

St. Serkowski.

Bacillus s. Granulobacillus
putrificus nov. sp.

ODBITKA ZE SPRAWOZDAŃ Z POSIEDZEŃ TOWARZYSTWA NAUKOWEGO
WARSZAWSKIEGO. WYDZIAŁ NAUK MATEMATYCZNYCH I PRZYRODNICZYCH.
POSIEDZENIE Z DNIA 4 GRUDNIA 1913 R. ROK VI, ZESZ. 9.

Bacillus s. Granulobacillus putrificus nov. sp.

Extrait des Comptes Rendus de la Société des Sciences de Varsovie.
1913. VI Année. Fasc. 9.



WARSZAWA.

Druk Rubieszewskiego i Wrotnowskiego, Włodzimierska № 3/5.

1913.

St. Serkowski.

Bacillus s. Granulobacillus
putrificus nov. sp.

ODBITKA ZE SPRAWOZDAŃ Z POSIEDZEŃ TOWARZYSTWA NAUKOWEGO
WARSZAWSKIEGO. WYDZIAŁ NAUK MATEMATYCZNYCH I PRZYRODNICZYCH
POSIEDZENIE Z DNIA 4 GRUDNIA 1913 R. ROK VI, ZESZ. 9.

Bacillus s. Granulobacillus putrificus nov. sp.

Extrait des Comptes Rendus de la Société des Sciences de Varsovie.
1913. VI Année. Fasc. 9.



WARSZAWA.

Druk Rubieszewskiego i Wrotnowskiego, Włodzimierska № 3/5.

1913.

Biblioteka Główna
WUM

Br.6310



000031400 www.dlibra.wum.edu.pl

St. Serkowski:

Bacillus s. Granulobacillus putrificus nov. sp.

(Z Pracowni bakteryologicznej własnej).

Komunikat zgłoszony dn. 1 Grudnia 1913 r.

Wyosobniany przezemnie wielokrotnie dany gatunek bakteryi różni się zasadniczo od wszelkich innych znanych: w cechach morfologicznych jest zbliżony do laseczników błoniczych (*bac. diphteriae*), biologicznych—ma pewne podobieństwo do odmieńców (*bac. proteus vulgaris*), a w hodowlach różni się od obydwóch.

Źródło wyosobnienia: Najczęściej kał i ścieki w biologicznych zbiornikach (syst. Schweder'a), rzadziej w wydzielinach ludzkich z nosa (*rhinitis, highmoritis*), z pęcherza (*cystitis*), z gruczołu krokowego (*prostatitis*) przy stanach zapalnych; w warunkach normalnych na śluzówkach oka, nosa, jamy ustnej, cewki, kiszki; niekiedy jako symbiont współrzędnie z innymi bakteriami chorobotwórczymi lub ropniami na śluzówkach i w wydzielinach ludzkich. Przez szereg lat wyosobniając często dany gatunek, uważałem go za t. zw. „florę obcą“, przypadkową, nie mającą ze sprawą chorobową nic wspólnego: dopiero wykrycie danych bakteryi w czystych hodowlach w kilku stanach zapalnych śluzówki (*highmoritis, prostatitis* i u dzieci *rhinitis haemorrhagica*) bez udziału innych bakteryi, dalej częsta obecność w kałach normal-

nych i patologicznych, ogromna nieraz przeważająca ilość kolonii tychże bakteryi w basenach biologicznych Schweder'a: wszystkie te powody zmusiły mnie do rozpoczęcia przed 2 laty ścisłego zbadania i zróżniczkowania omawianego gatunku drobnoustrojów, który pod względem biologicznym i morfologicznym ma szereg cech wysoce znamiennych.

Morfologia. Bakterye omawiane mają postać laseczników nieruchomych, bez zarodników; w pierwszych pasażach z surowicy Loeffler'a oraz bezpośrednio w materyale, zawierającym śluz, laseczników tych ani pod względem wielkości i formy, ani ugrupowania nie można odróżnić od zwykłych laseczników błonicy. Stałym zjawiskiem są bardzo charakterystyczne dwa, rzadziej trzy metachromatyczne ziarenka Ernst'a-Babes'a; zgrubienia jedno, lub dwustronne kolbowate—jak i w lasecznikach dyfteryi. W dalszych pasażach te ziarenka zatracają swój biegunowy charakter, natomiast cały lasecznik wzdłuż staje się rozczłonkowanym, jednostronnie kolbowato wzdętym, morfologicznie zbliżonym do *bac. xerosis* lub *bact. septatum*. Ze względu na stałą obecność wewnętrznej granulacyi dane bakterye zasługują na nazwę „*Granulobacillus*“. Nie da się stwierdzić, czy te stale obecne granula mają takż sam charakter, jak niestale ziarenka w innych bakteryach (*subtilis*, *sarciny*): faktem jest, że najlepiej ziarenka biegunowe widoczne są w świeżo wyosobnionych szczepach i w pierwszych pasażach z młodych kultur, i że prócz surowicy Loeffler'a występują w bakteryach danych i na innych podłożach, wreszcie że w dalszych pasażach granulacye ustępują miejsca segmentacyi. Wprawdzie—jak to stwierdzono na zjeździe mikrobiologów w roku bieżącym w Berlinie—ciałka biegunowe zjawiać się mogą w lasecznikach nosacizny i w wielu niechorobotwórczych gatunkach, w których zjawisko występuje niestale: granulobacillus stale i niezależnie od pochodzenia cechuje się obecnością ciałek biegunowych. Pod tym względem więcej zbliża się morfologicznie do *bac. diphteriae*, aniżeli do *bac. pseudodiphteriae* i pokrewnych (*diphteroid*).

Barwienie. Najjaskrawiej występują ciałka biegunowe w barwieniu witalistycznym preparatów nieutralonych błękitem metylenowym Loeffler'a (może być i rozcieńczony kilkakrotnie). Najlepiej nadaje się do tego celu roztwór błękitu nie świeży, przygotowany przed kilku tygodniami, lub też dodatek do błękitu *acid. aceticum glaciale* (zamiast ługu). Wogóle, do uwydatnienia ciał

biegunowych błękit nadaje się lepiej od innych barwników zasadowych. Do tegoż celu można stosować metodę Neisser'a, jak i przy preparatach błoniczych.

Granulobacillus nie posiada własności kwaso- ani alkoholo- ani długo-odpornych. Barwi się dobrze metodą Grama (Gram+), ale przytem zabarwia się też otoczka, wskutek tego laseczniki robią wrażenie większych i grubszych (średnica zwiększa się o $\frac{1}{2}$ —1 μ), aniżeli przy innych barwieniach.

Kolonie. Na podłożach stałych w warunkach tlenowych przy t^o 37° C., granulobacillus rozwija się w postaci białych kolonii, nie mających tendencji do zlewania się; kolonie są wypukłe, masywne, z równym lub lekko zazębionym zarysem, a pod drobnowidzem przedstawiają masy ciemnobrunatne bez widocznej budowy; po rozerwaniu igłą kolonii widoczne są mikroskopowo małe „wtórne“ kolonijki. Żelatyna ani surowica Loeffler'a nie rozrzedzają się (tu wspomnę, że *bac. granulosis* Russel szybko peptonizuje żelatynę).

Podłoża płynne, jak np. buljon mięsny lub glicerynowy mętnieje równomiernie, choć nie intensywnie—w przeciwstawieniu do hodowli *bac. diphtheriae*, *pseudodiphtheriae* et *xerosis*, które dają w buljonach charakterystyczne osady. Niema indolu i skatolu w buljonie i w peptonie. Mleko nie zmienia się nawet przy dłuższym staniu — pomimo odbywającego się rozwoju (t^o 37° C.) — zarówno rozcieńczone, jak nierozcieńczone.

Granulobacillus wzmacnia alkaliczność niektórych podłoży, zawierających łatwo rozpadające się ciała organiczne, narówni z *bac. proteus vulgaris*. W załączonej poniżej tablicy podają oznaczenia stopnia zasadowości (włącznie z określeniem polarymetrycznym) buljonów mięsnych bez dodatku cukru lub gliceryny przed szczepieniem i po 24 i 48 godzinach (t^o 37° C.) po szczepieniu. W celu porównawczym takie same określenia wykonałem i z *bact. coli com.*, *pneumobacillus* Friedländeri, *proteus vulgaris* i *bac. fluorescens liquefaciens* oraz z hodowlami mieszanymi każdego z tych gatunków wspólnie z *granulobacillus* przy jednakowych warunkach (czasu, t^o i podłoża). Zasadowość wyrażona w $\frac{N}{10}$ cm³ kwasu (solnego). L-skręc. płaszcz. polar. wlewo.

Porównanie hodowli buljonowych pod względem zasadowo-

		Przed szczep.	Po 24 godz.	Po 48 godz.	Po 3 i 4 dniach
<i>Granulobacillus</i>	{ alkal. .	3.0	1.0	4.0	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	1-1.0 ^o	1-0.8 ^o
<i>B. coli commune</i>	{ alkal. .	3.0	2.0	1.0	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	—
<i>Granul. + b. coli</i>	{ alkal. .	3.0	3.0	—	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	—	—
<i>Granulobacillus</i>	{ alkal. .	3.0	1.0	4.0	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	—
<i>Pneumobacillus</i>	{ alkal. .	3.0	0	0	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	—
<i>Granul. + pneumobac.</i>	{ alkal. .	3.0	2.6	—	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	—	—	—
<i>Granulobacillus</i>	{ alkal. .	3.0	1.0	4.0	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	1-1.0 ^o	—
<i>Proteus vulgaris</i>	{ alkal. .	3.0	2.0	5.0	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.3 ^o	1-1.2 ^o	—
<i>Granul. + proteus</i>	{ alkal. .	3.0	3.0	—	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	—	—
<i>Granulobacillus</i>	{ alkal. .	3.0	1.0	4.0	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	1-1.0 ^o	—
<i>B. fluoresc. liquef.</i>	{ alkal. .	3.0	2.0	2.5	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.3 ^o	1-1.3 ^o	—
<i>Granul. + fluoresc.</i>	{ alkal. .	3.0	3.0	—	—
	{ polar. .	1-1.4 ^o	1-1.4 ^o	—	—

ści w obecności kwasu moczowego i mocznika i bez takowych wyraża się w następujący sposób:

	Przed szczep.	Po 24 godz. t ^o 37 ^o C.
1) buljon zwykły mięsny. . .	3 cm $\frac{N}{10}$ HCl ^o / ₁₀₀	3 cm $\frac{N}{10}$ HCl ^o / ₁₀₀
2) „ + 0.1% kwasu moczowego.	3 „ „	9 „ „
3) buljon + 1.0% mocznika . . .	3 „ „	54 „ „
4) „ + 1.0% siarczanu amonu	3 „ „	46 „ „

Co do zmiany oddziaływania buljonu mięsnego (bez dodatków), to pod wpływem granulobac. w ciągu pierwszych 24 godzin stwierdziłem pewne wahania stopnia alkaliczności, która początkowo nieco spada, ale po 48 godzinach znów wraca do normy i następnie wzrasta w tym stopniu, jak *proteus v.*, w okresie 5-dniowym.

Porówn. określ. odczynu buljonu pod wpływem rozwoju (24 g. 37° C.) przy jednakowych warunkach:

- 1) *bac. diphteriae* wytw. kwas w ilości odpow. 0.5 cm $\frac{N}{10}$ H₂SO₄
- 2) *bac. pseudodipht.* wytw. alkal. w ilości odpow. 0.1 cm „ NaOH
- 3) *bac. xerosis* „ kwas „ „ 0.3 „ „ H₂SO₄
- 4) *proteus vulgaris* „ alkal. „ „ 0.5 „ „ NaOH

Zaznaczę, że — jak wiadomo z nowszych badań Lubenau oraz Berry i Banzhofa—zmiana reakcyi podłoża pod wpływem *b. diphteriae* zależy od składu samego podłoża i zawartości węglowodanów, pochodzących z mięsa.

Wzrost zasadowości w związku z rozkładem ciał azotowych. Rozkład kwasu moczowego, mocznika i kwasu hippurowego. *Granulobacillus* posiada zdolność rozkładu kwasu moczowego, hippurowego i mocznika przy t° 37° C. Przytaczam poniżej jedno z badań ścieków, zawierających mocz. Ściek neutralnej reakcyi zawiera:

substancyj organicznych.	640 mg na 1 l
chlorków	760 „ „ 1 l
amoniaku.	1 „ „ 1 l

Oznaczenia wykonane w ścieku wyjałowionym przed zaszczepieniem *granulobacillus* i codziennie przez szereg dni w odstępach 24-godzinnych. Wyniki zestawione są w następującej tablicy:

	Ściek jałowy (wyk. kontrola)	Po 24 g.	Po 48 g. w tem	Po 3 dobach	Po 4 dobach	Po zneutralizow.	
		t° 37° C.	24 g. w pok. temp.	37° C.		po 24 g. 37° C.	48 godz. 37° C.
Oddziaływanie	obojętne	1.5 cm N 10 HCL %	2.2	70!	90!	76	224
Substancje organicz. (moczn. + kw. mocz.).	640 mg ‰	270	220	211	236!	201	233.6
Chlorki . . .	760 „	760	760	760	760	760	760
Amoniak . . .	1 „	26	37	114	153	232	380
Azotyny . . .	0	0	0	0	0	0	0
Azotany . . .	0	0	0	0	0	0	0

Początkowe spadki związków organicznych wyrażają się w cyfrach 56 i 20%, w ciągu 3-ej doby spadek jest już mniejszy—wynosi tylko 4%, okres ten odpowiada znacznemu wzrostowi NH_3 : z 37 na 114 $\text{mg} \text{ } ^\circ\text{}/\text{100}$. Wprawdzie spadek organicznych, wyrażonych w ilości nadmanganianu, potrzebnego do utlenienia, wynosi w ciągu 1 doby 56%, a po 3 dniach 67%, ale ponieważ nadmanganian działa również na amoniak, więc dla sprawdzenia ilości związków organicznych, odpędziłem amoniak przez destylację z magnezją:

przed destylacją ilość organ. = 233.6 mg na 1 l
po destylacji „ „ = 134.0 „ „ 1 l

czyli absolutny spadek organicznych wynosił 79%.

Granulobacillus wydziela z soli amonowych wolny amoniak; zwiększenie alkaliczności buljonu z zawartością 10% siarczanu amonu po 24 g. (37°C .) wynosi z 3 do 46 $\text{cm}^2 \frac{\text{N}}{10}$ kwasu na litr.

Czyste hodowle rozkładają mocznik i kwas moczowy, co stwierdziłem nie tylko w moczach, ale i w kulturach z dodatkiem 0.1% kwasu moczowego (M e r c k'a) lub 1% mocznika (K a h l b a u m'a). Przesącze zaś z hodowli buljonowych, otrzymane przez świece Berkefeld'a, własności tychże nie posiadają.

Bardziej złożone związki azotowe, jak białko, kreatynina i t.d., nie podlegają rozszczepieniu pod wpływem gr., prostsze zaś, jak kwas moczowy i mocznik — rozpadają się przy odpowiedniej t° (37°C .), wytwarzając wolny amoniak.

Szybkość rozkładu związków azotowych (mocznika i kwasu moczowego) zależną jest w b. znacznym stopniu od temperatury, jak widać z następujących danych.

Z a s a d o w o ś ć

zaraz po zaszczerpieniu	po 24 godzinach		
	przy 8°C .	15°C .	37°C .
24 cm^3 1/10 N.—HCl na 100	25	26	47

Rozkład mocznika i kwasu moczowego przy ciepłocie niższej od 37°C . odbywa się bardzo wolno: przeciętne cyfry z wielu oddzielnych badań i spostrzeżeń dowodzą, że jednakowe lub zbliżone odsetki rozłożonego moczowego kwasu otrzymuje się

przy 37° C.	48 godzin
„ 20° „	26 dni
„ 8° „	78 dni

Akcentując te dane, powołałam się na nie we wnioskach z tej pracy.

