—	
Sérum cholér. de basse agglut. (3 gouttes d'injection) dilué de $\frac{1}{20000}$ + émulsion chol.	—	—	—	±	+	++	++	++	—	
Sérum cholér. de basse agglut. (5 gouttes d'injection) dilué $\frac{1}{20000}$ + émulsion cholér.	—	—	±	+	++	++	++	++	—	
Sérum d'un homme inoculé avant 11 mois 3 fois de vaccin cholérique	—	—	—	+	+	+	+	+	—	
Sérum d'un homme inoculé avant 3 mois 2 fois de vaccin typhique	—	—	—	±	+	+	+	+	—	



R. Scheller ¹⁾, Glässner ²⁾ et F. Eisenberg ³⁾ ont constaté une élévation du titre dans les sérums plus anciens en comparaison aux sérums venant d'être prélevés.

Tâchant de trouver dans la théorie des colloïdes une explication des phénomènes mentionnés (tables I et II) qui consistent plutôt dans le rôle du volume des deux éléments, que dans celui du degré de la dilution du sérum spécifique, je n'y trouve point d'analogie précise. Le dépendance de la pression osmotique de la quantité des particules dans le volume envisagé ⁴⁾ fut constatée à maintes reprises. Toutefois, il est possible que la quantité est également de quelque importance dans le phénomène en question. Les solutions colloïdales souvent varient progressivement en accord avec modifications dans les particules mêmes; les amicrones deviennent des submicrones; en fin de compte s'effectue la coagulation au cours de laquelle on peut remarquer un baissement de la pression osmotique. L'action des électrolytes sur la pression osmotique de Il albumen est constatée: donc, conformément, dans notre cas la solution du sel en agissant sur une quantité supérieure d'albumen, abaisse sa pression osmotique: des modifications ont lieu dans les micrones mêmes et sont suivies par la coagulation. Cette exolication ne nous éclaire point ni l'action et la participation du sérum spécifique, ni le rôle des doses plus fortes de précipitogène.

Dans la base fondamentale de la formation des précipités spécifiques l'on distingue le phénomène de précipitation de celui d'agglutination: la première comprend l'amas des corps bactériens, formant dépôt; la seconde—la coagulation des composés dissolus dans les extraits et les filtrats abactériens. Et l'un et l'autre phénomène exigent la coopération simultanée de trois

¹⁾ Centralbl. f. Bakteriologie. 1904, t. 36, p. 427, 694 et 1905, v. 38, p. 100

²⁾ Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 1905, v. 1, p. 640.

³⁾ C. f. Bakter. 1906, v. 41, p. 96 et suiv.

⁴⁾ v. R. Zsigmondy, Kolloidchemie 1912, p. 42.

agents: de l'antigène (agglutinogène resp. précipitinogène), de l'anticorps (l'agglutinine resp. la précipitine) et de la solution physiologique de NaCl.

Nombre d'ouvrages essayent tantôt d'identifier ou à tirer l'analogie des deux phénomènes, tantôt de mettre en évidence la différence essentielle entre eux. En me basant sur mes observations de la pratique, je désire exprimer l'opinion que les deux phénomènes ont lieu simultanément dans les mêmes éprouvettes, aussi bien sous l'action du sérum des malades, que sous celle du sérum des animaux immunisés, en combinaison avec l'émulsion bactérienne convenable: l'agglutination est presque toujours accompagnée de précipitation. Cette dernière dans les dilutions plus faibles est tellement supérieure à la première, que l'on parle de l'agglutination positive dans les cas où il aurait fallu constater la présence de la précipitation.

J'ai constaté non seulement à l'examen macroscopique usuel, mais aussi au moyen du pésage, que le précipité fut 10 20 fois plus grand que la masse employée des corps bactériens. A l'examen microscopique j'ai eu également occasion d'observer à maintes reprises que les conglomerats bactériens dans les agglutinats spécifiques font la minorité infime, tandis que la majorité de précipités est formée par des masses et des flocons amorphes, abactériens: donc, le précipité a l'avantage sur l'agglutinat.

En additionnant l'émulsion bactérienne du sérum spécifique convenable, dans des éprouvettes sériées, en des doses progressivement diminuantes (donc, dans une concentration graduellement plus faible), on observe invariablement une agglutination nette dans les solutions plus faibles, et l'agglutination partielle dans les solutions plus fortes.

Ce phénomène généralement connu s'explique — d'après mon opinion — par ce fait que l'agglutination dite „nette“ est la combinaison de la précipitation avec l'agglomération, tandis

que les précipités partiels ne renferment que des agglutinats: autrement dit, le titre du sérum agglutinatif est toujours supérieur à celui du précipitatif. Même lorsque les précipités partiels font défaut à la réaction effectuée qui arrive parfois, quand la différence des degrés de dilution est très considérable (par ex. 250 — 500 — 1000 etc.) — les précipités se forment quand même, lorsqu'on aura eu recours à une graduation plus forte, comme de différences plus petites entre les dilutions progressives.

Il m'est souvent arrivé d'obtenir la réaction partielle de Widal (ou l'agglutination proprement dite), le sérum étant dilué de 1:250, et l'agglutination nette à la dilution de 1:200; ce n'est que dans la dilution dernière que j'ai pu constater des précipités, évidemment conjointement aux agglutinats.

Pour déterminer les propriétés chimiques des précipités formés, j'ai fait les expériences suivantes: à l'aide d'une pipette capillaire je prélevais le liquide au-dessus du précipité; ensuite je lavais le précipité deux fois dans la solution physiologique de NaCl: le liquide épuré se montra insoluble dans l'eau stérilisée et dissoluble dans les solutions faibles de NaCl et de lessive; après avoir isolé la solution de NaCl, je dissolvais le dépôt dans une faible solution de natrium causticum (1%). Le liquide obtenu, renfermant des quantités minimales de flocons indissolus, fut passé deux fois par un cornet de papier non-collé, propre chimiquement; avec le filtrat éclairci j'ai exécuté les réactions suivantes:

1. Une partie de ce filtrat fut additionnée du volume égal de solution de sulfate d'ammonium saturé qui provoqua une opacité distincte, tombante successivement. Le sulfate de magnésium provoque également un dépôt dans le liquide saturé.

2. A la seconde partie du filtrat on ajoute une goutte de l'acide acétique dilué qui provoque également un brouillement, suivi bientôt d'un faible dépôt floconneux.

3. A la troisième partie du filtrat on ajoute de l'acide

phosphorique wolframé; dans la région de contact des deux liquides il eut formation d'un cercle blanc.

4. La quatrième partie sélée de l'alcool se brouilla et forma après quelque temps un dépôt.

Toutes ces expériences, et surtout la première, montrent que les précipités sont dus aux composés appartenant au groupe des globulines. Il n'y eut qu'une petite partie des précipités sous forme des flocons insolubles, renfermant des bactéries et un peu de globuline. puisque la dissolubilité incomplète dans la lessive put être amenée par le séjour prolongé des dépôts dans la solution de NaCl; certaines espèces de globuline deviennent indissolubles après un séjour plus long dans les solutions aqueuses ou acides.

