

MEDYCyna DOŚWIADCZALNA i SPOŁECZNA

(Dawniej Przegląd Epidemjologiczny).

T O M XIII.

WARSZAWA 1931

ZESZYT 3-4.

Wpłynęło 11.II 1931 r.

Z Miejskiego Instytutu Higieny w Bydgoszczy.

(Dyr. Dr. Wincenty Wróblewski).

MORFOLOGJA MIKROBA ZARAŻY PŁUCNEJ BYDŁA.

PODAŁ

Dr. WINCENTY WRÓBLEWSKI

Pasteur w roku 1882 stwierdził, że materiałem sztuk bydła zapadłych na zarazę płucną, wolnym od bakterij, można zakażać sztuki zdrowe, i że nie można otrzymać hodowli mikroba zarazy płucnej na zwykłym buljonie.

Nocard i *Roux* wykazali, że mikrobia ten przechodzi przez filtry *Berkefelda* i *Chamberlanda* i łącznie ze swoimi współpracownikami: *Borrelem*, *Salimbenim* i *Dujardin-Beaumetzem* pierwsi uzyskali hodowlę mikroba zarazy płucnej w woreczkach kolodjowych w jamie otrzewnej królika lub świnki morskiej.

Autorzy ci otrzymali sztuczną hodowlę mikroba zarazy płucnej na buljonie z dodatkiem surowicy bydlęcej, co w znacznym stopniu ułatwiło studja nad tym nadzwyczaj ciekawym zarazkiem.

Bordet otrzymał hodowlę na agarze z dodatkiem wyciągu ziemniaczanego, gliceryny i krwi królika; z hodowli dwudniowej przygotowywał preparaty, które utrzymywał alkoholem absolutnym i barwił metodą *Giemsy*.

Pozatem *Bordet* hodował mikroba zarazy płucnej na zwykłym buljonie z dodatkiem krwi lub surowicy królika (na 2 części bul-

jonu i część surowicy lub krwi) i po dwóch dniach mógł wykazać wzrost mikroba.

W preparatach z agaru autor widział cienkie nitki, powyginane w kształcie litery S, postrzępione na końcach, czasem z rozdęciami, a obok tego formy ziarniste z mniej zabarwionym środkiem.

W preparatach z podłoża płynnego opisuje autor mniej więcej podobne twory, nitki z rozgałęzieniami w postaci litery Y i formy ziarniste. Autor przychodzi do wniosku, że w preparatach z buljonu przeważają elementy ziarniste, które to twory porównywa z ziarenkami, zjawiającymi się w starych hodowlach mętwików. *Bordet* uważa, że w preparatach z podłoża płynnego spotykamy twory mniej charakterystyczne, niż w preparatach z hodowli na podłożu stałym.

Autor twierdzi, że mikrob zarazy płucnej barwi się niejednostajnie, że obok części preparatu silnie zabarwionych, spotykamy miejsca słabo zabarwione, że mikrob zarazy płucnej jest znacznie mniejszy od krętka bladego i posiada mniej charakterystyczne kontury. *Bordet* sądzi, że mikrob zarazy płucnej swoją morfologją zbliżony jest do mętwików rzekomych, śrubowców lub krętków.

Po *Bordet* podjęli studia nad morfologją mikroba zarazy płucnej *Borrel*, *Dujardin-Beaumetz*, *Jeantet* i *Jouan*. Autorzy badali morfologję mikroba w ultramikroskopie i w preparatach barwionych. Preparaty barwione sporządzali z płynnego podłoża z osadu po silnem odwirowaniu; preparaty utrwalali alkoholem lub nad płomieniem i barwili metodą *Loefflera*. Autorzy twierdzą, że z powodu trudności technicznych nie mogli otrzymać preparatów z hodowli agarowej.

W preparatach niebarwionych stwierdzili, że mikrob zarazy płucnej nie posiada ruchu własnego. chociaż z takich preparatów zupełnie nie można zdać sobie sprawy z morfologji mikroba, bo widać tylko punkty świecące oddzielnie lub w konglomeratach, obdarzone ruchem *Browna*. Autorzy uważają, że brak ruchu własnego nie pozwala mikroba zarazy płucnej zaliczyć w poczet krętków lub śrubowców, jak to przypuszczał *Bordet*. W preparatach, badanych w ultramikroskopie widzieli nitki rozgałęzione, ziarenka

ułożone w tetradry, gwiazdy i pierścienie. Nitki ulegają aglutynacji i stają się niewidzialne, podobno mają się rozplýwać

Barwienie preparatów sposobem *Giemsy* autorzy uważają za nieodpowiednie, gdyż metoda ta nie uwydatnia wszystkich szczegółów morfologii mikroba zarazy płucnej. W preparatach, barwionych metodą *Loefflera*, autorzy wykazują, że mikroba zarazy płucnej jest otoczony złożem śluzu, który jest niewidoczny w ciemnym polu i ledwo widzialny w preparatach, barwionych metodą *Giemsy*. W tem złożu śluzu znajdują się ziarenka, które mogą się układać w dwoinki, mogą tworzyć łańcuszki i skupienia złożone osobników różnej wielkości. W skupieniach, tetradrach lub łańcuszkach każde ziarenko może się dzielić i w ten sposób powstają rozwidlenia i formy gwiazdziste. W końcu autorzy przychodzą do wniosku, że mikroba zarazy płucnej wykazuje wielki polimorfizm, że właściwym mikroblem są ziarenka, które mogą się układać w dowolne figury, a tworzące się nitki i grzybnie rzekome są wytworzone ze złoża śluzu, jaki otacza mikroba. Autorzy sądzą, że rozwidlenia i liczne obrazy barwienia biegunowego, dowodzą obecności ziarn o układzie paciorkowcowym, które się czasem dzielą prostopadle do kierunku osi głównej. Ponieważ właściwym mikroblem zarazy płucnej są ziarna, więc autorzy proponują nazwę: „*Asterococcus mycoides*“, co ich zdaniem zupełnie odpowiada morfologii mikroba.

Frosch zastosował do badań morfologii mikroba zarazy płucnej promienie ultrafioletkowe. Obserwował rozwój brzegów kolonij na ściętej surowicy i obserwacje swoje poparł szeregiem fotografii, które wykonał aparatem *Köhlera*. *Frosch* twierdzi, że kolonie mikroba zarazy płucnej składają się z ziarenek, jednak różniących się od ziarenek, opisanych przez *Bordeta*, *Borrela*, *Dujardin-Beaumetz*, *Jeanteta* i *Jouana*. Według *Froscha*, ziarenka, widziane w promieniach ultrafioletkowych, odpowiadają swoją morfologją ziarenkom, opisanym przez *Marcinowskiego* w płynie z płuc bydła, padłego na zarazę płucną. W dalszych studjach *Frosch* badał morfologję mikroba zarazy płucnej w osadzie po odwirowaniu hodowli płynnej i stwierdził podobnie, jak w hodowlach na ściętej surowicy, ciała elementarne różnej wielkości, okrągłe, owalne lub wieloboczne, małe ciała w formie pierścieni, większe pierścienie

o podwójnych konturach i tarczki. Niektóre ciała pierścieniowate o podwójnych konturach zawierały na obwodzie małe punkcikowate. Pozatem *Frosch* widział twory kielkujące, w preparatach z osadu z odwirowanej hodowli buljonowej widział długie nitki, jednak nigdy nie zauważył związku między nitkami i ciałkami elementarnymi i sądził, że mikroby zarazy płucnej należy do specjalnego gatunku drożdży, gdyż podobne nitki spotykamy również w starszych hodowlach drożdży. *Frosch* zaproponował dla mikroba zarazy płucnej nazwę: „*Mikromyces peripneumoniae bovis contagiosae*“.

Bechhold i *Sierakowski* dla uwidocznienia mikroba zarazy płucnej zastosowali impregnację zarazka solami złota. Drobinę metalicznego złota, wytrącone przez redukcję osadzają się na zarazku i w ten sposób umożliwiają obserwację. Autorzy przychodzą do wniosku, że morfologia mikroba zarazy płucnej odpowiada tworom, obserwowanym przez *Froscha* w promieniach ultrafioletowych.

Oerskow opisuje swoje spostrzeżenia nad rozwojem kolonii mikroba zarazy płucnej na ściętej surowicy. *Oerskow* przykrywał szkiełkiem nakrywkowym młode kilkunastogodzinne kolonie i obserwował rozwój mikroba pod mikroskopem i stwierdził, że mikroby zarazy płucnej jest widzialny we wszystkich stadiach rozwojowych. Formą elementarną mikroba jest małe, owalne ciało lub krótka pałeczka. Formy elementarne kielkują i wytwarzają grzybnię, która posiada ciekawą zdolność modyfikacji form, jakiej się w ogólności nie spotyka u dotychczas znanych mikroorganizmów. Zdaniem *Oerskowskiego* mikroby zarazy płucnej ulega zmianie z minuty na minutę. Postacie młode tworzą poplątane nitki, rodzaj grzybni, w której następnie zjawiają się elementy ziarniste i rozgałęzione, a w końcu twory już zróżnicowane tracą zdolność kielkowania. Dalej *Oerskow* twierdzi, że mikroby zarazy płucnej posiada zdolność autolizy.

Nowak badał morfologię mikroba zarazy płucnej w preparatach barwionych, przygotowanych z podłoża płynnego.

W celu uzyskania dobrych preparatów autor podaje jako regułę przygotowanie preparatów z osadu po odwirowaniu hodowli buljonowej. Autor w pracy swojej stwierdza, że mikroby zarazy płucnej przechodzi przez filtry *Chamberlanda* i *Berkefelda*, że

w stanie niezabarwionym jest niewidzialny, i że barwi się nadzwyczaj trudno.

Zdaniem autora, mikrob zarazy płucnej kończy swój cykl rozwojowy w środowisku płynnym w ciągu kilku dni, poczem zjawiają się małe skupienia protoplazmy „ciałka elementarne“, które mają zdolność pączkowania.

Pączki wydłużają się w nitki grzybniowe, rozgałęzione w formy fantastyczne i dziwaczne. We wczesnych okresach rozwoju grzybni widać w jej wnętrzu małe ziarna silnie zabarwione, których natura nie jest jeszcze wyjaśniona, podobnie niewyjaśnione jest znaczenie pierścieni, występujących między nitkami grzybni. Nitki grzybni barwią się niejednostajnie, znajdujemy części zabarwione silniej obok części słabo zabarwionych. Części nitek grzybniowych silnie zabarwione zlewają się częściowo i tworzą skupienia lub kule. Siatka grzybni rozdziela się na fragmenty, w których tworzą się małe kulki: „ciałka elementarne“.

Ciałka te obdarzone są wielką plastycznością, która pozwala im przechodzić przez filtry bakteryjne. Mikrob zarazy płucnej w niektórych stadiach rozwojowych tworzy skupienia protoplazmy półpłynnej, jednorodnej, nie zróżnicowanej na ektoplazmę i endoplazmę i tej własności mikroba autor przypisuje polimorfizm. Skupienia protoplazmy, jakie autor widział, nasunęły mu myśl, że najodpowiedniejszą nazwą dla mikroba zarazy płucnej jest termin: „*Mycoplasma peripneumoniae contagiosae*“.

Spostrzeżenia swoje poparł autor dwiema tablicami ładnych zdjęć mikrofotograficznych.

W swoich badaniach nad morfologią mikroba zarazy płucnej dokładnie przestudjowałem morfologję sześciu szczepów, w tem jeden szczep pochodził z Instytutu Pasteura w Paryżu, a pięć szczepów z Niemiec, z Państwowego Urzędu Zdrowia. Początkowo hodowałem mikroba zarazy płucnej na buljonie *Martina* z dodatkiem 8% surowicy bydlęcej lub końskiej. Stężenie jonów wodorowych, określane przy pomocy komparatora *Walpole Michaelisa* lub potencjometru według *Mislowitzera* doprowadzałem do pH 7,8—8,0. W dalszych doświadczeniach przekonałem się, że mikrob zarazy płucnej rośnie również dobrze na zwykłym buljonie z dodatkiem 8% surowicy bydlęcej lub końskiej, pod warun-

kiem, aby stężenie jonów wodorowych wahało się w granicach pH 7,2—8,0. Najsilniejszy i najszybszy wzrost zauważyłem na płynnym podłożu o stężeniu jonów wodorowych pH 7,6 — 7,8. W czasie wyjaławiania buljonu tworzą się strąty i stężenie jonów wodorowych ulega zmianie dość poważnej. Chcąc z jednej strony uniknąć tych niepożądanych zmian, które mogłyby wpływać ujemnie na rozwój mikroba, a z drugiej zaś obawiając się powstawania strąków, utrudniających w znacznym stopniu badanie morfologii tak delikatnego zarodka, jak mikroba zarazy płucnej, unikałem sterylizacji w autoklawie. Buljon, odpowiednio przyrządzony z dodatkiem surowicy filtrowałem pod ujemnym ciśnieniem przez filtr *Chamberlanda*. Filtry *Berkefelda* są mniej odpowiednie, bo razem z pożywką przechodzą minimalne cząsteczki samego filtra, co można wykazać w ciemnym polu, a nawet w preparatach barwionych, cząsteczki te utrudniają badanie morfologii mikrobów przesączalnych.

Filtr *Chamberlanda*, przepłukany kilkakrotnie przed użyciem wodą destylowaną, daje filtrat bez zarzutu. Do swoich doświadczeń brałem filtry kontrolowane każdorazowo i pożywkę, którą poddawałem filtrowaniu mieszałem z hodowlą cholery kur dla kontroli filtra. Nigdy filtrów nie przepalałem, celem pozbycia się resztek organicznych substancji, bo jak się przekonałem, taki sposób oczyszczania filtrów niszczy każdy filtr; oczyszczałem więc filtry na drodze chemicznej. Wypalanie wywołuje tworzenie się osadu, który zatyka filtr, zmniejsza jego porowatość i filtr podczas przepalania pęka wskutek wytworzenia się gazów z substancji organicznych. Po użyciu należy filtr zanurzyć w kolbce szklanej, napełnionej ciepłą wodą z dodatkiem 1 do 2 gramów chlorku wapnia w proszku na 100 cm³ wody. Ta kąpiel rozmiękcza osad powierzchniowy. Następnie spłukuje się filtr pod strumieniem wody i zmywa z wierzchu szczoteczką włosianą, potem się zanurza w zimnej wodzie, zawierającej 100 do 150 gramów chlorku wapnia na 1 litr. Zostawia się filtry w ten sposób zanurzone w ciągu 30 minut. Chlorek wapnia rozkłada części organiczne wewnątrz porów. Następnie płucze się znowu pod kranem i zanurza się filtry w innej kąpeli z wody zimnej, zawierającej 100 do 150 gramów kwasu solnego na 1 litr wody. Pozostawia się w tej kąpeli 30

minut. W ten sposób ulegają zniszczeniu wszystkie organiczne substancje, znajdujące się na zewnątrz i wewnątrz filtra.

Po tym zabiegu wypłukujemy filtr intensywnie pod strumieniem wody dotąd, dopóki woda, ściekająca z filtra daje kwaśną reakcję. Wodę badamy papierkiem lakmusowym.

Do filtrowania posługiwałem się przyrządem *Uhlenhutha-Weidanza* i rzadko kiedy otrzymywałem pożywkę zanieczyszczoną. Przyrząd ten jest dobrze pomyślany; daje możliwość łatwego filtrowania i wygodnego rozlewania przefiltrowanego płynu z aparatu do probówek. W ten sposób otrzymana pożywka płynna miała odpowiednie stężenie jonów wodorowych i była pozbawiona wszystkich minimalnych stratów, które mogą utrudniać studia nad morfologią zarazków przesączalnych. Nawet po kilkutygodniowym przechowywaniu pożywki nigdy nie zauważyłem, aby na jej powierzchni tworzył się delikatny kożuszek złożony z lipidów surowicy, co często występuje, jeżeli do pożywki dodaje się surowicę niefiltrowanej.

Po przeszczepieniu mikroba zarazy płucnej na podłoże płynne, po 2 — 3 dniach przechowania w cieplarni w temp. 37°, można stwierdzić lekką opalescencję w probówkach szczepionych, której brak w probówkach kontrolnych, zawierających tę samą pożywkę. Opalescencja w probówce, w której zachodzi wzrost mikroba, występuje bardzo wyraźnie przy sztucznem świetle na czarnem tle, chociaż i przy dziennem świetle widać ją również.

Opalescencja normalnie wzmaga się do 5 — 6 dnia wzrostu od chwili zaszczepienia, zależy to zresztą od pożywki i od szczepów, bo nie wszystkie szczepy wykazują jednakowo szybki wzrost. Niektóre szczepy wykazywały opalescencję już po 24 godzinach, podczas gdy inne dopiero po 3 — 4 dniach. Większa ilość surowicy, dodana do pożywki, nie wpływa na przyspieszenie wzrostu, natomiast mniejsza ilość surowicy, niż 5% znacznie opóźnia wystąpienie opalescencji. Przez stopniowe obniżanie zawartości surowicy w pożywce można dojść do tego, że na buljonie z dodatkiem 1% surowicy występuje wzrost, ale znacznie opóźniony. Mniejsza ilość surowicy w podłożu jest z tego względu ważna, że surowica w wysokim stopniu przyczynia się do powstawania stratów w preparatach barwionych. W hodowli kilkodniowej mikroba zarazy

płucnej na podłożu płynnym, oglądanej pod światło, widać na ciemnym tle przy wstrząsaniu probówki tworzenie się smug, przypominających falowanie jedwabiu. Jeżeli probówki się nie wstrząsa, to po kilku dniach (3 — 4), zależnie od szczepu i pożywki na powierzchni tworzy się nadzwyczaj delikatny kożuszek, podobny do tego, jaki występuje na surowicy jałowo przechowywanej. Jak później się przekonałem, kożuszek ten jest utkany z mikroba zarazy płucnej. Wyraźnie opalizujące probówki, przechowywane w temperaturze pokojowej, po kilkunastu dniach wyjaśniają się, a na dnie probówki powstaje nieznaczny osad, który zwiększa się w miarę starzenia się hodowli. Intensywność wzrostu mikroba zarazy płucnej zależy jeszcze od wieku hodowli, z której przeszczepiamy. Mikrob, przeszczepiony na płynne podłoże z hodowli buljonowej 4 — 5 tygodniowej rośnie znacznie wolniej, niż przeszczepiony z hodowli kilkodniowej, a przytem, przeszczepiając mikroba zarazy płucnej z kilkotygodniowej hodowli z górnych warstw, trzeba wziąć do przeszczepiania kilka kropli, wówczas gdy z hodowli kilkodniowej wystarczy jedna kropla. Jeżeli przeszczepiamy oczkiem, a nie pipetą włosową, to nie wszystkie zaszczerpione probówki wykazują wzrost, jeżeli przeszczepiamy górną warstwę starszej hodowli buljonowej, która nie była wstrząsana. To spostrzeżenie przemawiałoby za tem, że osad, jaki powstaje w starszych hodowlach buljonowych, składa się z zarazków. Hodowle buljonowe mikroba, które po 5 — 6 dniach pobytu w cieplarni, przechowywałem w temperaturze pokojowej, po dwóch miesiącach, wysiane na odpowiednie podłoża, prawie zawsze wykazywały wzrost. Hodowle starsze, niż dwumiesięczne, wzrostu nie wykazywały.

Do hodowli mikroba zarazy płucnej na podłożu stałem używałem 2,5% agaru, strąconego białkiem jaja kurzego i przefiltrowanego przez bibułę. Stężenie jonów wodorowych doprowadzałem do pH 7,6 — 7,8; rozlewałem do probówek i poddawałem sterylizacji, następnie po ostudzeniu do 56° dodawałem 8% surowicy bydlęcej lub końskiej. Różnicy we wzroście i morfologii, przy dodaniu do pożywki zamiast surowicy bydlęcej, surowicy końskiej, nie zauważyłem. Na agarze z surowicą, po 48 godzinach można rozpoznać przy pomocy lupy, pojedyncze kolonie okrągłe, zupeł-

nie przezroczyste, podobne do kropli rosy, z małemi wzniesieniam w środku. W następnych dniach kolonje powiększają się i dochodzą do wielkości ziarnka maku tak, że można je widzieć gołym okiem. Takie kolonje, oglądane pod mikroskopem, wykazują środek o budowie wyraźnie ziarnistej, brunatnawej, otoczony jaśniejszym paskiem obwodowym. Starsze kolonje leżą w głębi agaru; widać to dobrze na skrawkach, sporządzonych z agaru z kolonjami mikroba. Jeżeli pożywka jest dostatecznie zabezpieczona przed wysychaniem, co można osiągnąć, przez wstawienie płytki *Petriego* z hodowlą agarową do płytki *Miguli*, w której się znajduje nieco wody destylowanej, to można zauważyć, że młode kolonje mikroba zarazy płucnej rosną na powierzchni agaru i przy pomocy oczka można je łatwo deformować, a nawet zdjąć z powierzchni agaru. Konsystencja takich kolonij robi wrażenie śluzu. Podobnie możemy otrzymać młode kolonje mikroba zarazy płucnej na powierzchni agaru skośnego, dobrze zabezpieczonego przed zbyt szybkim wysychaniem. Jeżeli oglądamy pod mikroskopem taką płytkę *Petriego* lub agar skośny, z którego próbowaliśmy zdjąć młode kolonje, to zauważymy kolonje mikroba zarazy płucnej zdeformowane, przypominające zniekształcone kropelki oliwy. Starsze kolonje, zagłębione w agarze, są twarde i trudno je wydobyć z podłoża. Jednak i takie starsze kolonje można w całości, bez resztek agaru, otrzymać na szkiełku podstawowym. Jeżeli agar skośny z kolonjami pozostawimy dłuższy czas w cieplarni, to na skutek nierównomiernego wysychania agaru i kolonij, te ostatnie zostają wprost wypchnięte z głębi i leżą wolne na powierzchni agaru; zdjęcie ich nie przedstawia większych trudności. Takie kolonje są suche i twarde; przygotowanie z nich preparatów jest niemożliwe, mogą tylko w całości służyć do studjów, co jednak nie przedstawia większej wartości, bo szczegółów żadnych pod mikroskopem zauważyć nie można, tak w preparatach barwionych, jak i niebarwionych.

Kolonje mikroba zarazy płucnej łatwo przyjmują barwiki anilinowe, i środek kolonij barwi się intensywniej, niż obwód.

Szybkość wzrostu mikroba zarazy płucnej na agarze z surowicą, podobnie jak na podłożu płynnym, zależy od szczepu, od podłoża i od wieku, hodowli przeszczepianej. Młode hodowle

buljonowe 5—6 dniowe, przeszczepione na agar z surowicą wykazują wzrost szybciej, niż hodowle kilkotygodniowe. Jeżeli do szczepienia na agarze użyjemy za dużo hodowli buljonowej, to nie otrzymamy pojedynczych kolonii; obwodowe części kolonii zlewają się i tworzą jednolity, tłusty nalot, który jest usiany, jak gdyby guziczkami, to jest częściami centralnemi kolonii.

W dalszym ciągu swojej pracy przystąpiłem do stwierdzenia, czy mikroby, którym operowałem, przechodzi przez filtry bakteryjne. Około 1 cm³ kilkodniowej, hodowli buljonowej mieszałem z kilkudziesięciu centymetrami buljonu z surowicą, do którego dodawałem płynną hodowlę cholery kur i filtrowałem przez filtry Chamberlanda L¹, L¹ bis i L². Otrzymany filtrat wysiewałem na płynne podłoże i w kilkunastu takich doświadczeniach zawsze mogłem wykazać wzrost mikroba, aczkolwiek znacznie opóźniony, niż po przeszczepieniu bezpośrednim.