Działanie *granulobacill.* w symbiozie z beztlenowcami. Ponieważ w zbiornikach ściekowych biologicznych czynne są równocześnie tlenowce z anaerobami, więc zaszczyliłem w podłożach z kwasem moczowym i mocznikiem równocześnie dwa gatunki beztlenowe — *paraplectrum foetidum* i *clostridium foetidum* i jeden tlenowiec *granulobacillus*. Okazało się, że w takim połączeniu nietylko niema współdziałania, lecz nawet przeciwnie, domieszka anaerobów osłabia działanie *granulobacillus* na kwas moczowy i mocznik:

Beztlenowce + *granulobacillus* (37° C.)

Zasad. buljonu zaraz po zaszczyep.	56 cm	$\frac{N}{10}$	HCl na 100
„ „ z kw. mocz. po 24 g.	64	„ „	„
„ „ z mocznikiem „	78	„ „	„

czyli wzrost alkaliczności przy kwasie moczowym wynosi tylko 14%, a przy moczniku 39%, podczas gdy wzrost alkali pod wpływem samego *granulobacillus* w tych samych warunkach wynosi:

	<i>Granulobacillus</i>	Wspólnie z anaerob.
Przy kwasie moczowym.	30%	14%
Przy moczniku.	1800%	39%

Własności redukcyjne: *Granulobacillus* posiada wybitne własności redukcyjne, co zależnem jest wyłącznie od obecności samych ciał bakteryjnych: przesącze przez świece Berkefeld'a wykazują minimalnie słabe własności redukcyjne, żywe hodowle zaś bardzo silne w porównaniu do różnych innych gatunków. Tu zaznaczę, że według moich badań kontrolowych — reakcyja w hodowlach *b. protei* i *bact. coli com.* jest zależną pośrednio tylko od bakteryj, a bezpośrednio od wytwarzanego w kulturach siarkowodoru; *granulobacillus* zaś nie wytwarza siarkowodoru i redukuje sam przez się. Po doprowadzeniu tlenu odbarwione barwniki (błękit metyl., indigo) zabarwiają się ponownie.

Granulobacillus odtlenia roztworu saletry, przyczem odgry-

wa pewną rolę zawartość tej ostatniej. Reakcyja na kwas azotawy była:

przy 0.025% KNO ₃	0.05	0.1	0.2%
po 24 godzinach ujemna	b. silna	silna	b. słaba
po 33 godzinach dodatnia	„	„	silna

ale we wszystkich czterech próbach obecny jeszcze kwas azotowy nie rozłożony. Sądząc z dotychczasowych prób, proces od-tleniania odbywa się najlepiej przy zawartości saletry, wynoszącej 0.05%.

Zarówno jak obecność anaerobów osłabia działanie *granulobacillus* na mocznik i kwas moczowy, tak też i obecność *granulobacillus* osłabia własności i działanie bakteryi nitrifikujących; w takich warunkach amoniak nie utlenia się do kwasu azotowego po 48 godzinach:

bakt. nitrifikujące	też same + <i>granulobac.</i>
kwas azotawy +	—

Na zjawisko to również powołałam się niżej przy wnioskach ogólnych.

Symbioza *granulobac.* z beztlenowcami w ściekach. Jak wiadomo, w basenach biologicznych odbywają się zjawiska, zależne równocześnie od działania tlenowców i beztlenowców. Pragnąc wyjaśnić, jaką rolę w tem spełnia lub spełniać może *granulobacillus*, zaszczepiłem hodowlę ostatniego współrzędnie z dwoma gatunkami beztlenowców (*clostridium et paraplectrum foetidum*) w ścieku, uprzednio wyjałowionym.

		Alkal. %	Chlor. ‰	Części stałe	Amoniak	Utle- nianie	N ₂ O ₅	N ₂ O ₅
Po 5 dniach w ciepłarnie	Przed szcz.	24 cm N 10 HCl na 100	2870 mg	16450 mg organ. miner. 13100 3350 mg	miner. org. — 4828	256 mg tlenu	—	—
	<i>Granulob.</i>	121 „	2870 „	16450 mg	2053 m 2775	1696 mg	—	—
	<i>Granulob.</i> + anaer.	31 „	2870 „	bez zmiany	646 „ 4180	1216 „	—	—
	Anaeroby	27 „	2870 „	„ „	178 „ 4650	2200 „	—	—

I w tym ścieku symbioza beztlenowców z *granulobacillus* nie okazała się dla tego ostatniego korzystną.

Wpływ *granulobacillus* na cukry. Badania, przeprowadzone w celu stwierdzenia wpływu danych bakterii na różnego rodzaju cukry, wykazały, że ostatnie podlegają rozkładowi w bardzo nieznacznym stopniu. Szczepiąc hodowlę w peptonie z domieszką cukrów po 1% na wagę cukru trzcinowego, słodowego, mlecznego lub gronowego, określałem co 24 godziny przyrost kwasowości i spadek odsetki cukru, który po upływie 5 dni wynosił:

przy trzcinowym	12.8%
„ słodowym.	28.0%
„ mlecznym.	0 (w peptonie z laktozą)
„ gronowym	25.0%

Kwasowość przy cukrze mlecznym pozostała bez zmiany, przy pozostałych wzrosła przeciętnie z 3 do 11, wzgl. $10 \text{ cm}^3 \frac{N}{10}$ ługu na 100.

Równocześnie wykonałem badania porównawcze z *bact. coli com.*, *pneumobacillus* Friedländeri, *proteus vulgaris* i *bac. fluorescens liquef.*, i z hodowlą mieszaną każdego z tych gatunków z *granulobacillus*. Wszystkie badania przy t. 37° C.

Szczegóły tych oznaczeń zestawione są w następującej tabelicy:

			Przed szcze- pieniem	Po 24 godz.	Po 48 godz.	Po 3 dniach	Po 4 dniach
Pepton + cukier trzcinowy 1%	<i>Granul.</i>	{ kwasow.	3 cm na 100	4	10	11	11
		{ polar.	d-1.6°	d-1.4°	d-1.4°	d-1.2°	d-1.4°
	<i>B. coli</i>	{ kwasow.	3	3	15	9	—
		{ polar.	d-1.6°	d-1.6°	d-1.6°	d-1.2°	—
	<i>B. coli</i> + <i>granulob.</i>	{ kwasow.	3	11	—	—	—
		{ polar.	d-1.6°	d-1.2°	—	—	—
	<i>Granul.</i>	{ kwasow.	3	4	10	11	—
		{ polar.	d-1.6°	d-1.4°	d-1.4°	d-1.2°	—
	<i>Pneumo- bacillus</i>	{ kwasow.	3	3	4	4	—
		{ polar.	d-1.6°	d-1.6°	d-1.6°	d-1.4°	—
	<i>Pneumob. + granul.</i>	{ kwasow.	3	8	—	—	—
		{ polar.	d-1.6°	d-1.4°	—	—	—
<i>Granulob.</i>	{ kwasow.	3	4	10	11	11	
	{ polar.	d-1.6°	d-1.4°	d-1.4°	d-1.2°	d-1.4°	

			Przed szcze- pieniem	Po 24 godz.	Po 48 godz.	Po 3 dniach	Po 4 dniach
Pepton+cukier trzcin. 1%	<i>Proteus</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-1.6°	3 d-1.6°	4 d-1.5°	5 d-0.8°	— —
	<i>Granul. + proteus</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-1.6°	10 d-1.4°	— —	— —	— —
	<i>Granulob.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-1.6°	4 d-1.4°	10 d-1.4°	11 d-1.2°	— —
	<i>Bact. fluor.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-1.6°	3 d-1.6°	4 d-1.2°	2 d-1.4°	— —
	<i>B. fluoresc. + granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-1.6°	9 d-1.5°	— —	— —	— —
Pepton + cukier słodowy 1%	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	8 d-2.8°	12 d-2.2°	11 d-2.4°	10 d-2.0°
	<i>Bact. coli com.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	5 d-2.8°	15 d-2.0°	16 d-1.9°	— —
	<i>B. coli + Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	12 d-2.3°	— —	— —	— —
	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	8 d-2.8°	12 d-2.2°	11 d-2.4°	10 d-2.0°
	<i>Pneumob.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	5 d-2.8°	11 d-2.5°	14 d-2.2°	— —
	<i>Pneumob. +Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	12 d-2.3°	— —	— —	— —
	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	8 d-2.8°	12 d-2.2°	11 d-2.4°	10 d-2.0°
	<i>Proteus</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	4 d-2.8°	5 d-2.7°	4 d-2.4°	— —
	<i>Proteus + Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	11 d-2.4°	— —	— —	— —
	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	8 d-2.8°	11 d-2.2°	11 d-2.4°	10 d-2.0°
	<i>Bact. fluoresc.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	3 d-2.8°	3 d-2.8°	3 d-2.4°	— —
	<i>B. fluor. + Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-2.8°	8 d-2.6°	— —	— —	— —
Pepton+cukier mleczny 1%	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-0.6°	4 d-1.0°	5 d-0.6°	3 d-0.6°	3 d-0.8°
	<i>B. coli.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-0.6°	5 d-0.6°	11 d-0.5°	16 d-0.4°	— —
	<i>B. coli + Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-0.6°	10 d-0.5°	— —	— —	— —
	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . . polar. . .	3 d-0.6°	4 d-1.0°	5 d-0.6°	3 d-0.6°	3 d-0.8°

			Przed szcze- pieniem	Po 24 godz.	Po 48 godz.	Po 3 dniach	Po 4 dniach
Pepton + cukier mleczny 1%	<i>Pneumob.</i>	{ kwasow. . .	3	3	18	18	—
		{ polar. . .	d-0.6°	d-0.6°	d-0.2°	d-0.2°	—
	<i>Pneumob.</i> + <i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	12	—	—	—
		{ polar. . .	d-0.6°	d-0.5°	—	—	—
	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	4	5	3	3
		{ polar. . .	d-0.6°	d-1.0°	d-0.6°	d-0.6°	d-0.8°
	<i>Proteus</i>	{ kwasow. . .	3	3	3	4	—
		{ polar. . .	d-0.6°	d-0.6°	d-0.6°	d-0.5°	—
	<i>Proteus</i> + <i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	5	—	—	—
{ polar. . .		d-0.6°	d-0.6°	—	—	—	
<i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	4	5	3	3	
	{ polar. . .	d-0.6°	d-1.0°	d-0.6°	d-0.6°	d-0.8°	
<i>Bact. fluor.</i>	{ kwasow. . .	3	3	2	1	—	
	{ polar. . .	d-0.6°	d-0.6°	d-0.6°	d-0.3°	—	
<i>B. fluor.</i> + <i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	3	—	—	—	
	{ polar. . .	d-0.6°	d-0.6°	—	—	—	
Pepton + cukier gronowy 1%	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3 cm	10	12	11	10
		{ polar. . .	d-0.8°	d-0.8°	d-0.8°	d-0.6°	d-0.6°
	<i>B. coli</i>	{ kwasow. . .	3	—	16	16	—
		{ polar. . .	d-0.8°	—	d-0.4°	d-0.4°	—
	<i>B. coli</i> + <i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	15	—	—	—
		{ polar. . .	d-0.8°	d-0.8°	—	—	—
	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	10	12	11	10
		{ polar. . .	d-0.8°	d-0.8°	d-0.8°	d-0.6°	d-0.6°
	<i>Pneumob.</i>	{ kwasow. . .	3	—	23	25	—
		{ polar. . .	d-0.8°	—	0	0	—
	<i>Pneumob.</i> + <i>Granul.</i>	{ kwas. . .	3	16	—	—	—
		{ polar. . .	d-0.8°	—	—	—	—
	<i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	10	12	11	10
		{ polar. . .	d-0.8°	d-0.8°	d-0.8°	d-0.6°	d-0.6°
<i>Proteus</i>	{ kwasow. . .	3	5	5	6	—	
	{ polar. . .	d-0.8°	d-0.8°	d-0.7°	d-0.7°	—	
<i>Proteus</i> + <i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	10	—	—	—	
	{ polar. . .	d-0.8°	—	—	—	—	
<i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	10	12	11	10	
	{ polar. . .	d-0.8°	d-0.8°	d-0.8°	d-0.6°	d-0.6°	
<i>Bact. fluor.</i>	{ kwasow. . .	3	—	10	13	—	
	{ polar. . .	d-0.8°	—	d-0.6°	d-0.6°	—	
<i>B. fluor.</i> + <i>Granul.</i>	{ kwasow. . .	3	12	—	—	—	
	{ polar. . .	d-0.8°	—	—	—	—	

Wpływ *granulobacillus* na mleko i laktozę w porównaniu do innych bakteryi i w mieszaninie z nimi uwidocznią się w następujących doświadczeniach:

		Przed szczep.	Po 24 godz.	Po 48 godz.	Po 72 godz.
<i>Granulobacillus</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 cm d—4.8°	25 cm d—4.6°	31 cm d—4.5°	35 cm N/10 ługu; d—4.4°
<i>B. coli commune</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	53 d—3.8°	62 d—3.1°	— —
<i>B. coli + granul.</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	19 d—4.8°	— —	— —
<i>Granulobacillus</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	25 d—4.6°	31 d—4.5°	— —
<i>Pneumobacillus</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	63 d—2.8°	68 d—2.6°	— —
<i>Gran.+pneumob.</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	67 d—2.5°	— —	— —
<i>Granulobacillus</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	25 d—4.8°	31 d—4.5°	— —
<i>Proteus vulgaris</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	27 d—4.6°	28 d—4.5°	— —
<i>Proteus+granu!</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	30 d—4.4°	— —	— —
<i>Granulobacillus</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	25 d—4.8°	31 d—4.5°	— —
<i>B. fluorescens</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	23 d—4.6°	30 d—4.4°	— —
<i>Granulobacillus</i> + <i>B. fluoresc.</i>	{ kwasowość polaryz. . .	24 d—4.8°	43 d—4.0°	— —	— —

W celu porównawczym wykonałem następujący szereg określeń miana w buljonie z 1% mocznika (jako kontrola) oraz w 6.20 i 46 godzin po zaszczepieniu różnych gatunków bakteryi. Miano określano zapomocą decinorm. kwasu (indykator methyl-orange): p. nast. stronę.

Wyraźniejsze różnice występują, jeżeli zamiast buljonu, użyć podłoże bezbiałkowe z mocznikiem 1%.

Wnioski z powyższych oznaczeń omówione są poniżej, w końcowym ustępie pracy.

Rozwój w innych podłożach. W cieplarni przy 37° *granulobacillus* daje szybki wzrost, wolniej przy ciepłocie pokojowej, tworząc na powierzchni agaru lub surowicy już po upływie

Buljon alkal. mięsny z 1% mocznika (Kahlbaum) zasad. = 43 cm	Zmiana reakcyi (ilość cm^3 N/10 kwasu na 100)		
	Po 6 godz.	Po 20 godz.	Po 46 godz.
Buljon jałowy (kontrola)	44	45	50!
<i>Bac. diptheriae</i>	56	71!	49!
<i>Bac. pseudodiptheriae</i>	45	68	80
<i>Granulobacillus putrificus</i> , n. sp. (rhinitis)	50	64	95!
„ (prostatitis).	58	64	95
<i>Bac. typhi abdominalis</i>	56	57	63
<i>Bact. coli commune</i>	53	56	72!
<i>Bact. paratyphi B</i>	50	48!	65
<i>Bac. faecalis alcaligenes</i>	55	59!	65
<i>Bac. fluorescens liquefac.</i>	54	47!	64
<i>Bac. pyocyaneus</i>	58	57!	63
<i>Bac. proteus vulgaris</i>	45	52	70
<i>Pneumobacillus Friedländeri</i>	48	49	58
<i>V. cholerae asiat.</i>	58	36!	57
<i>V. berolinensis</i>	63	45!	60
<i>Spir. tyrogenum</i>	47	56	62
<i>Clostridium foetidum carnis</i> anaërob. .	48	58	58
<i>Paraplectrum foetidum</i> „	37	59	60

6—15 godzin kolonie w średnicy do 1 — 1½ mm, a po 24—30 godzinach duże wypukłe szaro-białe kolonie, nie skłonne do łączenia się. W podłożach cukrowych nie wytwarzają się gazy. W żelatynie niema peptonizacji (przy temp. pokojowej). Buljon mętnieje bez powierzchniowej błonki, w starych hodowlach zbiera się osad nieduży na dnie. Na powierzchni kartofla wzrost biały, na igle niema konsystencji śluzowej. Dodatek gliceryny lub jednego z wymienionych 4 cukrów jest obojętny dla wzrostu i nie wpływa na własności hodowli. B. obfity rozwój hodowle wykazują na podłożach Endo i Conradi-Drigalskiego, zwłaszcza na pierwszym, wzrost i zabarwienie w sposób charakterystyczny odróżniają dany gatunek od *bac. diptheriae* i *pseudodiptheriae*.