Dans la suite de mes expériences j'ai tâché d'établir si la réaction précipitative annulaire d'Uhlenhuth (employé par Krause pour les filtrats abactériens) serait applicable aux émulsions bactériennes au moyen de stratification avec un sérum spécifique convenable. Je me suis également servi de la modification de ce réactif proposée pour les saignements occultes et préparée par mon collaborateur B. Kretkowski (St. Petersburger Mediz. Wochenschr. 1909). Le procédé de sa préparation est suivant: le sérum spécifique dilué et non-dilué — dans des éprouvettes très minces fut additionné d'une émulsion épaisse des bactéries convenables; cette émulsion fut préparée non point avec la solution physiologique de NaCl, mais en concentration double; à l'aide d'une pipette l'émulsion fut coulée avec précaution le long de la paroi, afin de former deux couches. Le sérum étant concentré, l'émulsion forme la couche inférieure; lorsque le sérum était dilué elle vint se poser dessus et forma ainsi la couche supérieure.

J'ai aperçu que sitôt la stratification effectuée, un large anneau blanc se forme au point de contact des liquides dans les cas où la précipitine et le précipitinogène employés furent homologues; par ex. le sérum d'un malade typhique et l'emul-

sion épaisse de b. typhique dans la solution de NaCl à 1.7 p. 100. D'ordinaire cet anneau se forme tout de suite, en tous cas point plus tard que dans 20—40 minutes, à la t° de chambre. Cette réaction fut parfois tellement nette, qu'il fut possible, dans une longue série d'éprouvettes, décélérer et déterminer à l'instant celle dont les deux substances mises en contact furent mutuellement spécifiques.

Les expériences pareilles furent exécutées par centaines et je m'abstiens à en décrire les détails, puisqu'au fin de compte leurs résultats se sont montrées inapplicables à l'emploi pratique. Notamment, la même réaction faite avec les mêmes réactifs, répétée dans plusieurs éprouvettes donne des résultats qui ne s'accordent pas complètement; ils sont positifs dans les unes, négatifs dans les autres. Dans les négatifs se forment des précipités au lieu des anneaux. L'épaisseur de l'émulsion, la stratification plus ou moins soignée et bien souvent le phénomène des précipités non-spécifiques, occasionné par la saturation excessive du sérum et par l'épaisseur de l'émulsion—exercent une action sur le résultat.

Pour obtenir des précipités on peut employer les préparations bactériennes desséchées, au lieu des émulsions bactériennes, ou des filtrats. J'en ai acquis la certitude, en plongeant des capillaires très fins dans le sérum des malades typhiques dilué de 1:1 à 1:1000 fois. La surface des capillaires fut couverte d'une mince couche d'émulsion typhique; celle-ci fut desséchée ensuite et lavée minutieusement dans l'eau, avant d'être plongée dans le sérum, afin que les cellules bactériennes vinsent en contact avec le sérum, sans former d'émulsion. Le précipité net obtenu dans plusieurs éprouvettes sous l'action catalytique des bactéries, à l'intérieur ou à l'extérieur des capillaires, prouve que les précipités spécifiques peuvent être obtenus dans les cas de l'absence d'émulsion ou du filtrat. En appliquant une plus grande quantité de sérum (jusqu'à 3—5 cc., parfois même à 1 cc.) on obtient des précipités nets, mais le résultat dépend

d'une condition difficile à remplir et à contrôler, et notamment: la couche des bactéries desséchées doit être assez épaisse; elle doit adhérer étroitement à la surface et ne pas être emportée par le courant d'eau. Grand nombre d'expériences relatives furent exécutées, que je ne décrirai pourtant pas à cette place, vu les causes sus-indiquées qui rendent impossible l'application pratique autant de ces épreuves, que des expériences annulaires.

Depuis la découverte de la réaction de Widal, de nombreux auteurs ont établi le fait, que la réaction positive ne peut pas être obtenue plus tôt en moyenne, que le 7—11 jour de la maladie. La réaction positive a quelquefois lieu au 3—5 jour, bien que très rarement, mais on observe des cas bien plus nombreux, où la réaction de Widal n'eut lieu qu'au 18, 22, 25, 32 et même au 40 jour de la maladie. Donc, dans la première période du typhus abdom., lorsqu'une diagnose au juste temps aurait été de grande importance, la réaction sérodiagnostique fait défaut.

L'agglutination dans la tuberculose est décevante de même. Il est connu (Arloing et Carmont, 1898), que le sérum des tuberculeux n'agglutine point, ou bien qu'il donne des précipités dans une dilution peu supérieure à la norme physiologique 1:5 à 20; d'après Jessen—le titre le plus bas est 1:25. C'est pourquoi l'on a eu jusqu'à 30% des résultats positifs chez des personnes absolument bien portantes (25% chez Paltauf, 22—55% chez Carrières); tandis que le sérum des malades tuberculeux, quelquefois même des atteints de phtisie granuleuse donna une réaction positive dans 15—88% des cas chez le premier, et dans 51—58% chez le second de ces auteurs.

Il existe donc de nombreuses données confirmant qu'autant dans la première période du typhus abdom., qu'au cours de la tuberculose, le sérum des malades renferme trop peu d'anticorps par rapport à la quantité indispensable pour rendre

manifestes les réactions sérodiagnostiques — l'agglutination et la précipitation. Nous sommes donc obligés à exalter la concentration des anticorps, ainsi que la sensibilisation de la réaction même, resp, l'élévation du titre.

De nombreux procédés concernant la concentration des anticorps dans les sérums antitoxiques ont été proposés ¹⁾; des plus connus je mentionne le procédé de Gibson—précipitation avec le sulfate d'ammonium (concentration triple), de Gibson-Banzhaft (concentration quintuple); puis les procédés plus récents de Brieger-Krause—à l'aide de chlorure de natrium; de Brunner-Pinkus—de sulfate de natrium, et ainsi de suite. Ces données sont inapplicables à la concentration des précipitines.

La question, sur laquelle on n'est pas fixé jusqu'à présent—et notamment, avec quelle fraction globulineuse se combinent les précipitines et les agglutinines spécifiques est en rapport étroit avec le sujet de mes expériences exécutées et à faire. Les inductions des auteurs ne sont point concordantes, et il n'est pas connu exactement si la précipitine et l'agglutinine se composent avec l'euglobuline, ou bien avec la pseudoglobuline ²⁾. On sait seulement qu'aucun des anticorps ne se compose pas avec l'albumine. C'est pourquoi, dans le plan de mes expériences

¹⁾ Sur la concentration des anticorps par la congélation (procédé de Bujwid) et par l'isolement de globuline des sérums—v.: Samuely, dans le manuel d'Abderhalden. Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, 1900, v. 2, p. 360; dans le manuel de Hoppe-Seyler: Handbuch d. phys. u. path. chem. Analyse, 1909, ed. 8, p. 406; en partie dans le man. de chimie physiolog. de Hammarsten, dans la biochimie d'Oppenheimer et dans les „Methoden d. Antikörperdarstellung de M. Ficker (II v. Kolle-Wassermann, p. 210) et suiv.

²⁾ Ainsi par ex. les précipitines se combinent avec l'euglobuline (Pick, Bang) ou bien seulement en partie avec celle-ci (Franceschetti); les agglutinines typhiques—de préférence avec la pseudoglobuline (Pribram); les agglutinants immunisants et les autotoxines dans le sérum des chèvres, des chevaux et des lapins -- avec la fraction euglobulineuse (Gibson et Collins); de même les hémolysines dans les deux fractions (Fuhrmann), les antitoxines dans l'euglobuline et dans la pseudoglobuline. Voir les détails chez Franceschetti: Arch. f. Hygiene 1909, v. 69, p. 207; Pribram dans le man. de Levaditi, v. 2, p. 87 et Ficker dans le man. de Kolle-Wassermann v. 2, p. 230.