W ten sposób skontrolowałem wszystkie szczepy zarazy płucnej, które mi rozporządzałem. Zauważyłem, że mikroby zarazy płucnej przechodzi przez filtry bakteryjne, bez różnicy, czy filtrujemy hodowle kilkodniowe, czy też kilkotygodniowe; jest więc przesączalny we wszystkich swoich stadiach rozwojowych. Łatwiej przechodzą przez filtry mikroby z hodowli buljonowej, która przed filtrowaniem była intensywnie wstrząsana; można się o tem przekonać przez wysianie otrzymanego filtratu na płytkę agarową z dodatkiem 8% surowicy.

Przed przystąpieniem do badania morfologii mikroba w preparatach barwionych, zbadałem wszystkie szczepy w ciemnym polu, używając do tego możliwie dobrego kondensatora i dobrego źródła światła. W swoich badaniach posługiwałem się kondensatorem kardjoidowym i paraboloidowym według Siedentopfa. Preparaty do ciemnego pola przygotowywałem na szkiełkach, bardzo starannie mytych i odtłuszczonych, aby wykluczyć o ile możności domieszkę wszelkich ciał obcych. Zbadałem w ciemnym polu sześć szczepów zarazy płucnej, każdy co kilka godzin, aby móc zauważyć ewentualne stadia rozwojowe mikroba. W preparatach z hodowli buljonowej widziałem prawie zawsze jedno i te same twory: kuleczki poruszające się szybko ruchem *Browna*, łańcuszki ułożone z kuleczek, dwóinki i coś w rodzaju

małych gwiazdek, ułożonych z kuleczek; wszystkie te elementy silnie świeciły i poruszały się szybko, ale nie ruchem postępowym. Twory mniej więcej podobne widziałem w preparatach kontrolnych, przygotowanych z buljonu, na którym hodowałem mikroba zarazy płucnej. Podobne studia w ciemnym polu przeprowadziłem nad mikroblem z podłoża stałego, ale również nie mogłem wyciągnąć żadnych wniosków co do morfologii mikroba. Przygotowanie preparatów do ciemnego pola z podłoża stałego jest technicznie trudne; nie zawsze się udaje tak przygotować preparat, aby nie było większych grudek.

Po tych nieudanych próbach przyszedłem do wniosku, że mikrob zarazy płucnej podobnie załamuje promienie światła, jak środowisko, w którym go badamy i dlatego nie można go zobaczyć w ciemnym polu. Wniosek ten nie jest zupełnie słuszny, bo gdyby tak było, to nie widzielibyśmy opalescencji, występującej podczas wzrostu mikroba w płynnym środowisku i nie widzielibyśmy smug, tworzących się przy wstrząsaniu próbówki z hodowlą płynną. A jednak faktem jest, że mikrob w ciemnym polu jest niewidzialny.

W końcu przystąpiłem do przygotowywania preparatów barwionych. Różnice w natężeniu opalescencji w zależności od wzrostu mikroba i wieku hodowli pozwoliły mi przypuszczać, że mikrob zarazy płucnej musi mieć różne stadja rozwojowe, co przyczynia się do zmian w opalescencji.

Aby uchwycić ewentualne ogniwa cyklu rozwojowego mikroba zarazy płucnej, przygotowałem preparaty co 24 godziny, poczynawszy od chwili przeszczepienia, aż do 10 dnia. Dla uniknięcia fałszywych wniosków, drugą serję preparatów przygotowywałem z pożywki, na której hodowałem mikroba.

Preparaty utrwaliałem różnymi sposobami: nad płomieniem, przez podgrzanie do 100° przez $\frac{1}{2}$ godziny, w parach kwasu osmowego, utrwalaczem *Borrela*, w parach formaliny, alkoholem absolutnym, alkoholem metylowym, alkoholem z eterem, sublimatem i t. p. Starałem się różnymi sposobami utrwalać preparaty, bo sądziłem, że trudność zabarwienia mikroba zarazy płucnej zależy od sposobu utrwalenia preparatów.

Utrwalone preparaty barwiłem różnymi barwnikami anilinowymi, które przed użyciem każdorazowo filtrowałem przez bibułę. Przy zastosowaniu barwników anilinowych można było zauważyć w preparatach tylko małe ziarenka. Podobne ziarenka można było spostrzec w preparatach kontrolnych, przygotowanych z buljonu. Stosunkowo najlepsze rezultaty otrzymałem przy zastosowaniu do barwienia *Giemsy*, ale obrazy uzyskane tym sposobem barwienia, zupełnie nie dawały wyczerpującego pojęcia o morfologii mikroba zarazy płucnej. W preparatach, barwionych *Giemską*, można zauważyć małe ziarenka, twory pierścieniowate, dwubiegunowe i nitki nierównomiernie zabarwione.

Po tych bezskutecznych próbach przystąpiłem do barwienia preparatów metodami, stosowanymi do barwienia witek u bakterij.

Przy zastosowaniu metody *Zettnowa* w preparatach, przygotowanych z płynnej hodowli mikroba, powstaje moc strąków, wśród których trudno spostrzec sam zarazek. Podobnie dużo strąków daje metoda barwienia *Loefflera*, chociaż barwiąc witki tymi samymi odczynnikami otrzymujemy obrazy zupełnie wolne od strąków. Powstawanie strąków w preparatach z płynnej hodowli mikroba zarazy płucnej w pierwszym rzędzie odnieść należy do surowicy, dodanej do buljonu, na którym hodujemy zarazek. Ponieważ badałem mikroba niezupełnie znanego pod względem swojej morfologii, więc każdy strąk mogłem podejrzewać o to, że jest mikroblem. Od tych fałszywych wniosków chroniły mnie preparaty kontrolne, przygotowywane z pożywki, na której hodo- wałem zarazek, barwione tymi samymi odczynnikami i w tym samym czasie.

Chcąc się uwolnić od surowicy, która w preparatach powodowała powstawanie strąków, starałem się hodować mikroba zarazy płucnej na buljonie z mniejszą ilością surowicy. Przy stopniowym przyzwyczajaniu mikroba, otrzymywałem wzrost jeszcze na buljonie z dodatkiem 1% surowicy bydlęcej, chociaż wzrost występował znacznie później, niż na buljonie z większą ilością surowicy.

Jak się przekonałem, ta zmniejszona ilość surowicy zupełnie nie chroniła od powstawania strąków w preparatach. Strąty po-

wstają nawet w preparatach, przygotowanych z samego buljonu, jeżeli do barwienia ich użyjemy metod, stosowanych do barwienia witek. A do studjów nad morfologią mikrobów przesączalnych, jeszcze mało znanych, mogą być użyte tylko preparaty zupełnie pozbawione strąków, bo inaczej w żaden sposób nie można rozstrzygnąć, co jest strątem, a co mikroblem. Ponieważ te metody barwienia nie prowadziły do celu, więc w dalszym ciągu swej pracy starałem się przygotowywać preparaty z czystej hodowli mikroba, bez domieszki podłoża.

Hodowlę buljonową wirowałem na silnej wirówce o 7—8 tysięcy obrotów na minutę, bo wirowanie na słabszych wirówkach, nawet przez dłuższy czas, nie daje osadu z hodowli płynnej mikroba zarazy płucnej.

Otrzymany osad przemywałem, a później bez przemywania przygotowywałem z osadu preparaty, które utrzymywałem i barwiłem. W ten sposób otrzymane preparaty z płynnej hodowli mikroba zarazy płucnej barwią się stosunkowo dobrze zwykłymi barwikami anilinowymi, bez żadnych trudności i bez strąków, podobnie dobrze i bez strąków barwią się metodami, stosowanymi do barwienia witek bakteryjnych.

Bordet, Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet, Jouan i Frosch studjowali morfologię mikroba zarazy płucnej w preparatach, przygotowanych z osadu po odwirowaniu płynnej hodowli. *Nowak* uważa za regułę wirowanie hodowli buljonowej w celu otrzymania dobrych preparatów. *Frosch* w preparatach z osadu po odwirowaniu płynnej hodowli zarazy płucnej widział nitki i ziarenka, ale nie widział nigdy żadnego związku między nitkami i ziarenkami. Nic dziwnego, jeżeli się weźmie pod uwagę, że aby otrzymać osad z płynnej hodowli mikroba zarazy płucnej, trzeba taką hodowlę wirować na silnej wirówce przez dłuższy czas, co musi wpłynąć na zniekształcenie delikatnego mikroba przesączalnego.

Preparaty, przygotowane z osadu po odwirowaniu hodowli buljonowej, wykazują twory fantastyczne, zależne od tego, w jaki sposób przygotowujemy preparaty z tej zbitej masy.

Gdy osad, otrzymany po odwirowaniu hodowli buljonowej, zmieszamy z fizjologicznym roztworem soli i przez dłuższy czas

będziemy trzęśli na trzęsawce, a następnie z tej zawiesiny mikroba w fizjologicznym roztworze soli przygotujemy preparaty, to się okaże, że w ten sposób otrzymamy preparaty jeszcze stosunkowo lepsze, ale sam mikroba jest porwany na fragmenty, z których trudno zrekonstruować pod mikroskopem właściwą morfologię. Obok tych fragmentów spotykamy twory zupełnie sztuczne, które powstały na skutek wirowania.

Podobnie trudno byłoby zdać sobie sprawę z witek bakterieryjnych, z roli jaką spełniają one u bakterji i z ich rozmieszczenia, gdybyśmy preparaty do barwienia witek, przygotowywali z osadu po odwirowaniu płynnej hodowli bakterieryj.

Mikroba zarazy płucnej ma wielką tendencję do zlepiania się już w warunkach normalnych, jak o tem wspominają *Borrel, Dujardin-Beaumetz* i ich współpracownicy, o czem sam również miałem możność przekonać się. Podczas wirowania powstają między innymi kule protoplazmy i to może wprowadzić w błąd, bo można je uważać za twory normalne, a są one tylko wyrazem zniekształcenia właściwej postaci mikroba. Po stwierdzeniu tych faktów, w dalszej swej pracy przygotowywałem preparaty z hodowli buljonowej bezpośrednio, bez wirowania.

Opanowanie metody barwienia mikroba zarazy płucnej, w preparatach ze środowiska płynnego, zawierającego surowicę, uważałem za kardynalny warunek do studjów nad innymi, przesączalnymi zarazkami, których dziś jeszcze nie umiemy hodować na sztucznych podłożach. Morfologię ich należy badać w produktach chorobowych, które ze względu na powstawanie strąków w preparatach barwionych, są znacznie gorszym materiałem do przygotowywania preparatów, niż buljon z surowicą.

Wiele cech wspólnych, jakie wykazują zarazki przesączalne, pozwalają mieć nadzieję, że z chwilą kompletnego opanowania jednego z nich, w ten sam sposób można będzie poznać i inne, nieznane jeszcze pod względem morfologicznym. Do tego rodzaju studjów wstępnych mikroba zarazy płucnej jest wdzięcznym obiektem, bo można go hodować na sztucznych podłożach, co znacznie ułatwia pracę.

Przypuszczenie, że zarazki przesączalne na skutek wielu wspólnych cech, mogą się mniejwięcej jednakowo zachowywać

pod względem barwienia, okazało się, jak dotąd słuszne, bo metodami, stosowanemi do barwienia mikroba zarazy płucnej, udało mi się zabarwić zarazek przesączalny „agalaxiae contagiosae”, którego morfologia jest mniej znaną, niż morfologia mikroba zarazy płucnej. Morfologię tego zarazka opiszę w publikacji następnej, a czy podobnie uda się zabarwić inne przesączalne mikroby, to będzie tematem moich prac dalszych.

Do barwienia preparatów mikroba zarazy płucnej zastosowałem zaprawę, która nie wytwarza strąków i fuksynę karbolową *Ziehla*, ale jak się przekonałem, z równem powodzeniem można stosować błękit *Loefflera*, Lichtgrün, Gentiana—violett, tioninę i inne barwiki anilinowe. Najlepsze preparaty otrzymywałem jednak przy stosowaniu fuksyny *Ziehla* lub *Czaplewskiego*. Barwienie preparatów fuksyną jest korzystne jeszcze i z tego względu, że czerwono zabarwione mikroby dają się stosunkowo łatwo fotografować. Zaprawę, jak również i barwik, tuż przed użyciem filtrowałem przez sączek z podwójnej bibuły. Preparaty utrwaliałem w parach kwasu osmowego, gdyż ten sposób utrwalania stosunkowo mało zmienia morfologję. Preparaty utrwalane w inny sposób, również dobrze się barwią.

Jak już wyżej wspomniałem, szybkość wzrostu mikroba zarazy płucnej zależy od podłoża, na którym go hodujemy, od szczepu i od wieku, hodowli użytej do przeszczepiania. Ścisłe ze wzrostem mikroba związany jest jego cykl rozwojowy, a co zatem idzie, morfologia mikroba. Aby mieć zawsze jednakowe wyniki, w ciągu całej pracy brałem do przeszczepiania buljonowe hodowle, 6-ciodniowe i przeszczepiając, starałem się zawsze przeszczepić jedną i tę samą ilość hodowli, t. j. jedno oczko platynowe na jedną probówkę pożywki. Pożywkę przygotowywałem zawsze w ten sam sposób i mniej więcej jednakowe ilości rozlewałem do probówek. Zachowane, w miarę możliwości, te same warunki hodowli dawały mi stosunkowo jednolity wzrost mikroba zarazy płucnej. Preparaty przygotowywałem w sposób wyżej opisany i do studjów morfologicznych wybierałem tylko preparaty zupełnie wolne od strąków. Przy dobrej technice barwienia otrzymanie dobrych preparatów, wolnych od strąków, nie przedstawia większych trudności.

W preparatach barwionych, przygotowanych z 24-godzinnej buljonowej hodowli mikroba zarazy płucnej, widzimy elementy owalne, silnie zabarwione, a obok nich nadzwyczaj małe ciałka; jedne i drugie mogą posiadać na swoim końcu wypustkę w postaci pączka. Czasem spotykamy takie ciałka o dwóch wypustkach, po jednej z każdego bieguna.

Ciałka owalne, posiadające wypustki, są w środku mniej zabarwione. W preparatach z 48 godzinnej hodowli buljonowej, widzimy podobne twory, elementy owalne, silnie zabarwione, z długimi wypustkami; w obrębie tych wypustek widzimy silnie zabarwione ziarenka.

Obok tych elementów widzimy długie, porozgałęziane nitki z licznymi wypustkami, na końcu tych wypustek widzimy silnie zabarwione ziarenka; w samych nitkach widzimy również podobne ziarenka i dlatego nitka robi wrażenie niejednostajnie zabarwionej, bo ziarenka barwią się silniej, niż pozostała część nitki. Jeżeli preparaty były przygotowane z hodowli buljonowej niezbyt ostrożnie, albo jeżeli hodowla była wstrząsana, to w preparatach nie spotkamy długich nitek, lecz fragmenty nitek porwanych. Wówczas trudno się zorientować w tych strzępach i nie można mieć pojęcia o właściwym wyglądzie tych nitek.

Dlatego też jest pożądane przygotowywanie preparatów z hodowli w miarę możliwości mało wstrząsanej, bo wspomniane nitki łatwo się rwą i to prawdopodobnie powoduje powstawanie smug podczas wstrząsania hodowli buljonowej mikroba zarazy płucnej.

W preparatach z 72-godzinnej hodowli buljonowej widzimy długie nitki rozgałęzione, zakończone silnie zabarwionymi, małymi kuleczkami. Kuleczki, znajdujące się na końcach nitek, są nieco większe, niektóre o niezabarwionym środku i dlatego robią wrażenie pierścieni. Niektóre pierścienie na swoim obwodzie posiadają symetrycznie rozłożone małe ziarenka, silnie zabarwione, ziarenek tych bywa 2 — 6. Na końcach niektórych nitek spotykamy pierścienie, od których odchodzą małe wypustki, zakończone kuleczką; wypustek tych bywa 2—6, elementy te wyglądem swoim przypominają gwiazdkę. Wypustki, odchodzące od pierścieni, łatwo odrywają się i leżą wolno; podobnie spotykamy wielką ilość poodrywanych gwiazdek, pierścieni, fragmenty nitek z silnie

zabarwionemi ziarenkami w swoim wnętrzu i wolno leżące ziarenka, które wielkością i sposobem barwienia odpowiadają ziarenkom, jakie widzimy na końcach wypustek, gwiazdek i na końcach nitek. Obok tych elementów widzimy nitki nierównomiernej grubości i niejednostajnie zabarwione, w których wnętrzu spotykamy silnie zabarwione ziarenka. W preparatach z 72-godzinnej hodowli buljonowej najwięcej charakterystycznymi elementami rzucającymi się w oczy, są wspomniane gwiazdki.

Podobne formy gwiaździste mikroba zarazy płucnej można spotkać w preparatach, przygotowywanych z hodowli 48 godzinnej, zależy to od szybkości wzrostu mikroba.

W preparatach z 4-dniowej buljonowej hodowli mikroba zarazy płucnej spotykamy te same elementy, jakie widzieliśmy w preparatach z 3-dniowej hodowli. Widzimy dużą ilość wolno leżących, okrągłych ziarenek, silnie zabarwionych i długie nitki o niejednostajnej grubości. Nitki te mogą się układać w różne fantastyczne figury, a w preparatach, ostrożnie przygotowanych, widzimy te nitki, układem przypominające głowę meduzy „caput medusae”. Nitki te są niejednostajnie zabarwione, obok części silnie zabarwionych widzimy części słabo zabarwione, a wewnątrz nitek widzimy silnie zabarwione ziarenka (grzybnię z endosporami).

W preparatach z 5-dniowej hodowli buljonowej widzimy nitki rozgałęzione, ale już zazwyczaj bez kuleczek na końcach, dużą ilość pierścieni, pierścienie z jedną wypustką, z dwiema, rzadziej z wieloma wypustkami, tak zwane gwiazdki. Natomiast widzimy dużą ilość elementów ziarnistych i małe kuleczki okrągłe, silnie zabarwione, większe kuleczki silnie zabarwione i elementy owalne, silnie się barwiące. Obok tych elementów spotykamy słabe barwiące się nitki o niejednostajnej grubości, jakgdyby ciśnie nitek, w których obrębie widzimy silnie barwiące się twory owalne.

W preparatach z 6-dniowej buljonowej hodowli spotykamy przewagę elementów ziarnistych w postaci kuleczek mniejszych i większych i twory owalne, silnie zabarwione. Nitek spotykamy mało, nitki barwią się trudno i niejednostajnie; są części silnie zabarwione obok części słabo zabarwionych. Form gwiaździstych i pierścieniowatych już nie widzimy w ogólności.

Podobne elementy, jak w preparatach z 6-dniowej hodowli buljonowej, spotykamy w hodowlach starszych; po tym okresie, zmiany w morfologii mikroba zarazy płucnej już nie zachodzą. Elementy w preparatach z hodowli 7, 8, 9 i 10 dniowej nie różnią się niczem między sobą. Widzimy w tych preparatach nitki słabo, niejednostajnie zabarwione, elementy owalne i kuleczki, silnie zabarwione. W hodowlach starszych tych elementów ziarnistych spotykamy znacznie więcej, niż elementów nitkowatych; jednak nitki można jeszcze spotkać w preparatach z hodowli dwumiesięcznej.

Jak to już wyżej wspomniałem, w starszych hodowlach buljonowych wytwarza się osad na dnie próbówki, który zwiększa się w miarę starzenia się hodowli. Preparaty przygotowane z tego osadu, wykazują silnie zabarwione elementy ziarniste: ciałka owalne i małe kuleczki; nitek w takich preparatach nie spotykamy. Preparaty, przygotowane z górnej warstwy kilkotygodniowej hodowli buljonowej mikroba zarazy płucnej, wykazują trudno barwiące się nitki i małe, silnie zabarwione kuleczki. W takich preparatach jednak spotykamy bardzo mało elementów morfotycznych mikroba.

Przygotowanie dobrych preparatów z hodowli agarowej mikroba zarazy płucnej bez domieszki podłoża nie przedstawia większych trudności, jeżeli preparaty przygotowujemy z młodej hodowli, dobrze zabezpieczonej przed wysychaniem, jak to już wyżej wspomniałem.

W preparatach przygotowanych z 48-godzinnej kolonii mikroba zarazy płucnej, widzimy długie nitki poplątane, w obrębie których występują silnie zabarwione ziarenka, a wśród tych nitek spotykamy pierścienie i gwiazdki, ale mniej charakterystyczne, niż z podłoża płynnego. (Tab. I, fot. 12 i tab. II, fot. 3). Poza tem widzimy leżące wolno ziarenka, silnie się barwiące, ale na ogół elementów ziarnistych spotykamy znacznie mniej, niż w preparatach z buljonu. Niektóre nitki są nierównej grubości i barwią się nierównomiernie, bo obok części grubych i silnie zabarwionych, widzimy części cienkie, słabo zabarwione, ledwo widoczne (Tab. I, fot. 9 i tab. II, fot. 2).

Jeżeli preparaty staramy się przygotować tylko z części centralnych kolonii, co jest możliwe przy pomocy mikroskopu lub dobrej lupy, to w takich preparatach widzimy silnie zabarwione kuleczki, gwiazdki i pierścienie, nitek spotykamy stosunkowo mało. W preparatach natomiast przygotowanych, w miarę możliwości, tylko z części obwodowych kolonii, widzimy prawie same elementy nitkowate. Przygotowanie preparatów z części centralnych kolonii, technicznie przedstawia mniej trudności, niż przygotowanie preparatów z części obwodowych. Część centralna ma wyraźnie ziarnistą budowę i stosunkowo łatwo daje się, w części lub w całości, zdjąć drucikiem platynowym; część obwodowa na skutek swojej śluzowej spoistości, trudniej daje się nabrać na drucik platynowy. Ze starszych hodowli agarowych, kiedy kolonie zagłębiają się w podłoże, są wyschnięte i twarde, przygotowanie preparatów mikroskopowych bez domieszki podłoża, jest technicznie niemożliwe.

W ogólności preparaty z podłoża stałego mniej nadają się do studjowania cyklu rozwojowego mikroba zarazy płucnej, chociażby z tego względu, że możemy otrzymać dobre preparaty tylko z kolonii młodych i zabezpieczonych przed wysychaniem.

A przytem preparaty mikroba zarazy płucnej, przygotowane z podłoża stałego, wykazują elementy morfotyczne, w znacznym stopniu zniekształcone, co jest nieuniknione ze względu na samą technikę przygotowywania preparatów mikroskopowych.

Jeżeli przejrzymy serje preparatów przygotowanych z hodowli płynnej mikroba zarazy płucnej i porównamy je z preparatami otrzymanymi z podłoża stałego, to widzimy, że różnicy zasadniczej w elementach morfotycznych niema pomiędzy nimi. Jest tylko ta różnica, że z podłoża stałego technicznie jest trudniej otrzymać dobre preparaty ze wszystkich stadiów rozwojowych mikroba zarazy płucnej. Preparaty, przygotowane z wody kondensacyjnej hodowli agarowej, wykazują te same elementy morfologiczne, jakie widzimy w preparatach z podłoża płynnego.

Jak wynika z opisu preparatów i załączonych fotografii, nie można zaliczyć mikroba zarazy płucnej do krętków lub mętwików rzekomych, jak to chciał *Bordet*, nie można również uważać, aby

mikrob zarazy płucnej należał do ziarniaków, jak to twierdzili *Borrel*, *Dujardin-Beaumetz* i ich współpracownicy; śluzowa otoczka, w jakiej ci autorzy widzieli mikroba zarazy płucnej, musiała być produktem sposobu barwienia. Jeżeli się nieodpowiednio barwi metodą *Loefflera*, to łatwo wykazać otoczkę i złogi śluzu u drobno-ustrojów, które nie posiadają otoczek i śluzu nie wytwarzają, jak np. gronkowce.