Odporność bakteryi na wpływy zewnętrzne. Hodowle *granulobacillus* nie oznaczają się wielką odpornością: ogrze-

wane postępowo od 40 do 95° C. i co każde 5° zwyżki przeszcze-
piane na świeże podłoża, wykazały przy 55° i 60° zahamowanie,
a przy 65° zabicie kultur; nawet dwugodzinne ogrzewanie przy 45°
mało wpływa na rozwój bakteryi, po 3 godzinach zahamowanie
słabe wzrostu.

Obecność w nadmiarze wolnego amoniaku zabija bakterye,
ale po zubożeniu podłoża kwasem siarczanym i ponownem za-
szczepieniu hodowli rozwój trwa dalej aż do ponownego nagroma-
dzenia NH₃ (por. wniosek ostatni). Bakterye dane giną przy 10 min.
traktowaniu hodowli 2% karbolem lub 2‰ sublimatem, natomiast
nie giną pomimo dwugodzinnego działania 1 do 10% rozczynów
trypsyny, pepsyny ani lecytyny.

Przy łącznym rozwoju (symbioza) *granulobacillus* z jednym
z 4-ch gatunków bakteryi: *b. coli com.*, *pneumobacillus* Friedlän-
deri, *proteus vulgaris* lub *b. fluorescens liquefaciens* — zarówno
z żywemi, jak z hodowlami wyjałowionemi (przed zaszczeniem
granulobacillus) — najbogatszy wzrost odbywa się wtedy, kiedy łą-
czone są 2 gatunki antagonistyczne, jak *granulobacillus* + *b. coli*
com., znacznie gorszy przy symbiozie *granulobacillus* + *proteus*
vulgaris. Już wyżej wspominałem, że na własność danego ga-
tunku rozkładu mocznika ujemnie wpływa równoczesny roz-
wój dwóch szczepów beztlenowych (*clostridium* i *paraplectrum*
foetidum).

Własności ropo- i chorobotwórcze ogólne i miej-
scowe.

Doświadczenie I. 5 grudnia 1912 roku. Młode 24 go-
dzinne hodowle *granulobacillus* zaszczepiłem śwince wagi 240 g
(t° przed iniekcją 38.1° C.) do otrzewnej. Wahania t°: 6 grudnia
38.1 — 38.4, 7 grudnia i dni następnych bez zmiany. Sekcyja
18 grudnia nie wykazała żadnych zmian chorobowych.

Doświadczenie II. 18/XII — 1912 roku. 1 cm zawiesiny
z 24 godzin hodowli podskórnice do jądra świnki — samca (waga
750 g); po 24 godzinach t° z 38.3 podniosła się do 38.8; nazajutrz
i następnych dni wahania 38.3—38.6°. Miejscowo *orchitis*: po 48 go-
dzinach duży ropień trwa bez zmiany 11 dni przy niskiej temp.
Sekcyja zabitego samca: brak bakteryi we krwi (posiewy z serca)
czysta hodowla *granulobacillus* z ropnia, tamże masa ropy. Suro-
wica krwi nie aglutynuje homo ani heterol. szczepów *granulo-*
bacilli.

Doświadczenie III. 18 grudnia 1912 r. Zaszczepienie podwójnej (2 cm³) dawki zawiesiny gęstej z hodowli 24-godzinnej agarowej do peritoneum morświnki, nie wpłynęło na temp., ani nie spowodowało jakichkolwiek zmian miejscowych lub ogólnych.

Doświadczenie IV. 12 stycznia 1913 r. Wtarcie 1 uszka hodowli *granulobacillus* do spojówki królika młodego: nazajutrz lekkie zaczerwienienie, 14/1 — nieznaczne obrzmienie; objawy słabe, po 4 dniach niema śladu.

Doświadczenie V. 12/I — 1913 r. Dwóm świnkom morskim (wagi 330 i 510 g) iniekcya pierwszej 1 cm hodowli buljonowej podskórnie, drugiej 1 cm bezpośrednio szprycą do serca. U obydwóch temp. waha się w granicach prawidłowych, jak i przed szczepieniem 37.2 — 38.6° w ciągu kilku następnych dni. Dalej nie były codziennie obserwowane; pierwsza nie reagowała wogóle, druga zdechła 15/II przy zmniejszonej wadze (490 g): na sekcji tylko nerki przekrwione i powiększone; w śledzienie i wątrobie zmian żadnych; krew (z serca) jałowa.

Doświadczenie VI. 12/I — 1913 r. Śwince małej (190 g wagi) do kieszonki pod skórę na szyi wprowadziłem 2 uszka 18-godzinnej hodowli z agaru; temp. przed szczepieniem 38.5°; następnych dni 38.2, 38.5, 38.6, 38.3; objawów żadnych: miejscowych ani ogólnych.

Doświadczenie VII. 22/IX — 1913 r. 1 kroplę hodowli buljonowej wprowadziłem do przedniej komory ocznej (po uprzednim znieczuleniu gałki kokainą) dużego królika 1680 g wagi. Na drugi dzień rogówka zmętniała, słaba infiltracya; na trzeci — silna infiltracya, przekrwienie naczyń gałki ocznej; przekrwienie łącznicy; po 7 dniach naczynia znikły, pozostała mała biaława plamka wielkości grochu, która trwa do obecnej chwili (4/XII).

Na spojówce drugiego oka u tegoż samego królika, wtarłem mocno część kultury: zaczerwienienie, obrzmienie i sączenie śluzoworopnego płynu trwało 8 dni; później miejscowe objawy stopniowo ustąpiły. Temp. bez zmiany.

Doświadczenie VIII. 28/X — 1913 r. Samcowi—śwince wprowadziłem szprycą 2 cm buljonu z dwudniowej hodowli do pęcherza. Temp. po 24 i 48 godzinach bez zmiany (38.2). Po 48 godzinach sekcya wykazała wyraźne objawy zapalenia śluzówki (przekrwienie, śluz i ropa); *granulobacillus* w ogromnej ilości wyhodowany w kulturze z ropy z cewki, ale krew z serca jałowa.

Doświadczenie IX. 2/XII powtórzyłem próbę iniekcji 2 kropeł hodowli *granulobacillus* do przedniej komory ocznej dużego królika, wagi 1620 g. Już po 18 godzinach infiltrat parenchymatyczny ze zmętnieniem rogówki, silnem przekrwieniem naczyń; d. 4/XII królika tego demonstrowałem w czasie odczytu na posiedzeniu Wydziału III Tow. Naukowego, a fotografię załączam. Surowica krwi własności aglutynacyjnych nie posiada. Zmiany w oku po upływie 1 miesiąca od iniekcji — przedstawiają się, według orzeczenia okulisty d-ra Czyżewskiego, jak następuje: „Na rogówce naokoło włókcia głęboka szara infiltracja. W tęczówce masa nowoutworzonych naczyń. Brzegi źrenicy tęczówki przyklejone do soczewki (tylne przyczepy „t. zw. „sinechiae posteriores“). Wreszcie, chcąc się przekonać, czy wprowadzenie do *peritoneum* świnki *granulobacillus* wspólnie z innymi bakteriami zwiększa czy też osłabia zjadliwość, wykonałem następujące doświadczenie:

Doświadczenie X. I/XII — 1913 roku. Zaszczepiono śwince wagi 260 g podskórnie dla kontroli nast. doświadczenia zawiesinę *pneumobacillus* Friedländeri: temp. przed szczepieniem 37.9, w 6 godzin po iniekcji 39.9, exitus po 18 godzinach; sekcyja wykazała przekrwienie worka sercowego, śledziony, nadnerczy; mikrosk. wielkie nagromadzenie bakteryi w otoczkach (Gram-) we wszystkich organach; a w posiewach z krwi serca, ze śledziony, wątroby i nerek — wszędzie otrzymałem czystą hodowlę *pneumobacillus* Friedländeri.

I/XII — 1913 r. Równocześnie zaszczepiłem drugą świnkę wagi 250 g takąż samą zawiesiną i w tejże ilości (0.75 cm^3) i równocześnie wprowadziłem do otrzewnej 1 cm^3 zawiesiny *granulobacillus*; temp. przed szczepieniem 38.0, w 6 godz. po iniekcji 39.0; po 24 godz. t^0 40.3; na 3 dzień 39.9; na czwarty 40 0 ; 5-go dnia t^0 normalna (38 0). Sekcyja wykazała brak objawów, jakie były u poprzedniej świnki, a posiewy krwi z serca i z innych narządów pozostały jałowe; również i w preparatach ze śledziony i krwi niema żadnej flory!

O ile by można było robić wnioski z tego doświadczenia pojedynczego, w ustroju zwierzęcym, tak jak i w symbiozie w hodowlach, *granulobacillus* nie sprzyja rozwojowi laseczników Friedländeri, tak jak i odwrotnie podlegają osłabieniu pewne własności pierwszego z nich — pod wpływem beztlenowców: *clostridium* i *paraplectrum*.

Nie mogąc wykonać doświadczeń na ludziach i przekonać się o własnościach ropotwórczych, jakie stwierdziłem na zwierzętach, muszę zadowolnić się stwierdzeniem faktu, że *granulobacillus* znajdował się wielokrotnie bez żadnej domieszki innych bakterii przy zapaleniach pęcherza i stercza u ludzi, oraz w ropnych zapaleniach antri Highmori, a w symbiozie z innymi drobnoustrojami przy stanach zapalnych nosa (rhinitis) i gardła (angina), co na pierwszy rzut oka przy badaniu bakteryoskopowym może łatwo dać powód do omyłki rozpoznawczej błonicy: konieczną jest zatem kontrola na podłożach Endo. Trzykrotnie miałem sposobność wyosobnienia *granulobacillus* przy *rhinitis haemorrhagica* u dzieci — dwa razy w symbiozie z ziarniakami (w tem 1 raz były i *pneumococci*), jeden raz w czystej kulturze bez żadnych domieszek.

Badanie biologiczne surowicy krwi ludzi i zwierząt odnośnie do *granulobacillus putrificus* daje wyniki ujemne (odczyn Abderhaldena, reakcyja Bordet-Gengou, aglutynacyja) — prawdopodobnie wskutek tego, że *gran. p.* wywołuje tylko objawy miejscowe na śluzówkach; raz jeden tylko otrzymałem z surowicą króliczą aglutynacyę w rozcieńczeniu 1:30. Brak własności biol. analogicznie bywa i przy innych drobnoustrojach, wywołujących tylko zmiany miejscowe.

Rozpoznanie różniczkowe głównie musi uwzględniać *bac. diptheriae* i grupę laseczników rzekomo-błonicych. Od całej tej grupy *bacillus s. granulobacillus putrificus* różni się zasadniczo: 1) pod względem własności ropotwórczych na błony śluzowe, 2) rozkłada przy t. 37° C. mocznik i kwas moczowy i hippurowy, uwalniając amoniak zarówno z organicznych, jak i nieorganicznych związków i wytwarzając przytem silnie zasadowe oddziaływanie, 3) posiada własności redukcyjne (odtlenia saletrę), 4) na podłożach cukrowych z indykatorami (Endo) w ciągu pierwszych 15 godzin wytwarza sł. kwaśną reakcyę, kolonie przytem zabarwiają się lekko różowo (podłoże przy tem nie zabarwia się) i nie zwiększają zabarwienia w miarę dalszego rozwoju. Uwydatnia się różnica przy hodowaniu danych bakteryj w buljonie z dodatkiem 1% mocznika (firmy Kalbaum'a) lub z 10% siarczanu amonu.

W szczególności — prócz powyższych cech — charakterystycznych dla *granulobacillus*, a nieobecnych u bakteryj grupy *diptheriae* — te ostatnie mają inne cechy różniczkowe dodatnie, jak to:

b. diptheriae: własności swoiste, wzrost tylko przy 37° i na spec. podłożach; *b. pseudodiptheriae* Hoffmann-Wellenhof: nieobecność lub rzadkie zjawianie się ciałek biegunowych, duży osad w hodowlach buljonowych, brak wszelkich własności chorobowe lub ropotwórczych; „*diptheroidy*“: opisy tych bakterii bardzo różnią się między sobą, według Marcinkowskiego (Zeitschr. f. Hyg. 1913, str. 185) wytwarzają kwas, są b. małe („dyfterya w miniaturze“) o innych własnościach nie wiadomo; *bac. xerosis* Neisser: krótkie laseczniki, mało podobne do *b. diptheriae*, buljon klarowny, na zwierzęta nie działa; *bac. septatus* Gelpke: krótkie laseczniki, jak poprzednie bez granulacji, buljon klarowny, powoduje *rhinitis epidemica*, o innych własnościach nie wiadomo; *b. striatus albus* Besser: prawdopodobnie identyczny lub b. zbliżony do *bac. pseudodiptheriae*, rozwija się i przy pokojowej temp., buljon nie mętnieje, nie posiada cech choroby- ani ropotwórczych; *b. nodosus parvus* Lustgarten: zbliżony do *b. diptheriae*, o własnościach patolog. i innych prawie nie wiadomo; *bac. pseudotuberculosis murium* Kutscher: kolonie na agarze żółte, chorobotwórczy tylko dla myszy; *b. pseudotuberculosis ovis* Preisz, Guiard: laseczniki krótsze od *b. diptheriae*, na surowicy hodowla barwy „orange“, chorobotwórczy dla królików, owiec, świnek (*pseudotuberculosis*); *bac. pyogenes soli* Bolton: morfolog. i w hodowlach zbliżony do *b. pseudotuberculosis murium*; *bac. granulatus* Russell: laseczniki z ziarnistością w postaci długich nitek; szybka peptonizacja żelatyny, na kartoflu wzrost śluzowaty¹⁾.

Z bakterii innych grup, morfol. nie zbliżonych do *granulobacillus*, możnaby różniczkować tylko te gatunki bakterii, które nie posiadają zarodników, są nieruchome, nie peptonizują żelatyny i barwią się według Grama (+); ale opisy tych gatunków tak bardzo odbiegają od cech *granulobacilli*, że wymieniać ich szczegółowiej nie będę (tu zaliczyć trzeba *bac. villosus* Kech, *bac. halans* Zimm., *bac. polymorphus* Frankland, *bac. bulescens* Zimm., *bac. tenuis* Zimm., *bac. constrictus* Zimm., *bac. fuscus* Flügge, *bac. loculosum* Clauss, *b. lactis brevis* Kozai, *b. lacticus* Kruze, *b. lactis longus* Troili-Petersson, *b. colloideus* Lafar, *b. cocciformis* Se-

¹⁾ Serkowski: Podr. do rozpozn. bakterii. 1898.

Matzushita: Bakteriolog. Diagnostik 1902.

Knaut: Tabellen z. Bestimmung d. Trinkwasserbakterien 1911.

verin, *b. mucilaginosus* Schütz, *b. capsulatus septicus* Bord.-Uffr., *b. salivarius septicus* Biondi, *b. vulgaris* Kramer, *b. spiniferus* Unna-Tommasoli, *b. cavatus* Kern, *b. Vinkleri*).