Sprawozdania Tow. Nauk. Warsz. Rok VIII, 1915. Zeszyt 9.

ultérieures je n'ai pas pu prendre en considération les fractions isolées, mais j'ai tâché de trouver par voie empirique une explication plausible du processus. Ainsi, pour la préparation des émulsions j'ai employé les concentration décroissantes $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ depuis 76 jusqu'à 0.5%, ou bien les concentrations de NaCl augmentant depuis 0.8 à 8.5%, toutes seules, ou bien additionnées d'un peu de CH_3COOH .

Je vais décrire plusieurs de mes expériences faites dans une quantité immense; voir les tables III, IV et V.

TABLE III-a.

Précipitation - agglutination de l'émulsion typhique exécutée dans divers % de NaCl de 0,85 jusqu'à 8,5% sous l'influence du sérum typhique d'un lapin qui fut inoculé de 9 gouttes de vaccin typhique. Pour écarter les précipités spontanés toutes les émulsions furent mises préalablement pour 2 heures dans l'étuve. De chaque concentration NaCl on a exécuté 9 expériences: dilution du sérum = 1:50 à 1:20000. On a appliqué pour chaque épreuve 1 cc. de l'émulsion. Contrôle № 1 contient l'émulsion sans sérum; K₂ l'émulsion avec sérum dilué de 1:20000 avec l'addition d'une goutte de 10% d'acide acétique.

	Dilutions du sérum									Contrôle	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2
I. 0.85% NaCl	+	+	+	+	+	□	-	-	-	-	+
I. 0.85% NaCl + 1 goutte 10% CH_3COOH	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
II. 1.70 NaCl	++	++	++	++	++	±	±	±	-	-	+
III. 2.55 NaCl	++	++	++	++	++	±	±	-	-	-	+
IV. 3.40 NaCl	++	++	++	++	+	+	±	±	-	-	+
V. 4.25 NaCl	+	+	+	-	-	□	-	-	-	-	□
VI. 6.80 NaCl	+	+	+	±	-	□	-	-	-	-	□
VIII. 8.5 NaCl	+	+	+	±	-	□	-	-	-	-	□
IX. 8.5 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
X. 8.5 NaCl + 1 goutte 10% CH_3COOH	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

Les résultats en furent vérifiés trois fois: après 8, 16 et 24 heures. Après 8 heures le plus nettement parut la précipitation dans des éprouvettes contenant l'addition de CH_3COOH ; de même après 16 et 24 h. L'élévation du titre occasionnée par l'acide acétique ne se montra que dans les plus petites concentrations NaCl (0,85 et 1,70). On n'a pas pu obtenir des précipités non spécifiques qu'en additionnant 8,5% NaCl sans acide. Les concentrations NaCl: 1,70 et 2,55% ont donné le titre le plus haut dans des agglutinations sans acide.

TABLE III-b.

Culture de choléra №№ 26 et 37.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Contr.	
										10	11
I—0.85	1:500	100	200	500	1000	2000	5000	10000	20000		
II—1.70	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
III—2.25	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+
IV—3.40	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
V—4.25	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
VI—5.10	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
VIII—6.80											
X—8.50											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Contr.	
										10	11
I—0.85											
II—1.70	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
III—2.55	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
IV—3.40	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
V—4.25	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
VI—5.10	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
VIII—6.80											
X—8.50											
	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/20000		1/2000

La présence de l'acide acétique élève invariablement le titre, en tant, que la saturation du sel n'est pas supérieure à 2.55%; dans les saturations plus fortes son action est directement opposée: l'acide acétique abaisse le titre. D'ailleurs, dans les saturations près de 8.5% des précipités spontanés ont lieu dans les contrôles, sans que le sérum y participe.

Ainsi par ex., le sérum d'un malade typhique (14-me jour

TABLE IV.

Titre précipitatif-agglutinatif après 15 minutes, 4 heures et 24 heures. Le sérum du cobaye inoculé 5 fois du vaccin cholérique mêlé. Le sang fut prélevé du coeur avec la seringue; les expériences exécutées quelques heures après le détachement du sérum; l'émulsion faite de culture de choléra № 36, c'est à dire d'une du quelques dizaines de cultures composant les vaccins. On ne prend en considération que +.

Titre pour 1 cc.

	après 15 min.	après 4 heures	après 24 heures
I. 0.85 NaCl . .	1:50	1:50	1:100
II. 1.70 NaCl . .	1:100	1:100	1:200
III. 2.55 NaCl . .	1:200	1:200	1:200
IV. 3.40 NaCl . .	1:200	1:200	1:200
V. 4.25 NaCl . .	1:200	1:500	1:2000!
VI. 5.10 NaCl . .	1:200	1:200	1:500
VII. 5.95 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
VIII. 6.80 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
IX. 7.65 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
X. 8.5 NaCl . .	1:200	1:200	1:5000

Dans 9-ème et 10-ème des éprouvettes contrôleurs on a obtenu les précipités spontanés: dans la 9-ème moins, dans la 10-ème plus abondamment; sans sérum.

Le lendemain on a répété la même expérience et de même, on a obtenu le plus haut titre avec la culture de v. de choléra № 36 dans 5-ème épreuve, cèdà. 4.25% NaCl. Dans des contrôles ce n'eut que la 10-ème épreuve (8.5% NaCl) qui a donné les précipités non spécifiques En modifiant les susdites épreuves avec l'émulsion à peine opalisante, on a obtenu dans la V-ème éprouvette le titre encore plus haut: 1 p. **2500**.

Les résultats obtenus des expériences avec des autres cultures de choléra ne furent pas tout à fait identiques.

de la maladie) forma des précipités spécifiques dans les solutions suivantes, additionnées d'émulsion spécifique (rapportée à 1 cc.):

dans NaCl à 0.85 p. 100	sans acide 1:200	avec l'acide 1:2000
solution triple (2.55%)	1:200	1:2000
sulfate d'ammonium à 5 p. 100	1:500	(manque de sérum).

TABLE V.

Chaque épreuve fut exécutée dans 9 éprouvettes, (1 cc de l'émulsion dans chacune) avec les doses diminuantes du sérum et 2 contrôles.