Również nie można uważać, aby mikrob zarazy płucnej należał do specjalnego gatunku drożdży, jak to starał się wykazać w swoich pracach *Frosch*.

Wiele nieznananych form morfologii mikroba zarazy płucnej wyjaśnił *Nowak* w swojej pracy, a różnica, pomiędzy wynikami, moimi i jego, powstała najprawdopodobniej na skutek tego, że *Nowak* przygotowywał preparaty z osadu, po odwirowaniu hodowli buljonowej, co wpłynęło na zmianę właściwego kształtu mikroba zarazy płucnej.

OBJAŚNIENIE TABLIC.

Tablica I.

- Fot. 1. 4-dniowe kolonie na agarze z surowicą. Powiększenie 40 razy.
- „ 2. 24-godzinna hodowla buljonowa z surowicą. Kielkujący zarodnik. Powiększenie 4000 razy.
- „ 3 i 4. 48-godzinna hodowla buljonowa. Rozgałęzione nitki grzybni z kuleczkowatymi zakończeniami i z kuleczkami wewnątrz nitek. Powiększenie 3000 razy.
- „ 5. 3-dniowa buljonowa hodowla. Nitka rozgałęziona grzybni z wyraźnymi kuleczkami na końcach nitek. Powiększenie 3000 razy.
- „ 6. 3-dniowa hodowla buljonowa. Nitka konidjalna w okresie wytwarzania zarodników, obok pierścieni z wyraźnym ziarenkiem w postaci punkciku. Powiększenie 3000 razy.
- „ 7. 4-dniowa hodowla buljonowa. Nitka grzybni z wytworzonymi nitkami konidjalnymi z charakterystycznymi gwiazdkami. Powiększenie 3000 razy.

- „ 8. 4-dniowa hodowla buljonowa. Część kożuszka z powierzchni buljonu. Grzybnia z nitkami konidjalnemi. Powiększenie 2000 razy.
- „ 9. 5-dniowa hodowla agarowa. Nitki grzybni. Powiększenie 3000 razy.
- „ 10. 3-dniowa hodowla buljonowa. Fragment nitki grzybni z kuleczką na końcu. Powiększenie 3000 razy.
- „ 11. 3-dniowa hodowla buljonowa. Gwiazdka konidjalna z egzosporami.
- „ 12. 4-dniowa hodowla agarowa. Nitki grzybni z nitkami konidjalnemi i konidjami. Powiększenie 1000 razy.

Tablica II.

- Fot. 1. 4-dniowa hodowla buljonowa. Grzybnie z endosporami. Powiększenie 3000 razy.
- „ 2. 3-dniowa hodowla agarowa. Nitki grzybi z zarodnikami. Powiększenie 3000 razy.
- „ 3. 6-dniowa hodowla agarowa. Nitki grzybni z przewagą form ziarnistych. Powiększenie 1500 razy.
- „ 4. 48-godzinna hodowla buljonowa. Nitka grzybni nierównomiernie zabarwiona z dwiema kuleczkami na końcu nitki. Powiększenie 3000 razy.
- „ 5. 48-godzinna hodowla buljonowa. Nitka grzybni. Powiększenie 3000 razy.
- „ 6. 10-dniowa hodowla buljonowa osad. Silnie zabarwione zarodniki. Powiększenie 3000 razy.
- „ 7. 3-dniowa hodowla buljonowa. Rozgałęzienia grzybni w formie gwiazdki. Powiększenie 3000 razy.
- „ 8. Buljonowa hodowla dwumiesięczna. Zarodniki. Powiększenie 3000 razy.
- „ 9. 6-dniowa hodowla buljonowa. Nitki grzybni po skończonym owocowaniu. Bez konidij.
- „ 10. 4-dniowa hodowla buljonowa. Nitka konidjalna z silnie zabarwionymi zarodnikami.

DIE MORPHOLOGIE DES PERIPNEUMONIEERREGERS AUF KÜNSTLICHEN NÄHRBÖDEN.

Dr. WINCENTY WRÓBLEWSKI.

Direktor des Städtischen Hygienischen Institutes zu Bydgoszcz.

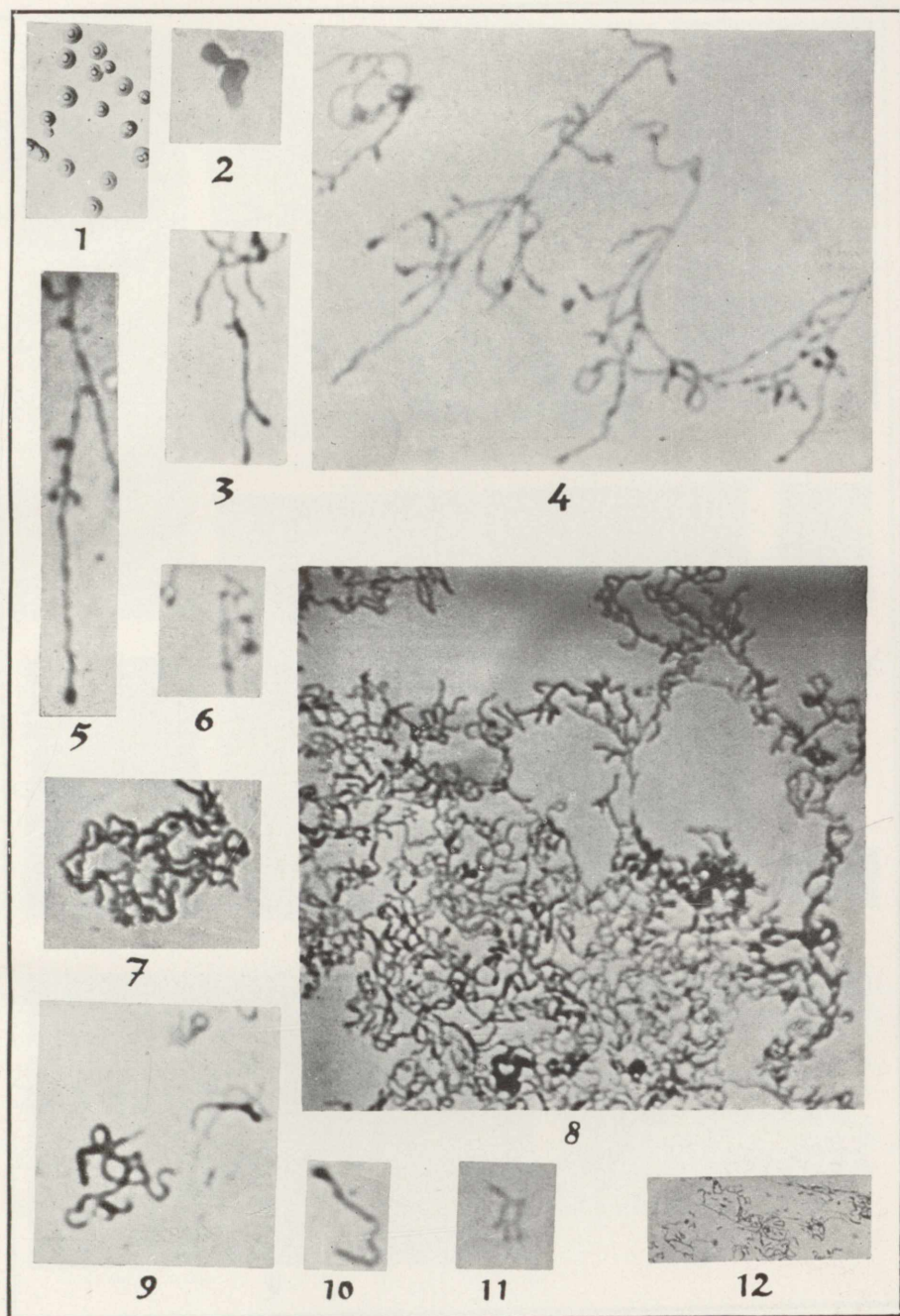
Der Peripneumonieerregger ist im Dunkelfeld und in ungefärbten Präparaten unsichtbar. Er ist in allen seinen Entwicklungsstadien, bei Anwendung einer entsprechenden Beize, mit Anilinfarben zu färben. Das Peripneumonievirus gehört einer speziellen, filtrierbaren Pilzsorle an. Die Entwicklung des Erregers auf flüssigen Nährböden dauert zur vollendeten Sporenbildung bis zu sechs Tagen.

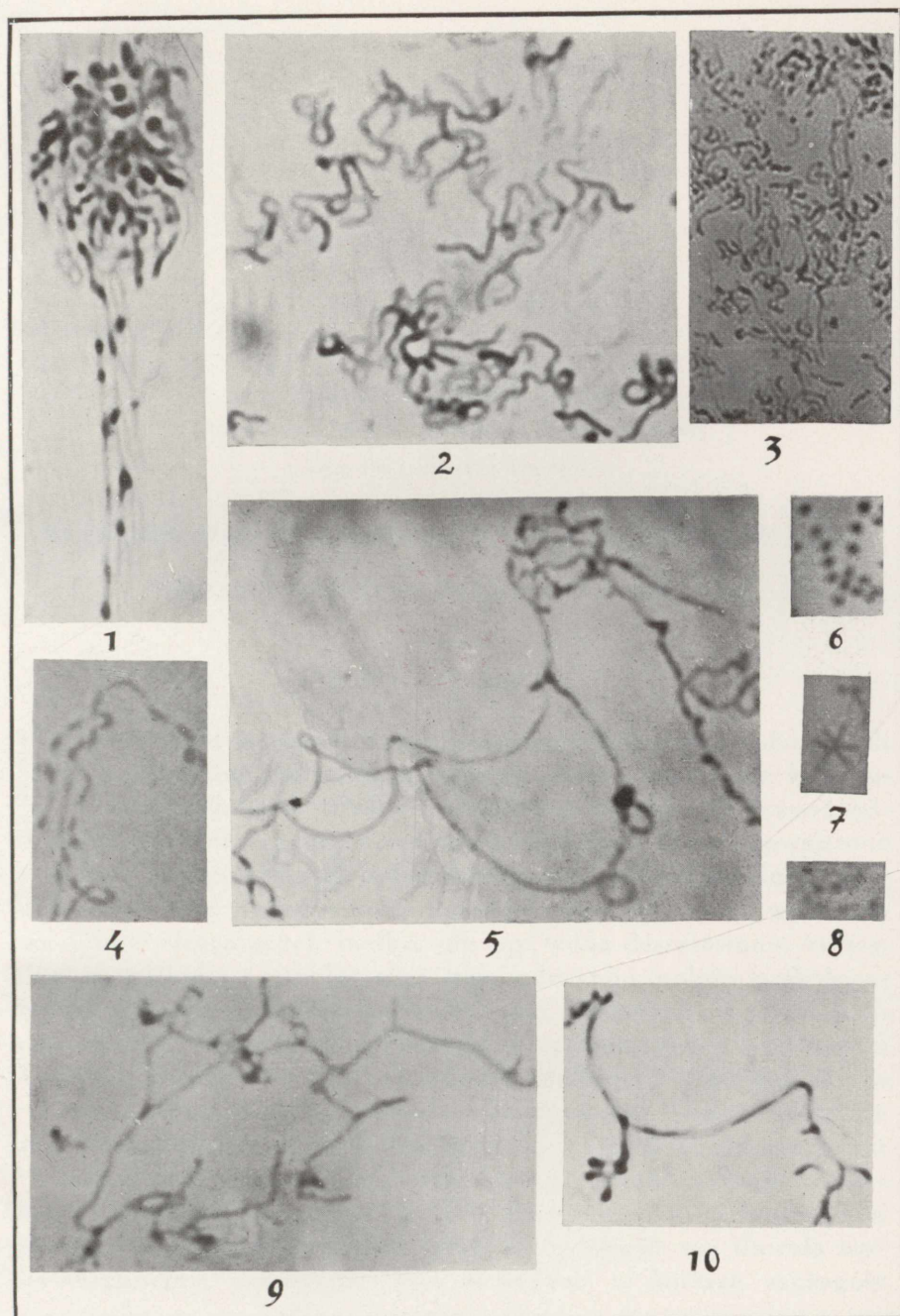
Die meist charakteristischen Elemente des Peripneumonieerreggers sind konidiale Sternchen mit Exosporen. Aus dem Grunde dürfte man die Peripneumoniemikrobe „*Asteromyces peripneumoniae bovis*“ nennen.

PIŚMIENNICTWO.

1. Nocard, Roux, Borrel, Salimbeni i Dujardin-Beaumetz. Annales de l'Institut Pasteur, 1898. 2. Bordet. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1910. 3. Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet, Jouan. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1910. 4. Marcinowski. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1911. 5. Titze i Seeleman. Berliner Tierärztl. Wochenschr., 1921. 6. Frosch. Archiv für wissenschaftl. u. praktische Tierheilkunde, 1922, 1923. 7. Bechhold i Sierakowski. Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten, 1926. 8. Oerskow. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1925. 9. J. Nowak. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1929.







Wpłynęło 15. VII. 1930 r.

Z Państwowego Zakładu Higieny.
Dział Bakterjologii i Medycyny Doświadczalnej.
Dyr. Prof. Dr. L. Hirszfeld.

BADANIA NAD ODCZYNAMI KŁACZKUJĄCEMI W KILE. Odczyn Citocholowy Sachs'a i Witebsky'ego.

Podąa
ZOFJA SZWOJNICKA.

Pierwsze spostrzeżenia nad strącaniem wyciągów alkoholowych z narządów za pomocą surowic ludzi chorych na kiłę poczynił *Michaelis*. Próby zastąpienia złożonego odczynu odchylenia dopełniacza przez metody kłaczkujące, były prowadzone w dwóch kierunkach. Z jednej strony badano własności strącające, względnie wypadalność surowic kiłowych, pod wpływem czynników strącających białko, jak np. woda destylowana, kwasy, alkohol, karbol i t. p. Do tego typu odczynów należy prawdopodobnie zaliczyć strącanie w surowicach kiłowych lecytyny, soli kwasów żółciowych i t. d. Badania te są związane z nazwiskami *Klausnera*, *Brucka*, *Vernesa*, *Landsteinerja*, *Müllera* i *Pötzla*, *Levaditi'ego* i *Yamanouchi'ego*, *Porgesa* i innych. Drugi rodzaj badań obejmuje próby opracowania metody kłaczkującej posługując się, na wzór *Michaelisa*, tym samym antygenem, jak do odczynu *Bordet-Wassermanna*. *Jacobstahl* opracował metodę optyczną, przy której wyniki odczytywano w ciemnym polu; metoda ta jednak nie dawała wyników zupełnie swoistych. Nie wchodząc w bliższe szczegóły

i krytykę wyżej przytoczonych badań, musimy się zastanowić nad praktyczną wartością i teorią odczynów, których rozwój tak wzbo-
gacił możliwość serodjagnostyki kiły. Zatrzymamy się na odczy-
nach *Meinickego* i *Sachsa-Georgi'ego*. *Meinicke* opracował początkowo
tak zw. odczyn dwufazowy, polegający na tem, że surowice nie-
czynne pozostawia się z wodnym roztworem wyciągu alkohol-
owego, przygotowanego z serca końskiego przez 20 godzin. We
wszystkich surowicach powstają wówczas strąty. Jest to faza
pierwsza. W drugiej fazie doświadczenia do nastawionych pro-
bówek dodaje się roztworu fizjologicznego soli kuchennej, który
rozpuszcza strąty, powstałe w surowicach normalnych, podczas
gdy strąty, wypadające w surowicach kiłowych, są w roztworze
fizjologicznym soli nierozpuszczalne. Nieco później ogłosił *Sachs*
wraz z asystentem swoim *Georgim* odczyn kłaczkujący jednofa-
zowy, którego zasada polega na uchwienieniu wyciągów lipo-
idalnych zapomocą cholesteryny. Wyciąg alkoholowy z dodat-
kiem odpowiedniej ilości cholesteryny należy rozcieńczyć fizjo-
logicznym roztworem soli kuchennej, wtedy następuje wypa-
danie cząsteczek lipoidalnych, które przez dodanie czterokrotnej
ilości soli fizjologicznej, stabilizuje się przed zupełnem wy-
padnięciem. Metoda *Sachsa-Georgi'ego* jest drugą, na szerszą skalę
zbadaną, metodą kłaczkującą; ujemną jednak jej stroną jest to, że
wyniki można odczytywać dopiero po 24-ch godzinach.

Oprócz odczynu dwufazowego *Meinicke* opracował później
jeszcze jedną metodę, tak zw. modyfikację trzecią, która zyskała
bardzo wielu zwolenników. Polega ona na rozcieńczeniu wyciągu
alkoholowego serca końskiego wodą destylowaną, przyczem roz-
cieńczony antygen pozostawia się w t^0 pokojowej przez godzinę,
w którym to czasie następuje tak zw. dojrzewanie, polegające na
wypadaniu cząsteczek lipoidalnych. Po upływie godziny dodaje
się do antygeny 2% roztworu soli kuchennej. Surowice, podlega-
jące badaniu, mogą być użyte zarówno w stanie czynnym jak
i nieczynnym. Jak wiadomo, surowice czynne zawierają globuliny
chwiejniejsze niż surowice nieczynne. Globuliny te stabilizować
można zarówno przez ogrzanie jak i przez hipertonję (*Hirszfeld*,
i *Klinger*). Hipertonja, (2% roztwór soli), stosowana w trzeciej mo-
dyfikacji *Meinickego*, umożliwia zatem użycie surowic czynnych.

Dalsze badania nad odczynami kłaczkującymi szły w kierunku przyspieszenia samego odczynu. Duże zasługi w tym kierunku położyli *Dold* i *Meinicke*, którzy opracowali metody odczynów zmętnienia (M. T. R.), *Meinicke*, dodawał do wyciągów alkoholowych balsamu tolutańskiego, inni zaś badacze stosowali w tym celu żywicę (*Dujarric de la Rivière*, *Gallerand*, *La Rossa*, *Sachs*, *Klopstock*, *Ohashi* i inni). Jakkolwiek metoda zmętnienia *Meinickego* daje dobre wyniki, to jednak znalazły szerokie zastosowanie również i inne metody i modyfikacje. Badacz amerykański *Kahn* wprowadził modyfikację, polegającą na tem, że surowicę, zmieszaną z wyciągiem alkoholowym serca wołu, rozcieńczonym solą fizjologiczną, należy trząść na trzęsawce przez 3 minuty, następnie dodać soli i odczytać wynik. Wyciąg alkoholowy, używany przez *Kahna*, jest bardzo skoncentrowany. Rozcieńcza się go 0,9% roztworem soli kuchennej w takiej proporcji, że odrazu występują strąty, które rozpuszczają się pod wpływem surowic ujemnych, natomiast w obecności surowic kiłowych nie ulegają rozpuszczeniu. Modyfikacja *Kahna* została bez wątpienia doskonale opracowana i wyniki jej na drugiej konferencji serologicznej w Kopenhadze były świetne.

Piśmiennictwo podane tutaj nie jest bynajmniej kompletne. Podaliśmy je jedynie w tym celu, ażeby prześledzić rozwój metod kłaczkujących. Fakt, stwierdzony przez *Sachsa*, że wrażliwość antygenów używanych do odczynu *Bordet-Wassermann* zależy od uchwycenia cząsteczek lipoidalnych, które można regulować zapomocą odpowiedniego dodatku cholesteryny i soli kuchennej, stworzył zasady, które znalazły zastosowanie we wszystkich innych odczynach. Odczyn *Kahna*, który okazał się na zjeździe w Kopenhadze bardziej swoisty i czuły, niż odczyn *Sachsa-Georgiego*, nie może być uważany w istocie swojej jako odczyn odrębny, a jedynie jako modyfikacja zasadniczej tezy i metodyki *Sachsa*. Nic też dziwnego, że *Sachs* postanowił bliżej zapoznać się z istotą odczynów szybkich. Badania jego, prowadzone wspólnie z *Witebskim* wykazały, że metoda, prowadząca do szybkich odczynów, polega na użyciu antygenów skoncentrowanych. Antygeny, używane do odczynu *Sachsa-Georgiego*, w stanie zgęszczonym nadają się do odczynów szybkich.

A zatem, nie wprowadzenie antygenów specjalnych, nie ekstrakcja według specjalnej metody, lecz jedynie zastosowanie skoncentrowanych wyciągów lipoidalnych, przyspieszających reakcję, umożliwia w odczynach kłaczkujących szybką diagnostykę kiły. Trzęsienie surowicy wraz z antygenem może być tutaj korzystne, nie jest jednak bynajmniej niezbędne. Czynnikiem nowym, wprowadzonym przez *Kahna*, jest zatem użycie gęstych zawiesin lipoidalnych. *Sachs* i *Witebsky* wykazali, że istnieje ścisła zależność pomiędzy stopniem koncentracji wyciągu lipoidalnego, używanego do odczynu, a szybkością reakcji, mianowicie, że, im bardziej stężonych używamy wyciągów, tem szybciej występuje reakcja, i że jeden i ten sam wyciąg, w zależności od stopnia rozcieńczenia, może być użyty tak do odchylenia dopełniacza, jak i do odczynów kłaczkujących, przebiegających bądź szybko, bądź też powoli. W ten sposób opracowali autorowie metodykę ilościową, używając dawnych antygenów *Sachsa-Georgi'ego* do odczynu przyspieszonego, zapoczątkowanego przez *Kahna*. Należałoby zatem mówić tutaj o modyfikacji szybkiej, wprowadzonej przez *Sachsa* i *Witebsky'ego*, biorących za podstawę zmodyfikowany przez *Kahna* klasyczny odczyn *Sachsa-Georgi'ego*. Jasne jest, że tak skomplikowane określenie nie nadawałoby się do praktycznego użycia; dlatego też *Sachs* wprowadził nazwy odczynów „lentochołowego“ i „citochołowego“. Odczyn lentochołowy—to dawny klasyczny odczyn *Sachsa-Georgi'ego* odczyn zaś citochołowy to modyfikacja tego odczynu, wprowadzona przez *Sachsa* i *Witebsky'ego*, a oparta na badaniach *Kahna*.

Wstęp ten był niezbędny dla wyjaśnienia istoty i nazwy odczynu. Odczyn citochołowy jest technicznie niezmiernie prosty i łatwiejszy w wykonaniu od odczynu *Kahna*. Odczyn ten został zbadany w pracowni Wassermannowskiej naszego działu na wielkim materiale, przyczem używaliśmy zarówno antygenów oryginalnych, przesyłanych nam przez *Sachsa*, jak i antygenów własnych. Ze względu na wielkie praktyczne znaczenie technikę tego odczynu podaję dokładnie.