Również wśród opisów drobnoustrojów, czynnych w ściekach biologicznych, nie znajduję żadnego, zbliżonego do własności *gr. putr.* (vide A. Kossowicz: Einführ. in die Mykologie der Gebrauchs und Abwässer 1913 r.; F. Fischer — Das Wasser 1914 (wyszło dzieło w listopadzie); Scheffler *Bakter.-chemische Untersuchungen - Zeitschr. f. wissenschaftl. Landwirtschaft* 1912 str. 430 i nast.; Dunbar-Leitf. f. d. Abwässerreinigungsfrage 1912, 2 wyd., 183 i nast. str.; Rolants, *Revue d'Hygiene*, 1911, t. 33, str. 949).

Ogólna charakterystyka *bac. putrificus*: Dane bakteryje u zwierząt wywołują stan zapalny błon śluzowych (*cystitis*, *rhinitis*, *conjunctivitis*, *infiltratio parenchymatosa corneae*), a ponieważ i u ludzi znajdują się w wydzielinach ropnych (*rhinitis epid.*, *rhinitis haemorrhagica* u dzieci, *prostatitis*, *cystitis*). niekiedy w czystej kulturze — bez żadnych domieszek, uzasadnionem więc jest twierdzenie, że dane bakteryje są, lub mogą być przyczyną etyologiczną tych stanów zapalnych. Stąd nazwa „*putrificus*“. Ponieważ te drobnoustroje spotykają się niekiedy w śluzie nosowym i gardzieli—w patologicznych i normalnych warunkach, jak i *pneumococci*—, a pod względem morfologicznym mają wielkie podobieństwo z *bac. diptheriae* — mogą dać powód do poważnych omyłek rozpoznawczych.

Bakteryje dane są nieruchomymi lasecznikami bez zarodników, posiadają na preparatach bezpośrednich z ropy i w młodych hodowlach stale, typowe ziarnka biegunowe typu Neisser'a, barwiące się witalistycznie metodą Neisser'a (stąd nazwa *granulobacillus*) a w dalszych generacjach postaci kolbowate, pod względem formy, wielkości, ugrupowania niczem nie różniące się od *bac. diptheriae*. Barwią się według Gram'a.

Od *bac. diptheriae* i od wszelkich pokrewnych morfologicznie gatunków objętych ogólną nazwą „*diptheria*“ i „*diptheroid*“, *granulobacillus putrificus* różni się zasadniczo: 1) pod względem własności ropotwórczych na błony śluzowe, 2) rozkłada przy temp. 37° mocznik, kwas moczowy i hippurowy, uwalniając amoniak zarówno z organicznych, jak i nieorganicznych związków i wytwarzając przytem silnie zasadowe oddziaływanie, 3) posiada własno-

ści redukcyjne, w czem udział biorą same ciała bakteryjne, a nie przesącze przez świecę Berkefelda, 4) na podłożach cukrowych z indykatorami w ciągu pierwszych 15 godzin (pożywka Endo) wytwarzają początkowo słabo-kwaśne oddziaływanie; kolonie przytem zabarwiają się lekko-różowo i barwa nie zwiększa się w miarę dalszego rozwoju.

W symbiozie z bakteriami nitrifikującymi i beztlenowcami (*clostridium et paraplectrum foetidum*) własności biologiczne ulegają zmniejszeniu, przyczem taka symbioza obustronnie okazuje się niekorzystną.

Szczepiony do jamy otrzewnej lub podskórnie *granulobacillus* nie powoduje objawów ogólnych lub miejscowych; w takich warunkach—będąc zaszczipiony równocześnie z silnie zjadliwym szczepem *pneumobacillus* Friedländeri — osłabia działanie tych ostatnich.

Hodowle gr. p., szczepione do spojówki oka, powodują *conjunctivitis et oedema*.

Prócz powyższych 4 różniczkowych cech zasadniczych, odróżniających *granulobacillus* od grupy *diphtheriae*, zalecam do celów rozpoznawczych stosować określenie zasadowości wzgl. ubytek % mocznika (dotychczas do tego celu stosowano buljon lub wodę mięsną) w podłożu, składającym się z buljonu z 1% mocznika.

Wnioski 1=*Granulobacillus s. bacillus putrificus* należy do rzędu ropotwórczych gatunków bakteryi i może powodować miejscowe stany zapalne śluzówek (niezależnie od umiejscowienia); natomiast nie wywołuje zmian żadnych po wprowadzeniu podskórnem lub do otrzewnej; a przy objawach miejscowych nie powoduje we krwi zmian, które by można było wykazać biologicznie (Abderhalden, Bordet-Gengou, aglutyn.).

2° Posiadając równocześnie własności ropotwórcze i rozkładając mocznik i kwas moczowy z uwalnianiem amoniaku, gr. p. powoduje alkaliczną fermentację przy zapaleniach pęcherza (jak *proteus vulgaris*).

3° Pod względem morfologicznym i barwnym jest bardzo zbliżonym do *bac. diphtheriae*, stale posiada ziarenka biegunowe metachromatyczne, a w dalszych generacjach postaci kolbowate inwolucyjne: wobec czego przy barwieniu witalistycznym lub metodą Loeffler'a i m. Neisser'a niepodobna gr. p. odróż-

nić od *b. diphteriae* na mocy preparatów bakteryoskopowych; barwi się też metodą Grama (+); również niepodobna odróżnić tych 2 gatunków w hodowli na pożywce Loefflera i na preparatach z tychże kultur. Ale daje przy 37° C. szybki wzrost i na zwykłym agarze i na podłożu Endo, przyczem na tem ostatniem kolonie szybko zabarwiają się blado-różowo, zabarwienie to nie zmienia się i nie staje się intensywniejszem z biegiem czasu.

4° Różniczkowanie od *b. pseudodiphteriae* umożliwia ta okoliczność, że gr. p. stale ma ciała biegunowe, zachowuje się jak wyżej na podłożach, zawierających mocznik lub kwas moczowy lub siarczan amonu, szybko wytwarza silnie zasadową reakcję; przystem wykazuje własności ropotwórcze, których *b. pseudodiphteriae* nie posiada.

5° Dla celu określenia miana i różnic oddziaływania w podłożach nadaje się specjalne podłoże, składające się z buljonu (lub bezbiałkowe) z dodatkiem 1% mocznika lub 10% siarczanu amonu, t. j. związków, ulegających łatwo rozkładowi, podczas gdy buljon mięsny, jako taki, posiada cechy, utrudniające te próby, mianowicie: 1) trudno rozkładające się związki organiczne (białko), 2) zawartość cukru, pochodzącego z soku mięsnego, a obecność cukru powoduje kwaśną reakcję nawet w tych wypadkach, kiedy zaszczipiono hodowlę bakteryi *proteus vulgaris* lub *granulobacillus*.

6° Należy sprawdzić dotychczasowe nasze wiadomości o znajdowaniu *bac. diphteriae* w jamach ustnej i nosowej ludzi normalnych, w moczu i ślinie ozdrowieńców i t. d., wobec tego, że wiadomości te oparte były na badaniach (bakteryoskopowo i hodowle na surowicy Loeffler'a), nie uwzględniających flory bardzo zbliżonej (*b. putrificus*).

7° Należałoby zaniechać błędnej nazwy „*bac. pseudodiphteriae*“ i analogicznie ze współcześnie przyjętymi nazwami „*paratuberculosis*“ (postać bakteryjna) i „*pseudotuberculosis*“ (postać kliniczna) — nazywać „*pseudodiphteriae*“ formy kliniczne, zbliżone do błonicy, ale wywołane przez inne drobnoustroje i „*bac. paradiphteriae*“ postać lasecznikowa Hoffmann'a-Wellenhof'a (dawniejsza *bac. pseudodiphteriae*). Wszak nie używa się terminu: „*bac. pseudocoli*“, lecz „*bac. paracoli*“.

8° Jeżeli baseny biologiczne septyczne (*septic tank treatment*) i mniejsze „*foss septicque*“ — jak stwierdzają doświadczenia

wielu autorów¹⁾ w zbyt słabym stopniu rozkładają zanieczyszczenia organiczne; jeżeli rozkład ich w większym stopniu wymagałby zbyt długiego czasu (v. Roth i Bertschinger, Correspondenzbl. f. Schweiz. Aertzte t. 30, 1900, str. 729), to na mocy własnych doświadczeń uważam za przyczynę tych słabych stron: 1° nieodpowiednią t°, zbyt zależną od wpływów atmosferycznych, 2° równoczesne działanie w jednym basenie różnorodnych drobnoustrojów, wzajemnie się hamujących i osłabiających, 3° przygodność flory bakteryjnej, 4° nadmiernie zasadowy odczyn, towarzyszący procesom rozpadowym i nie sprzyjający wzrostowi bakterii.

Powyższe doświadczenia ze ściekami i rozkładem mocznika pod wpływem tlenowców (*granulobacillus putrificus*), bądź też współrzędnie z beztlenowcami przy różnych ciepłotach przemawiają za tem, że 1° temperatura ścieku w basenach powinna być stałą (37° C.), że 2° nie wszystkie procesy fermentacyjne mogą przebiegać współrzędnie w jednym basenie, 3° flora poszczególnych procesów fermentacyjnych, powinna być celową, zastosowaną świadomie²⁾ i 4° w przebiegu danych procesów winien być zubożony nadmiernie zasadowy odczyn. To są ogólne postulaty, a wyjaśnienie i ściśle scharakteryzowanie każdego z nich w szczegółach jest treścią szeregu specjalnych prac, rozpoczętych przezemnie i moich współpracowników.

¹⁾ S. Dzierzgowski. Gesundheits-Ingenieur 1907, t. 30, str. 1, 261.
S. Dzierzgowski i Predtieczenski. Arch. Biol. Nauk 1910, t. 16, I, str. 67—104.

Guth i Spillner. Gesundheits Ingenieur 1911, str. 153.

Dunbar, Leitf. f. die Abwasserreinigungsfrage 2 wyd. 1912, str. 206.
Rolants. Revue d'Hygiene, t. 33, 1911, str. 949.

Kossowicz. Mykologie d. Gebrauchs — und Abwässer 1913, str. 82 i nast.

F. Fischer. Das Wasser 1914, str. 325 i nast.

²⁾ Florę poszczególnych procesów badali: Kossowicz, Söhngen, de Kruijff; Lieske, Fred, Caron, Scheffler, Wollman, Bonjean i in.

Objaśnienie zdjęć foto- i mikrofotograficznych:

Fot. 1. Hodowle „*granulobacillus*“ na agarach skośnych: dwie wyosobnione z przyp. *rhinitis*, jedna—*prostatitis* ($\frac{3}{4}$ nat. wielk.).

Fot. 2. Kolonie rozsiane na agarze makr. (nat. wielk.).

Fot. 3. Hodowla rysami na podłożu Endo, w rzeczywistości barwa bladobłękitna (nat. wielk.).

Fot. 4. Hodowle *granulobacillus* dla porówn. z *bac. fluorescens* i *bac. pseudodiphtheriae* Hoffman-Wellenhof na podłożu Endo ($\frac{3}{4}$ nat. wielk.): na odbitce fotogr. nie uwidoczna jest różnica w zabarwieniu.

Fot. 5. Porówn. zdjęcia ($\frac{3}{4}$ nat. wielk.) gałek ocznych królika (dośw. VIII)—prawej, szczepionej *granulobac.* do przedniej komory ocznej, i lewej nieszczepionej.

Fot. 6—10. Preparaty drobnowidzowe.

RÉSUMÉ.

St. Serkowski:

Bacillus s. *Granulobacillus putrificus* nov. sp.

Communication annoncée le 1. XII. 1913.

Cette espèce bactérienne, que j'ai isolée à maintes reprises, diffère foncièrement de toutes les espèces connues: ses caractères morphologiques sont analogues à ceux du bacille diphtheriae, ses caractères biologiques rappellent dans une certaine mesure le bac. proteus vulg., mais ses cultures diffèrent de tous les deux.

Habitat. Nous avons trouvé ce bacille le plus souvent dans les matières fécales et les desservants des bassins d'épuration biologique (système de Sch w e d e r), puis plus rarement dans les sécrétions inflammatoires humaines: du nez (rhinite, sinusite), de la vessie (cystite), de la prostate (prostatite) et, en dehors de tout état pathologique, sur les muqueuses de l'oeil, du nez, de la cavité de la bouche, de l'urètre, de l'intestin, parfois en symbiose avec autres espèces bactériennes pathogènes ou pyogènes pour l'homme.

Ayant isolé l'espèce en question bien souvent et depuis longtemps, je l'avais rangée parmi la „flore étrangère“ occasionnelle, étrangère à tout procès morbide. La découverte de ce bacille en culture pure, isolée de divers états inflammatoires des muqueuses (higmorite, prostatite) sans participation des autres bactéries, ensuite leur présence fréquente dans des fèces normales et pathologiques, l'immense, quelquefois même prédominante, quantité de leurs colo-

nies dans les bassins biologiques de Schweder—m'ont incité, il y a deux ans, à procéder à un examen et à une différenciation exacts de l'espèce bactérienne en question, dont les propriétés morphologiques et biologiques sont fort caractéristiques.

Morphologie. Les bactéries en question ont la forme de bacilles immobiles, sans spores; pendant les premiers passages sur sérum de Loeffler de même que dans les mucosités d'origine, ce bacille ne diffère du commun *b. diphteriae*, ni par ses dimensions et forme, ni par son mode de groupement. On constate deux, plus rarement trois granules d'Ernst-Babès, formant un renflement uni- ou bilatéral, ou en cornue, comme chez le *b. diphteriae*. Ces granules perdent leur caractère polaire par les passages ultérieurs, se désagrègent, rapprochant ce bacille du *b. xerosis* ou du *b. septatum* au point de vue morphologique. La présence de ces granulations intérieures constantes nous fait désigner ce bac. sous le nom de „granulobacille.“ On ne peut vérifier, si ces granules ont la même structure que les granules inconstants des autres bacilles (*subtilis, sarcinae*); il est certain, que les granules polaires sont surtout visibles dans des races venant d'être isolées, ainsi que dans les premiers passages des jeunes cultures, et qu'en dehors du sérum de Loeffler—on en trouve sur d'autres milieux, enfin nous avons constaté que dans les passages ultérieurs les granulations se fragmentent. Bien qu'on puisse rencontrer des corpuscules polaires—comme l'ont constaté des communications de cette année au congrès de microbiologie de Berlin—dans les bacilles typhiques, les vibrions du choléra, les bac. de la morve et dans de nombreuses espèces pathogènes, ce phénomène chez ces espèces n'est pas constant, au contraire le „granulobacille“ est invariablement et quelque soit sa provenance caractérisé par la présence des corpuscules polaires—sous ce rapport il se rapproche au point de vue morphologique, plutôt du *bac. diphteriae*, que du *bac. pseudodiphteriae* et des espèces parentes dites „diphtheroïdes.“

Coloration. Les corpuscules polaires sont mis en évidence au maximum par la coloration vitale des préparations non-fixées au moyen du bleu de méthylène de Loeffler (le bleu doit être dilué fortement). Les meilleurs résultats sont fournis par une solution du bleu un peu ancienne datant de plusieurs semaines, ou bien du bleu additionné d'acid. acét. glac. (au lieu d'alcali). En général, pour faire ressortir les corps polaires, le bleu de méthylène

convient mieux que les autres colorants alcalins. On peut aussi utiliser la méthode de Neisser comme pour les Bac. Diphtériques.

Le „granulobacille“ n'est ni acido, ni alcool, ni alcalino résistant. Il se colore très bien par la méthode de Gram (Gram +), mais ses capsules se colorent simultanément, grâce à quoi le bacille paraît plus grand et plus épais (son diamètre grandit de $\frac{1}{2}$ à 1) qu'avec autres méthodes de coloration.