Culture cholér. № 26 avec sérum spec.: titre „pa“	= 1 : 2000 (émuls. dans NaCl phys.).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 2000 (” ” 2.25% NaCl).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 5000 (” ” ” + 1 goutte de 10% CH ₃ COOH).
	(dans 10% NH ₄ SO ₄)
Culture de choléra № 18 avec sérum spec.: „pa“	= 1 : 2000 (ém. dans NaCl phys.)
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 5000 (” ” + 1 gout. 10% CH ₃ COOH).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 500 (” ” 5% Na ₂ SO ₄).
Culture du b. typhi abdom. avec sér. spec. „pa“	= 1 : 2000 (ém. dans NaCl phys.).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 5000 (” ” ” + 1 goutte de 10% CH ₃ COOH).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 20000 (” ” 5% Na ₂ SO ₄).
(dans 5% Na ₂ SO ₄ emulsion v. cholerae donne la diminution, b. typhi—l'élévation du titre).	
Culture cholerae asiat. „pa“	= 1 : 1000 (en présence des emulsion de 1 : 70 à 3.40% NaCl).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 2000 (émulsion 1.70% NaCl + 1 goutte 10% CH ₃ COOH).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 500 (emulsion > 3.40 à 5.10% NaCl).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 200 (émul. 5 10% NaCl + 1 goutte 10% CH ₃ COOH).
Culture v. cholerae as. № 19 „pa“	= 1 : 1000 (ém. 1.70 et 2.55% NaCl).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 2000 (” ” ” ” ” + 1 gout. 10% CH ₃ COOH)
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 200 (ém. > 3.40 à 5.10% NaCl).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 200 (le même avec l'addition 10% CH ₃ COOH).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 0 (” ” superflu de l'acide acétique).
Vibrio berolinensis avec émulsion spécif. cholér. „pa“	= 1 : 50 ± (ém. physiol. NaCl).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 50 ± (le même avec ém. à 3.10% NaCl).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 0 (ém. > 4.25% NaCl).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 0 (toute les concen. NaCl + acide acét.).

Le doses plus grandes de l'acide acétique et 3—4 gouttes de la même solution ont donné les pseudo-précipités même dans la dilution 1 p. 1000 dans l'émulsion v. berolinensis. On a obtenu les mêmes résultats avec v. non phosphorescens.

Émulsion typh. 1 cc. + sér. d'un malade (9 jour de mal.): „pa“	= 1 : 200 (ém. dans NaCl physiol.).
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 1000 (on a ajouté au précédent après 24 heures le sér. du mal. dilué 1/100).
Émulsion typh. 1 cc. + sér. d'un lapin: „pa“	= 1 : 200
” ” ” ” ” ” ” ”	= 1 : 2000

} Aux eprouvettes positives et négatives on a ajouté après 24 heures, nombre de même sérum convenablement dilué 1/100.

Sérum d'un lapin immunisé (agglutination typhique) avec l'émulsion typhique convenable (rapporté à 1 cc.):

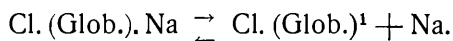
dans NaCl à 0.85 p. 100	sans acide 1:2000	avec acide 1:5000
solution triple de NaCl (2.55%)	1:2000	1:5000
sulfate d'ammonium à 5 p. 100	1:1000	1:2000

Sérum de lapin immunisé (paratyphique 8 agglut.) avec la convenable émulsion paratyphique (rapportée à 1 cc.):

avec la solution physiol. de NaCl sans acide	1:1200	avec acide 1:1200
solution triple (2.55%)	1:2000	1:4000
sulfate d'ammonium à 5 p. 100	1:500	1:500

En activant pendant 1 heure à 60°, je n'ai réussi qu'à exalter le précipité dans les concentrations plus fortes — c. à d. à faire disparaître la „zone“ dite „arrêtante“, sans en élever le titre général.

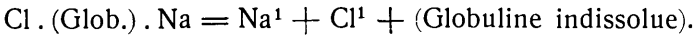
Des expériences très nombreuses, comparées dans les tables de la note présente, s'ensuit le fait incontestable que parmi les substances réagissant sur l'émulsion, l'acide acétique additionné en petite quantité élève le titre précipitatif, supposé que le contenu du sel ne soit pas trop considérable. Dans la théorie de la chimie des colloïdes nous trouvons un fondement de ce fait. La propriété des globulines est d'être dissolubles dans les solutions diluées neutres du sel, et indissolubles dans l'eau pure. L'excès du sel précipite les globulines; le liquide étant dilué—elles se dissolvent de nouveau: d'après Hardy ²⁾, la globuline est indissoluble dans l'eau, et sa dissolubilité dans les sels alcalins doit être considérée comme due à la formation des composés doubles. La globuline forme avec NaCl le composé Na. (Glob.). Cl. de même que ceci a lieu dans les composés anorganiques; ce composé se dissocie de la manière suivante:



¹⁾ Richard Zsigmondy. Kolloidchemie. Leipsic. 1912, chap. Eiweißkörper p. 246.

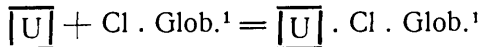
²⁾ Hardy. Journal of Physiology, 1905. 33 p. 251—337

La présence de NaCl arrête la dissociation jusqu'à un certain degré. La dilution étant très forte, ce composé se dissocie, en formant la globuline indissoluble, selon la formule suivante:



et le brouillement s'exalte simultanément. La saturation de NaCl étant moyenne, la plus grande partie de la globuline demeure dans la solution en qualité d'électrolyte; la seconde partie y reste sous forme des sousmicrones. Dans les solutions de NaCl plus concentrées, la dissociation des composés de la globuline avec NaCl s'arrête, suivie de la formation d'un dépôt.

Les résultats des expériences de Michaelis¹⁾ s'accordent avec les opinions ci-dessus. Cet auteur a constaté que les solutions de globuline diluées dans l'eau renfermaient une quantité bien plus grande des ultramicrones, qu'il ne s'en trouvait dans les solutions diluées de la solution physiologique de NaCl. Les solutions colloïdales sont plus stationnaires et ne laissent point tomber des particules de globuline ce qui peut être expliqué le plus plausiblement par l'électrisation des ultramicrones globulineux. Ces données schématiques peuvent être exprimées d'après le schème suivant:



Quant à la combinaison des globulines avec les acides et les alcalis, Hardy y suppose la formation des ions albumineux véritables, contre lesquels — réagit la hydrolyse.

Les combinaisons de la globuline avec les acides plus faibles subissent la hydrolyse, tout en produisant les ultramicrones en quantité bien plus considérable que dans la combinaison avec les acides plus forts. Comme il fut indiqué ci-dessus, les ultramicrones, produits par les composés de NaCl et de globuline sont électrisés. Les ultramicrones électrisés se distinguent

¹⁾ Virchow. Arch. f. path. Anat. u. Phys. 1905, 179, p. 195—208.

par une agilité bien plus grande que celle des ions albumineux proprement dits, en vertu de quoi Hardy distingue les ions véritables des apparents, c. à d. des ultramicrones électrisés.

La dépendance des précipités de la plus ou moins grande addition de l'acide acétique peut être expliquée par les propriétés des électrolytes. Il est connu que l'addition plus forte des sels alcalins et du magnésium précipitent d'albumen séreux; la précipitation de l'albumen est provoquée par les anions. Considérons par ex. les sels de natrium de différents acides: l'action précipitante ne dépend que de l'acide et progresse dans l'ordre suivant:

L'action la plus forte est exercée par:

le citrate > le tartrate > le sulfate > l'acétate > le chlorate >
le nitrate > le iodure > et le sulfocyanure.

L'acétate agit plus fort que le chlorate; donc, en introduisant les ions de l'acide acétique dans un milieu ne renfermant que des ions de chlore, nous en exaltons le pouvoir précipitatif. Ces données nous expliquent le fait, que l'acide acétique n'augmente pas le précipité que dans certaines concentrations de NaCl; tandis que l'action de $\text{CH}_3\text{.COOH}$ est paralysée par l'excès des ions de chlore: la saturation étant excessive (v. table III).

La littérature présente des données nombreuses¹⁾ sur l'action des acides, surtout de l'acide acétique sur le procès de l'agglutination.