Sposób przygotowania antygeny: muskulaturę serca wołu przepuszcza się dwukrotnie przez maszynkę do siekania mięsa, zalewa 96% alkoholem, obliczając na 1 gram serca 5 ccm. alkoholu. Mieszaninę tę trzęsie się na trzęsawce 6 go-

dzin. poczem sączy przez podwójną bibułę. Przesącz stawia się do chłodni na 2 dni, poczem, o ile powstaną strąty, należy go ponownie przesączyć. Jest to więc zwykły sposób przygotowania antygeny do odczynu *Sachsa-Georgi'ego*. Różnica w przygotowaniu antygeny citocholowego polega na tem, że w taki sposób sporządzony wyciąg odparowuje się na łaźni wodnej w parownicze porcelanowej do sucha, osad rozciera się bagietką szklaną w alkoholu 96%, dając na 3 części odparowanego wyciągu jedną część alkoholu. Otrzymany tym sposobem wyciąg sączy się przez bibułę i dodaje się do niego cholesteryny w ilości waha-jącej się od 2 do 6 mgr. na 1 ccm. wyciągu. Określenie ilości potrzebnej cholesteryny polega na tem, że bierze się 5 próbek i do każdej z nich nalewa po 10 ccm. wyciągu, a następnie dodaje się kolejno do poszczególnych próbek cholesteryny *Kahlbauma* in substantia w ilości od 0,02 do 0,06 grama. Następnie z zawartością próbki nastawia się odczyn citocholowy z kilkoma surowicami kłłowymi i normalnymi. Uznaje się za odpowiednią tę ilość cholesteryny, która, dodana do wyciągu, warunkuje największą zgodność wyników z odczynem *Bordet-Wassermann*a i danymi klinicznymi.

Antygen do odczynu citocholowego rozcieńcza się w stosunku 1:3, t. j. na 1 ccm. antygeny bierze się 2 ccm. roztworu 0,9% soli kuchennej. Odmierzoną uprzednią ilość soli dolewa się do odmierzonej ilości antygeny, poczem mieszaninę przelewa się trzykrotnie z jednej próbki do drugiej. Antygen rozcieńczony musi dojrzeć w przeciągu 10 minut. Odczyn nastawia się z surowicą nieczynną. Do 0,2 ccm. surowicy daje się 0,1 ccm. rozcieńczonego antygeny, 5 — 10 sekund wstrząsa i pozostawia w temp. pokojowej przez pół godziny, poczem dodaje się 1 ccm. roztworu 0,9% soli kuchennej i odczytuje wynik makroskopowo lub też przez aglutynoskop. Do kontroli surowicy zamiast antygeny używa się rozcieńczonego alkoholu, lub też antygeny z dodatkiem formaliny. W Państwowym Zakładzie Higieny odczyn ten został nieco zmodyfikowany. Modyfikacja polega na tem, że surowicę w połączeniu z rozcieńczonym antygenem trzęsie się na trzęsawce 4 do 6 minut, zależnie od wymiarczkowania antygeny, i zaraz potem dodaje się 1 ccm. roztworu 0,9% soli kuchennej. W ten sposób unika się półgodzinnej przerwy między nastawieniem odczynu a odczytywaniem wyników. Doświadczenie nasze wykazało, że ten sposób daje bardziej wyraźny obraz przy odczytywaniu. Do kontroli dawano antygen w dawce takiej samej jak do odczynu, t. j. 0,1 ccm., dodając nadto. 1 kroplę 40% formaliny. Sposób ten pozwala zauważyć nawet bardzo subtelne

różnice między odczynem i kontrolą, polegające na większym zmętnieniu odczynu w porównaniu z kontrolą, w ten sposób zostają odczytano surowice słabo dodatnie.

Zbadano równolegle z odczynem *Bordet-Wassermanna* 10016 surowic.

T A B L I C A Nr. 1.

Odczyn Bordet-Wassermanna		O D C Z Y N C I T O C H O Ł O W Y				
		+++	++	+	±	—
+++	1071	911	135	25	—	—
++	400	275	106	19	—	—
+	326	121	137	68	—	—
±	308	72	96	140	—	—
—	7911	49	131	184	—	7547
Razem	10116				—	7547

Jak widzimy z załączonej tablicy, 2105 przypadków dodatnich dawało dodatni wynik zarówno w odczynie *Bordet-Wassermanna* jak i citocholowym; zgodność wyników tych dwóch odczynów wynosiła zatem 100%.

Ujemnych odczynów *Bordet-Wassermanna* było 7911, w czem 364 przypadki niezgodne, albowiem odczyn citocholowy w tych przypadkach był dodatni (49 przypadków na +++ , 131 na ++ i 184 na +). Niezgodność wynosiła 4,6%. 287 przypadków z liczby niezgodnych trzeba zaliczyć na korzyść odczynu citocholowego, albowiem były to:

- 271 przypadków lues latens leczony,
- 65 „ bez anamnezy,
- 1 „ krew żony, u której męża kiła była stwierdzona,
- 2 „ odczyn *Bordet-Wassermanna* z płynem mózgowym. dał wynik + + + ,
- 1 „ dziecko, u którego matki kiła była stwierdzona,

12	przypadków	observatio,
7	"	lues I nieleczoney,
4	"	lues II "
1	"	tabes dorsalis.

Jako odczyny kontrolne przerobione były odczyny *B.-Wassermana* i citocholowe również i z surowicami chorych niekiłowych, w tem było:

80	przypadków	rzeżączkowych,
20	"	tbc pulmonum,
14	"	nephritis,
6	"	endocarditis,
6	"	ulcus ventriculi,
8	"	rheumatismus,
12	"	tbc luposa,
8	"	lichen ruber;
10	"	psoriasis,
4	"	pruritus,
15	"	ulcera mollia,
6	"	furunculosis,
10	"	lupus faciei,
260	"	kobiet ciężarnych.

Wszystkie powyższe przypadki dały ujemny odczyn citocholowy.

Do chwili opisania odczynu citocholowego za najlepszą metodę kłaczującą uważany był odczyn *Kahna*. Technika tego odczynu jest bardziej skomplikowaną i niedogodną, ponieważ antygen *Kahna* trzeba rozlewać w bardzo małych dawkach specjalną pipetą przed rozlewaniem surowic, co przy masowej robocie bardzo utrudnia pracę. Chcąc zestawić wyniki odczynu citocholowego i odczynu *Kahna*, przebadano temi dwiema metodami 2614 przypadków. W tej liczbie otrzymano dodatni odczyn citocholowy w 785 przypadkach, dodatni zaś odczyn *Kahna* w 885 przypadkach. Niezgodność zatem była w 122 przypadkach. Na 785 dodatnich odczynów citocholowych było 774 dodatnich odczynów *Kahna*, niezgodność zatem była w 11 przypadkach, t. j. 1,4%.

Na 1829 ujemnych odczynów citocholowych było 111 dodatnich odczynów *Kahna*, niezgodność wynosiła 6%.

W tej liczbie było:

7 przypadków lues latens leczonych,

4 przypadki bez anamnezy.

T A B L I C A Nr. 2.

Odczyn citocholowy		O D C Z Y N K A H N A				
		+++	++	+	±	—
+++	354	305	30	17	—	2
++	267	63	200	1	—	3
+	164	3	5	150	—	6
±	—	—	—	—	—	—
—	1829	4	17	90	—	1718
Razem	2614					

W liczbie niezgodnych odczynów, dodatnich podług metody *Kahna*, było:

- 8 przypadków lues latens leczonych,
- 4 „ rheumatismus,
- 6 „ rzeżączkowych,
- 4 „ bez anamnezy,
- 4 „ lupus faciei,
- 2 „ ulcus ventriculi,
- 10 „ tbc pulmonum,
- 10 „ ulcera mollia,
- 7 „ psoriasis,
- 3 „ furunculosis,
- 3 „ endocarditis,
- 1 „ epilepsia,
- 49 „ kobiet ciężarnych.

Jak widać z powyższej tablicy, odczyn *Kahna* okazał się czulszy, lecz mniej swoisty.

Doświadczenia powyższe wykazują, że odczyn citocholowy może być tak nastawiony, że daje 95 — 100% zgodności z odczynem *Bordet-Wassermanna*. Należy się zastrzec, że odczyn *Bordet-Wassermanna* na mocy współczesnego stanu techniki nie może być uważany za absolutny miernik wartości odczynów kłaczkujących. W Kopenhadze np, odczyn strącający *Müllera* i odczyn *Kahna* wykazywały wyniki lepsze niż odczyn *Bordet-Wassermanna* w wykonaniu badaczy duńskich. Trudność wykonania odczynu polega zawsze na swoistości i chwiejności antygeny. Należałoby właściwie formułować sprawę w ten sposób, w jakiej mierze, za pomocą techniki, podanej przez danego badacza, można otrzymać wyniki swoiste pod względem klinicznym. Należy mieć przytem zawsze na uwadze, że antygeny zbyt czułe mogą dawać czasami wyniki nieswoiste, antygeny zbyt mało czułe mogą dawać za mało wyników dodatnich, zwłaszcza w przypadkach leczonych. Dlatego wykonanie serodjagnostyki kiły, przynajmniej przy obecnej metodyce, nosi z jednej strony pewne piętno sztuki, z drugiej wymaga licznych kontroli i kilku metod wzajemnie się uzupełniających. Odczyn odchylenia dopełniacza i odczyny kłaczkujące są wyrazem stanów fizykalnych, pokrewnych ale niezupełnie identycznych. Są surowice kłaczkujące tak szybko, że odczyny odchylenia dopełniacza przebiegają z niemi niewyraźnie. Dla tych względów Państwowy Zakład Higieny na zjeździe w Kopenhadze przeciwstawił się tezie *Kahna*, ażeby posługiwać się w serodjagnostyce kiły jednym, lecz dobrym odczynem. W pracowni P. Z. H. wykonywa się odczyn odchylenia dopełniacza z dwoma antygenami, przygotowanymi odmiennie (antygen *Mc. Intosha* i *Bordet-Ruelensa*) odczyn citocholowy *Sachsa-Witebsky'ego* i odczyn lentocholowy *Sachsa-Georgi'ego*. Przypadki wątpliwe pozatem mogą być zbadane metodyką *Vernesa*, *Kahna*, *Meinickego* i t. p. Bowiem w ten sposób jedynie można mieć gwarancję największej ścisłości.

De l'Institut d'Hygiène de l'Etat.
Département de Bactériologie et Médecine Experimentale.
Directeur Prof. L. Hirszfeld.

SUR LES RÉACTIONS DE FLOCCULATION DANS LA SYPHILIS.

La réaction de citochol *Sachs-Witebsky*.

P A R
Z. SZWOJNICKA.

R E S U M É.

La réaction de citochol *Sachs-Witebsky* est une modification de la réaction classique *Sachs-Georgi*, basée sur les observations de *Kahn* concernant la rapidité de la floculation. De même que la réaction *Sachs-Georgi*, la réaction de citochol est fondée sur le pouvoir des sérums syphilitiques de floculer les extraits alcooliques de la musculature de coeur. On emploie comme antigène l'antigène *Sachs-Georgi* trois fois condensé, additionné de cholestérine. On emploie pour la réaction 0,1 ccm. d'antigène dilué à 1:3 avec NaCl à 0,9 p. c. On a examiné parallèlement avec la réaction *Bordet-Wassermann* 10016 de sérums. La discordance entre les résultats de ces deux réactions montait à 4,6 p. c. (364 des cas). Il faut compter cette discordance au profit de la réaction de citochol, car la majorité de ces cas avait la syphilis dans l'anamnèse. En 2614 sérums examinés parallèlement avec la réaction *Kahn*, la différence des résultats faisait 4,6 p. c. Sur 1829 réactions négatives de citochol il y avait 111 positives d'après *Kahn*. La réaction *Kahn* semblait être plus sensible, mais moins spécifique, car la majorité de ces 111 cas n'avait pas la syphilis dans l'anamnèse.

Wpłynęło 20. VII. 1930.

Z Państwowego Zakładu Higieny.
Dział Bakterjologii i Medycyny Doświadczalnej.

O SZCZEPACH WYHODOWANYCH PODCZAS EPIDEMJI DURU BRZUSZNEGO.

Podała

R. AMZELÓWNA

Bakterjologii współczesnej przyświeca przedewszystkiem hasło zmienności i pod tym znakiem grupują się badacze tacy, jak *Mellon, Löhnis, Enderlein, Griffith, Arkwright, Haag, Hadley, Saule*, w Polsce *Eisenberg, Szymanowski, Karwacki, Feiginówna*. Współczesny stan rzeczy możnaby przedstawić w paradoksalnie brzmiących słowach, że jedyną może stałą cechą bakteryj jest ich zmienność. Między całym szeregiem obserwowanych procesów, nie jesteśmy jeszcze w stanie całkowicie ustalić związku przyczynowego. Nieznany nam jest dotąd mechanizm powstawania nowych form, nieznana częstość ich rola w patologji i epidemjologii.

Hadley wprowadził pojęcie dysocjacji bakteryj „Microbic dissociation”. Pojęcie to odzwierciadla znane już przed nim zjawisko, że bakterje normalne ulegają rozszczepieniu na formy pod względem morfologicznym, serologicznym, oraz pod względem zjadliwości od siebie różne. Formy te pod wpływem pewnych czynników przechodzić mogą jedna w drugą w obu kierunkach. Jest to jak gdyby rodzaj zmienności, przebiegającej po linii

prostej w obrębie tego samego typu. Inni badacze, jak *Mellon*, *Löhntz*, *Enderlein*, *Haag* ujmują zmiany zachodzące w drobnoustrojach w pewien system. Ta cyklogenia bakteryj przejawia się w tem, że bakterje posiadają pewien cykl życiowy, w obrębie którego występować one mogą w różnorodnych formach. Jeżeli weźmiemy pod uwagę bakterje chorobotwórcze, to przede wszystkim w związku z tą hipotezą nasuwa się nam pytanie, czy wszystkie formy, występujące w obrębie cyklu życiowego danej bakterji zdolne są do wywoływania choroby, czy też w obrębie tego cyklu istnieją pewne ściśle określone formy, z którymi związana jest chorobotwórczość. Znane nam więc bakterje chorobotwórcze, jak np. pałeczka *Ebertha*, są być może tylko fazami zakaźnymi zarazka duru brzuszego, fazami obok których spotkać możemy cały szereg innych faz, genetycznie z pałeczką *Ebertha* związanych. lecz w tej postaci nie odgrywających roli w etiologii duru brzuszego.

Jeżeli za przykład weźmiemy zarazek duru plamistego, to jego fazą zakaźną będzie *Rickettsia Prowazeki*. Drobnoustroje wyhodowane przez różnych badaczy ze krwi, moczu chorych na dur plamisty, aczkolwiek z zarazkiem związane w tej postaci mogłyby być jego fazami niezakaźnymi. Zakaźną jest postać morfologicznie i serologicznie odpowiadająca *Rickettsii Prowazeki* we wszy. W tym wypadku mielibyśmy do czynienia z bardzo wąską fazą zakaźną, niezmiernie chwiejną, trudną do ustalenia in vitro. Granice tej fazy byłyby węższe, aniżeli granica wahań drobnoustroju na pożywce sztucznej. Fazy zakaźne innych zarazków byłyby zatem mniej chwiejne. W tych wypadkach granice fazy zakaźnej byłyby szersze od granic, w których wahają się cechy charakterystyczne drobnoustroju na pożywce w zwykłych warunkach.

Koncepcja fazowości chorobotwórczej w cyklu życiowym zarazka wysuwa nam cały szereg możliwości natury epidemiologicznej. Czy więc powstawanie epidemji nie jest w znacznej mierze uwarunkowane przez stopniowy rozwój zarazka, aż do jego fazy chorobotwórczej? Czy przejście w fazę zakaźną jest pewnym naturalnym biegiem rzeczy, czy też jest ono uzależnione od pewnych czynników z zewnątrz? Okresowość w występowaniu epidemij otrzymuje pod

tym kątem widzenia nowe oświecenie. W dalszym ciągu wygasanie epidemji być może skutkiem przejścia zarazka poza granice jego fazy chorobotwórczej. Występowałyby wówczas pewna nowa faza niechorobotwórcza, pewna faza spoczynkowa, która znów z biegiem czasu pobudzona być by mogła do dalszego rozwoju w kierunku fazy chorobotwórczej. Nasuwa się pytanie, jak ujmować w związku z tem zagadnieniem kwestję nosicielstwa? Czy nosicielem będzie tylko ten, w ustroju którego stwierdzić możemy fazę chorobotwórczą zarazka np. typową pałeczkę *Ebertha*, typową pałeczkę błoniczą czy też za nosicieli uważać i tych którzy wydają bakterje znacznie odbiegające od „typu“, których przynależność jednak do drobnoustrojów „typowych” na zasadzie pewnych cech może być bezwzględnie przyjęta. W znacznej mierze do wyjaśnienia tych zagadnień przyczynić się może przebadanie pod kątem widzenia zmienności bakterji, całkowitej epidemji. Badania tego rodzaju obejmować powinny nie tylko formy bakteryjne, należące do pewnych określonych typów, jak np. w epidemji duru brzuszego pałeczka *Ebertha*, lecz baczną uwagę zwrócić należy na te właśnie formy, które od typu odbiegają. Specjalne nastawienie uwagi na tego rodzaju formy, wielokrotne badanie poszczególnych przypadków w krótkich odstępach czasu, stałe zestawienia wyników badań bakteriologicznych z obrazem klinicznym, wyjaśnić może wiele kwestyj dotychczas może zbyt jednostronnie ujmowanych.

W pracy niniejszej staraliśmy się przeanalizować pewne formy bakteryjne, które udało się nam wyhodować z przypadków duru brzuszego w okresie epidemji, jesienią 1929 r. Badając przeważnie wielokrotnie każdy poszczególny przypadek, zwracaliśmy uwagę nie tylko na pałeczki durowe, lecz również na takie drobnoustroje, które, aczkolwiek różniły się pod pewnemi względami od pałeczek durowych, temniemniej jednak w posiewach z materiału badanego występowały w wielkiej ilości i z pewną regularnością. W pierwszym rzędzie zwracaliśmy uwagę na formę morfologiczną szczepów otrzymywanych, dokładniej się wyrażając na typ kolonij w sensie S i R. Opierając się na fakcie że forma R jest formą o zmniejszonej zjadliwości, przypuszczaliśmy, że w miarę posuwającego się zdrowienia z ustroju chorego otrzymywać bę-

dziemy formę R pałeczki durowej. Zastanawialiśmy się również czy forma R nie będzie występowała częściej u nosicieli. W rzeczywistości jednak wyniki przez nas otrzymane zaprzeczyły całkowicie tym przypuszczeniom. Na 613 dokonanych przez nas posiewów kału, moczu i krwi w jednym tylko przypadku otrzymaliśmy bezpośrednio z kału formę R pałeczki durowej. W przypadku tym jednak stopień dysocjacji nie był zbyt daleko posunięty, albowiem po kilku pasażach na zwykłych pożywkach obok formy R otrzymaliśmy typową formę S szczepu durowego. Wynik ten wskazywałby na to, że w ustroju chorego na dur brzuszny dysocjacja w kierunku formy R zachodzi niezmiernie rzadko.

Badając natomiast w odstępach kilkodniowych próbki kału pochodzące od tych samych chorych, zauważyliśmy w drugiej badanej przez nas próbce prawie czystą hodowlę pałeczek gramoujemnych na płytce *Endo* wyglądających jak typowe kolonie durowe. Biochemiczne szczepy te (P_1 , P_2) zachowywały się prawie zupełnie, jak prątki *Ebertha* jedyną cechą różniącą je był brak zdolności wytwarzania siarkowodoru na pożywce buljonowej. Cechy serologiczne tych dwóch szczepów były jednak odmienne, niż „typowej“ pałeczki durowej. Nie zlepiały się one bowiem pod wpływem surowic przeciwdurowych i przeciwparatyfusowych. Przypuszczając, że mamy do czynienia ze zwykłą utratą zlepliwości, przepuściliśmy te szczepy kilkakrotnie w celu jej wzmożenia przez buljon zwykły. Zabieg ten okazał się bezskuteczny i szczepy w dalszym ciągu nie zlepiały się. Badając te szczepy stosowaliśmy metodę rozbijania na oddzielne kolonie i badaliśmy własności serologiczne poszczególnych kolonij nie chcąc w naszych badaniach operować tak niejednolicie złożonym materiałem, jakim jest cała hodowla agarowa. Liczyliśmy się z możliwością fazowości serologicznej poszczególnych kolonij. Przebadaliśmy więc własności aglutynacyjne w stosunku do surowic przeciwdurowych i przeciwparatyfusowych na mniej więcej 100 kolonjach każdego szczepu. W żadnym wypadku nie mogliśmy zaobserwować aglutynacji. Do badań naszych używaliśmy surowicy rozcieńczonej w stosunku do 1:50 — 1:100. Chcąc przekonać się czy szczepy P_1 , P_2 nie aglutynują się wogóle, czy też nie występuje tylko aglutynacja z surowicą przeciwdurową,

przygotowaliśmy surowice odpornościowe anti- P_1 i anti- P_2 . Zarówno szczep P_1 jak i P_2 aglutynowały się zapomocą surowic homologicznych do miana 1:3200. Aglutynacja krzyżowa, mająca na celu ewentualne stwierdzenie pokrewieństwa serologicznego między temi szczepami, dała następujące wyniki.

T A B L I C A N r. 1.

Szczepy	Surowice	
	anti- P_1	anti- P_2
P_1	100 ^o / _o	2 ^o / _o
P_2	12,5 ^o / _o	100 ^o / _o

Liczbą 100^o/_o określaliśmy wysokość aglutynacji w stosunku do szczepu homologicznego. Aglutynację w stosunku do szczepów heterologicznych określaliśmy liczbami, wskazującymi stosunek wysokości otrzymanej aglutynacji do miana surowicy.

Widzimy zatem, że szczepy P_1 i P_2 nie są bynajmniej identyczne. Stopień ich pokrewieństwa serologicznego, aczkolwiek słaby tem niemniej daje się stwierdzić zapomocą aglutynacji. W dalszym ciągu licząc się z możliwością pewnej wspólności antygenowej szczepów otrzymanych i pałeczek durowych badaliśmy wpływ surowic anti- P_1 i P_2 na typowy szczep pałeczki durowej.

T A B L I C A N r. 2.

Szczepy	S u r o w i c e		
	anti-Ty	anti- P_1	anti- P_2
Ty	100 ^o / _o	25 ^o / _o	25 ^o / _o
P_1	—	100 ^o / _o	2 ^o / _o
P_2	—	12.5 ^o / _o	100 ^o / _o

Widzimy zatem, że surowice anti- P_1 i P_2 skierowane przeciwko szczepom, które nie zlepiają się pod wpływem surowic przeciwdurowych zlepiają typowy szczep pałeczki *Ebertha*.

Szczepy P_1 i P_2 w przebiegu badanej epidemii nie były bynajmniej odosobnione.

Jak już nadmieniałam w badaniach naszych, dużą uwagę zwracaliśmy na szczepy pod pewnemi względami odbiegające od typu, które jednakże z pałeczkami *Ebertha* pewną łączność zachowywały. Łączność ta wyrażała się przeważnie we wspólnych cechach morfologicznych i w znacznej mierze biochemicznych. Wszystkie tą drogą wyosobnione szczepy składały się z pałeczek gramo-ujemnych, nie zakwaszających laktozy, zakwaszających dekstrozę; mannit i maltoza były przeważnie zakwaszane, chociaż czasami zdarzały się wyjątki. Wszystkie wymienione cukry i alkohol rozszczepiane były bez wytworzenia gazu. Tego rodzaju szczepy spotykaliśmy często w miarę postępowania naszych badań. Czy występują one na początku epidemii, jest to kwestja, której na zasadzie naszego materiału, nie mogliśmy oświecić, albowiem nasze badania, podjęte zostały dopiero podczas największego jej nasilenia. Ze względów technicznych nie podobna było poddać ściślejszym badaniom wszystkich przez nas wyosobnionych szczepów, zajęliśmy się przeto tylko nielicznemi, wyhodowanemi z kału, moczu i wody. W pierwszym rzędzie staraliśmy się określić stosunek tych szczepów do naszych szczepów wzorcowych P_1 i P_2 . Tablica Nr. 3 przedstawia wyniki aglutynacji tych szczepów za pomocą surowic anti- P_1 i P_2 .