Colonies. Sur les milieux solides en culture aérobie à la t° de 37° C. le granulobacille donne de grandes colonies blanches, sans tendance à la confluence; les colonies sont saillantes, massives, élevées au centre, à contours unis ou légèrement dentelés; examinées au microscope ces colonies se présentent comme des masses de couleur brune foncée sans structure perceptible, après dissociation d'une colonie à l'aide d'une aiguille on y voit au microscope de petites colonies „secondaires.“ Ni la gélatine, ni le sérum de Loeffler ne sont liquéfiés. (Je rappelle ici, que le bac. granuleux de Russell peptonise très vite la gélatine).

Les substances liquides, comme p. ex. le bouillon de viande ou glycérine se troublent d'une manière homogène, quoique peu intense, à l'encontre des cultures de bac. diphter., pseudodipht. et b. xerosis, qui donnent en bouillon des sédiments caractéristiques. Point d'indol ni de scatol dans le bouillon, et dans l'eau peptonée. Le lait dilué ou non reste même assez longtemps sans modification, malgré que le développement y ait lieu (t° de 37° C.). Nous parlerons plus loin du développement dans les autres milieux.

Le granulobacille de pair avec le b. *proteus vulg.* augmente l'alcalinité de certains milieux. La table ci-contre indique le degré d'alcalinité (y compris la détermination polarimétrique) des bouillons de viande sans addition du sucre ou de glycérine avant l'ensemencement et 24 et 48 heures après (t° de 37° C.). Comme point de comparaison j'ai fait des déterminations identiques avec le b. coli comm., le pseudobacille de Friedländer, le proteus vulg. et le bac. fluorescens liquefaciens, ainsi qu'avec des cultures mixtes de chacune de ces espèces et du granulobacille, dans des conditions identiques de durée, de température et de milieu. L'alcalinité est exprimée en $\frac{N}{10}$ de cm cb d'acide, L = déviation du plan de polarisation.

La comparaison des cultures en bouillon au point de vue de

		Avant l'inocul.	Dans 24 heures	Dans 48 h.	Dans 3 et 4 jours
<i>Granulobacillus</i>	{ alcal. . .	2.8	1.0	3.0	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	1-1.0 ⁰	1-0.8 ⁰
<i>B. coli commune</i>	{ alcal. . .	3.0	3.0	1.0	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	—
<i>Granul. + b. coli</i>	{ alcal. . .	3.0	3.0	—	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	—	—
<i>Granulobacillus</i>	{ alcal. . .	3.0	1.0	3.0	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	—
<i>Pneumobacillus</i>	{ alcal. . .	3.0	0	0	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	—
<i>Granul. + pneumobac.</i>	{ alcal. . .	3.0	2.6	—	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	—	—	—
<i>Granulobacillus</i>	{ alcal. . .	3.0	1.0	3.0	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	1-1.0 ⁰	—
<i>Proteus vulgaris</i>	{ alcal. . .	3.0	2.0	5.0	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.3 ⁰	1-1.2 ⁰	—
<i>Granul. + proteus</i>	{ alcal. . .	3.0	3.0	—	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	—	—
<i>Granulobacillus</i>	{ alcal. . .	3.0	1.0	3.0	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	—
<i>B. fluoresc. liquef.</i>	{ alcal. . .	3.0	2.0	2.0	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.3 ⁰	1-1.3 ⁰	—
<i>Granul. + fluoresc.</i>	{ alcal. . .	3.0	3.0	—	—
	{ polaris. .	1-1.4 ⁰	1-1.4 ⁰	—	—

'alcanilité en présence d'acide urique ou urée et en leur absence donne des chiffres suivants:

	Avant l'ensemencement	24 heures après à 37° C.
1) bouillon de viande ordinaire .	3 cm $\frac{N}{10}$ HCl%	3 cm HCl%
2) " + 0.1% d'acide urique	3 " "	9 " "
3) " + 1.0% d'urée . . .	3 " "	54 " "
4) " + 1.0% de sulfate d'am- monium.	3 " "	46 " "

Quant à la modification de réaction du bouillon de viande—non additionné—j'ai constaté dans les 24 premières heures une légère oscillation du degré de l'alcalinité sous l'effet du granulobacilles, diminution légère au début, mais avec retour à la normale après 48 heures et après un accroissement d'alcalinité pendant 5 jours.

Rapprochement des déterminations de la réaction du bouillon après 24 heures de développement à la t° 37° C°:

- 1) le bac. *dipht.* a produit de l'acide en proportion de $0,5 \text{ cm} \frac{\text{N}}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$
- 2) bac. *pseudiph.* „ de l'alcali „ de 0.1 „ „ NaOH
- 3) bac. *xerosis* „ de l'acide „ de 0.3 „ „ H₂SO₄
- 4) b. *proteus vulg.* „ de l'alcali „ de 0.5 „ „ NaOH

Je mentionne que d'après les recherches plus récentes de Liebenau et de Berry et Banzhof, la modification de la réaction du milieu sous l'action du b. *diphtheriae* dépend de la composition de ce milieu et de sa teneur en hydrates de carbone, dérivés de la viande.

Accroissement de l'alcalinité en fonction de la décomposition des corps azotés. Décomposition de l'acide urique de l'urée et de l'acide hippurique. Le granulobacille peut décomposer l'acide urique, hippurique et l'urée à la t° de 37° C. Je cite ci dessous les résultats d'un examen d'égout contenant de l'urine; l'égout à contenu de réaction neutre, contient:

des substances organiques . 640 mg par 1 l
 des chlorures 760 „ „ 1 l
 de l'ammoniaque 1 „ „ 1 l

La détermination fut faite dans un égout stérilisé avant l'ensemencement du granulobacille et ensuite plusieurs jours durant à des intervalles de 24 heures. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant.

	Egout stér. avec contrôle					Neutralisation	
		Après 24 h. t° 37° C.	Après 48 h. y compris 24 h. de temp. de chambre	Après 3 jours t° 37° C.	Après 4 jours	après 24 h. 37° C.	après 48 h. 37° C.
Réaction . .	neutre	1.5 cm $\frac{\text{N}}{10}$ HCL %	2.2	70!	90!	76	224
Subst. organ. (urée et ac. urique) . .	640 mg %	270	220	211	236!	201	233.6
Chlorures . .	760 „	760	760	760	760	760	760
Ammoniaque .	1 „	26	37	114	153	232	380
Nitrites . . .	0	0	0	0	0	0	0
Nitrates . . .	0	0	0	0	0	0	0

La réduction initiale des composés organiques s'exprime par le chiffre 56 et 20%; le troisième jour cette réduction est déjà moindre et ne monte qu'à 4%; cette période correspond à un accroissement considérable de AzH_3 ; de 37 à 114 mg %.

Bien que la réduction des composés organiques exprimée par la quantité de peroxyde de manganèse, indispensable à l'oxydation monte pendant les 24 premières heures à 56% et après 3 jours — à 67%, mais, comme le peroxyde de manganèse réagit de même sur l'ammoniac, je me suis débarrassé de ce dernier par distillation avec du magnésium, afin d'être en état de vérifier la quantité de composés organiques:

quantité des composés organiques avant la destil. 233.6 mg p. 1 l
 " " " " après " 134.0 " " 1 l
 c. à d. que la réduction absolue des composés organiques monte à 79%.

Le granulobacille élimine l'ammoniaque libre des sels ammoniacaux; l'augmentation de l'alcalinité du bouillon contenant 10% de sulfate d'ammonium après 24 heures de 37° C. atteint de 3 à 46 cm^3 de $\frac{N}{10}$ d'acide par litre.

Les cultures pures décomposent l'acide urique et l'urée, fait constaté par moi, non seulement dans les urines, mais aussi dans des cultures additionnées de 0.1% d'acide urique de Merck, ou de 1% de l'urée de Kahlbaum. Les filtrats des cultures de bouillon, obtenus à l'aide de bougies Berkefeld, n'ont pas ce pouvoir.

Les composés azotés plus compliqués comme l'albumine, la créatinine etc. ne subissent pas de décomposition sous l'action du granulobacille, tandis que les composés simples—comme l'acide urique et l'urée—se décomposent à une t° convenable (37° C.) en produisant de l'ammoniaque libre.

La durée de la décomposition des composés azotés (urée et acide urique) dépend à un très haut degré de la t° comme le montrent les données suivantes:

Alcalinité.

Au moment de l'ensemencement	Après 24 heures		
	à 8° C.	15° C.	37° C.
24 cm^3 de 1/10 N.—HCl par 100	26	26	47

La décomposition de l'urée et de l'acide urique à une t° inférieure à 37° C. est très lente; les moyennes de nombreuses recherches et observations à ce sujet prouvent que l'on obtient un pourcentage identique ou analogue étant quelle que soit la rapidité de la réaction: L'acide urique est décomposé:

à 37° C.—en	48 heures
à 20° C.—en	26 jours
à 8° C.—en	78 jours.

J'insiste sur les résultats que je rapellerai dans les déductions tirées de mon travail.

Action du granulobacille en symbiose avec des anaérobies. Puisque dans les bassins biologiques des égouts les aérobies cooperent avec les anaérobies, j'aiensemencé dans les milieux additionnés d'acide urique et d'urée à la fois deux espèces anaérobies. Je constatai que cette symbiose non seulement ne provoque pas de coopération des germes, mais encore que l'addition des anaérobies affaiblissait l'effet du granulobacille sur l'acide urique et l'urée:

Anaérobies+granulobacille (37° C.)

Alcalinité du bouillon lors de l'ensemencement	56 cm	$\frac{N}{10}$	HCl par 100
„ avec de l'acide urique après 24 h.	64	„	„
„ avec de l'urée	78	„	„

c. a. d. que l'accroissement de l'alcalinité en présence de l'acide urique ne monte qu'à 14%, et en présence de l'urée — à 39%, tandis que l'accroissement de l'alcalinité dans des conditions identiques, sous l'effet du granulobacille tout seul s'élève à:

granulobacille—conjointement avec les anaérobies

En prés. de l'acide urique	300%	14%
„ de l'urée	1800%	39%

Pouvoir réducteur. Le granulobacille est doué d'un pouvoir réducteur éminent, qui ne dépend que de la présence des corps bactériens mêmes; les filtrats sur bougie Berkefeld montrent un pouvoir réducteur excessivement faible, tandis qu'il est très fort chez les cultures vivantes par rapport aux espèces hétérogènes. Je fais observer ici que—d'après mes recherches de contrôle—dans les cul-

tures du *b. proteus* et du *b. coli comm.* la réaction ne dépend qu'indirectement des bacilles, et directement de l'acide hydrosulfurique produit dans les cultures, tandis que le granulobacille ne produit point d'acide et se montre réducteur par lui-même. Dès que l'oxygène est mis en contact avec la culture les matières colorantes décolorées (bleu de méthylène, indigo) se récolorent de nouveau. Le granulobacille réduit les solutions de Nitrate de K, dont le titre joue un rôle certain dans ce phénomène. La quantité d'acide azoteux fourni fut:

à 0,025% KNO_3 — 0.05 — 0.1 — 0.2%
dans 24 h. négative tr. forte, forte, très faible
36 h. positive „ „ „ forte

mais ces 4 expériences ont été exécutées en présence d'acide azotique libre. D'après les recherches faites jusqu'à présent, la réduction atteint son maximum pour une solution de Nitrate de K au titre de 0,05%.

De même que la présence des anaérobies affaiblit l'action du granulobacille sur l'urée et l'acide urique, de même la présence du granulobacille atténue aussi les propriétés et l'action des bactéries nitrifiantes; dans ces conditions l'ammoniaque n'est pas oxydé à l'état d'acide azoteux après 48 heures de réaction.

bactéries nitrifiantes	les mêmes	+	le granul.
acide azoteux	+		—

Je reviendrai sur ce fait dans les conclusions générales de ce travail.

Symbiose du granulobacille avec les anaérobies dans les égouts. On sait que dans les égouts se passent des réactions causées par l'association des aérobie et des anaérobies. Afin d'établir le rôle que le granulobacille y joue ou peut jouer, j'ai dans un égout, stérilisé préalablement, ensemencé une culture de granulobacille et deux espèces d'anaérobies *claustridium* et *parapectrum foetidum*.

Action du granulobacille sur les sucres. Des recherches faites dans le but de constater l'action des bactéries en question sur des sucres hétérogènes ont démontré que ces derniers subissent une décomposition insignifiante. J'ai ensemencé des cultures dans une solution de peptone additionné de 1% (en poids) des

sucres divers: saccharose, maltose, lactose et glucose — j'ai déterminé, de 24 en 24 heures, l'accroissement de l'acidité et la décroissance du pourcentage en sucre après 5 jours, celui ci était:

pour la saccharose	12.8%
„ „ maltose	28.0%
„ „ lactose	0 peptone avec lactose
„ „ glucose	25.0%

L'acidité du milieu additionné de la saccharose ne changea point, pour les autres sucres elle augmenta de 3 à 11, resp. 10 $\frac{cm^3}{N}$ de l'alcali pour 100. J'ai fait de recherches de contrôle simultanées avec le bac. coli com., le pneumobacille de Friedländer, le proteus vulg. et le b. fluorescens liquefaciens, de même qu'avec des cultures de chacune de ces espèces avec le granulobacille. Toutes ces recherches furent faites à la t° de 37° C, Les détails de ces déterminations sont rapprochés dans le tableau Nr. III.

Tableau III.

		Alcal. %	Chlore ‰	Ingrédients solides	Ammonia- que m	Oxygé- nation	N ₂ O ₃	N ₂ O ₅
Après 5 jours d'étuve	Av. l'inocul.	$\frac{24 cm}{N}$ HCl par 100	2870 mg	16550 mg org. min. 13100 3350 mg	minér. org. — 4828	2560mg d'oxyg.	—	—
	Granulob.	„ 121	2870 „	16450 mg	2053 m	2775 1696mg	—	—
	Granulob. + anaér.	„ 31	2870 „	„ „	646 „	4180 1216 „	—	—
	Anaérobies	„ 27	2870 „	„ „	178 „	4650 2200 „	—	—

Ainsi dans cette culture en égout, la symbiose des anaérobies avec le granulobacille fut encore défavorable à ce dernier.

L'action du granulobacille sur le lait et sur la lactose comparée à celle des autres bactéries ou des cultures mixtes de ces bactéries avec le granulobacille est mise nettement en évidence par les expériences suivantes: (tableau IV).

Tableau IV.