Il fut constaté, que les vibrions cholériques — sous l'action de solution de kali caustique à 1 p. 100 perdaient leur faculté agglutinogène à l'égard des sérum spécifiques (Neufeld); Neisser et Friedemann ont observé le pouvoir de précipiter les bacilles typhiques par des doses minimales de l'acide. Lorsque la réaction est acide, les précipités se forment plus ra-

¹⁾ Les détails v. chez Paltauf et Krause dans le II v. et chez Fornet dans le III v. du manuel de Kolle-Wassermann, 2-me édition.

pidement et plus tôt (Kraus). La réaction acide facilite la formation des précipités, en tant, qu'elle est due aux acides organiques — à l'acide acétique, ou bien aux sels acides (phosphate de natrium) (Rostowski).

Le baissement du pouvoir précipitatif de bacilles typhiques fut observé par Wassermann à l'application des milieux fortement alcalins; par Lentz et Tietz qui ont employé l'agar avec le vert de malachite, et enfin par Kirstein — en cultivant les bacilles typhiques dans l'agar analbumineux avec l'urine. Le dernier de ces auteurs observa l'élévation du titre, en cultivant les bacilles typhiques sur la pomme de terre additionnée de l'acide acétique à 1 p. 100. De milieux usuels ayant été appliqués — le baissement ainsi que l'élévation du titre revinrent à leurs normes dans tous les cas ci-dessus. Eisenberg¹⁾ effectua l'inactivation, en mêlant une partie de sérum à 1 partie de HCl $\frac{1}{2}$ N; le même résultat fut obtenu par l'addition de H₂SO₄ qui peut être activé en partie par une rapide neutralisation le l'acide. Les travaux de Winterberg montrent également que l'excès de l'acide acétique est nuisible aux agglutinines.

La plupart des auteurs ont reconnu le caractère rapproché de l'agglutination bactérienne et des précipités des émulsions colloïdales, dûs aux électrolytes et parfois à des non-électrolytes, on n'a pas constaté de différence que dans l'action des sels et des terres alcalines. Au cours des années dernières on s'intéressa surtout à l'agglutination bactérienne, dite acide et particulièrement à celle des bacilles typhiques. D'après Michaelis²⁾, l'optimum de coagulation de l'albumen dénaturé coïncide avec le point isoélectrique résultant de la réaction faiblement acide des solutions albumineuses. Quant aux bactéries — elles ne subissent la précipitation qu'à un certain degré d'acidité qui est dif-

¹⁾ Centrabl. f. Bakteriöl. 1906, v. 41, p. 760 et suivantes.

²⁾ Deutsche Medic. Wochenschr. 1911, p. 969 et Centr. f. Bakter.

férent pour les diverses espèces bactériennes, en vertu de quoi on peut utiliser l'agglutination pour la différenciation des bactéries. D'après Beniasch¹⁾ l'agglutination acide ne dépend ni de l'acide, ni des anions, mais exclusivement des ions hydriques et n'a lieu qu'à une concentration déterminée de H-ions (H); l'optimum pour les bacilles typhiques égale 4×10^{-5} . Le groupe de bac. enteritidis se trouve dans les limites de la même concentration; le paratyphus B. et le paratyphus A. sont placés dans les mêmes bornes de concentration de H-ions; pareillement, il est possible de distinguer à l'aide de ce procédé le b. diphtérique du pseudodiphtérique, et, en général, les bactéries spécifiques des analogues. Les sels arrêtent l'agglutination.

Afin d'obtenir un titre précipitatif-agglutinatif aussi haut que possible („pa“), j'ai procédé encore à la série suivante de recherches sur l'action des milieux acides et alcalins sur les propriétés bactériennes. J'ai employé des milieux exactement titrés d'après l'échelle de Madsen, et notamment: de faiblement acides (+20°), de faiblement alcalins (—20°), alcalins (—60°) et (—105°). Ces milieux d'agar furent inoculés des bacilles typhiques et du v. cholérique (race № 36). La durée de cette culture fut de 20 heures, à 37°; ensuite, les cultures furent tamisées sur un milieu neutre 0° de Madsen, émulsionnées, mises en but de contrôle dans l'étuve pendant 3 heures, et enfin — agglutinisées avec les sérums cholérique et typhiques de haute agglutination dilués de 1:50 à 1:20,000, c. à d. bien plus au-dessus du titre de ces sérums (v. table VI).

Puisqu'il s'est montré que l'élévation du titre jusqu'à 1:20,000 n'eut lieu, qu'en utilisant les émulsions bactériennes du milieu acide (20° M.) une émulsion supplémentaire fut faite de culture de 2 jours, afin de pouvoir déterminer le titre le plus haut. On a établi alors, que „pa“ est nettement positif:

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforschungen. 1912, v. 12, p. 268.

pour l'émulsion typhique, le sérum étant dilué jusqu'à 1 : 200,000
 „ „ cholérique il ne s'est pas élevé au-dessus de 1 : 20,000

L'élévation, ainsi que le baissement du titre des milieux alcalins furent plus nets pour les bacilles typhiques.

Des cultures transplantées sur les milieux neutres (0° de M.) on prépara après 0 heures des émulsions afin d'établir la reversibilité du phénomène, c. à d. de constater, si les phénomènes de baissement et de l'élévation sont stationnaires ou bien reversibles. Les détails et les résultats de cette série de recherches sont comparées dans la table VI.

TABLE Via.

„Pa“ typhique. L'émulsion bactérienne des cultures d'un jour sur des milieux titrés d'après M a d s e n : de +20 à -105. Sérum spécifique des animaux inoculés.

Titre „Pa“	Dégrés de Madsen				Reversibilité du phénomène dumilieu 0° M; les passages			
	+ 20		- 20		- 60		- 105	
	+	-	+	-	+	-	+	-
1/50	+	+	+	+	+	+	+	+
1/100	+	+	+	+	+	+	+	+
1/200	+	+	+	+	+	+	+	+
1/500	+	+	+	+	+	+	+	+
1/1000	+	+	+	-	+	+	+	+
1/2000	+	+	+	-	+	+	+	+
1/5000	+	+	-	-	+	+	+	+
1/10000	+	+	-	-	+	+	+	+
1/20000	+	-	-	-	+	+	+	+

p 1 cc.

Dans des 4 rubriques à droite: „pa“ dans des émulsions typhiques des milieux 0° M, sur lesquelles les cultures furent transplantées de milieux acides + 20° et alcalins jusqu'à - 105° M. Résultat des émulsions de 0° = + 20° M.

Contrôles dans 9 éprouvettes negatives.

Ayant obtenu le plus haut titre dans des émulsions faiblement acides + 20 M. (1/20000) on a executé „pa“ (des mêmes milieux de 2 jours) qui a donné le titre jusqu'à 1 : 200,000.

B. typhi abdom. | + 20 M.

1/5000	+
1/10000	+
1/20000	+
1/50000	+
1/100000	+
1/200000	+

TABLE VI b.

„Pa“ cholérique (aussi p. 1 cc.). Émulsion de vibrions de choléra (N^o 36) des cultures d'un jour sur les milieux titrés de +20^o à -105^o de Madsen. Sérum spécifique des animaux inoculés. A droite de la table les reversibilités: on a transplanté l'étoffe des milieux précédant sur les milieux neutres (0^o M) et de ceux-ci on a exécuté les émulsions.