Miano aglutynacji, jak w poprzednich protokołach, określano procentowo w stosunku do miana surowicy względem szczepu homologicznego. Jak wynika z tablicy Nr. 3 wszystkie badane szczepy, aczkolwiek nie w równej mierze, aglutynowane są przez surowice anti- P_1 i P_2 . Żaden z nich natomiast nie zlepiał się ani pod wpływem surowicy przeciwdurowej, ani żadnej przeciwparatyfusowej. Jak już wspomniałam, surowice anti- P_1 i P_2 zlepiały typowy laboratoryjny szczep durowy. W dalszych naszych doświadczeniach badaliśmy stosunek tych surowic do całego szeregu innych świeżo wyosobnionych szczepów durowych. Do doświadczeń

T A B L I C A Nr. 3.

Nr. szczepu	POCHODZENIE SZCZEPU	S U R O W I C E	
		anti P ₁	anti P ₂
16042	kał zdrowego podejrzanego o nosicielstwo	4 ⁰ / ₀	50 ⁰ / ₀
16038	kał chorego	12,5 ⁰ / ₀	100 ⁰ / ₀
16043	kał ozdrowieńca	12,5 ⁰ / ₀	50 ⁰ / ₀
16811 ₂	kał zdrowego podejrzanego o nosicielstwo	—	25 ⁰ / ₀
16015	kał ozdrowieńca	4 ⁰ / ₀	4 ⁰ / ₀
16013	kał „	4 ⁰ / ₀	25 ⁰ / ₀
16836	kał chorego	2 ⁰ / ₀	12,5 ⁰ / ₀
16070 ₂	mocz zdrowego podejrzanego o nosicielstwo	2 ⁰ / ₀	50 ⁰ / ₀
16035	kał chorego	2 ⁰ / ₀	12,5 ⁰ / ₀
16843 ₂	mocz chorego	25 ⁰ / ₀	12,5 ⁰ / ₀
16016 ₂	mocz chorego	12,5 ⁰ / ₀	100 ⁰ / ₀
16031	mocz chorego	12,5 ⁰ / ₀	12,5 ⁰ / ₀
16008	mocz chorego	25 ⁰ / ₀	12,5 ⁰ / ₀
15720	mocz podejrz. o nosicielstwo	25 ⁰ / ₀	12,5 ⁰ / ₀
13647	woda, studnia kopana	12,5 ⁰ / ₀	50 ⁰ / ₀
13645	woda z Narwi	4 ⁰ / ₀	2 ⁰ / ₀
15554	woda, studnia kopana	—	25 ⁰ / ₀
13643	woda, studnia kopana	—	2 ⁰ / ₀

użyliśmy szeregu szczepów durowych, wyhodowanych podczas tejże epidemji. (Tabl. Nr. 4).

Wszystkie badane szczepy durowe aglutynowały się w pełnym stopniu pod wpływem surowic anti-P₁ i P₂.

Zanim jeszcze przystąpiliśmy do dokładniejszej analizy naszych szczepów niejednokrotnie zwracaliśmy uwagę na fakt, że z wody, pochodzącej z miejscowości, objętych przez epidemię, względnie często udawało nam się wyosobnić szczepy morfolo-

T A B L I C A N r. 4.

Szczepy durowe	S u r o w i c e	
	anti-P ₁	anti-P ₂
16806	25 %	12,5%
16833	25 „	12,5 „
15550	25 „	25 „
14154	12,5 „	12,5 „
14131	6,2 „	6,2 „
15710	12,5 „	12,5 „
15748	12,5 „	25 „
14133	12,5 „	12,5 „
15712	25 „	25 „
17128	25 „	25 „

gicznie identyczne, biochemicznie bardzo zbliżone do pałeczki durowej, nie aglutynujące się jednak pod wpływem zwykłych surowic laboratoryjnych. Tabelka Nr. 3 wskazuje na to, że takie nieokreślone szczepy pochodzenia wodnego, aglutynują się pod wpływem surowic anti P₁ i P₂. Jeden z takich szczepów Nr. 13647 (P₃) został przez nas dokładniej opracowany. Postępując jak wyżej badaliśmy wpływ otrzymanej przez nas surowicy anti-P₃ na szczepy P₁ i P₂ z jednej strony, z drugiej zaś na laboratoryjny szczep durowy. Następująca tabelka wykazuje nam wyniki aglutynacji krzyżowej między szczepami P₁, P₂, P₃ i Ty, oraz odpowiedniami surowicami.

T A B L I C A N r. 5.

Szczepy	S u r o w i c e			
	anti Ty	anti P ₁	anti P ₂	anti P ₃
Ty	100%	25%	25%	25%
P ₁	—	100%	2%	—
P ₂	—	12,5%	100%	50%
P ₃	—	25%	50%	100%

T A B L I C A Nr. 6.

Nr. szczepu	POCHODZENIE SZCZEPU			Surowica anti P ₃
13643	woda — szczep nietypowy			—
13645	"	"	"	12.5 ⁰ / ₀
15924 ₂	kał	"	"	4 ⁰ / ₀
16015	"	"	"	6 ⁰ / ₀
16038	"	"	"	50 ⁰ / ₀
16042	"	"	"	50 ⁰ / ₀
16043	"	"	"	6 ⁰ / ₀
16069 ₃	mocz	"	"	6 ⁰ / ₀
15916	"	"	"	12.5 ⁰ / ₀
14180	kał — szczep durowy			25 ⁰ / ₀
13929	krw	"	"	25 ⁰ / ₀
13937	"	"	"	12.5 ⁰ / ₀
14010	"	"	"	12.5 ⁰ / ₀
14018	"	"	"	12.5 ⁰ / ₀
14154	"	"	"	12.5 ⁰ / ₀
14158	"	"	"	25 ⁰ / ₀
18540	"	"	"	—
18542	"	"	"	4 ⁰ / ₀
18544	"	"	"	4 ⁰ / ₀
18546	"	"	"	12.5 ⁰ / ₀
16806	"	"	"	12.5 ⁰ / ₀
17128	"	"	"	—
17479	"	"	"	25 ⁰ / ₀
17483	"	"	"	6 ⁰ / ₀
17485	"	"	"	—
18588	"	"	"	6 ⁰ / ₀
16833	"	"	"	25 ⁰ / ₀
17092	"	"	"	50 ⁰ / ₀

U w a g a. Miano aglutynacji, jak w poprzednich tablicach oznaczone procentowo, wykazuje stosunek wysokości otrzymanej aglutynacji do miana surowicy względem szczepu homologicznego.

Zarówno więc surowica anti- P_1 , P_2 jak i P_3 aglutynuje laboratoryjny szczep durowy do 25% wysokości miana surowic w stosunku do szczepów homologicznych. Wszystkie trzy badane szczepy okazały się serologicznie, odmienne, jednakże, jak wykazuje wzajemne pokrewieństwa serologiczne w łańcuchu zmienności pałeczki durowej, stanowić one muszą niezbyt oddalone od siebie ogniw. Tablica Nr. 6 wykazuje nam stopień działania surowicy anti P_3 na szczepy zarówno nietypowe, jak i typowe durowe, pochodzące z epidemii Pułtuskiej.

Stwierdziwszy w ten sposób pokrewieństwo serologiczne szczepów P_1 , P_2 , P_3 między sobą, oraz typową pałeczką *Ebertha* z drugiej strony, zastanowiliśmy się jaki jest stosunek surowic chorych na dur do tych szczepów. Wyniki nasze pod tym względem nie przedstawiają się jednolicie. W doświadczeniach naszych natrafialiśmy na surowice o dodatnim odczynie *Widala*, które aglutynowały nasze szczepy w takim samym stopniu, jak i pałeczki durowe, inne zaś, aczkolwiek również dodatnie, szczepów naszych nie aglutynowały wcale.

Tablica Nr. 7 przedstawia wyniki naszych badań.

W jaki sposób możnaby wytłomaczyć różnorodność tych wyników? Możnaby przypuścić, że aglutynacja pałeczek typu P_1 , P_2 , P_3 jest zjawiskiem tego samego rzędu, co i występująca przy durze brzusznej aglutynacja pałeczek paratyfusowych; dowodziłaby więc ona pewnej wspólności grupowej. Z drugiej strony, jak już wykazały doświadczenia z surowicami odpornościowymi, szczepy P_1 , P_2 , P_3 i typowa pałeczka *Ebertha*, wykazują pewien stopień pokrewieństwa serologicznego, lecz jednocześnie i dość znaczne różnice. Różnice te więc występują również bardzo wyraźnie i w stosunku do surowic chorych. Być może, że zarazek duru brzusznej, jako taki nie ogranicza się jedynie do fazy pał. *Ebertha*; nie jest wykluczone, że inne jego fazy są również zdolne do wywoływania choroby. Warunki, panujące w ustroju człowieka, stanowić by mogły podłoże, na którym występuje pewne ustalenie cech, będących poprzednio w stanie chwiejności. Tem tłomaczyłoby się, że ze krwi otrzymuje się przeważnie typowe pałeczki durowe. W myśl tego własności zlepne surowicy chorego zależałyby może od fazy, która do ustroju przeniknęła i która posłużyła

T A B L I C A N r. 7.

S U R O W I C E	S Z C Z E P Y						
	Ty	P.A.	P.B.	P.C.	P ₁	P ₂	P ₃
17476 Epidemja Pułtуска	$\frac{1}{400}$	—	—	—	$\frac{1}{800}$	—	0
17478 " "	$\frac{1}{200}$	—	—	—	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{100}$	0
17480 " "	—	—	—	—	—	—	0
17482 " "	$\frac{1}{400}$	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{100}$	0
18782 " "	—	—	—	—	—	—	—
18788 " "	$\frac{1}{1600}$	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	0	0	$\frac{1}{200}$
2496 " Warszawska	$\frac{1}{400}$	—	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	—	$\frac{1}{100}$
2500 " "	—	—	—	—	—	—	—
2573 " "	$\frac{1}{50}$	—	—	—	$\frac{1}{50}$	—	—
2586 " "	—	—	—	—	—	—	$\frac{1}{200}$
2600 " "	—	—	—	—	—	—	—
2566 " "	—	—	—	—	—	—	—
2498 " "	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	—	—
2713 " "	—	—	—	—	—	—	$\frac{1}{50}$
2910 " "	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	—	—	—
2836 " "	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{100}$
3018 " "	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	—	—	—
3004 " "	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	—	—
2938 " "	—	—	—	—	—	—	—
2763 " "	—	—	—	—	—	—	—
2767 " "	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	—	—
2792 " "	—	—	—	—	—	—	—
2736 " "	—	—	—	—	—	—	—
2802 " "	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{100}$
2638 " "	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	—	—
2713 " "	—	—	—	—	—	—	—
2987 " "	—	—	—	—	—	—	—
2912 " "	—	—	—	—	—	—	—
2871 " "	—	—	—	—	—	—	—
3012 " "	—	—	—	—	—	—	—
2944 " "	—	—	—	—	—	—	—

za bodziec do wytworzenia ciał odpornościowych. Tem tłumaczyłoby się może, że mamy surowice, które aglutynują tylko typowe pał. *Ebertha*, oraz takie, które narówni z pał. *Ebertha* aglutynują pałeczki P_1, P_2, P_3 czasem nawet mocniej, aniżeli typową pałeczkę durową. W związku z tem tłumaczeniem rozpatrzmy wyniki, które otrzymaliśmy przy badaniu posiewów krwi. Trzy przypadki wymagają pewnego omówienia. W jednym przypadku przy dodatnim odczynie *Widala* wyhodowaliśmy ze krwi szczep, który zachowywał się biochemicznie i morfologicznie jak pał. durowa zlepiać się jedynie pod wpływem surowicy anti- P_1 do wysokości 1 : 200. Po 48 godzinach zaczął jednak już zlepiać się pod wpływem surowicy durowej. Ten sam szczep, badany po 2 miesiącach, zakwaszał dekstrozę, mannit, maltozę z wytworzeniem gazu, a serologicznie okazał się szczepem paratyfusu—B. W drugim przypadku ze krwi chorego o ujemnym odczynie *Widala*, otrzymaliśmy szczep morfologicznie i biochemicznie zachowujący się jak pał. *Ebertha*. Szczep ten po wyhodowaniu aglutynował się tylko zapomocą surowic anti— P_1, P_2, P_3 , w dalszych jednak przeszczepach zaczął się zlepiać pod wpływem surowicy przeciw paratyfusowej — A. W obu tych przypadkach prawdopodobnie mamy do czynienia z niezmiernie uchwiejnionymi szczepami, które wyhodowane bezpośrednio ze krwi, nie były w stanie zachować swych pierwotnych własności i prawdopodobnie sam fakt przeniesienia ich w odrębne warunki dał impuls do dalszych zmian. Następne przypadki pozornie nie mają związku z opracowywanymi tutaj szczepami, przytaczam je jednak, gdyż w szerszym ujęciu należą one prawdopodobnie do tej samej kategorii zjawisk. Badając krew pewnego chorego po 24 godz. otrzymaliśmy z żółci czystą hodowlę pał. okrężnicy. Ta sama hodowla na żółci wysiana po tygodniu na pożywkę *Endo*, obok typowych kolonij *Coli* dała nam jedną kolonię i nieregularnych zarysach i chropawej powierzchni. Była to typowa kolonja R. Kolonja ta była dużo bledsza od kolonij okrężnicy. Po przesianiu jej na buljon, a następnie znów na płytkę *Endo*, otrzymaliśmy obok opisanych wyżej kolonij R, typowe kolonje S szczepu durowego. Przytaczam fakt ten tylko w formie obserwacji, nie wdając się zupełnie w jego interpretację. Nie możemy bowiem wobec możliwości operowania hodowlą mieszaną,

mieć pewności, że w względnie starej hodowli na żółci szczep *Coli* poprzez formę R przeszedł w szczep durowy. Czystą hodowlę pał. *Coli* ze krwi otrzymywaliśmy jeszcze kilkakrotnie, mimo jednak wielokrotnych badań szczepy te stale pozostawały niezmiennione. We wszystkich omówionych przypadkach odczyn *Widala* był dodatni.

Reasumując fakty dotychczas przytoczone, powiedzieć możemy, że w kale, moczu, poniekąd i we krwi ludzi chorych na dur, brzuszny, ozdowieńców po durze, oraz w wodzie miejscowości, objętych przez epidemię, spotykamy szczepy morfologicznie i biochemicznie zbliżone do pał. *Ebertha*, nie zlepiające się jednak pod wpływem surowic durowych i paratyfusowych. Surowice skierowane przeciwko trzem z pośród wyhodowanych szczepów aglutynują, aczkolwiek nie w jednakowej mierze, wszystkie pozostałe szczepy nietypowe, oraz laboratoryjny szczep durowy i typowe szczepy durowe, wyhodowane podczas tejże epidemii. Już na zasadzie tych wyników, powiedzieć możemy, że szczepy przez nas wyhodowane, należą do grupy durowej. Chcieliśmy jednak zamknąć łańcuch dowodowy przez sztuczne stworzenie takich warunków w których ew. możliwa byłaby zmiana typowego prątku durowego w kierunku szczepów P_1 , P_2 , P_3 , lub też tych ostatnich w kierunku typowej pał. *Ebertha*. Badanie nasze w tym kierunku obejmują dwie równoległe serie doświadczeń. W serii pierwszej badaliśmy wpływ mocnych czynników dysocjujących, jak bakteriofag swoisty, oraz surowica homologiczna na typową pałeczkę durową. Postępowaliśmy w sposób następujący. Do pożywki buljonowej dodawaliśmy 10% homologicznej surowicy odpornościowej, potem posiewaliśmy szczep durowy. Szczep rósł zaglutynowany. Prowadziliśmy w ten sposób szereg kolejnych pasaży, przypuszczając, że jedna z przejściowych form pomiędzy formami S i R pałeczki durowej będzie może odpowiadała naszym szczepom. Przeprowadziliśmy w ten sposób 8 kolejnych pasaży, przesiewając szczep każdego z pasaży na płytkę *Endo* w celu kontrolowania wyglądu kolonij. Nie zdołaliśmy jednak zaobserwować żadnych zmian w badanym szczepie durowym; forma R bakteryj, występująca z reguły przy takim sposobie hodowania, nie została otrzymana. Pojawiały się czasem kolonie o szorstkiej powierzchni, lecz cecha

ta w dalszych przeszczepach zniką. Zresztą wygląd kolonij nie jest w tym wypadku dostatecznym kryterjum. Innych zaś cech charakterystycznych dla formy R, jak wypadanie zawiesiny w fizjologicznym roztworze NaCl lub rozszerzona amplituda zlepliwości nie mogliśmy stwierdzić.

Licząc się z możliwością, że szczepy typu P_1 , P_2 , P_3 , są szczepami zmienionymi przez długotrwałe działanie na pałeczkę durową w warunkach naturalnych bakterjofaga swoistego, hodowaliśmy szczep durowy na buljonie, zawierającym bardzo małe ilości niezbyt mocnego bakterjofaga. Początkowo dodawaliśmy 1 kroplę na 60 ccm. buljonu, w miarę następnych pasażów coraz to zwiększając dawki. „Przyzwyczailiśmy” w ten sposób szczep do bakterjofaga, tak że w dalszych pasażach rósł on względnie obficie na pożywkach, zawierających 1 ccm. do 1,5 ccm. bakterjofaga. Postępując w ten sposób otrzymaliśmy bardzo wyraźne zmiany w wyglądzie morfologicznym zarówno samych bakterij jak i kolonij. Otrzymaliśmy 3 typy kolonij: mianowicie obok normalnych występowały kolonie blade, rozlane, oraz mocno różowe. W preparatach barwionych zauważyć można było bardzo wyraźną plazmolizę; kształt bakterij zmienił się również. Pałeczki stawały się coraz bardziej zaokrąglone, aż wreszcie z wielką trudnością udało się odróżnić je od ziarniaków. Nie mogliśmy jednak stwierdzić w porównaniu z cechami szczepu wyjściowego żadnych różnic serologicznych w obrębie otrzymanych 3 typów kolonij. Następne nasze próby polegały na poddaniu pałeczki durowej jednoczesnemu działaniu surowicy homologicznej i bakterjofaga. Nie otrzymaliśmy jednak żadnych zmian we własnościach serologicznych. Taki sam wynik otrzymaliśmy hodując pał. durową w kolejnych pasażach na buljonie z dodatkiem surowicy chorych. We wszystkich powyższych doświadczeniach z każdego pasażu na pożywkę płynnej przesiewaliśmy szczep na płytki *Endo* i badaliśmy własności serologiczne poszczególnych kolonij, postępowaliśmy w ten sposób, że część kolonij zużywaliśmy do aglutynacji z surowicami anti-tyfus, para A, B, C, Gärtner, P_1 , P_2 , P_3 , drugą zaś część te same kolonij pozostawialiśmy do dalszego przeszczepu. Przeciętnie z każdego pasażu badane było w ten sposób 100 oddzielnych kolonij.

Druga równoległa serja doświadczeń polegała na działaniu środkami dysocjującymi na szczepy P_1 , P_2 , P_3 . Do pożywek buljonowych dodawaliśmy po 10 ccm. homologicznej surowicy odpornościowej. Wysiewaliśmy odpowiedni szczep, prowadząc w dalszym ciągu kolejne pasaży. Badania szczepów P_2 i P_3 przerwailiśmy ze względów technicznych na 3-cim pasażu, prowadząc w dalszym ciągu tylko szczep P_1 . W obrębie tych trzech pasaży nie zauważyliśmy żadnej zmiany zarówno w cechach morfologicznych kolonij, jak też i oddzielnych bakterjach. Natomiast już w 4-tym pasażu szczepu P_1 na 10 zbadanych kolonij stwierdziliśmy jedną, która dawała aglutynację próbną z surowicą durową. W następnym pasażu liczba kolonij tego typu wzrosła 4-krotnie. Przy bliższem jednak zbadaniu szczepów, pochodzących z tych kolonij, okazało się, że wypadają one samoistnie w roztworze fizjologicznym soli kuchennej. Aglutynowane w soli 0,2% nie wypadały wprawdzie samoistnie, ale dawały odczyn odmienny niż zwykły odczyn aglutynacji. Nie można bowiem było zaobserwować zlepiania się bakteryj, następowało tylko ich wypadanie. Przy wstrząsaniu próbówki opadłe bakterje rozbijały się całkowicie. Stopień tego wypadania był różny w zależności od koncentracji surowicy, a więc przy większych koncentracjach (1/100) przeświecenie płynu było całkowite wszystkie zaś bakterje tworzyły osad, w dalszych rozcieńczeniach osad się zmniejszał, płyn zaś stawał się coraz to mętniejszy. Wreszcie przy dużych bardzo rozcieńczeniach surowicy płyn był jednolicie mętny. Nie wszystkie surowice „strącały” te bakterje w jednakowej mierze. Różnice te ilustruje tabela Nr. 8.

Widzimy, że w mianie poszczególnych surowic w stosunku do zmienionych bakteryj występują pewne różnice. Być może, że w tym wypadku mamy do czynienia z pewnym kosmopolityzmem serologicznym, charakterystycznym dla bakteryj formy R. Być może więc, że zmiana pałeczek P_1 w tym wypadku polegała na tem, że morfologicznie zachowując się jeszcze, jak forma S, serologicznie stały się już one formą R.

A zatem żadna z wyżej opisanych prób nie doprowadziła do oczekiwanych przez nas wyników. Dopiero dzięki przypadkowi otrzymaliśmy wynik rzucający pewne światło na

T A B L I C A Nr. 8.

S U R O W I C E	S Z C Z E P Y P ₁				
	z kolonii I	z kolonii II	z kolonii III	z kolonii IV	z kolonii V
Anti P ₁	$\frac{1}{3200}++$	$\frac{1}{3200}++$	$\frac{1}{3200}++$	$\frac{1}{3200}+++$	$\frac{1}{3200}+++$
Anti Ty	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{800}+$	$\frac{1}{400}+$	$\frac{1}{400}+$	$\frac{1}{400}+$
Anti P.A.	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{1600}+$	$\frac{1}{1600}+$	$\frac{1}{1600}+$	$\frac{1}{3200}+$
Anti P.B.	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{1600}+$	$\frac{1}{1600}+$	$\frac{1}{1600}+$	$\frac{1}{3200}+$
Anti P.C.	$\frac{1}{800}+$	$\frac{1}{400}++$	$\frac{1}{400}++$	$\frac{1}{800}+$	$\frac{1}{800}+$
Anti Shiga S	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{1600}++$	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{3200}+$
Anti Shiga R	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{3200}+$	$\frac{1}{3200}+$
Anti pneumokokowa	—	—	—	—	—

mechanizm zmienności pałeczek typu P₁. Przygotowując świeżą serję surowic odpornościowych, wstrzyknęliśmy 2 królikom dożylnie żywą zawiesinę pałeczek P₁. Po drugiej dawce bakterij króliki padły. Z posiewów krwi wyhodowaliśmy pałeczki morfologicznie i biochemicznie odpowiadające całkowicie szczepowi P₁. Zauważyć się natomiast dały zmiany w ich własnościach serologicznych. Zmiany te przedstawia tablica Nr. 9.

T A B L I C A Nr. 9.