		Av. l'en- semence- ment	Après 24 h.	Après 48 h.	Après 3 jours	Après 4 jours	
Peptone + saccharose 1%	<i>Granul.</i>	{ acidité.	3 ^{cm} par 100	4	10	11	11
		{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.4°	d - 1.4°	d - 1.2°	d - 1.4°
	<i>B. coli</i>	{ acidité.	3	3	15	9	—
		{ polaris.	d 1.6°	d - 1.6°	d - 1.6°	d - 1.2°	—
	<i>B. coli</i> + <i>granulob.</i>	{ acidité.	3	11	—	—	—
		{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.2°	—	—	—
	<i>Granul.</i>	{ acidité.	3	4	10	11	—
		{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.4°	d - 1.4°	d - 1.2°	—
	<i>Pneumo- bacillus</i>	{ acidité.	3	3	4	4	—
		{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.6°	d - 1.6°	d - 1.4°	—
	<i>Pneumob. + granul.</i>	{ acidité.	3	8	—	—	—
		{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.4°	—	—	—
	<i>Granulob.</i>	{ acidité.	3	4	10	11	11
	{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.4°	d - 1.4°	d - 1.2°	d - 1.4°	
<i>Proteus</i>	{ acidité.	3	3	4	5	—	
	{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.6°	d - 1.5°	d - 0.8°	—	
<i>Granul.</i> + <i>proteus</i>	{ acidité.	3	10	—	—	—	
	{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.4°	—	—	—	
<i>Granulob.</i>	{ acidité.	3	4	10	11	—	
	{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.4°	d - 1.4°	d - 1.2°	—	
<i>Bact. fluor.</i>	{ acidité.	3	3	4	2	—	
	{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.6°	d - 1.2°	d - 1.4°	—	
<i>B. fluoresc. + granul.</i>	{ acidité.	3	9	—	—	—	
	{ polaris.	d - 1.6°	d - 1.5°	—	—	—	
Peptone + maltose 1%	<i>Granul.</i>	{ acidité.	3	8	12	11	10
		{ polaris.	d - 2.8°	d - 2.8°	d - 2.2°	d - 2.4°	d - 2.0°
	<i>Bact. coli com.</i>	{ acidité.	3	5	15	16	—
		{ polaris.	d - 2.8°	d - 2.3°	d - 2.0°	d - 1.9°	—
	<i>B. coli</i> + <i>Granul.</i>	{ acidité.	3	12	—	—	—
		{ polaris.	d - 2.8°	d - 2.3°	—	—	—
	<i>Granul.</i>	{ acidité.	3	8	12	11	10
		{ polaris.	d - 2.8°	d - 2.8°	d - 2.2°	d - 2.4°	d - 2.0°
	<i>Pneumob.</i>	{ acidité.	3	5	11	14	—
		{ polaris.	d - 2.8°	d - 2.8°	d - 2.5°	d - 2.2°	—
<i>Pneumob. + Granul.</i>	{ acidité.	3	12	—	—	—	
	{ polaris.	d - 2.8°	d - 2.3°	—	—	—	
<i>Granul.</i>	{ acidité.	3	8	12	11	10	
	{ polaris.	d - 2.8°	d - 2.8°	d - 2.2°	d - 2.4°	d - 2.0°	
<i>Proteus</i>	{ acidité.	3	4	5	4	—	
	{ polaris.	d - 2.8°	d - 2.8°	d - 2.7°	d 2.4°	—	

			Av. l'en- semence- ment	Après 24 d.	Après 48 h.	Après 3 jours	Après 4 jours
Peptone + maltose 1%	<i>Proteus</i> + <i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-2.8°	11 d-2.4°	— —	— —	— —
	<i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-2.8°	8 d-2.8°	11 d-2.2°	11 d-2.4°	10 d-2.0°
	<i>Bact.</i> <i>fluoresc.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-2.8°	3 d-2.8°	3 d-2.8°	3 d-2.4°	— —
	<i>B. fluor.</i> + <i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-2.8°	8 d-2.6°	— —	— —	— —
Peptone + lactose 1%	<i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	4 d-1.0°	5 d-0.6°	3 d-0.6°	3 d-0.8°
	<i>B. coli.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	5 d-0.6°	11 d-0.5°	16 d-0.4°	— —
	<i>B. coli</i> + <i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	10 d-0.5°	— —	— —	— —
	<i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	4 d-1.0°	5 d-0.6°	3 d-0.6°	3 d-0.8°
	<i>Pneumob.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	3 d-0.6°	18 d-0.2°	18 d-0.2°	— —
	<i>Pneumob.</i> + <i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	12 d-0.5°	— —	— —	— —
	<i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	4 d-1.0°	5 d-0.6°	3 d-0.6°	3 d-0.8°
	<i>Proteus</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	3 d-0.6°	3 d-0.6°	4 d-0.5°	— —
	<i>Proteus</i> + <i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	5 d-0.6°	— —	— —	— —
	<i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	4 d-1.0°	5 d-0.6°	3 d-0.6°	3 d-0.8°
	<i>Bact. fluor.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	3 d-0.6°	2 d-0.6°	1 d-0.3°	— —
	<i>B. fluor.</i> + <i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.6°	3 d-0.6°	— —	— —	— —
Peptone + glucose 1%	<i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 cm d-0.8°	10 d-0.8°	12 d-0.8°	11 d-0.8°	10 d-0.6°
	<i>B. coli</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.8°	— —	16 d-0.4°	16 d-0.4°	— —
	<i>B. coli</i> + <i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.8°	15 d-0.8°	— —	— —	— —
	<i>Granul.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.8°	10 d-0.8°	12 d-0.8°	11 d-0.6°	10 d-0.6°
	<i>Pneumob.</i>	{ acidité. . . polaris. . .	3 d-0.8°	— —	23 0	25 0	— —

Serkowski.

3-0

		Av. l'ensemencement	Après 24 h.	Après 48 h.	Après 3 jours	Après 4 jours
Peptone + glucose 1%	<i>Pneumob. + Granul.</i>	acidité. 3	16	—	—	—
		polaris. d-0.8°	—	—	—	—
	<i>Granul.</i>	acidité. 3	10	12	11	10
		polaris. d-0.8°	d-0.8°	d-0.8°	d-0.6°	d-0.6°
	<i>Proteus</i>	acidité. 3	5	5	6	—
		polaris. d-0.8°	d-0.8°	d-0.7°	d-0.7°	—
	<i>Proteus + Granul.</i>	acidité. 3	10	—	—	—
		polaris. d-0.8°	—	—	—	—
	<i>Granul.</i>	acidité. 3	10	12	11	10
		polaris. d-0.8°	d-0.8°	d-0.8°	d-0.6°	d-0.6°
<i>Bact. fluor.</i>	acidité. 3	—	10	13	—	
	polaris. d-0.8°	—	d-0.6°	d-0.6°	—	
<i>B. fluor. + Granul.</i>	acidité. 3	12	—	—	—	
	polaris. d-0.8°	—	—	—	—	

		Av. l'ensemencement	Après 24 h.	Après 48 h.	Après 72 heures
<i>Granulobacillus</i>	acidité. 24 cm	25 cm	31 cm	35 cm N/10	
	polaris. d-4.8°	d-4.6°	d-4.5°	tugu d-4.4°	
<i>B. coli commune</i>	acidité. 24	52	62	—	
	polaris. d-4.8°	d-3.8°	d-3.1°	—	
<i>B. coli + granul.</i>	acidité. 24	19	—	—	
	polaris. d-4.8°	d-4.8°	—	—	
<i>Granulobacillus</i>	acidité. 24	25	31	—	
	polaris. d-4.8°	d-2.8°	d-2.6°	—	
<i>Pneumobacillus</i>	acidité. 24	63	68	—	
	polaris. d-4.8°	d-2.8°	d-2.6°	—	
<i>Gran. + pneumob.</i>	acidité. 24	67	—	—	
	polaris. d-4.8°	d-2.5°	—	—	
<i>Granulobacillus</i>	acidité. 24	25	31	—	
	polaris. d-4.8°	d-4.6°	d-4.5°	—	
<i>Proteus vulgaris</i>	acidité. 24	27	28	—	
	polaris. d-4.8°	d-4.6°	d-4.5°	—	
<i>Proteus + granul.</i>	acidité. 24	30	—	—	
	polaris. d-4.8°	d-4.4°	—	—	
<i>Granulobacillus</i>	acidité. 24	25	31	—	
	polaris. d-4.8°	d-4.8°	d-4.5°	—	
<i>B. fluorescens</i>	acidité. 24	23	30	—	
	polaris. d-4.8°	d-4.6°	d-4.4°	—	
<i>Granulobacillus + B. fluoresc.</i>	acidité. 24	43	—	—	
	polaris. d-4.8°	d-4.0°	—	—	

Développement du bacille dans des milieux additionnés de réactifs indicateurs. Les faits que nous venons d'exposer nous apprennent que le granulobacille augmente l'alcalinité des milieux qui contiennent des combinaisons aisément décomposables telles que: l'urée et l'acide urique, mais qu'il ne change point la réaction des milieux contenant de l'albumine ou de la peptone sans sucre. Par contre dans les milieux sucrés l'ensemencement est rapidement suivi d'une faible décomposition des sucres avec production d'acide surtout pendant les 24 premières heures, après quoi l'acidité n'augmente plus. Par suite sur certains milieux colorés et sucrés p. ex. sur milieu d'Endo en boîtes de Petri des colonies roses se forment déjà 4 — 6 h. après l'ensemencement; le milieu au dessous et alentour ne se colore pas. La coloration rose pâle de la colonie ne change plus, même si la culture sur milieu d'Endo à 37° C. est prolongée (de 12 heures à 16 h.). Dans les mêmes délais le *b. pseudodiphther.* donne une colonie encore incolore qui ne vire au rouge que beaucoup plus tard; et le *bac. diphther.*, ne donne point de colonies. Les bacilles producteurs d'acide donnent dans les mêmes conditions des colonies colorées, mais dont la coloration rose devient de plus en plus intense. Sur d'autres milieux indicateurs tels que ceux de Petruschky, de Conradi-Drigalski, de Roth, de Loeffler, de Padlewsky, de Barsiekow, de Lentz, Tietz et de Kindborg les colonies sont beaucoup moins caractéristiques que sur les milieux d'Endo et de Rothberger, ces milieux colorés ayant à côté de leurs nombreuses qualités, le défaut de ne pas permettre de suivre au cours du développement de la culture les oscillations et variations de l'acidité. J'ai utilisé à ce dessein et pour démontrer les variations, un milieu spécial composé de bouillon de viande additionné de 1% urée, substance aisément décomposable. Je crois que ce mode de démonstration des changements de la réaction être bien supérieur à la détermination du titre du bouillon ordinaire ou de l'eau de viande dans lesquels l'albumine se décompose plus difficilement que l'urée. Je me suis convaincu, grâce à ce procédé nouveau que l'alcalinité d'un milieu pareil augmente sous l'action de nombreuses espèces bactériennes, même de bacilles donnant une réaction acide dans du bouillon ordinaire. Pour servir de comparaison, j'ai exécuté la série suivante de déterminations du titre de l'acidité d'un bouillon

contenant 1^o/₀ d'urée dans un échantillon de contrôle et 6.20 et 46 h. après y avoirensemencé différentes espèces bactériennes.

Titre déterminé à l'aide de l'acide. (Indicateur méthyle orange).

Bouillon de viande alcalin avec 1% d'urée (Kahlbaum): alcalinité = 43 cm	Changement de réaction (nombre de cm ³ N/10 d'acide par 100)		
	Après 6 h.	Après 20 h.	Après 46 h.
Bouillon stérile (contrôle)	44	45	50 !
<i>Bac. diptheriae</i>	56	71 !	49 !
<i>Bac. pseudodiptheriae</i>	45	68	80
<i>Granulobacillus putrificus</i> , n. sp. (rhinitis)	50	64	95 !
„ (prostatitis).	58	64	95
<i>Bac. typhi abdominalis</i>	56	57	63
<i>Bact. coli commune</i>	53	56	72 !
<i>Bact. paratyphi B</i>	50	48 !	65
<i>Bac. faecalis alcaligenes</i>	55	59 !	65
<i>Bac. fluorescens liquefac.</i>	54	47 !	64
<i>Bac. pyocyaneus</i>	58	57 !	63
<i>Bac. proteus vulgaris</i>	45	52	70
<i>Pneumobacillus</i> Friedlaenderi.	48	49	58
<i>V. cholerae asiat.</i>	58	36 !	57
<i>V. berlinensis</i>	63	45 !	60
<i>Spir. tyrogenum</i>	47	56	62
<i>Clostridium foetidum carnis</i> anaérob. .	48	58	58
<i>Paraplectrum foetidum</i> „	37	59	60

Les conclusions à tirer de ces chiffres sont exposées plus loin à la fin de ce travail.

Développement sur d'autres milieux. A l'étuve le granulobacille pousse rapidement à 37° C., plus lentement à la t° de chambre, en formant à la surface de la gélose ou du sérum, après 6—15 heures déjà, des colonies atteignant le diamètre de 1 à 1 mm et 1/2 même après 24 — 30 heures—de grandes colonies convexes blanc-grisâtres sans tendance à confluer. Point de production de gaz en milieu sucré. Point de peptonisation de la gélatine (à la t° de chambre). Le bouillon se trouble sans former de voile à la surface, dans les vieilles cultures il se dépose au fond un petit sédiment. Sur

pomme de terre enduit blanc, point de consistance visqueuse sur l'aiguille. L'addition de glycérine ou d'une de 4 espèces de sucre précitées n'influe pas sur l'activité des cultures et ne réagit pas sur leur propriétés. Les cultures sont très abondantes sur les milieux d'Endo et de Conrad-Drigalski; sur le premier surtout l'espèce en question diffère du *b. diphter.* et du *b. pseudodiphter.* de manière fort caractéristique par son accroissement et sa coloration.

Résistance des bactéries aux agents extérieurs. Les cultures du granulobacille sont peu résistantes; chauffées progressivement de 40° à 95° C. et répiquées en milieu neuf de 5° en 5° d'élévation, elles cessent de cultiver à 55° 60° et meurent à 65°, le chauffage à 45°, même prolongé pendant 2 heures influe peu sur leur développement. L'excès d'ammoniaque libre tue les bacilles, mais, milieu neutralisé par l'acide sulfurique, les cultures repiquées reprennent leur développement jusqu'à une nouvelle accumulation de NH³. Traités pendant 10 minutes par de l'acide phénique (2%) ou par du sublimé (2‰) les bacilles périssent tandis qu'ils sont réfractaires à l'action prolongée pendant 2 heures de solution à 1—10‰ de trypsine, de pepsine et de lécytine. Le granulobacille pousse bien en symbiose avec les 4 espèces:

B. coli—*pseudobacille* de Friedlander — proteus vulgaris et *b. fluorescens liquefaciens*; qu'il soit ensemencé dans des cultures de ces germes vivantes ou préalablement stérilisés. La culture est particulièrement abondante lorsque les 2 espèces sont antagonistes — par exemple granulobacille et bacille coli, tandis qu'elle est plus faible pour la symbiose avec *granulob.*+*proteus*. J'ai déjà indiqué que le développement simultané de deux souches d'anaérobies (*clostridium* et *paraplectrum foetidum*) et de granulobacille agit négativement sur la propriété que possède ce dernier de décomposer l'urée.

Action pathogène générale et locale.

Expérience I. 5 dec. 1912. À un cobaye du poids de 240 g (t° avant l'injection 38,1° C.) j'ai fait des injections intrapéritonéales de jeunes cultures de 24 heures de granulobacille. Oscillations de t° le 6 dec. 38,1°, 38° le 7 dec., et les jours suivants — t° sans changement. L'autopsie faite le 18 décembre montre l'absence complète de lésions.

Expérience II. 18/XII 1912. Injection intrapéritonéale à un cobaye de dose double (2 cm) d'émulsion épaisse de culture sur

gélose (de 24 h.) de même que les injections précédentes, ni réaction thermique ni lésions locales ou générales.

Expérience III. 18/XII 1912. Injection sous-cutanée de 1 *cm* d'émulsion de culture de 24 heures dans le testicule d'un cobaye mâle (poids — 1750 *g*) la t° après 24 heures s'éleva de 38.3° à 38.8°; le lendemain et les jours suivants—oscillation de 38.5°. Localement—orchite, puis, après 48 heures,—un grand abcès qui a duré 11 jours sans changement, t° basse. A l'autopsie de l'animal: absence de bacilles dans le sang (ensemencement du sang de coeur), cultures pures du granulo-bacille isolé du pus de l'abcès. Le sérum sanguin n'agglutine ni les souches homologues, ni les hétérologues du granulo-bacille.

Expérience IV. 12/I 1913. Inoculation par frottement d'une anse de culture de granulo-bacille dans la conjonctive d'un jeune lapin; le lendemain—rougeur insignifiante; le 14 janvier gonflement léger; peu de réaction. Plus de trace après 4 jours.

Expérience V. 12/I 1913. Deux cobayes du poids de 330 et de 510 *g* au premier—injection sous-cutanée de 1 *cm* de culture en bouillon, au second 1 *cm* injecté directement dans le coeur à l'aide d'une seringue. La t° oscille chez les deux animaux autour de la normale, connue avant l'inoculation: 38.2° — 38.6°, pendant plusieurs jours. Ensuite les cobayes ne furent plus observés chaque jour; le premier n'a point réagi à l'injection, le second est mort le 15/II, son poids réduit jusqu'à 400 *g*; à l'autopsie l'on ne constata que hyperémie, hypertrophie des reins; le foie et la rate inaltérés; le sang du coeur stérile.