Titre „Pa“	Degrès de Madsen				Reversibilité du phénomène			
	+20	-20	-60	-105	de +20 à 0 ^o	de -20 à 0 ^o	de -60 à 0 ^o	de -105 à 0 ^o M.
1/50	+	+	+	+	+	+	+	+
1/100	+	+	+	+	+	+	+	+
1/200	+	+	+	+	+	+	+	+
1/500	+	+	+	+	+	+	+	+
1/1000	+	+	+	+	+	+	+	+
1/2000	+	+	+	+	+	+	+	+
1/10000	+	+	-	-	+	+	-	-
1/20000	+	+	-	-	-	-	-	-
1/50000	-	-	-	-	-	-	-	-
1/100000	-	-	-	-	-	-	-	-

p. 1 cc.

L'élévation du titre cholér. des milieux acides est sans doute considérable, mais moins précise que dans les émulsions typhiques; le même concerne le phénomène de la reversibilité.

Les expériences ci-dessus, autant que les précédentes ont établi que la sensibilisation des bactéries à l'aide de l'acide acétique agit plus fort sur les bacilles typhiques, que sur les vibrions du choléra, à l'égard des précipités et d'élévation du titre de précipitation.

Les recherches sur la substitution de NaCl par le sulfate d'ammonium (tables VII et VIII) montrent que les émulsions eussent pu être préparées avec (NH₄)₂SO₄ à 5 p. 100, mais qu'une substitution pareille n'aurait eu aucune influence ni sur le cours de la réaction, ni sur la hauteur du titre.

Des désignations méiostagmiques sériées furent exécutées afin d'établir la différence de la tension superficielle des précipitinogènes et de celle des mélanges, les précipitinogènes et la

TABLE VII.

Précipités sans sérums spécifiques. On a préparé les émulsions :

dans le sulfate d'ammonium saturé de	b. typhi abd.	v. cholerae asiat.
76 %	+	+
38 „	+	+
19 „	+	+
9.5 „	—	—
4.75 „	—	—
2.38 „	—	—
1.19 „	—	—
0.59 „	—	—

„Pa“ d'émulsion des bacilles typhiques et des vibrions cholériques (culture № 21) dans sulfate d'ammonium (saturation 19% et 9.5%). Sérums spécifiques de haute agglutination, dilués de 1:50 à 1:20000. Chaque épreuve fut exécutée dans 10 éprouv. et 2 contr.

Conc. 19% (NH₄)₂ SO₄ émulsion rapportée à 1 cc.
 b. typhi + sérum typh. „pa“ = 1 : 1000
 v. cholerae 21 + ser. chol. „ = 1 : 2000

Dans les contrôles il n y a pas de précipités.
 Conc. 9.5% (NH₄)₂ SO₄ 1 cc d'émulsion
 b. typhi + sérum typh. „pa“ = 1 : 1000
 v. cholerae 21 + sér. chol. „ = 1 : 2000

(Le même titre obtenu dans la solution physiologique de NaCl).

Sérum d'un malade typhique (4-ème semaine) + émulsion dans 20% sulfate d'ammonium :

	b. typhi abd.	b. paratyphi B.
1/50	+	+
1/100	+	+
1/200	+	+
cont. sans sérum	—	+

le même résultat comme dans la solution physiologique NaCl. (sans sérum!)

précipitine ayant été combinés avec un tel calcul de temps, que la réaction fut renouvelée toutes les 2 heures, c. à d. elle fut faite entre la première „période d'impression de Bordet“ et la seconde „d'agglutination proprement dite“ de la précipitation.

Les antigènes pour plusieurs de ces expériences furent préparés d'après le procédé d'Ascoli. Les différences entre deux désignations furent tellement petites et inconstantes, parfois même absolument opposées qu'il fut impossible d'en tirer des conclusions plus importantes et de confirmer l'opinion de Pauli, d'après lequel le phénomène de la précipitation-colloïdale, ainsi que celui de l'agglutination bactérienne, dépendent des modifications de la tension superficielle. Il faut mentionner que nombre des théories, appelées à expliquer le phénomène de la précipitation, portaient attention à la dépendance des colloïdes du sel,

TABLE VIII.

Les changements physiques dans les émulsions bactériennes sans sérum et avec l'addition du sérum dans les limites de „pa“. *Vibrio cholerae* asiat. + sérum cholér. (dilué de 1 : 1000).

Réaction méiostagnique Asc o l i exécutée avec stalagmomètre (pour cc. de liquide).

Saturation de la solut. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Sol. du sulfate d'ammonium (sans sérum)	Emulsion bactérienne dans sol. d'amm. + sérum (2 heures dans l'étuve)	Accroissement (dans le stalagm.)
5 %	17,0	18,2	1,2
10 %	17,1	18,3	1,2
15 %	17,5	18,2	0,7
20 %	18,5	19,1	0,6
25 %	17,5	19,0	1,5
30 %	17,6	19,6	2,0
35 %	18,0	19,6	1,6
40 %	17,7	21,2	3,6

Détermination de conduction électrique de l'émulsion des bact. typh. dans la solution 5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

(en présence de résistance comparative 80 Ohm.)

1) Solution 5%	79.4 Ohm.	} conduction moq. 0.00107
2) émuls. typh. dans la sol. 5%	79.9 "	
3) " + sér. aggl. 1 : 500	79.5 "	
4) " + sér. des mal. 1 : 60	79.5 "	
5) " + sér. des mal. 1 : 500	79.7 "	

dans la solution 0.85% NaCl

(en présence de résistance comparative 70 Ohm.)

1) solut. 0.85% sans bactéries	76.5 Ohm.	} conduction 0.00174
2) émuls. typh.	77.3 "	
3) " + sér. aggl. 1 : 500	77.5 "	
4) " + sér. d'un m. 1 : 60	77.7 "	
5) " + sér. d'un m. 1 : 500	7.77 "	

dans la solution 2.55% NaCl

(en présence de résistance comparative 80 Ohm.)

1) solution 2.55%	79.4 Ohm.	} conduction 0.00126
2) émuls. bact. dans la sur. sol.	79.7 "	
3) " + ser. aggl. 1 : 500	79.6 "	
4) " + ser. chol. 1 : 60	79.8 "	
5) " + ser. aggl. 1 : 500	79.5 "	

aux phénomènes d'absorption, provoqués par les acides et les alcalis, de même que par les métaux, aux modifications de la tension superficielle, ou de la viscosité (Pauli); pourtant ces données ne sont pas précisément analogues à la réaction réciproque de deux corps albumineux, mutuellement spécifiques, formant des précipités en présence des sels, et faisant défaut des précipités dans les cas où l'un de ces corps fut non-spécifique à l'égard de l'autre. D'après les recherches récentes de P r i b r a m ¹⁾ (1912), les émulsions bactériennes sont de la nature d'émulsion

¹⁾ A compar. C. Moreschi, Beschleunigung u. Verstärkung d. Bakterienagglutination durch Antieiwissersera, Centr. f. Bakteriologie, 1907, v. 46, p. 456.

TABLE IX-a.

Réaction meïostagmïque Ascôli. L'influence de conjonction des agglutinines avec les agglutinogènes (avec ou sans le complément), sur la tension superficielle.

Sérum typhique de haute agglutination.