S Z C Z E P Y	S U R O W I C E					
	Anti P ₁	Anti Ty	Anti P.A.	Anti P.B.	Anti P.C.	Anti Gärtner
P ₁ wyjściowy	$\frac{1}{3200}++$	—	—	—	—	—
P ₁ królik I	$\frac{1}{1600}+$	$\frac{1}{400}+$	$\frac{1}{1600}+$	$\frac{1}{800}+$	—	—
P ₁ królik II	$\frac{1}{400}+$	$\frac{1}{200}+$	$\frac{1}{800}+$	$\frac{1}{400}+$	—	—

Widzimy więc, że po przejściu przez ustrój zwierzęcia, szczep P₁ zaczął zlepiać się pod wpływem.

surowicy przeciwdurowej i przeciwparytyfusowych A i B. Jednocześnie miano jego aglutynacji pod wpływem surowicy homologicznej uległo znacznemu obniżeniu. Prawdopodobnie wyhodowana w tym wypadku z ustroju zwierzęcia jakaś inna faza szczepu P_1 , okazała się serologicznie wybitnie pokrewna pałeczce durowej i paratyfusowym A i B. Być może, że wyhodowana przez nas faza serologiczna jest fazą nieswoistą pałeczki P_1 . Wynik ten przemawia za przynależnością szczepu P_1 do grupy durowej. Postępując w sposób analogiczny ze szczepem P_2 , otrzymaliśmy następujący wynik: ze krwi królika, który padł po dożylnym wstrzyknięciu żywej zawiesiny szczepu P_2 , wyhodowaliśmy pałeczki, dające ślad aglutynacji z surowicą anti paratyfusową C. Między kolonjami typowymi dla szczepu P_2 na płytce *Endo* zauważyliśmy 2 kolonie, zakwaszające wybitnie laktozę. Pod względem biochemicznym szczepy, pochodzące z tych kolonij, zachowywały się jak typowe pałeczki okrężnicy.

Następująca tabelka przedstawia własności serologiczne wyhodowanych szczepów.

T A B L I C A Nr. 10.

S U R O W I C E							U w a g i
SZCZEPY	Anti Ty	Anti P.A	Anti P.B.	Anti P.C.	Anti Gärtner	Anti P_2	
P_2 wyjściowy	—	—	—	—	—	$1/1600$	biochemicznie pał. okrężnicy
I P_2 królik	—	—	—	—	—	—	
II P_2 „	—	—	—	—	—	—	
IV P_2 „	—	—	—	$1/100 +$	—	$1/800 +$	
V P_2 „	—	—	—	$1/100 \pm$	—	$1/800 \pm$	
VII P_2 „	—	—	—	$1/200 \pm$	$1/50 +$	$1/800 +$	
VII P_2 „	—	—	—	$1/200 \pm$	—	$1/400 \pm$	

Jest wielce prawdopodobnem, że szczepy okrężnicy we krwi padłego królika są wynikiem wtórnego zanieczyszczenia, być jednak

może, że w ustroju żywym działają pewne bodźce, które z jednej strony pchnąć mogą procesy zmienności szczepów P_1 P_2 dalej w kierunku pałeczki okrężnicy, z drugiej zaś nastąpić może zmiana w odwrotnym kierunku, w kierunku pałeczek durowych ew. rzekomodurowych.

Brak ustalenia cech charakteryzuje nasze szczepy i w zwykłej hodowli *in vitro*. Po upływie dwumiesięcznego hodowania w warunkach laboratoryjnych, szczepy nasze, zachowujące się początkowo biochemicznie jak pałeczki durowe, zaczęły rozkładać niektóre cukry i alkohole z wytworzeniem gazu. Tak np. na dekstrozie, mannicie, i maltozie zaczęły wytwarzać już po 24 godz. kwas i gaz. Nie wydaje się nam prawdopodobnem aby ta cecha miała oznaczać jakiś zwrot w kierunku szczepów paratyfusowych, albowiem znowu po upływie pewnego czasu niektóre z pośród tych szczepów po 48 — 72 godz. zakwaszają laktozę, szczep zaś P_3 nawet i sacharozę. A więc w tych wypadkach dalszym etapem zmian wydaje się być raczej szczep okrężnicy wzgl. para *Coli*.

W myśl tego szczepy nasze byłyby jednym z ogniw przejściowych, stojących początkowo bardzo blisko pałeczki durowej. Są one wybitnie chwiejne pod względem swoich własności; chwiejność ich jest tak znaczna, że w tej fazie są one bardzo trudne do uchwycenia i różnicowania. Czasem pewne ich cechy ulegają chwilowej stabilizacji, poczem zmiany w nich zachodzące postępować mogą dalej. Czasem pod wpływem bliżej nieznanых bodźców, mogłyby one pod pewnemi względami cofać się w kierunku pałeczki durowej. Ta wybitna chwiejność i możliwość ew. powrotu pod względem pewnych cech w stronę pałeczek durowych i paratyfusowych, nasuwałaby duże refleksje, dotyczące znaczenia takich szczepów dla epidemiologii duru brzuszego. Nie wiemy jednak jaka jest pierwotna zjadliwość tych szczepów, nie wiemy czy w parze z nabyciem pewnych cech serologicznych, przybliżających je do szczepów durowych, postępuje i wzmożenie zjadliwości. Jeżeli nawet obecność tego rodzaju szczepów w wodzie jest zjawiskiem wtórnem, a więc konsekwencją epidemji, to nie wydaje się nam wykluczoną możliwość, że przy pewnych sprzyjających warunkach, w ustroju ży-

wym nastąpić może zmiana ich w kierunku pałeczki durowej. Podejrzanym w tym sesie wydaje się fakt, że podczas epidemji u kilku osób posądzonych o nosicielstwo wykryto w kale prawie czystą hodowlę pałeczek tego typu.

Aus dem Staatlichen Hygiene Institut in Warschau.
Abteilung für Bakteriologie und experimentelle Medizin.
(Direktor Prof. L. Hirszfeld.)

BERICHT ÜBER STÄMME DIE AUS TYPHUSFALLEN ISOLIERT WURDEN.

VON

R. AMZEL.

Aus den Faeces, dem Urin und dem Blut von Typhuskranken, Rekonvalescenten und von Personen, die als Bacillenträger verdächtig waren, sowie aus dem Wasser, welches aus den durchseuchten Ortschaften stammte, wurden Kulturen isoliert, welche morphologisch und biochemisch mit den Eberth'schen Bacillen identisch waren. Serologisch verhielten sie sich jedoch verschieden indem sie mit den Anti-Typhus—und Paratyphusseren keine Agglutination gaben. Kaninchensera, die gegen 3 solche Stämme P_1 , P_2 und P_3 gerichtet waren, agglutinierten in verschiedenem Masse die übrigen atypischen Stämme, sowie die typischen Typhusbacillen. Manche Krankensera mit positiver Widal'schen Reaktion agglutinierten diese Stämme zuweilen stärker, als die Typhusbacillen, manchmal dagegen wiesen solche Widal — positiven Sera mit diesen Stämmen keine Agglutination auf. Durch Dissociationsversuche mit homologen Immunseren, Krankenseren und specifischen Bakteriophagen gelang es nicht aus typischen Typhusbacillen P_1 , P_2 , P_3 — ähnliche Stämme zu erhalten. Durch Kaninchenpassage vermochte man jedoch aus den Kulturen P_1 und P_2 eine neue serologische Phase zu erhalten. Sie aggluti-

nierte mit dem homologen Serum ohne den Agglutinationstiter zu erreichen, dagegen erwarb sie die Fähigkeit im Falle P_1 mit den anti-Typhus, anti-Paratyphus A, B Seren und im Falle P_2 mit anti-Paratyphus C Serum zu agglutinieren. Die Stämme P_1 , P_2 und P_3 sind, wie aus weiteren Untersuchungen hervorging in bezug auf die biochemischen und serologischen Eigenschaften sehr labil. Es wird discutiert, dass diese Uebergangsstämme, die verschiedenen Lebensphasen der Typhusbacillen darstellen.

PIŚMIENICTWO.

1) Andrewes F. W. J. Path. and Bact., 1922, 25, str. 505. 2) Arkwright J. A. J. Path. and Bact. 1921, 24, str. 36. 3) Arkwright and Goyle. A. Brit. J. Exper. Path 1924, 5, str. 104. 4) Bruce White P. Med. Res. Council, 1926. 5) Hadley Ph. J. of Inf. Diseases, 1927, 40. 6) Kauffmann F. Zeitschr. f. Hyg. 1929, 110, zesz. 3. 7) Kauffmann F. Zeitschr. f. Hyg., 1930, 111, zesz. 2. 8) Savage W. and Bruce White P. Med. Res. Council, 1925.

Wpłynęło 17.II 1931 r.

Z instytutu chemiczno-biologicznego Szpitala „am Urban“ w Berlinie.

(Dyrektor: L. Pincussen).

BADANIA NAD WPŁYWEM NAŚWIETLAŃ PROMIENIAMI POZAFIOŁKOWEMI NA ROZMIESZCZENIE CHLORU WE KRWI.

PODAŁ

JERZY GLASS.

Praca niniejsza jest częścią składową badań prowadzonych przez Instytut chemiczno-biologiczny szpitala „am Urban“ w Berlinie, celem wyświeślenia zmian fizyko-chemicznych w ustroju, zachodzących pod wpływem energii promienistej.

Wpływ promieni pozafiołkowych na równowagę kwasowo-zasadową ustroju jest dotąd niedostatecznie wyjaśniony. Nieliczne badania, prowadzone w tym kierunku, dały dotąd wyniki dość sprzeczne.

Moran i Reed 1), naświeślając krew, płynącą przez art. carotis poprzez kaniulę, nie stwierdzili jednolitego wpływu tych naświeślań na krzywe wiązania dwutlenku węgla we krwi. Dalej *Essinger i Györgi 2)*, naświeślając małe dzieci, nie spostrzegali większych i jednolitych zmian w wydzielaniu ciał kwaśnych w moczu pod wpływem tych naświeślań.

Pomimo to szereg badaczy zdołał wykazać wyraźny wpływ naświeślań na gospodarkę kwasowo-zasadową ustroju. I tak *De Gheldere i De Boover 3)* stwier-

dzili u naświetlanych królików krótkotrwałe zmniejszenie rezerwy alkalicznej we krwi. Udało się im nawet znieść drogą tych naświetlań alkalozę, wywołowaną uprzednio przez podawanie dużych dawek dwuwęglanów. *Kroetz* 4) spostrzegł u ludzi naświetlanych powolny i niezbyt wielki spadek pH krwi, któremu towarzyszyło przemijające zmniejszenie rezerwy alkalicznej. Kwasica powyższa po upływie 2 godzin mniej więcej przechodziła w alkalozę, utrzymującą się przez szereg dni. *Ederer* 5), badając w doświadczeniach prowadzonych na sobie samym wpływ tych naświetlań na prężność pęcherzykową CO_2 w płucach, dochodzi do następujących wniosków: słabe naświetlania nie wywierają żadnego wpływu, naświetlania średniej siły powodują zwiększenie, silne zaś — zmniejszenie prężności CO_2 w powietrzu pęcherzykowym.

Wpływ naświetlań promieniami pozafiołkowymi w stanach patologicznych jest natomiast raczej, jak się wydaje, alkalizujący. *Pincussen* 6), naświetlając chorych cukrzycowych stwierdzał z reguły zwiększanie się rezerwy alkalicznej i zmniejszanie się ketonurji w następstwie tych naświetlań. *Leenhard* i *Schaptel* 7) widzieli również u chorych dzieci po naświetlaniach lampami kwarcowymi pod koniec cyklu leczenia zwiększanie się rezerwy alkalicznej, a *Balderrey* i *Barkus* 8) spostrzegali u gruźlików naświetlanych słońcem przesunięcie pH krwi w kierunku zasadowym.

Zaburzeniom w równowadze kwasowo-zasadowej towarzyszą z reguły przesunięcia elektrolitów i przeciwnie z zaburzeń w rozmieszczeniu elektrolitów dają się często wyprowadzić wnioski, co do stanu równowagi kwasowo-zasadowej. Zaburzenia powyższe dają się odcyfrować w dwojaki sposób:

1) z oznaczenia t. zw. deficytu anjonowego. Zwiększenie deficytu anjonowego, czyli pozornego deficytu anjonów w stosunku do kationów, wywołanego obecnością kwasów organicznych we krwi, wskazuje na istnienie utajonej kwasicy. Powyższe zwiększenie deficytu anjonowego stwierdzał *Kroetz* 9) w następstwie naświetlań pozafiołkowych.

2) drogą oznaczenia rozmieszczenia elektrolitów, a zwłaszcza chloru, między krwinkami a osoczem. Jak to wynika z klasycznych badań *Gürbera*, *Zuntza*, *Hamburgera*, wykonanych *in vitro*, oraz z nowszych badań *Van Slyke'a*, *Hendersona*, *Ambarda* — w stanach kwasicowych chlor z osocza zostaje częściowo wydalony i przechodzi do krwinek i tkanek. Sprawy tej nie możemy tu obszernie omawiać, odsyłamy do odpowiednich źródeł oraz naszych prac poprzednich 10). Jak to wykazaliśmy w pracach naszych, które

wspólnie z *Landauem* i *Kaminerem* ogłoszone zostały 10), powyższe przesunięcie chloru do krwinek, spotyka się prawie wyłącznie w stanach kwasicy.

Chcąc wyjaśnić wpływ naświetlań pozafiołkowych na stan równowagi kwasowo-zasadowej, badaliśmy w pracy niniejszej wpływ tych naświetlań na rozmieszczenie chloru we krwi¹⁾.

Metodyka badań.

Badania wykonane były na królikach i ludziach zdrowych. Króliki, po usunięciu sierści z grzbietu, naświetlane były lampą *Hanau*. Odległość lampy—50 cm, napięcie—130 wolt, natężenie prądu—3,5 ampera, czas naświetlania—od $\frac{1}{2}$ do 3 godzin. Ludzi naświetlano jednocześnie dwiema lampami od przodu i od tyłu z odległości 50 cm. Czas naświetlania od 5 do 8 minut. Badania były wykonane naczczo, po 12-godzinnyim poście. Krew u królików pobierano z żyły usznej bezpośrednio przed naświetleniem, oraz w pół godziny, godzinę, dwie, cztery i dwadzieścia cztery godziny po naświetleniu, w ilości 5—6 ccm. U ludzi krew pobierano z żyły łokciowej bezpośrednio przed naświetlaniem, w godzinę po naświetlaniu i po upływie jednej doby.

Krew pobierano bez dostępu powietrza pod parafiną do strzykawki Luerowskiej, skąd również bez dostępu powietrza przenoszono ją do dokładnie kalibrowanej (do $\frac{1}{20}$ ccm.) 10 ccm. probówki wirowniczej. Po zmieszaniu z 2—3 mgr. heparyny, probówkę wirowano z szybkością 3000 obrotów na l przez 20 minut, poczem odczytywano na skali probówki objętość procentową krwinek.

Po odpipetowaniu osocza, usunięciu parafiny i po oddzieleniu pozostałych śladów osocza za pomocą bibuły do filtrowania oznaczano stężenie chloru metodą *Koranyego-Rusznayka* oddzielnie w krwinkach i oddzielnie w osoczu.

Z objętości procentowej krwinek (a) i stężenia chloru w osoczu ($Cl\ os.$) i krwinkach ($Cl\ kr.$), obliczano t. zw. wskaźnik chlorowy ($Cl\ kr. : Cl\ os.$), dalej zawartość chloru w krwinkach obliczoną na 100 ccm. krwi ($a \times Cl\ kr.$), zawartość chloru w osoczu na 100 ccm. krwi $[(100 - a) \times Cl\ os.]$ i wreszcie zawartość chloru we krwi całkowitej, obliczoną w mgr. na 100 cm. krwi $[a \times Cl\ kr. + (100 - a) \times Cl\ os.]$

U kilku królików wykonano dla kontroli badania krwi na kilka dni przed naświetlaniami, pobierając ją w analogicznych odstępach czasu i oznaczając również rozmieszczenie chloru.

Wyniki badań podane są w załączonych 6-u tablicach

¹⁾ W dotychczasowych pracach nad wpływem naświetlań na zmiany fizykochemiczne we krwi badano wyłącznie chlor osocza (*Györgi* i *Eisinger* oraz *Kroetz*), co dla przedmiotu naszych badań jest bez znaczenia. Wyniki tych badań są zresztą niejednolite.

T A B L I C A Nr 1.
(Królik Nr 1 — waga 2300 gr.)

	Objętość $\frac{0}{0}$ -wa krwinek	Stężenie chloru w mgr. $\frac{0}{0}$		Wskaźnik chlorowy	Zawartość chloru w mgr. na 100 ccm. krwi		
		Krwinki	Osocze		Krwinki	Osocze	Krew całkowita
K o n t r o l a							
0 godz. →	34,0	190	380	0,50	65	250	315
1 " →	32,3	188	392	0,48	61	265	326
2 " →	30,0	186	404	0,46	56	283	339
3 " →	28,5	190	412	0,46	54	295	349
Naświetlanie ($\frac{1}{2}$ godziny)							
Przed naświetlaniem →	35,6	185	387	0,48	66	249	315
w $\frac{1}{2}$ godz. po naświetleniu	33,3	185	392	0,47	62	261	323
w 2 " " "	34,8	192	387	0,50	67	252	319
w 3 " " "	27,2	206	398	0,52	56	290	346
w 24 " " "	24,2	195	380	0,51	47	288	335

T A B L I C A Nr 2.
(Królik Nr 2 — waga 2400 gr.)

	Objętość $\frac{1}{10}$ -wa krwinek	Stężenie chloru w mgr. $\frac{0}{10}$		Wskaźnik chlorowy	Zawartość chloru w mgr. na 100 ccm. krwi		
		Krwinki	Osocze		Krwinki	Osocze	Krew całkowita
		K o n t r o l a					
0 godz. →	44,3	170	341	0,50	75	190	265
1 " →	43,3	195	373	0,52	84	212	296
2 " →	38,0	174	376	0,46	66	233	299
3 " →	38,1	177	376	0,47	67	233	300
Naświetlanie ($\frac{1}{2}$ godziny)							
Przed naświetlaniem →	45,8	178	359	0,50	81	195	276
w 1 godz. po naświetleniu	40,8	174	383	0,48	71	226	297
w $2\frac{1}{2}$ " " "	37,2	209	376	0,56	78	236	314
w 4 " " "	37,7	206	390	0,53	78	243	321
w 24 " " "	35,6	156	359	0,44	56	231	287

T A B L I C A Nr 3.
(Królik Nr 3 — waga 2100 gr.)

	Objętość $\frac{0}{10}$ -wa krwinek	Stężenie chloru w mgr. $\frac{0}{10}$		Wskaźnik chlorowy	Zawartość chloru w mgr. na 100 ccm. krwi		
		Krwinki	Osocze		Krwinki	Osocze	Krew całkowita
K o n t r o l a							
0 godz. →	35,0	192	351	0,55	67	228	295
1 " →	32,5	202	383	0,53	66	259	325
2 " →	30,0	195	387	0,50	60	268	328
3 " →	29,2	213	401	0,53	62	284	346
N a ś w i e t l a n i e (1 g o d z i n a)							
Przed naświetlaniem	32,6	199	373	0,54	65	251	316
Bezpośrednio po naświetleniu	31,8	199	394	0,51	63	269	332
w 1 godz. " "	26,4	234	401	0,58	62	295	357
w 3 " " "	23,8	234	380	0,61	56	290	346
w 4 " " "	21,7	231	398	0,60	50	312	362
w 48 " " "	19,2	209	366	0,57	40	296	336

T A B L I C A Nr. 4.
(Królik Nr 4 — waga 2400 gr.)

	Objętość % -wa krwinek	Stężenie chloru w mgr. ‰		Wskaźnik chlorowy	Zawartość chloru w mgr. na 100 ccm. krwi		
		Krwinki	Osocze		Krwinki	Osocze	Krew całkowita
Naświetlanie (1/2 godziny)							
Przed naświetlaniem	39,0	206	390	0,53	80	231	311
→ w 1/2 godz. po naświetleniu	38,8	195	394	0,49	76	241	317
w 2 " " "	37,0	202	380	0,53	75	239	314
w 3 " " "	35,6	199	398	0,50	71	256	327
w 24 " " "	34,2	199	369	0,54	68	243	311
Naświetlanie (3 godziny)							
Przed naświetlaniem	38,7	202	373	0,54	78	229	307
→ w 2 godz. po naświetleniu	38,5	195	351	0,56	75	216	291
w 3 1/2 " " "	39,3	206	369	0,56	81	224	305
w 24 " " "	30,6	213	373	0,57	65	259	324
w 48 " " "	33,3	199	383	0,52	66	255	321

TABLICA Nr. 5.
(Królik Nr 5 — waga 2450 gr.)

	Objętość 0/0-wa krwinek	Stężenie chloru w mgr. 0/0		Wskaźnik chlorowy	Zawartość chloru w mgr. na 100ccm. krwi		
		Krwinki	Osocze		Krwinki	Osocze	Krew całkowita
Naświetlanie (1 godzina)							
Przed naświetlaniem	38,4	185	366	0,50	71	225	296
→ w 1 godz. po naświetleniu	38,4	174	349	0,50	67	215	282
w 2 ¹ / ₂ " " "	38,7	160	355	0,46	62	218	280
w 3 ¹ / ₂ " " "	36,5	181	390	0,46	66	248	314
w 24 " " "	34,0	174	369	0,47	59	244	303
Naświetlanie (3 godziny)							
Przed naświetlaniem	40,6	195	383	0,50	79	227	306
→ w 1 ¹ / ₂ godz. po naświetleniu	41,1	188	376	0,50	77	221	298
w 4 " " "	40,3	192	373	0,52	77	229	300
w 24 " " "	37,5	220	376	0,58	82	235	317

TABLICA Nr 6.
Badania na ludziach zdrowych.

	Objętość % - wa krwinek	Stężenie chloru w mgr. ‰		Wskaźnik chlorowy	Zawartość chloru w mgr. na 100 ccm. krwi			
		Krwinki	Osocze		Krwinki	Osocze	Krew całkowita	
Przyp. A—naświetlanie 5'								
Przed naświetlaniem	40,2	181	366	0,50	73	219	292	
→ w 1 godz. po naświetleniu	40,7	174	344	0,50	71	204	275	
w 24 " " "	39,4	195	362	0,54	77	219	296	
Przyp. B—naświetlanie 5'								
Przed naświetlaniem	45,0	195	359	0,54	88	197	285	
→ w 1 godz. po naświetleniu	44,9	195	376	0,52	88	207	295	
w 24 " " "	47,0	217	373	0,58	102	198	300	
Przyp. C—naświetlanie 8'								
Przed naświetlaniem	45,3	188	351	0,53	85	192	277	
→ w 1 godz. po naświetleniu	45,0	180	336	0,54	85	192	277	
w 24 " " "	45,0	209	346	0,58	94	190	284	

Omówimy tu przedewszystkiem zmiany w poziomie chloru we krwi całkowitej w następstwie naświetlań. Otóż u wszystkich prawie badanych królików spotyka się w następstwie naświetlań stale wzrastającą hiperchloremję. Nie zależy ona jednak od naświetlań, natomiast stoi w ścisłym związku z anemizacją zwierząt, wywołaną częstem pobieraniem krwi do badań. Powyższa anemizacja znajduje swój wyraz w stałem zmniejszaniu się objętości procentowej krwinek, co uwarunkowane jest tem, że straty osocza wywołane anemizacją zostają wyrównane przez dopływ cieczy tkankowej, gdy tymczasem straty krwinek—oczywiście nie wyrównują się.