Expérience VI. 12/1913, à un petit cobaye du poids de 190 *g*. J'ai injecté sous la peau du cou deux anses de culture sur gélose (de 18 heures) t° avant l'inoculation — 38.5°; les jours suivants—38.2°, 38.5, 38.6°, 38.3°; point de symptômes locaux ou généraux.

Expérience VII. 22/VIII 1913. J'ai injecté 1 goutte de culture en bouillon dans la chambre antérieure de l'oeil d'un gros lapin 1680 *g* après avoir préalablement anesthésié le globe de l'oeil par de la cocaïne. Le lendemain, la cornée était trouble, légèrement infiltrée; le troisième jour—forte infiltration; 7 jours après la vascularisation a disparu; il n'est resté qu'une petite tache blanchâtre de la grandeur d'un pois, subsistant encore (4/XI) un mois après; l'aspect de l'oeil—est le suivant: la sclérotique autour de la piquure présente

une infiltration grise profonde, l'iris un lacis des vaisseaux néoformés, et on remarque une synéchie postérieure. Dans la conjonctive du second oeil du même lapin j'ai inoculé par frottement énergique une parcelle de culture; rougeur, gonflement et suintement d'un liquide muco-purulent durant 8 jours; ensuite les accidents locaux ont disparu successivement. Point de changement de t^o.

Expérience VIII. 29/X 1913. J'ai injecté dans la vessie d'un cobaye mâle 2 *cm* de bouillon d'une culture de 2 jours. Après 24 et 48 heures t^o inaltérée: 38.2^o. L'autopsie après 48 heures a montré des symptômes notables de cystite (hyperémie, mucus et pus): granulobacille en quantité immense dans une culture du pus, mais le sang du coeur restait stérile: (v. la photographie de la muqueuse de la vessie).

Expérience IX. 2/XII 1913 j'ai injecté 2 gouttes de culture du granulobacille dans la chambre antérieure de l'oeil d'un gros lapin du poids de 1620 *g*. Déjà 18 heures après—infiltration parenchymateuse avec trouble de la cornée, forte hyperémie des vaisseaux; je donne ci-contre la photographie.

Enfin j'ai pratiqué les expériences suivantes pour me rendre compte si le granulob. associé à d'autres microbes en inoculation intrapéritonéale chez le cobaye augmente ou diminue la virulence de ces microbes.

I/XII 1913. Inoculation sous-cutanée à un cobaye de poids de 250 *g* environ, d'une émulsion de pneumobacille de Friedlaender; t^o avant l'inoculation — 37.8^o, 6 heures après l'inoculation — 39,9^o, mort en 48 h. L'autopsie montra l'hyperémie du péricarde, de la rate et des surrénales; à l'examen microscopique grand amas de bacilles encapsulés; desensemencements du sang du coeur, de la rate, du foie et des reins—m'ont invariablement donné des cultures pures de pneumobacille de Friedlaender.

I/XII 1913. Simultanément j'ai inoculé à un autre cobaye du poids de 250 *g* la même emulsion et en même quantité (0.75 *cm*) en même temps j'ai introduit dans le péritoine 1 *cm* d'emulsion de granulobacille; t^o avant l'inoculation 38.0^o, 6 heures après l'injection 39.0^o, après 24 heures — 40.4^o; le surlendemain 39.9^o; le quatrième jour—40^o; le cinquième t^o normale: 38^o. A l'autopsie de ce cobaye on constata l'absence des symptômes observés chez le cobaye précédent. L'ensemencement du sang du coeur et des autres organes

démeure stérile; de même dans les frotis de rate et du sang ne se montrent pas de microbes.

Dans la mesure où l'on peut tirer des conclusions de cette expérience isolée, le granulobacille exercerait un pouvoir empêchant sur le développement du pneumobacille, aussi bien dans l'organisme animal que dans les cultures mixtes de ces 2 germes et vice versa, certaines propriétés du granulobacille sont atténuées par l'action des anaérobies *Clostridium* et *Paraplectrum*.

N'ayant pas eu la possibilité de faire des expériences sur l'homme et de me convaincre ainsi chez lui des propriétés pyogènes constatées chez les animaux, je suis obligé de me contenter de la constatation du fait suivant: le granulobacille a été trouvé fort souvent sans aucune association de bacilles hétérogènes dans l'urocystite et dans la prostatite chez l'homme, de même que des inflammations séparatives de l'antré d'Highmore, et en symbiose avec d'autres microorganismes dans les inflammations du nez — rhinite, et de la gorge — angine — circonstance pouvant bien tout d'abord, à un examen bactériologique superficiel, prêter à des erreurs de diagnostic avec la diphtérie; c'est pourquoi le contrôle sur de milieu d'Endo est indispensable. J'ai réussi à isoler le granulobacille dans la rhinite hémorragique chez des enfants: deux fois en symbiose avec des microcoques et une fois avec le pneumobacille de Friedländer.

L'examen biologique du sérum humain et animal, par rapport au granulobacille pyogène donne des résultats négatifs (réaction d'Abderhalden, réaction de Bordet — Gengou, agglutination) dus probablement à ce que le granulobacille ne détermine sur les muqueuses que des accidents locaux; je n'ai obtenu qu'une seule fois une agglutination au 1:30 avec du sérum de lapin. Pareille absence de ces réactions biologiques s'observe pour d'autres microorganismes ne déterminant que des lésions purement locales.

Le diagnostic différentiel doit avant tout être fait avec le bac. diphteriae et le groupe des bacilles pseudodiphtériques. Le bacille ou granulobacille pyogène diffère de tout ce groupe principalement par les points suivants: 1) Par son action pyogène sur les muqueuses; 2) le granulobacille décompose à 37° C. l'urée et les acides uriques et hippuriques, en mettant en liberté l'ammoniaque des composés organiques et inorganiques avec production simultanée d'une réaction fortement alcaline; il est doué de propriétés réductrices. (Réduction de Nosk); 3) Dans les 15 premières heures, il

produit sur les milieux sucrés à indicateur (Endo) une réaction faiblement acide avec coloration rose-pâle des colonies (le milieu demeurant incolore).

Cette coloration ne devient plus intense au cours du développement ultérieur. Ces différences se manifestent dans les cultures du granulobacille faites en bouillon ou dans un milieu non albumineux, additionné de 1% d'urée (de Kahlbaum) ou de 1% de sulfate d'ammonium.

Quant aux détails—en dehors des caractères ci dessus, propres au granulobacille et absents chez les bacilles du groupe de diphtheriae, ces derniers possèdent d'autres caractères morphologiques positifs et notamment: *b. diphtheriae*: propriétés spécifiques, accroissement exclusif à 37° C. et dans des milieux spéciaux; *b. pseudodiphtheriae* de Hoffmann-Wellenhof — absence totale ou présence très rare des corpuscules polaires, dépôt abondant dans les cultures en bouillon; absence de toute propriété pathogène et pyogène; „diphtheroïdes“; les descriptions de ces bacilles diffèrent bien entre elles; suivant Marcinowski (Zeitschrift Hyg. 1913, p. 185) ils produisent de l'acide; les autres propriétés sont inconnues; bac. xerosis de Neisser: des bacilles sont courts, peu semblables aux *bac. diphtheriae*; le bouillon reste clair; pas d'action pathogène sur les animaux; *b. septatus* de Gelpke: bacilles courts, comme les précédents, sans granulation, bouillon restant clair; déterminent la rhinite épidémique; autres propriétés inconnues; *b. striatus* albus de Besser: probablement identique ou bien très analogue au *bac. pseudodiphtheriae* se développe aussi à la t° de chambre; bouillon non troublé ne possède ni propriétés pathogènes ni pyogènes; *b. nodosus* parvus de Lustgarten analogue au *bac. diphtheriae* et au *bac. pseudodiphtheriae*; propriétés pathologiques et autres — presque inconnues; *bac. pseudotuberculosis* murium de Kutscher: colonies jaunes sur gélose; n'est pathogène que pour la souris, *b. pseudotuberculosis* ovis de Preisz; bacilles plus courts que le *bac. diphtheriae*; culture sur sérum de couleur orange pathogène pour les lapins, les brébis, les cobayes (*pseudotuberculosis*); bac. pyogenes soli de Bolton: au point de vue morphologique et dans les cultures—analogues au *bac. pseudotuberculosis murium*; *bac. granulatus* de Russell—bacilles avec granulations en forme de longs filaments; peptonisation rapide de la gélatine; enduit muqueux sur pomme de terre.

Parmi les bacilles d'autres groupes différant morphologiquement de granulobacille, seules offriraient un intérêt diagnostique les espèces dépourvues de spores immobiles, ne peptonisant pas la gélatine et se colorant par la méthode de Gram (+); mais les caractères de ces espèces ¹⁾ diffèrent tellement de ceux du granulobacille, que je renonce à donner ici leur énumération détaillée (il faut y ranger le bacille *villosus* de Koch, le *bac. halans* de Zimm., le *bac. constrictus* de Zimmermann, le *bac. fuscus* de Flügge, le *bac. loculosus* de Claus, le *bac. lactis longus* de Troili-Peterson, le *bac. colloideus* de Lafar, le *bac. cocciformis* de Severin, le *bac. mucilaginosus* de Schütz, le *bac. capsulatus septicus*, Bord.-Uffr., le *bac. salivarius septicus* de Biondi, *bac. vulgaris* de Kramer, le *bac. spiniferus* de Unna-Tommasoli, le *bac. cavatus* de Kern, le *bac. Vin-
kleri*.

Parmi les descriptions de microorganismes agissant dans les canalisations d'épuration biologique des eaux d'égout je n'en trouve aucune qui corresponde aux propriétés du *granulobacillus putrificus* (v. A. Kossowicz: Einführung in die Mykologie der Gebrauchs und Abwässer, 1913, F. Fischer—Das Wasser 1914 (paru en novembre); Scheffler — Bakteriologisch-chemische Untersuchungen-Zeitschrift f. wissenschaftliche Landwirtschaft, 1913 p. 430 et suivantes); Dunbar — Leitfaden f. d. Abwässerreinigungsfrage 1912, 2-ème édition p. 183 et suivantes; Rolants, Revue d'Hygiène, 1911, t. 33, p. 949.

Caractères généraux du bac. putrificus. Les bacilles en question déterminent inflammation de muqueuse chez les animaux: cystite, rhinite, conjonctivite, kératite, et comme on le trouve aussi dans certaines sécrétions purulentes humaines (rhinite épidémique, rhinite hémorragique infantile, cystite), parfois en culture pure, sans association microbienne, il me semble qu'on est fondé à affirmer que les bacilles en question sont ou peuvent être la cause de ces inflammations. De là la dénomination pyogène. Ces microorganismes se trouvent parfois dans des conditions normales ou pathologiques, dans les mucus du nez et du pharynx, comme les pneumococques, et étant donné leur morphologie, très

¹⁾ Serkowski: Manuel de diagnostic bactériol. 1898.

Matzushita: Bakteriologische Diagnostik 1902.

Knaut: Tabellen zur Bestimmung der Trinkwasserbakterien 1911.

voisine de celle du *B. diphtérique*—ils peuvent induire en de graves erreurs diagnostiques.

Ces bacilles en question sont immobiles, dénués de spores, sur des préparations de pus et dans les cultures jeunes ils montrent constamment les granulations polaires typiques décrites par Neisser, mises en évidence par coloration vitale et par la méthode de Neisser d'où la dénomination de granulobacille; dans les passages ultérieurs se rencontrent des formes en cornue, ne différant sous le rapport de la forme, de la grandeur et du groupement du *bac. diphteriae*. Ils se colorent par la méthode de Gram. Le *granulobac.* diffère du *bac. diphteriae* et de toutes les espèces parentes ou analogues, au point de vue morphologique désignées généralement sous le nom de „diphtheriae“ et „dipteroïdes“, par les principaux caractères suivants: 1) par son action pyogène sur les muqueuses; 2) par la décomposition à 37° C. de l'urée, des acides urique et hipurique, avec mise en liberté de l'ammoniaque des composés organiques et inorganiques et en production d'une réaction fortement alcaline; 3) par les facultés reductives dues aux corps bacillaires eux-mêmes et non aux filtrats sur bougies Berkefeld; 4) par la production en 15 h. sur milieux sucrés, milieu d'Endo—d'une réaction faiblement acide au début; ses colonies prenant une coloration rose pâle, et demeurant de cette couleur sans devenir plus foncées lors du développement ultérieur.

Ses propriétés biologiques subissent une atténuation par symbiose avec des bacilles nitrifiants et des anaérobies (*clostridium et paraplectrum foetidum*); cette symbiose est défavorable aux deux espèces en présence. Inoculé par voie péritonéale ou sous-cutanée, le granulobacille ne détermine point de symptômes généraux ou locaux; inoculé dans les mêmes conditions en même temps qu'une culture très virulente de bacilles de Friendländer, il en atténue l'action. Inoculées dans l'oeil, les cultures du granulobacille déterminent de la conjonctivite et de l'oedème.

En dehors de 4 propriétés capitales ci dessus, distinguant le granulobacille du groupe des diphtheriae, je conseille pour le diagnostic de déterminer l'alcalinité et la diminution du pourcentage de l'urée dans un milieu composé de bouillon additionné de 1% d'urée (ou bien du bouillon ou de la macération de viande, employés jusqu'ici).

Conclusion: 1) Le granulobacille ou le bac. putrificus ap-

partient aux espèces bactériennes pyogènes et se montre capable de déterminer des inflammations locales de toutes les muqueuses (quelles qu'elles soient) mais introduit par voie intrapéritonéale ou sous-cutanée il ne provoque point de lésions et dans les accidents locaux, il ne détermine pas d'altérations du sang, constatables par les examens biologiques. (Abderhalden, v. Bordet-Gengou, agglutination).

2) Doué des propriétés pyogènes et décomposant simultanément l'urée et l'acide urique, avec mise en liberté de l'ammoniaque, le *granulobacillus putrificus* détermine une fermentation alcaline dans les urocystites (comme le *proteus vulgaris*).

3) Il est très analogue au *bac. diphtheriae* au point de vue de la forme et de coloration; montre invariablement au début des granulations métachromatiques et dans les générations ultérieures — des formes involutives en cornue; il en résulte que par la coloration vitale il n'y a point possibilité de le distinguer du *bac. diphtheriae* sur des préparations microscopiques; il se colore aussi par la méthode de Gram (+); il est impossible encore de distinguer ces deux espèces dans les cultures sur milieu de Loeffler et dans les préparations de ces cultures. Pourtant à 37° C. il pousse rapidement sur gélose ordinaire et sur les milieux d'Endo; sur ce dernier les colonies se colorent rapidement en rose pâle, ne changent plus et ne deviennent pas plus foncées avec le temps.

4) La différenciation du *bac. pseudodiphtheriae* est rendue possible par la propriété qu'a le granulobacille de montrer constamment des corpuscules polaires, de se comporter sur milieu d'Endo aussi que nous venons de le dire; dans les milieux contenant de l'urée, de l'acide urique, ou bien du sulfate d'ammonium, le granulobacille produit rapidement une réaction fortement alcaline; en même temps il montre un pouvoir pyogène, que ne possède pas le *bac. pseudodiphtheriae*.

5) Un milieu spécial est particulièrement propre pour les déterminations et le titrage de la réaction développée par le Bac. Il est constitué par du bouillon (ou un liquide privé d'albumine) additionné de 1% d'urée ou de 10% de $\text{SO}_4\text{A}_3\text{H}_4$ c. à d. des substances différentes décomposables. Au contraire le bouillon de viande, employé d'ordinaire, rend les dosages difficiles, car il contient: 1° des composés organiques résistant à la décomposition, 2° du sucre provenant du suc de viande et dont la présence donne une réaction acide, même

dans les cas où l'on ensemence en même temps que le granulobacille une culture de *proteus vulgaris*.