Sérum typhique dilué de 1:20	Sérum typhique + antig. 24 g. typh. (Ascôli).	Sérum typh. + antig. de 24 h. typh. + compl.	Sér. typh. chauff. + ant. 2-h typh. + complément	Sérum typh. + antig. chol.	Sérum typh. + ant. chol. + complément.
- 0.5	+ 0.6	+ 0.9	+ 1.0	+ 1.4	+ 0.6
- 0.5	+ 0.5	+ 0.6	- 0.2	+ 0.5	+ 0.5
- 0.2	+ 0.5	- 1.0		- 0.4	+ 1.5
+ 0.3	- 0.5	+ 0.3			

Sérum cholérique de haute agglutination.

Sérum Cholérique dilué de 1:20	Sér. chol. + 24 h. ant. chol. (Ascôli)	Sér. cholér. + an. de 24 h. chol. + com.	Sérum chol. Chauff. + ant. chol. de 24 h.	Sér. cholér. + ant. typh.	Sér. chol. chauff. + ant. typh. + com.
+ 0.3	+ 2.1	+ 1.6	+ 1.4	+ 0.3	+ 0.1
	- 0.7	+ 1.5	0	0	0
	0	+ 0.4	- 0.4		

TABLICA IXb.

Changements de la tension superficielle.

	Avant le chauff- fage	Après 2 heures 37° C.		Avant le chauff- fage	Après 2 heures 37° C.
Sérum humain normal A . . .	41	40	Sérum typh. animale B dilué de	18	17.5
Complément du cobaye № 1 . . .	39	39.2	1:20		
„ „ „ „ „ „ № 2 . . .	39.2	39.2	„ „ + antig. specif. (de 24 h.)	17.4	18.0
L'eau déstil.	39.4	39.4	„ „ + ant. spec. (de 4 heures)	17.3	17.8
Sér. animale normal 1:20 . . .	17.2	17.2	„ „ + ant. des organes norm.	18.0	18.5
Sér. „ „ + comp. 1 aa . . .	17.0	17.2	„ „ + antig. norm. + compl.	18.0	18.0
„ „ „ „ „ „ 4:2 . . .	17.2	17.0	„ „ + complément (aa) + ant.	17.5	18.4
Sérum humain norm. B 1:20 . . .	17.5	17.5	specif. (24 heures.)		
Sérum typh. anim. 1:20 . . .	17.2	17.5	„ „ + compl. (2:7) + „ „ „	17.5	1.8
Sérum hum. norm. C 1:20 . . .	17.0	17.3	„ „ + compl. (3:6) + „ „ „	17.3	17.5
Sérum du cobaye TBc 1:20 . . .	41.0	—	„ „ + comp. (aa) + ant. spec.	17.7	18.8
Sér. TBc + antig. TBc . . .	43.0	43.6	de 4 heures	17.5	17.8
Sér. TBc + organes normaux . . .	42.1	42.2	Le complément	17.2	17.4
Sér. TBc + ant. TBc + compl. . . .	42.3	42.0			
Sér. TBc + org. norm. + compl. . . .	41.8	41.0	Sérum typh. animale C 1:20 . . .	17.5	17.3
Sér. norm. A + org. norm. . . .	41.5	41.7	„ „ + ant. typh. (1:5) de 24h	17.5	17.8
Sér. norm. A + antig TBc. . . .	42.1	42.2	„ „ + ant. typh. (aa) de 24h	18.5	19.0
Sér. norm. A + org. norm. + com. . . .	41.1	41.1	„ „ + ant. typh. con. (aa) 24h	20.2	20.2
Sér. norm. A + antig. TBc + com. . . .	42.4	43.2	„ „ + compl. aa + ant. typh.		
Sér. TBc 1:20 (humain)	38.8	39.5	aa de 24 h	17.9	18.5
„ „ + antig. norm. (org.)	40.5	40.5	„ „ + compl. aa + ant. norm.		
„ „ + org. norm. + compl.	40.5	40.7	de 24 h	18.0	18.8
„ „ + ant. TBc + compl.	40.8	40.8	„ „ + com. aa + ant. norm. C.	19.0	19.5
Sérum typh. anim. A			Sérum typh. animale B (agglutiné)		
Sér typh. + sér. norm. hum. aa	17.4	17.3	„ „ + ant. typh. de 24h aa	19.5	18.0
„ + „ 2:1.5	17.5	17.5	„ „ + ant. de 24 h + compl.	18.1	18.0
„ + „ 2.5:1	17.5	17.5	„ „ + „ „ cholérique	17.2	18.6
„ + „ 3:0.5	17.5	17.5	„ „ + „ „ chol. + compl.	18.2	18.8
„ + „ aa + ant. norm.	18.3	18.5	Sérum cholér. animale (agglutin.)		
„ + „ + ant. typh	17.5	17.2	„ „ + ant. chol. de 24h aa	20.5	22.6
„ + „ + ant. typh	17.2	18.0	„ „ + „ „ „ + compl.	19.0	20.6
„ + „ „ (4 heures)			„ „ + ant. typh. aa de 24h	21.2	21.5
„ + „ ant. typh. alcool.	17.5	17.5	„ „ + „ „ „ + compl.	18.8	19.1
„ + „ „ „ (4 heures)	17.2	17.5	Sér. typh. agglut. dilué de 1p. 20	17.6	17.9
			„ „ + ant. typh. aa de 24h.	18.7	19.0
			„ „ + ant. typh. + compl.	18.2	18.5
			„ „ + ant. chol. aa de 24h	19.5	21.0
			„ „ + „ „ „ + compl.	18.5	18.5

qui acquiert les qualités suspensoïdes des colloïdes sous l'action du sérum spécifique agglutinatif. Je n'amène point toute la série de théories tendant à confirmer le fait que l'agglutination est une réaction colloïdale nette et que la formation des précipités spécifiques dépend autant de la tension superficielle que des modifications dans la relation des solutions (les émulsions bactéro-albumineuses appartiennent aux colloïdes hydrophiles ou hyophiles).

Enfin, dans la dernière série des expériences j'ai acquis la certitude que l'inactivation des émulsions pendant 1 heure à 56°—64° réagit de manière positive sur la hauteur du titre „pa“, que l'addition du complément réagit faiblement sur celle-ci, et que le chauffage du sérum n'exerce aucune action.

1. Les efforts pour obtenir l'élévation du titre agglutinatif et précipitatif ont pour but de modifier la méthode des recherches pour la rendre capable de décèler les précipitines et les agglutinines spécifiques dans les sérums du sang (périodes initiales du typhus abdom., de la tuberculose) et dans les sécrétions des malades, en général, dans tous ces états morbides dans lesquels les résultats négatifs de l'agglutination et de la précipitation s'expliquent par le contenu faible des anticorps et correspondent — dans le sens quantitatif — aux dilutions plus fortes des sérums spécifiques au-dessus de leur titre.

2. L'élévation du titre agglutinatif des bacilles typhiques et des vibrions cholériques peut être provoquée par l'augmentation égale du sérum et de l'émulsion de 3 — 5 à 10 fois, tout en maintenant invariable de degré de dilution du sérum et la relation mutuelle des éléments. Ainsi, par exemple, en cas de réaction négative de *Widal*, le sérum peut être dilué à volonté: 1 : 100 et 1 : 1000; avec n'importe quelle de ces dilutions on peut faire l'agglutination, rapportée à 3 — 5 cc. ou davantage.