Badania kontrolne u zwierząt nienaświetlanych dowodzą wyraźnie, że powyższa hiperchloremja krwi całkowitej zależy od utraty krwi przez zwierzęta. We wszystkich tych doświadczeniach spotyka się to samo zjawisko. Wzrost poziomu chloru we krwi, idzie nawet prawie równolegle do spadku objętości procentowej krwinek (porówn. tabl.). Hiperchloremja ta, zależna od anemizacji i spotykana również i w klinice w następstwie wielkich upustów krwi, ma następujące przyczyny: 1) zwiększenie stężenia chloru w osoczu, zapewne wskutek dopływu bogatej w chlor cieczy tkankowej; 2) zwiększenie objętości procentowej osocza, co, przy obliczaniu zawartości chloru we krwi całkowitej, ma duże znaczenie. Wobec tego, że podczas anemizacji obie te składowe współlistnieją, poziom chloru we krwi całkowitej, jak to z tablic widać, zwiększa się. Dlatego też zmniejsza się zawartość chloru w krwinkach obliczona na 100 ccm krwi ($a \times Cl\text{ kr.}$), oraz zwiększa się również niewspółmiernie silnie zawartość chloru w osoczu, obliczona na 100 ccm krwi $[(100 - a) \times Cl\text{ os.}]$.

Powyższe zmiany spostrzegaliśmy zarówno we wszystkich doświadczeniach kontrolnych, jak i u zwierząt naświetlanych. W kilku doświadczeniach udało się uniknąć anemizacji królików (Nr 4b i 5) i wtedy żadnej hiperchloremji już nie stwierdziliśmy. To też z tych względów przyjąć należy, że hiperchloremja krwi całkowitej wywołana jest wyłącznie sztuczną anemizacją zwierząt i niema nic wspólnego z naświetlaniami.

Stężenie chloru w osoczu następstwie naświetlań zwiększyło się u kilku królików. Jednakże w tych wszystkich przypadkach,

wskutek częstego pobierania krwi, zwierzęta uległy skrwawieniu, co, jak wynika z badań kontrolnych, wystarcza już do wywołania hiperchloremji osocza. Natomiast w tych przypadkach, gdzie skrwawienie nie wystąpiło, pod wpływem naświetlań następuje spadek stężenia chloru we krwi, chociaż nieznacznego stopnia. I tak u królika Nr 4 z 371 na 351 mgr. % czyli o 6% liczby wyjściowej, u królika Nr 5 z 366 na 349, a więc o 4%, u człowieka A z 366 na 342, więc o 7%, u człowieka C z 351 na 336, a więc o 4%. Wynika więc z tego, że naświetlania promieniami pozafiołkowymi wywołują raczej spadek poziomu chloru w osoczu.

Najcharakterystyczniejsze są natomiast zmiany w rozmieszczeniu chloru we krwi między krwinkami a osoczem, które występują w następstwie naświetlań promieniami pozafiołkowymi. Polegają one na zmianie wzajemnego stosunku stężenia chloru w krwinkach do stężenia jego w osoczu, a więc na zmianie t. zw. wskaźnika chlorowego. Powyższy wskaźnik chlorowy (
$$= \frac{\text{stężenie chloru w krwinkach}}{\text{stężenie chloru w osoczu}}$$
), który w warunkach prawidłowych waha się, jak to wynika z naszych poprzednich badań 10) w granicach od 0,47 do 0,55, a u królików, jak widać z obecnych oznaczeń obraca się w identycznych granicach (od 0,48 do 0,55), ulega pod wpływem naświetlań zmianom, wskazującym na przesunięcia chlorowe między krwinkami a osoczem.

W prawie wszystkich przypadkach, po przemijającym spadku w ciągu pierwszej $\frac{1}{2}$ godz. po naświetlaniu, po upływie 2 — 4 ch godzin zwiększa się wskaźnik powyższy. We wszystkich bez wyjątku przypadkach znajduje się on w tym czasie na znacznie wyższym poziomie aniżeli przed naświetlaniami, co świadczy o przesunięciu chloru do krwinek. I tak np. u królika Nr 1 wskaźnik zwiększył się z 0,48 na 0,52, u królika Nr 2 — z 0,50 na 0,56, u królika Nr 3 — z 0,54 na 0,61.

U królików Nr 4 i 5, u których krótkotrwałe naświetlania (półgodzinne) nie wywołały żadnych przesunięć chlorowych, naświetlania długotrwałe (3-godzinne) spowodowały jednak zwiększenie wskaźnika chlorowego, przesunięcie chloru do krwinek, a mia-

nowicie u królika Nr 5 — z 0,50 na 0,52 i 0,58 po 24 godzinach. a u królika Nr 4 — z 0,54 na 0,57.

Powyższe zwiększenie wskaźnika chlorowego, spotykane w następstwie naświetlań, po upływie 24 godzin utrzymuje się nieraz lub nawet zwiększa (króliki Nr 1, 4a, 4b i 5b), w innych jednak przypadkach opada już nawet poniżej liczby wyjściowej (króliki Nr 2, 3 i 5a).

U ludzi naświetlanych krótko (od 5-u do 8-u minut) stwierdziliśmy również z reguły analogiczne przesunięcie chloru do krwinek, znajdujące swój wyraz w zwiększenie wskaźnika chlorowego. Ze względu jednak zapewne na krótkotrwałość tych naświetlań, dawało się stwierdzić ono po upływie 24 godzin, i tak w przyp. A wskaźnik chlorowy zwiększył się z liczby 0,50 na 0,54, w przyp. B — z 0,54 na 0,58, w przyp. C — z 0,53 na 0,58.

Powyższe zwiększenie wskaźnika chlorowego, przesunięcie chloru do krwinek, zależy w doświadczeniach naszych wyłącznie od naświetlań. W badaniach kontrolnych, gdzie śledziliśmy wpływ skrwawień na rozmieszczenie chloru we krwi, nie tylko że nie stwierdzaliśmy powyższego przesunięcia chloru do krwinek, ale rozmieszczenie chloru we krwi przyjmuje nawet charakter odwrotny: chlor przesuwają się do osocza, a wskaźnik chlorowy maleje. Daje się to łatwo odczytać z załączonych protokołów.

Zmiany w rozmieszczeniu chloru we krwi, występujące w naszych doświadczeniach w następstwie naświetlań pozafiołkowych i polegające na przesunięciu chloru do krwinek, noszą charakter przesunięć typu kwasowego. Analogiczne zmiany w rozmieszczeniu chloru we krwi spotykał *Koch* 11) w następstwie naświetlań promieniami Rentgena.

Stwierdzone tu przez nas przesunięcie chloru do krwinek, a więc typu kwasowego, obok wzrostu deficytu anjonowego, spadku pH i obniżenia krzywych dysocjacji dwutlenku węgla we krwi (*Kroetz*), a także obok obniżenia rezerwy alkalicznej (*De Gheldere* i *De Boover*), i wreszcie zmniejszenia prężności dwutlenku węgla w powietrzu pęcherzykowym (*Ederer*), służyć może za dowód, że w następstwie silnych naświetlań promieniami pozafiołkowymi w normalnych warunkach następuje przesunięcie równowagi kwasowo-zasadowej w kierunku kwasowym.

Czy powyższe przesunięcie chloru w obrębie krwi w następstwie naświetlań zależy również i od zmiany przepuszczalności błon komórkowych—pozostaje sprawą otwartą. Czas zjawienia się odczynu powyższego oraz jego nasilenie zależy od obiektu naświetlanego i od intensywności naświetlenia. Tem się tłumaczy zapewne, różny okres wystąpienia odczynu w naszych doświadczeniach (inny u królików, inny u ludzi).

STRESZCZENIE WYNIKÓW i WNIOSKI.

Silne naświetlania pozafiołkowe powodują u królików w 2 do 4 godzin po naświetleniu przesunięcie chloru we krwi na korzyść krwinek utrzymujące się nieraz nawet przez dobę i dwie. Powyższe przegrupowanie chlorowe przemawia za tem, że w następstwie bezpośrednim naświetlań pozafiołkowych następuje przesunięcie równowagi kwasowo-zasadowej w kierunku kwasicowym.

Rozmieszczenie chloru we krwi u ludzi zdrowych, naświetlanych przez krótki czas, wykazuje po upływie 24 godzin analogiczne przesunięcie chloru typu kwasicowego.

Aus dem biolog.-chemischen Institut des städt. Krankenhauses am Urban, Berlin.
(Direktor: L. Pincussen).

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS DER ULTRA- VIOLETTBESTRAHLUNG AUF DIE CHLORVERTEILUNG IM BLUTE

V O N

JERZY GLASS.

Starke Ultraviolettbestrahlungen verursachen bei Kaninchen 2 bis 4 Stunden nach Bestrahlung eine Verschiebung des Chlors im Blut zugunsten der Blutkörperchen, die bis 24 Stunden besteht. Diese Erscheinung spricht für eine Veränderung des Säure-Basen-Gleichgewichts im Blute in acidotischer Richtung. Die Chlorverteilung im Blute zeigt bei Menschen 24 Stunden nach kurzdauernder Bestrahlung eine gleichartige Verschiebung acidotischen Charakters.

P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Moran u. Reed. Proc. of the soc. exp. biol. a. med., 24, Nr. 2, S. 179 — 183. 1926. 2) Essinger u. Györgi. Biochem. Z., 149, 344. 1925. 3) De Gheldere u. De Boover. C. R. Soc. Biol., 94, 1263. 1926; 94, 784. 1926. 4) Kroetz. Biochem. Z. 151, 146. 1924. 5) Ederer. Biochem. Z., 132. 107, 1922. 6) Pincussen. Photobiologie (Grundlagen, Ergebnisse, Ausblicke), Verlag Thieme, Leipzig, 1930. 7) Leenhardt u. Schapitel. C. R. Soc. Biol. 97, 12. 1927. 8) Balderrey a. Barkus. Amer. Rev. Tbc., 9, 107. 1924. 9) Kroetz. Biochem. Z., 151, 449. 1924. 10) Landau, J. Glass i Kaminer. Warsz. Czas. Lek. Nr. 10, 11, 12, 13, 1929. Ci sami—Pol. Gaz. Lek. Nr. 10, 11, 12, 13. 1930. Ci sami—C. R. Soc. Biol., 101, 594, 1929. Ci sami—Arch. d. mal. App. Digest. et Nutr. 20. Nr. 5, 1930. Ci sami—Wien. Arch. f. inn. Med., 20. H. 3, 375—428, 1930. 11) Koch. Strahlentherapie, 25, H. 3, 470—475. 1927.

Wpłynęło dn. 30.IX 1930 r.

Z Miejskiego Instytutu Higieny m. Warszawy
(Kier. Dr. A. Ławrynowicz).

ZDOLNOŚĆ FAGOCYTARNA LEUKOCYTÓW KRWI ŚWINEK MORSKICH PODCZAS GNILCA DOŚWIADCZALNEGO.

PODAŁ

S. DŁUŻEWSKI.

Zdolność fagocytarne leukocytów ustroju zwierzęcego uznana jest za jeden z czynników stanu odporności naturalnej na zakażenie, warunkujący w pewnej mierze stan odporności danego ustroju.

Na fagocytozę oddziałują rozmaite czynniki, mogące wpływać w rozmaitych kierunkach. Działanie tych czynników nie jest jeszcze całkowicie wyjaśnione.

Pośród tych czynników wywierających wpływ na zjawisko fagocytozy zaznaczyć: środowisko naturalne i sztuczne (*Philippsborn, Hamburger*), ciśnienie osmotyczne (*Hamburger*), stężenie jonów wodorowych (*Hamburger*), obecność pewnych substancji chemicznych (*Ouweleen, Hamburger*), rozpuszczalniki lipoidowe (*Hamburger, Hahn, Bubanovics*), dawka ciał chemicznych (*Wilson, Grünspan*), temperatura (*Madsen, Wagner*), czas (*Philippsborn, Madsen*), światło (*Linser, Halber*), stopień dojrzałości krwinek (*Arneth*), uodparnianie (*Wright, Bordet, Metalnikow, Petterson*), gruczoły dokrewne (*Biedl, Levaditi, Asher*), zjadliwość drobnoustrojów (*Wadsworth, Hoppe, Jurewicz, Czystowicz, Van de Velde, Bail, Wright, Höber, Philippsborn*).

Do szeregu czynników zewnętrznych oddziałujących na proces fagocytozy należą również witaminy (czynniki dodatkowe

odżywcze i wzrostowe). Aby zdać sobie sprawę z działania witamin na fagocytozę, powinniśmy poznać 1) znaczenie witamin w życiu drobnoustrojów i 2) wpływ witamin na zdolność obronną organizmu. Mamy szereg spostrzeżeń, które umożliwiają ogólną orientację.

Zapotrzebowanie witamin przez drobnoustroje ulega wahaniom. Uogólniając można powiedzieć, że im ściślej jest drobnoustroj pasorzytem, tem większe stawia zapotrzebowanie witamin i odwrotnie.

Najwrażliwsze na brak witamin są drobnoustroje z grupy hemoglobinafilowych, gonokok, meningokok, pneumokok, łańcuszowce i t. d. Poglądy badaczy co do wytwarzania witamin przez drobnoustroje nie są uzgodnione.

Zjadliwość drobnoustrojów może również ulegać wahaniom w zależności od braku lub obecności witamin w podłożach. *Setti* hodował na podłożu bezwitaminowym (odwar z ryżu polerowanego z dodatkiem soli kuchennej) niezjadliwe dla gołębi szczepy wąglika i cholery drobiu. Hodowane na podłożu bezwitaminowym szczepy niezjadliwe stawały się zjadliwymi, a szczepy mało zjadliwe zyskiwały na zjadliwości. Według *Ascoli'ego* brak witamin wybitnie wpływa na zjadliwość drobnoustrojów.

Awitaminoza wywiera również wielki wpływ na czynności ustroju, co się przejawia w sposobie jego obrony w sprawach zakaźnych. Mamy cały szereg doświadczeń, nie zawsze zgodnych, wykonanych w tym kierunku. *Guerrini, D'Asaro-Biondi, Arloing, Dufourt, Findlay, Marshall* stwierdzili na gołębiach i świnkach morskich znajdujących się w stanie awitaminozy (brak czynnika B), że zwierzęta te łatwiej ulegają zakażeniu gronkowcem, paciorkowcem, pał. okrężnicową.

Petragnani stwierdził na psach żywionych mięsem i na gołębiach żywionych wyłącznie ziarnem wyjałowionem w temp. 140°, obniżenie odporności na zakażenie wąglikiem. Mamy również doświadczenia o wynikach odmiennych.

Mouriquand, Rochaix, Michel stwierdzili na świnkach morskich w stanie awitaminozy (brak czynnika C), wzmożenie odporności w stosunku do pał. wąglika i pał. ropy błękitnej.

Arloing i Dufourt nie stwierdzili u gołębi pozbawionych czynnika C wzmożenia wrażliwości w stosunku do pneumokoka i pał. ropy błękitnej.

Liczne też były próby wyjaśnienia roli czynnika witaminowego w zakażeniu gruźliczem. Doświadczenia przeważnie wykonywane były na świnkach morskich w kierunku znaczenia czynnika C. Wyniki nie są zgodne.

Jedni badacze (*Mouriquand, Michel, Bertoye*), nie stwierdzili przyspieszenia sprawy chorobowej w razie braku czynnika C. Inni (*Coulaud, Nassau, Scherzer, Schilf*) stwierdzili szybkie powstawanie charakterystycznych zmian chorobowych i wybitne przyspieszenie sprawy gruźliczej.

W stanie awitaminozy daje się stwierdzić ogólne obniżenie oporności i zdolności zwalczania drobnoustrojów. Tak np. *Ishida* stwierdził na świnkach morskich i szczurach powolniejsze gojenie się ran, częstsze i łatwiejsze powstawanie ropni. Jako jeden ze wskaźników napięcia odczynów obronnych ustroju może służyć miano ciał odpornościowych. Otóż w licznych pracach wykonanych w tym kierunku przez *Werkmann'a, Nelsona'a, Fulmer'a, D'Asaro-Biondi* i innych stwierdzono brak znacznych różnic w mianie u zwierząt żywionych normalnie i poddanych awitaminozie.

Bieling stwierdził, że uodparnianie takich zwierząt (anatoksyną błoniczą i tężcową) odbywa się trudniej. *Schilf* zauważył, że odczyn tuberkulinowy skórny u zwierząt pozbawionych czynnika C wypada ujemnie lub słabo.

W przypadkach braku czynnika B stwierdzono limfopenję (*Mc. Carrison*), leukopenję (*Hopp*). U zwierząt pozostających na djecie krzywicowej *Smith i Wason* znaleźli obniżony wskaźnik fagocyтары.

Podczas witaminy C u świnek morskich liczba leukocytów znacznie się obniża (z 11.345 do 8.885) przyczem zmniejsza się liczba leukocytów jednojądrzastych, a zwiększa się liczba wielojądrzastych (*Hryniewiczówna i Ławrynowicz*).

Fagocytoza laseczek wąglika i pneumokoka nie ulega zmianie (*Werkman, Fulmer, Nelson*).

Podane wyżej spostrzeżenia wykazują jak liczne i rozmaite czynniki mogą wpływać na zjawisko fagocytozy wogóle, wykazują

również jak rozmaicie zachowują się czynniki odpornościowe podczas awitaminozy.

W spostrzeżeniach własnych starałem się wyjaśnić, jaki wpływ wywiera na fagocytozę jakościowo niedostateczne odżywianie, jak się będzie przedstawiał ten czynnik odporności w ustroju pozbawionym witaminy C.

Liczne spostrzeżenia ustaliły metodykę otrzymywania gnilca doświadczalnego u świnek morskich. W tym celu żywiłem świnki morskie owsem i mlekiem wyjałowionem w autoklawie w tem. 120° w ciągu 15'.

Świnki morskie tak żywione traciły na wadze i ginęły najdalej w 32 — 35 dniu żywienia. Zmiany sekcyjne występowały w postaci wybroczyn w tkance podskórnej, mięśniowej i kostnej. Wyraźne objawy awitaminozy występowały już w 3-tygodniu spostrzegania. Z użytych do doświadczeń 41 świnek morskich padło 26 ($\frac{2}{3}$, całej ilości). Przed rozpoczęciem żywienia bezwitaminowego ważyłem świnki i określałem jednokrotnie zdolność fagocytarną w stosunku do paciorkowca, pałeczki gruźliczej i pałeczki okrężnicowej. Zatrzymałem się na tych drobnoustrojach jako na przedstawicielach najbardziej typowych grup drobnoustrojowych. Podczas żywienia bezwitaminowego zdolność fagocytarną określałem co 10 dni.

W celu otrzymania potrzebnych do doświadczeń białych ciałek krwi kierowałem się początkowo ustaloną już metodyką otrzymywania leukocytów. Metodyka ta polega na wywoływaniu u zwierzęcia wysięku (otrzewnowego lub opłucowego) z którego już można otrzymać potrzebne leukocyty za pomocą wirowania. W tym celu zastrzykuje się zwierzętom do otrzewnej lub do opłucnej rozmaite ciała, mniej lub więcej obojętne, jak np. 1) Aleuronat (białko roślinne) w roztworze soli fizjolog. (3 : 40); 2) nukleinian sodowy, 3) fizjologiczny roztwór soli (0.9%), 4) buljon, 5) pepton, 6) tusz, 7) ziemię okrzemkową, 8) proszek widłaku (*lycopodium*), 9) ultramarynę, 10) cynober i po 12 — 24 godz. otrzymuje się wysięk pobierany strzykawką. Otóż pomimo stosowania tej metody i wypróbowania wszystkich wyżej wymienionych środków już w 7—10 dniu awitaminozy w żadnym przypadku nie dało się otrzymać wysięku w otrzewnej w ilości wystarczającej.

O ile zaś wysięk występował—ilość jego była tak mała, że mowy być nie mogło o otrzymaniu z niego leukocytów w ilości potrzebnej do doświadczeń. Pod wpływem zastrzyknięcia aleuronatu lub ziemi okrzemkowej tworzyły się większe lub mniejsze skupienia tych ciał w otrzewnej, niekiedy otorbione.

Łatwość otrzymywania wysięków u zwierząt żywionych prawidłowo oraz trudność otrzymywania ich w warunkach gnilca doświadczalnego mogłyby być wyjaśnione różnym stanem ustroju zwierząt. Metodyka otrzymywania wysięków była ustalona na zdrowych, normalnych zwierzętach. U zwierząt w stanie awitaminozy mamy naruszoną równowagę fizjologiczną, co przejawia się w osłabionej zdolności odczynowej ustroju.

Po szeregu prób porzuciłem metody powyższe i otrzymywałem leukocyty ze krwi, pobranej od świnki morskiej z serca.

W celu zapobieżenia skrzepnięciu krwi dodawałem $1\frac{1}{2}\%$ roztworu cytrynianu sodowego, 3-krotnie odwirowywałem i przemywałem roztworem soli fizjologicznej. Po ostatniem wirowaniu pobierałem pipetą górną, szarą warstwę składającą się z leukocytów. Dwie krople tej zawiesiny umieszczałem w małej próbówce i rozcieńczałem 6-kroplami soli fizjologicznej.

Szczepy użyte do doświadczeń były następujące. Paciorkowiec pochodził ze śluzu gardzieli od osobnika zdrowego. Zbadany na zjadliwość w końcowym okresie spostrzeżeń szczep ten zastrzyknięty świnkom morskim i myszom białym w dawce 0,1 do 1 cm³ hodowli buljonowej dobowej—nie dał żadnych zmian chorobowych. Szczep ten należy uważać za niezjadliwy.

Pałeczka okrężnicowa wyosobniona z kału człowieka zdrowego posiadała wszystkie cechy właściwe szczepom typowym. Szczep nie był zjadliwy—w dawce 1 cm.³ hodowli buljonowej nie zabijał świnki morskiej i myszy białej.

Szczep pałeczki gruźliczej otrzymany był świeżo z płwociny chorego na gruźlicę. Hodowany był na podłożu *Cechnowicer'a*, przesiewany co 3 tygodnie, trzymany w cieplarni i zabezpieczony przed wyschnięciem zapomocą parafiny.

Dla przygotowania zawiesiny bakteryjnej brałem jedno uszko 24-godzinnej hodowli agarowej (dla paciorkowca i pał. okrężnicowej) i rozcieńczałem w 6-ciu kroplach roztworu soli fizjologicznej.

Zawiesinę pał. gruźlicy sporządzałem dodając uszko hodowli do 8 kropeł roztworu fizjologicznego i rozcierając w jałowym możdzieu aż do otrzymania zawiesiny jednolitej.

W wgłębieniu szkiełka podstawowego umieszczałem po jednej kropli każdej z przygotowanych zawiesin. Obie krople już na szkiełku mieszałem dokładnie w celu otrzymania zawiesiny jednostajnej. Wgłębienie szkiełka, otoczone wazeliną, aby uniknąć wysychania, przykrywałem szkiełkiem pokrywkowym i umieszczałem w cieplarni w temp. 37° na przeciąg 15'. Po upływie tego czasu przenosiłem krople z wgłębienia na szkiełko przedmiotowe i przygotowywałem preparat mazany. Wysuszony preparat utrwaliałem w alkoholu metylowym (2'—3'), barwiłem rozcieńczonym barwnikiem *Giemsy* (3' — 5') (25 kropeł barwika na 20 cm. sz. wody przekroplonej). Pałeczki gruźlicze barwiłem zwykłą metodą *Ziehl-Neelsena* dobarwiając jednak nie błękitem metylenowym lecz rozcieńczonym, jak wyżej, barwnikiem *Giemsy*. Na zabarwionych w ten sposób preparatach pał. gruźlicze występowały wyraźniej — obliczenie pochłoniętych przez leukocyty pałeczek było łatwiejsze.

Doświadczenia wykonałem dla pał. gruźliczej i paciorkowca w 3-ch serjach, dla pał. okrężnicowej w 4-ch serjach.