6) Il est indispensable de contrôler les notions actuelles sur la présence du *bac. diphteriae* dans les cavités de la bouche et du nez des hommes normaux, dans l'urine et dans la salive des convalescents etc. étant donné que ces notions—là sont fondées sur l'examen microscopique et ces cultures sur sérum de Loeffler et qu'il est nécessaire désormais de faire entrer en ligne de compte pour l'éliminer la flore très analogue de *B. granuleux* de la maison Kahlbaum ou bien du milieu sans albumine avec 1% d'urée. Sous l'action des bacilles décomposant l'urée, les différences dans le titrage par l'acide N/10 (indicateur méthyle-orange) ressortent plus grandes et plus nettes, que par les méthodes antérieures.

7) On doit abandonner la dénomination fautive de „*bac. pseudodiphteriae*“ et par analogie avec les dénominations admises actuellement de „*paratuberculosis*“ (forme bacillaire) et de „*pseudotuberculosis*“ (forme clinique) désigner par „*pseudodiphteriae*“ les affections cliniquement analogues à la diphtérie, mais déterminées par des microorganismes autres que le *B. de Loeffler* et par *bac. „pseudodiphteriae“*, — la forme bacillaire de Hoffmann-Wellenhof (l'ancien *bac. „pseudodiphteriae“*). De même qu'on ne désigne pas le paracolibacille par le nom de pseudocolibacille.

8) D'après les travaux de nombreux auteurs¹⁾ la décomposition des matières organiques dans les bassins d'épuration biologique des eaux vannes (septic tank treatment) et les fosses septiques de moindre diminutions est très incomplète et leur décomposition complète exigerait un temps trop prolongé (v. Roth et Bertschinger, Correspondenzblatt für Schweiz. Aerzte t. 30, 1900, p. 729). D'après mes propres expériences, il me semble que les réactions de ce vice de fonctionnement sont les suivantes: 1) la température des fosses qui est peu convenable et trop soumise aux variations atmo-

¹⁾ S. Dzierzowski. Gesundheits-Ingenieur 1907, t. 30, N. 1, 261.

S. Dzierzowski et Predtietchenski. Arch. des Sciences Biolog. 1910, t. 16, p. 67.

Guthet et Spillner. Gesundheits-Ingenieur 1911, p. 153.

Dunbar. Leitf. f. d. Abwässerreinigungsfrage 2-me ed 1912, p. 206.

Rolants. Revue d'Hygiène, t. 33, 1911, str. 949.

Kossowicz. Mykologie d. Gebrauchs — und Abwässer 1913, p. 82.

Fischer. Das Wasser 1914, p. 326 et suivantes.

sphériques; 2) la symbiose dans le même bassin d'espèces microbiennes différentes dont l'action se neutralise par antagonisme physiologique; 3) la variabilité de la flore bactérienne, 4) l'hyperalcalinité du milieu qui résulte de la décomposition organique et entrave la culture des microbes. Les recherches ci-dessus mentionnées sur les égouts et sur la décomposition de l'urée par les aérobie (*granulobacillus putrificus*) ou par symbiose aéro-anaérobie à températures diverses démontre bien que 1) la température des bassins d'épuration doit être constante (37° C.); 2) que tous processus de fermentation ne peuvent pas se produire simultanément et parallèlement dans le même bassin; 3) que la flore de chaque processus fermentatif doit nécessairement être adoptée et choisie avec discernement¹⁾ et 4) que l'hyperalcalinité du milieu doit être neutralisée au cours de la fermentation.

Tels sont les principes généraux qu'une série de travaux commencée par moi même et mes collaborateurs se propose de vérifier et de mettre en évidence.

Explication des photographies.

1. Cultures de *Granulobacillus* sur gélose inclinée. Deux d'entre elles ont été isolées d'une rhinite, la troisième d'une prostatite ($\frac{3}{4}$ de grandeur naturelle).

2. Colonies macroscopiques sur gélose (dével. à la température de 37°. Grandeur naturelle).

3. Culture en stries sur milieu d'Endo; en réalité les colonies sont colorées en rose pâle.

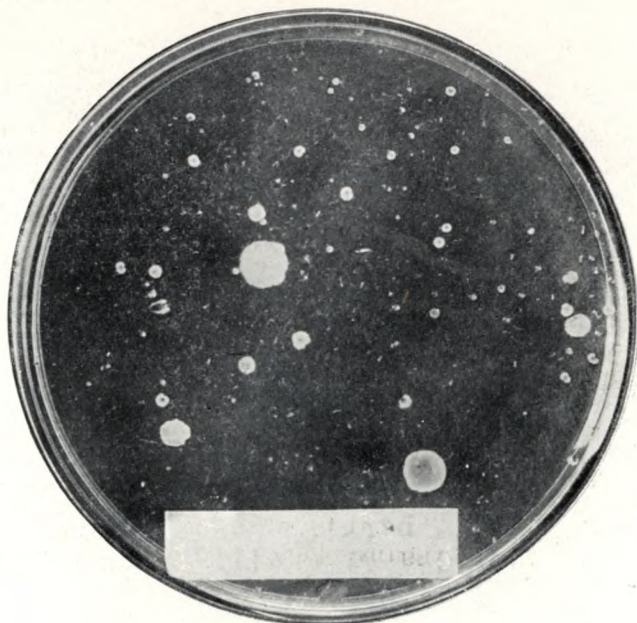
4. Cultures en stries de *Granulobacillus* comparativement avec les stries de *bac. fluorescens* et de *bac. pseudodiphtheriae* Hofmann-Wellenhof — milieu d'Endo ($\frac{3}{4}$ de grandeur naturelle. La différence de coloration n'est pas visible sur la photographie).

5. Photographies comparatives des globes oculaires de lapin, (expériences VII). Dans la chambre antérieure de l'oeil droit on a inoculé le *granulobacillus*. L'oeil gauche n'a pas subi d'inoculation.

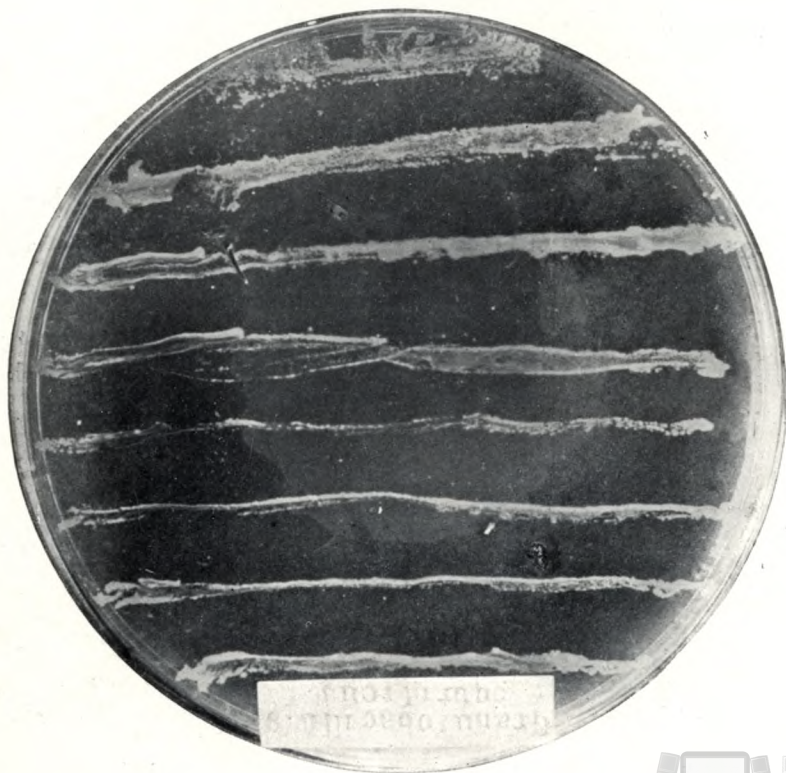
6—10. Microphotographies du mucus nasal contenant de *granulobacillus* et du pus.

8, 9, 10. Granulobacille provenant des cultures pures.

¹⁾ La flore des différents processus a été décrite par Kellermann, Kossowicz, Söhngen, de Kruijff, Lieske, Fred, Caron, Scheffler, Wollmann, Bonjean et autres



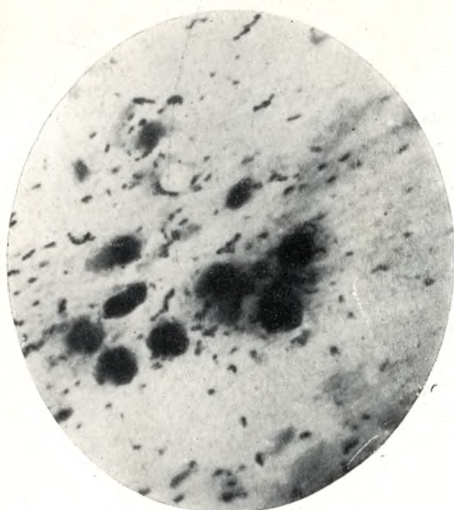
Fot. 2.



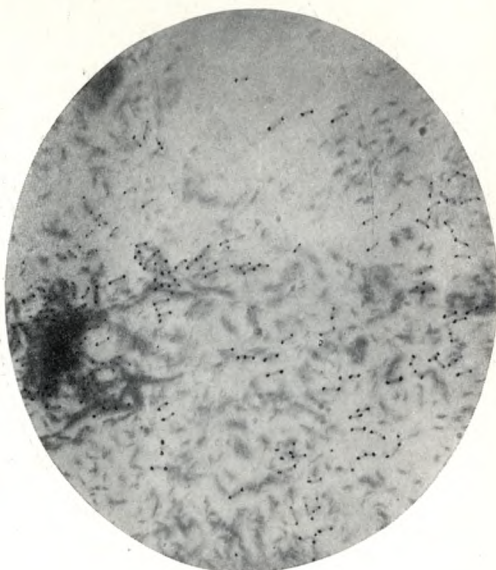
Fot. 3.



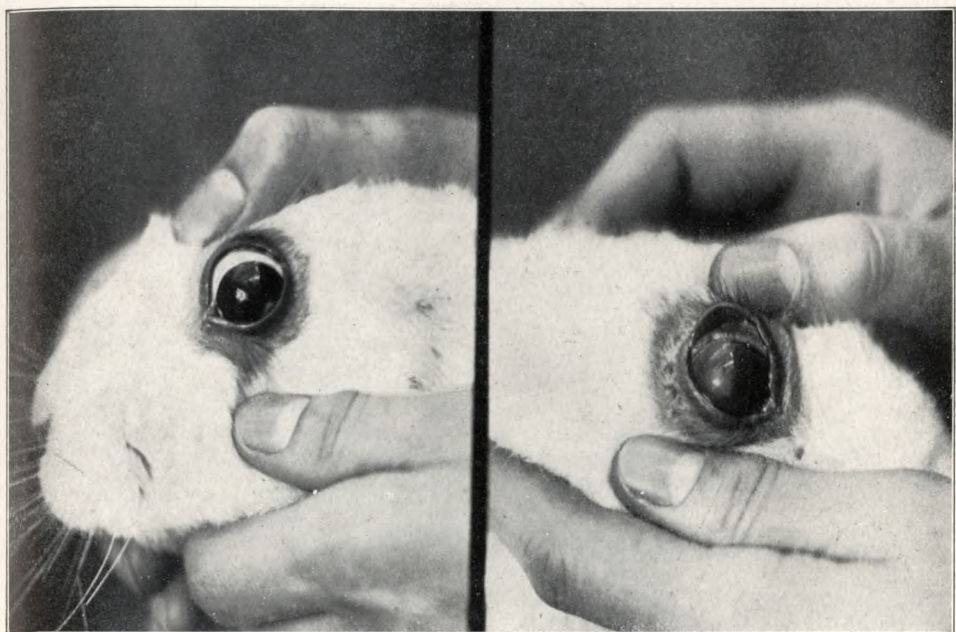
Fot. 1.



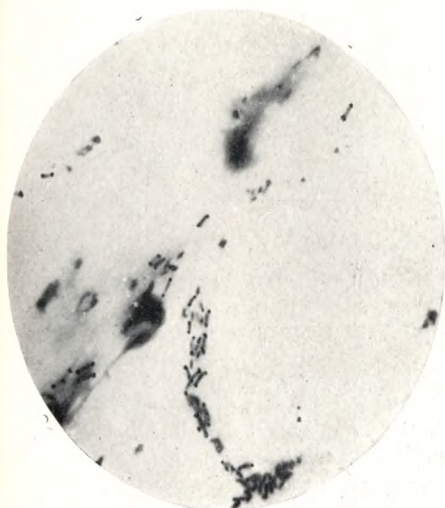
Fot. 6.



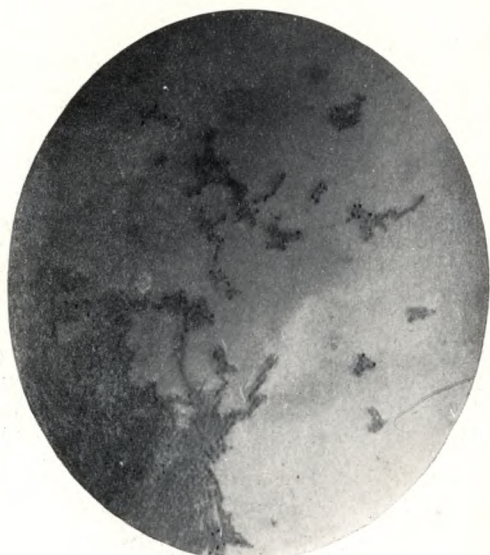
Fot. 8.



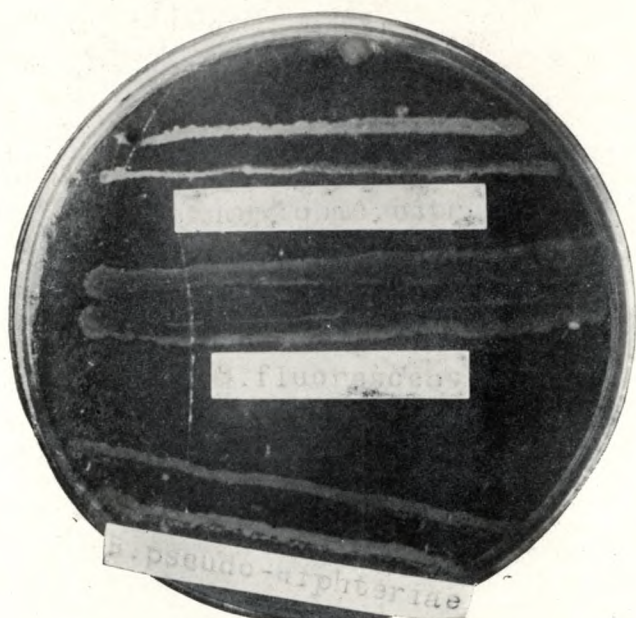
Fot. 5.



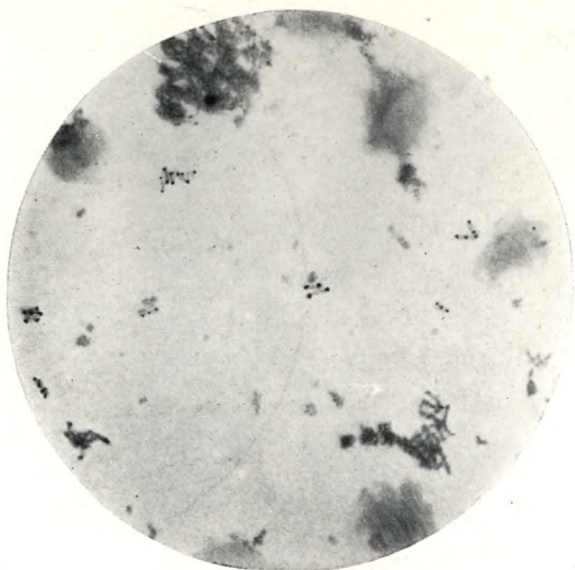
Fot. 7.



Fot. 9.



Fot. 4.



Fot. 10.

**Biblioteka Główna
WUM**



Biblioteka Główna
WUM

Br.6310



000031400



www.dlibra.wum.edu.pl