3. En déterminant le titre, il faut prendre en considération la quantité des substances employées, autrement dit, il faut

TABLE X

Complémentation des agglutinines et précipitines
avec sérum normal.

1 h. therm. 37°	2 h. sans therm.	36 heures dans le therm.	36 heures dans le therm.	36 heures dans le therm.
Culture chol. № 36 1 : 4000			Réac. de Widal (13-ème jour de maladie) 1 : 200	
agglut. - préc. sans compl.	1 : 5000	1 : 10000	„ „ + compl. 1 : 500	} les dépôts imperceptibles sans précipités
+ complém. 1 : 10000	1 : 10000	—	„ „ + chauffée à 58° 1 h. 1 : 500	
Culture chol. № 37 1 : 4000			„ „ + „ ; sér chauff. à 58° 1 : 500	
agglut - préc. sans compl.	1 : 10000	—	„ „ + sér. aggl. $\frac{1}{10000}$ 1 : 1000	
+ avec compl. 1 : 10000	1 : 10000	—		
B. typhi abd. 14 heures dans l'étuve			R. de Widal (16 jours) 16 h. 36 h. therm.	
aggl. préc. sans compl. (sér. de haute aggl.) 1 : 5000			1 : 200 1 : 500	
„ + complément 1 : 20000			„ + compl. 1 : 500 1 : 1000	
Avec de l'émulsion typh.	16 heures	30 h. therm.	„ + sér. aggl. typh. $\frac{1}{10000}$ 1 : 100! 1 : 100!	
sér. d'un malade typh.	1 : 200	1 : 500	R. de Widal (19 jours de mal.) 24 h. 36 h.	
„ + complément.	1 : 500	1 : 500	1 : 100 1 : 100	
l'émulsion chauffée 1 h. 56° + compl.	1 : 20000	d-tto	„ + compl. 1 : 200 1 : 200	
l'émulsion chauffée sans complément.	1 : 200	1 : 500	„ + sér. aggl. typh. $\frac{1}{10000}$ 1 : 100! 1 : 100!	
Sérum d'un malade typhique	16 h.	24 h.	R. de Widal (41 jour) 24 h.	
Sér. d'un malade + compl.	1 : 100	—	1 : 200 —	
Sérum d'un malade inoc. 1 h. 56°	1 : 200	—	„ „ + compl. 1 : 100	
Sérum d'un malade inoc. + compl.	1 : 200	—	„ „ émulsion typh. 1 : 200	
Émuls. chauffée 1 h. 56-64			„ „ + compl. inact. 1 : 100	
„ „ + compl.	Dépôt insignifiant	1 : 500	R. de Widal (31 jour) 16 h. 24 h. therm.	
„ „ + sér. chauff.		1 : 1000	1 : 50 1 : 50	
Ém. in. + Sér. in. + compl.		1 : 500	„ „ + compl. 1 : 100 1 : 100	
		1 : 1000	„ „ + sér. inact. — —	
			„ „ + compl. inact. 1 : 50 1 : 50	
Réac. de Widal (23 jours de (mal.)	24 heures dans le therm.			
„ + compl.	1 : 50			
„ + compl. in. 58°	1 : 100			
„ + sérum chauff.	1 : 100			
„ + sér. aggl. $\frac{1}{10000}$	1 : 50			
	1 : 50			

connaître non seulement le degré de dilution du sérum, mais aussi le volume du mélange (1, 3 5 cc. et de suite).

4. En examinant la précipitation et l'agglutination dans un volume plus considérable des liquides, il faut porter attention aux expériences de contrôle: par exemple, l'émulsion seule dans une éprouvette, le sérum du malade+émulsion des bactéries hétérogènes dans l'autre (v. notre table: mélange du sérum cholérique avec le typhique et vice versa).

5. On gagne une élévation très nette du titre „pa“, en cultivant les bacilles, surtout les typhiques — sur de milieux de 20°, 0° et 20° degrés de Madsen; il est indispensable à ces expériences de déterminer exactement le degré de l'acidité ou bien de l'alcalinité du milieu: il ne suffit point de désigner par „acide“, „alcalin“ etc.

6. On obtient également une élévation du titre, en additionnant des quantités minimales de l'acide acétique, par ex. 1 goutte par 1 cc. d'émulsion supposé, que la concentration de NaCl correspond à la solution physiologique (0.85), ou bien au double et au triple (2.55%); pourtant, l'addition minimale de NaCl aux concentrations plus fortes arrête le phénomène de „pa“ et abaisse le titre.

7. Il faut éviter d'ajouter de concentrations plus fortes de $\text{CH}_3 \cdot \text{COOH}$ par crainte d'arrêter totalement la réaction. De même il ne faut pas appliquer deux procédés conjointement dans le but d'obtenir des titres les plus élevés, puisque cette mesure peut provoquer des précipités spontanés sans le concours du sérum; ainsi par ex., on n'ajoute pas de $\text{CH}_3 \cdot \text{OOH}$ à l'émulsion typhique des milieux de 20° M., vu que la formation des précipités non-spécifiques y a lieu.

8. Il n'est point recommandable — en qualité de procédé générale — d'exalter la concentration de NaCl au-dessus de 1.7%, ou bien de substituer NaCl, $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ et autres sels; bien que ce moyen, utilisé pour les espèces bactériennes isolées puisse

provoquer l'élévation du titre de „pa“ (p. ex. à l'une des races du choléra).

9. L'épreuve annulaire — bien que ses résultats soient positifs — ne peut pas être recommandée pour les buts de pratique agglutinative, vu les difficultés méthodiques; le même se rapporte aux épreuves avec les préparations bactériennes desséchées.

10. Le chauffage des émulsions bactériennes depuis 56° et point au-dessus de 64°, provoque également une élévation du titre „pa“; pourtant ni le chauffage de sérums, ni le complément avec du sérum frais n'agit pas plus nettement dans cette direction.

11. La concentration appliquée des anticorps aux sérums antitoxiques ne peut pas être utilisée pour exalter la puissance des agglutinines et des précipitines.

12. Sous l'action du sérum des malades, ainsi que des animaux immunisés en combinaison avec l'émulsion bactérienne convenable (non seulement avec le filtrat de celle-ci) les deux phénomènes ont lieu — l'agglutination et la précipitation — simultanément dans les mêmes éprouvettes; le dépôt précipitatif y est 10 — 20 fois plus volumineux que le bactérien. Vu que le titre agglutinatif est plus élevé que le titre précipitatif, nous n'obtenons des dépôts bactériens que dans les dilutions plus faibles.

13. En utilisant les procédés qui viennent d'être exposés, on peut faire élever le titre précipitatif-agglutinatif des espèces différentes, bien que dans de degrés inégaux: de toutes les espèces examinées, l'élévation du titre agglutinatif et précipitatif est la plus nette chez les bacilles typhiques, et bien plus faible chez les v. cholériques (le colibacille négatif).

Le but de la note présente fut avant tout d'élaborer des procédés appelés à obtenir „l'élévation du titre“, toutefois sans résoudre le problème quelle sera l'étendue de l'application pratique de ces procédés dans la clinique médicale.

Biblioteka Główna

WUM

Br.6315



000031402



www.dlibra.wum.edu.pl