Do każdej serji użyto po 10—11 świnek morskich. Zdolność fagocytarną leukocytów każdej świnki badano w stosunku do paciorkowca, pał. okrężnicowej i gruźliczej. Ogółem zbadano 41 świnek morskich.

Szczegółowych protokołów doświadczeń (w tablicach i wykresach) z braku miejsca nie mogą załączyć (zostały one dołączone do mojej pracy dyplomowej złożonej na Wydziale Matem. Przyrodniczym Wolnej Wszechnicy Polskiej).

Obliczenia zdolności fagocytarnej leukocytów wykonywane były w sposób następujący. U każdej poszczególnej świnki obliczałem liczbę pochłoniętych bakterij w leukocytach i po obliczeniu 100 leukocytów (wolnych od bakterij i pochłaniających) wyprowadzałem liczbę przeciętną pochłoniętych drobnoustrojów (wskaźnik fagocyтары) i liczbę fagocytów czynnych dla normy, dla 10-go, 20-go i 30-go dnia żywienia bezwitaminowego. Obliczenia te wykonywałem dla każdej poszczególnej świnki morskiej z 3 gatunkami drobnoustrojów, następnie wyprowadzałem prze-

cięte liczby: a) dla tej liczby świnek morskich jakie pozostały przy życiu w poszczególnych serjach doświadczeń i b) dla wszystkich świnek użytych w 4-ch serjach doświadczeń. Tablica I—IV zawierają całokształt spostrzeżeń.

W kolumnach pionowych tych tablic podane są: 1) dzień doświadczenia, 2) liczba świnek użytych do doświadczeń, 3) liczba ogólna pochłoniętych drobnoustrojów, 4) liczba przeciętna pochł. drobn. dla jednej świnki, 5) wskaźnik fagocytarny. Następne dwie kolumny (6 i 7) zawierają liczby ogólne i % fagocytów czynnych.

Tablica IV przedstawia liczby ogólne i przeciętne dla każdego drobnoustroju (pał. gruźliczej, pał. okrężnicowej, paciorkowca) otrzymane przez zsumowanie wszystkich seryj doświadczeń.

Porywnyując liczby przeciętne dla poszczególnych drobnoustrojów pochłoniętych w różnych okresach awitaminozy możemy scharakteryzować wyniki doświadczeń w następujący sposób:

T A B L I C A Nr. 1.

Pał. gruźlicza.

		Pochłan. pał. gruźliczych				Liczba fagoc. czyn.	
		Liczba świnek doświad.	Liczba ogólna pał. pochł.	Liczba przeciętna dla 1 świnki	Wskaźnik fagocytarny	Liczba ogólna	% fagocytów czynnych
Serja I	Norma	10	747	75	0.75	362	36
	10 dz.	10	586	59	0.59	338	34
	20 „	3	208	69	0.69	113	38
	30 „	1	44	44	0.44	24	24
Serja II	Norma	11	846	77	0.77	370	34
	10 dz.	10	606	61	0.61	295	30
	20 „	8	1135	142	1.42	510	64
	30 „	3	184	61	0.61	100	33
Serja III	Norma	10	910	91	0.91	400	40
	10 dz.	7	895	128	1.28	376	54
	20 „	5	272	54	0.54	174	35
	30 „	4	83	21	0.21	81	21

T A B L I C A Nr. 2.

Pał. okrężnicowa.

	Pochłan. pał. okrężnicowej					Liczba fagoc. czyn.	
		Liczba świnek doświad.	Liczba ogólna pał. pochł.	Liczba przeciętna dla 1 świnki	Wskaźnik fagocytny	Liczba ogólna	% fagocytów czynnych
Serja I	Norma	10	3210	321	3,21	854	85
	10 dz.	9	3088	343	3,43	784	87
	20 „	3	1227	409	4,09	277	92
	30 „	1	297	297	2,97	84	84
Serja II	Norma	11	3821	347	3,47	970	88
	10 dz.	11	3988	363	3,62	965	88
	20 „	8	2641	330	3,30	674	84
	30 „	3	899	300	3,00	229	76
Serja III	Norma	10	2262	226	2,26	680	68
	10 dz.	5	1006	201	2,01	336	67
	20 „	5	849	170	1,70	302	60
	30 „	4	750	188	1,87	308	77
Serja IV	Norma	10	949	95	0,95	486	49
	10 dz.	6	663	111	1,11	279	47
	20 „	6	456	76	0,76	249	42
	30 „	6	144	24	0,24	34	6

W I-szej serji doświadczeń w stanie normalnego żywienia fagocytoza dla poszczególnych gatunków drobnoustrojów przedstawia się liczbowo, jak następuje: dla pał. gruźliczej — 77, dla pał. okrężnicowej — 321 i dla paciorkowca 62.

W 10 dniu awitaminozy fagocytoza pał. gruźliczej (59) i paciorkowca (44) nieco się obniża w porównaniu z normą, dla pał. okrężnicowej (343) nieco się wzmacza,

W 20 dniu awitaminozy fagocytoza pał. gruźliczej (69) pozostaje na poziomie normy, pał. okrężnicowej (409) ulega znacznemu

T A B L I C A Nr. 3.

Paciorkowiec.

		Pochłan. paciorkowca				Liczba fagoc. czyn.	
		Liczba świnek doświad.	Liczba ogół- na paciork. pochł.	Liczba przeciętna dla 1 świnki	Wskaźnik fagocytny	Liczba ogólna	% fagocytów czynnych
Serja I	Norma	10	621	62	0,62	345	35
	10 dz.	10	438	44	0,44	260	26
	20 „	3	99	33	0,33	84	28
	30 „	1	30	30	0,30	25	25
Serja II	Norma	11	504	46	0,46	323	29
	10 dz.	10	509	51	0,51	293	29
	20 „	8	729	91	0,91	354	44
	30 „	3	132	44	0,44	92	31
Serja III	Norma	10	526	53	0,53	359	36
	10 dz.	7	717	102	1,02	420	60
	20 „	5	283	56	0,57	197	39
	30 „	4	380	95	0,95	220	55

zwiększeniu, paciorkowca (33) obniża się o połowę w stosunku do normy.

W 30 dn. awitaminozy fagocytoza pał. gruźliczej (44) dość znacznie się obniża, paciorkowca (30) obniża się o połowę w stosunku do okresu żywienia normalnego, pał. okrężnicowej (297) nieco się obniża.

Wskaźnik fagocytny wynosi normalnie dla pał. gruźliczej 0,75 dla pał. okrężnicowej — 3,21, paciorkowca 0,62. W 10 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej 0,59, pał. okrężnicowej 3,43 i paciorkowca 0,44 czyli dla pał. gruźliczej i paciorkowca — nieco się obniża, dla pał. okrężnicowej — nieco się podnosi. W 20 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej 0,69, pał. okrężnicowej 4,09 i paciorkowca 0,33 czyli dla pał. gruźliczej — nieco się podnosi, dla pał. okrężnicowej — dość znacznie się podnosi, dla paciorkowca — obniża się. W 30 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej — 0,44, pał.

T A B L I C A Nr. 4.

	Pochłanianie drobnoustrojów					Liczba fagoc. czyn.	
		Liczba świnek doświad.	Liczba ogół- na drobn. pochł.	Liczba przeciętna dla 1 świnki	Wskaźnik fagocytny	Liczba ogólna	% fagocytów czynnych
Pał. gruźlicza	Norma	31	2503	81	0,81	1132	37
	10 dz.	27	2087	77	0,77	1009	37
	20 „	16	1615	101	1,01	797	50
	30 „	8	311	39	0,39	205	26
Pał. okrężnicowa	Norma	41	10245	250	2,50	2990	73
	10 dz.	31	8745	282	2,82	2364	76
	20 „	22	5173	235	2,35	1502	68
	30 „	14	2090	149	1,49	655	47
Paciorkowiec	Norma	31	1651	53	0,53	1027	33
	10 dz.	27	1664	62	0,62	973	36
	20 „	16	1111	63	0,70	635	40
	30 „	8	542	68	0,68	337	42

okrężnicowej 2,97 i paciorkowca 0,30 czyli dla wszystkich 3-ch drobnoustrojów — obniża się.

Liczba fagocytów czynnych wynosi normalnie dla pał. gruźliczej — 36, dla pał. okrężnicowej—85 i dla paciorkowca—35. Dla pał. gruźliczej w 10 dn. (34) i w 20 dn. (38) awitaminozy pozostaje na poziomie normy, w 30 dn. (24) ulega znacznemu obniżeniu. Dla pał. okrężnicowej liczby fagocytów czynnych w 10 dn. (87) i 30 dn. (84) awitaminozy pozostają na poziomie normy, a w 20 dn. (92) nieco się zwiększają. Dla paciorkowca—liczby fagocytów czynnych w 10 dn. (26), 20 dn. (28) i 30 dn. (25) awitaminozy dają obniżenie.

W II-ej serji doświadczeń normalna zdolność fagocytna w stosunku do poszczególnych drobnoustrojów przedstawia

się liczbowo jak następuje: dla pał. gruźliczej—77, dla pał. okrężnicowej—347 i dla paciorkowca—46.

W 10 dn. awitaminozy fagocytoza pał. gruźliczej (61) nieco się obniża w porównaniu z normą, pał. okrężnicowej (363) i paciorkowca (51) pozostaje, naogół, na poziomie normy.

W 20 dn. awitaminozy fagocytoza pał. gruźliczej (142) i paciorkowca (91) zwiększa się dwukrotnie, pał. okrężnicowej (330) pozostaje na poziomie normy.

W 30 dn. awitaminozy fagocytoza pał. gruźliczej (61) i pał. okrężnicowej (300) nieco się obniża, paciorkowca (44) pozostaje na poziomie normy.

Wskaźnik fagocytarny wynosi normalnie dla pał. gruźliczej 0.77, dla pał. okrężnicowej 3.47, dla paciorkowca 0.46.

W 10 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej 0.61, pał. okrężnicowej 3.62 i paciorkowca 0.51 czyli dla pał. gruźliczej nieco się obniża, dla pał. okrężnicowej i paciorkowca nieco się podnosi.

W 20 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej — 1.42, dla pał. okrężnicowej 3.30 i paciorkowca 0.91 czyli dla pał. gruźliczej i paciorkowca—podnosi się, dla pał. okrężnicowej—obniża się.

W 30 dn. awitaminozy dla pałeczki gruźliczej 0.61, dla pał. okrężnicowej 3.00, dla paciorkowca 0.44 czyli dla wszystkich 3-ch drobnoustrojów—obniża się.

Liczba fagocytów czynnych w normie dla pał. gruźliczej 34, pał. okrężnicowej 88, paciorkowca 29. Dla pał. gruźliczej w 10 dn. (30) i 30 dn. (33) awitaminozy pozostaje na poziomie normy, w 20 dn. (64) zwiększa się dwukrotnie. Dla pał. okrężnicowej liczba fagocytów czynnych w 10 dn. (88) i 20 dn. (84) awitaminozy pozostaje na poziomie normy, w 30 dn. (76) nieco się obniża. Dla paciorkowca liczba fagocytów czynnych w 10 dn. (29) i 30 dn. (31) awitaminozy pozostaje na poziomie normy, w 20 dn. (44) nieco się zwiększa.

W III-ej serji doświadczeń normalna zdolność fagocytarna w stosunku do poszczególnych drobnoustrojów przedstawia się liczbowo jak następuje: dla pał. gruźliczej — 91, pał. okrężnicowej—226, paciorkowca—53.

W 10 dn. awitaminozy fagocytoza pał. gruźliczej (128) dość znacznie się zwiększa, pał. okrężnicowej (201) nieco się obniża, paciorkowca (102) zwiększa się dwukrotnie.

W 20 dn. awitaminozy fagocytoza pał. gruźliczej (54) obniża się prawie dwukrotnie, pał. okrężnicowej (170) znacznie się obniża, paciorkowca (56) pozostaje na poziomie normy.

W 30 dn. awitaminozy fagocytoza pał. gruźliczej (21) obniża się czterokrotnie, pał. okrężnicowej (188) dość znacznie, paciorkowca (95) zwiększa się dwukrotnie.

Wskaźnik fagocytny wynosi normalnie dla pał. gruźliczej—0.91, dla pał. okrężnicowej—2.26, paciorkowca—0.53. W 10 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej—1.27, dla pał. okrężnicowej—2.01, paciorkowca—1.02, czyli dla pał. gruźliczej i paciorkowca podnosi się, dla pał. okrężnicowej obniża się. W 20 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej—0.54, dla pał. okrężnicowej—1.70, paciorkowca—0.57 czyli dla pał. gruźliczej i okrężnicowej—obniża się, dla paciorkowca pozostaje prawie bez zmiany. W 30 dn. awitaminozy dla pał. okrężnicowej—1.87, paciorkowca—0.95 czyli dla pał. gruźliczej i okrężnicowej — obniża się, dla paciorkowca — podnosi się.

Liczba fagocytów czynnych w normie dla pał. gruźliczej—40, pał. okrężnicowej—68, paciorkowca—36. Dla pał. gruźliczej w 10 dn. (54) awitaminozy nieco się zwiększa, w 20 dn. (35) awit. pozostaje na poziomie normy, w 30 dn. (21) — obniża się o połowę w stosunku do normy.

Dla pał. okrężnicowej liczba fagocytów czynnych w 10 dn. (67) awitaminozy pozostaje na poziomie normy, w 20 dn. (60) — nieco się obniża, w 30 dn. (77) nieco się zwiększa. Dla paciorkowca — w 10 dn. (60) awit. zwiększa się dwukrotnie, w 20 dn. (39) — pozostaje na poziomie normy, w 30 dn. (55) nieco się zwiększa.

W IV-ej serji doświadczeń wykonanych wyłącznie z pał. okrężnicową stwierdzamy, że normalna zdolność fagocytna daje liczbę — 95. W 10 dn. (111) awitaminozy fagocytoza pał. okrężnicowej nieco się zwiększa, w 20 dn. (76) nieco się obniża, w 30 dn. (24)—ulega znacznemu dalszemu obniżeniu. Wskaźnik fagocytny w normie wynosi dla pał. okrężnicowej 0.95,

w 10 dn. (111), w 20 dn. 0.76, w 30 dn. 0.24, czyli początkowo nieco się podnosi, następnie stopniowo obniża się.

Liczba fagocytów czynnych dla pał. okrężnicowej w normie 49, w 10 dn. (47) pozostaje na poziomie normy, w 20 dn. (42) nieco się obniża, w 30 dn. (6) ulega bardzo silnemu obniżeniu.

We wszystkich serjach doświadczeń, w normalnych warunkach jako też w różnych okresach awitaminozy pał. okrężnicowa najłatwiej ulega fagocytozie, znacznie gorzej — pał. gruźlicza i paciorkowiec.

Różnica w stopniu fagocytozy pomiędzy dwoma ostatnimi drobnoustrojami jest nieznaczna.

W przedstawionych wyżej wynikach spostrzeżeń dokonanych w 4-ch serjach zaznaczały się wahania indywidualne liczb otrzymywanych od poszczególnych świnek.

Wahania te zależeć mogły od rozmaitego stopnia wrażliwości świnek na brak witaminy C, rozmaitego wieku świnek, od braków metodyki spostrzeżeń i t. d.

Różnice w pochłanianiu drobnoustrojów w poszczególnych serjach dla pał. gruźliczej i paciorkowca nie były znaczne — we wszystkich 3-ch serjach stały one naogół na tym samym poziomie. Nieco inaczej stosunki ułożyły się dla pał. okrężnicowej. O ile serje I i II dały liczby jednakowe, serja III liczby nieco większe, to serja IV dała liczby jeszcze większe, znacznie odchylające się od liczb I i II serji.

Rozpatrując tablicę IV zestawiającą całokształt doświadczeń, stwierdzamy, że wskaźnik fagocytarny w warunkach normalnych wynosi dla pał. gruźliczej 0.81, dla pał. okrężnicowej 2.50, dla paciorkowca 0.53. W 10 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej 0.77, dla pał. okrężnicowej 2.82, paciorkowca 0.62 czyli, że dla pał. gruźliczej nieco się obniża, dla pał. okrężnicowej i paciorkowca — nieco się podnosi. W 20 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej 1.01, dla pał. okrężnicowej 2.35, dla paciorkowca 0.70, czyli dla pał. gruźliczej znacznie się podnosi, dla pał. okrężnicowej nieco się obniża, dla paciorkowca — nieco się podnosi. W 30 dn. awitaminozy dla pał. gruźliczej 0.39, dla pał. okręż-

nicowej 1.49, dla paciorkowca 0.68 czyli dla pał. gruźliczej i okrężnicowej znacznie się obniża, dla paciorkowca nieco się zwiększa.

Liczba fagocytów czynnych w warunkach normalnych dla pał. gruźliczej 37, pał. okrężnicowej 73, paciorkowca 33. Dla pał. gruźliczej w 10 dn. (37) awitaminozy pozostaje bez zmiany, w 20 dn. (50) nieco się zwiększa, w 30 dn. (26) wyraźnie się obniża. Dla pał. okrężnicowej liczby fagocytów czynnych w 10 dn. (76) i 20 dn. (68) awitaminozy pozostają na poziomie normy, w 30 dn. (47) wyraźnie się obniżają. Dla paciorkowca liczby fagocytów czynnych w 10 dn. (36) awitaminozy pozostają na poziomie normy, w 20 dn. (40) i 30 dn. (42) awitaminozy nieco się zwiększają. Reasumując teraz całokształt doświadczeń możemy je uogólnić we wnioskach następujących.

WNIOSKI.

1. Zdolność odczynowa otrzewny świnek morskich na drażnienie rozmaitemi czynnikami chemicznymi podczas gnilca doświadczalnego jest obniżona.

2. Zdolność fagocytarna leukocytów krwi świnek morskich podczas gnilca doświadczalnego w stosunku do pał. gruźliczej i okrężnicowej ulega znacznemu (prawie dwukrotnemu) obniżeniu, w stosunku zaś do paciorkowca wykazuje niedużą skłonność do wzmożenia się.

3. Z drobnoustrojów badanych najłatwiej ulega fagocytozie pał. okrężnicowa, znacznie trudniej pał. gruźlicza i paciorkowiec.

4. Liczba leukocytów czynnych podczas rozmaitych okresów gnilca doświadczalnego w stosunku do normy nie daje znacznych odchyłań.

5. Dane otrzymane w wyniku spostrzeżeń pozwalają przypuszczać, że obniżona zdolność fagocytarna leukocytów krwi podczas gnilca doświadczalnego może odgrywać pewną rolę w patogeniezie spraw zakaźnych w warunkach awitaminozy.

De l'Institut Municipal d'Hygiène de la ville de Varsovie.
Directeur Prof. A. Ławynowicz.

LE POUVOIR PHAGOCYTAIRE DES LEUCOCYTES DU SANG DES COBAYES AU COURS DU SCORBUT EXPERIMENTAL.

PAR

S. DŁUŻEWSKI.

L'auteur à la suite de ses observations comparatives sur les cobayes normaux et alimentés sans vitamines cherche d'étudier l'influence de l'état d'avitaminose sur le phénomène de phagocytose.

Les expériences sont faites sur 41 cobayes. Le pouvoir phagocytaire de leucocytes est examiné „in vitro” avec 3 espèces de microbes (Bac. tubercul., Bact. coli, Streptococcus), selon la méthode de Wright.

Les conclusions tirées de ces expériences sont suivantes:

1. Le pouvoir réactif de l'organisme pendant le scorbut diminue considérablement. Les injections intrapéritonéales de substances irritantes (aleuronat, pepton, terre infusoire etc.) ne provoquent pas, (contrairement à l'état normal), la formation d'exsudat contenant des leucocytes.

2. Le pouvoir phagocytaire des leucocytes pendant le scorbut expérimental par rapport au bacille de coli et à celui de la tuberculose subit une diminution prononcée, par rapport au Streptocoque il est un peu augmenté.

3. Parmi les microbes observés le bac. coli subit le plus facilement la phagocytose; la phagocytose du bacille tuberculeux et de Streptocoque est moins intense.

4. Le nombre de leucocytes actifs (phagocytants) pendant les divers phases du scorbut expérimental ne diffère pas en comparaison à l'état normal.

5. D'après les données présentées, la diminution de phagocytose pourrait être un des facteurs de la pathogenèse de l'infection dans les conditions d'avitaminose.

PIŚMIENNICTWO.

1. Hamburger. „Physikal-chem. Untersuch“. Wiesbaden 1912.
2. Höber. „Physik. Chemie der Zelle“. Leipzig, 1924.
3. Philippsborn. „Klin. Wochschr.“ Nr. 9, 1926.
4. Setti. „Biochem. e terap. speriment.“ 1923. T. X. (Według Funka „Med. Dośw. i Społ.“, T. IV, 1925).
5. Mouriquand, Rochaix, Michel. „C. R. S. B.“ 1923, T. 88 i 89.
6. Arloing et Dufourt. „C. R. S. B.“ 1923, T. 88.
7. Coulaud. „Rev. tuberc.“ Nr. 4, 1923.
8. Nassau, Scherrer. „Kl. Woch.“ Nr. 3, 1924.
9. Ishido. „Kl. Woch.“, Nr. 44, 1923.
10. Werkman, Nelson, Fulmer. „Abstr. Bact.“, 1924, 8, 29. (Według Funka „Med. Dośw. i Społ.“, T. IV 1925).
11. Bieling. „Ztschr. f. Hyg.“ 1925.
12. Smith, Wason. „J. Immun.“ 8, 1923. (Według Funka „Med. Dośw. i Społ.“, T. IV, 1925).
13. Hryniewiczówna i Ławrynowicz. „Med. Dośw. i Społ.“ 1927. T. VII.
14. Bohdanowiczówna i Ławrynowicz. „Med. Dośw. i Społ.“, 1926. T. VI.
15. Ławrynowicz. „Nowiny Lekarskie“, 1926. Nr. 1 (Streszczenie zbiorowe).
16. Funk. „Die Vitamine“ Münch. 1924.



Wpłynęło 3.XII 1930 r.

Z Miejskiego Instytutu Higjeny m. st. Warszawy.
(Kier. Dr. A. Ławrynowicz).

HAMUJĄCE DZIAŁANIE ŻÓŁCI NA WZROST MGŁAWICOWY ODMIENCA

PODAŁA

DR. J. SZYMAŃSKA.

Zdolność odmięca pospolitego do wzrostu mgławicowego stanowi często przeszkodę do wyodrębnienia z hodowli mieszanych (kał) pałeczek grupy okrężnicowo-durowej.

W piśmiennictwie znajdujemy cały szereg spostrzeżeń nad czynnikami hamującymi mgławicowy wzrost odmięca.

Braun i Schaeffer podają jako czynnik hamujący kwas karbowy 5%, dodany w ilości 2 cm.³ do 100 cm.³ agaru.

Goldberżanka podaje jako środek hamujący 1% roztwór op-tochiny.

Schuback stosował surowicę przeciwdmięcową w ilości 0,2—3,3 cm.³ na 10,0 agaru, lub w ilości podwójnej do pożywki Endo.

Bergmann próbuje zastosować 20 — 25% roztwór ługu sodowego lub potasowego w ilości 0.1 na 10 cm.³ mleka z lak-musem dla wyodrębnienia paciorkowca z hodowli mieszanych z odmięcem.

Kleinsorgen i Jusatz zbadał działanie żółci dodanej w ilości 3% do pożywki Endo.

Stosowanie powyższych czynników dało rezultaty niejednakowe; naogół czynniki podane hamowały mgławicowy wzrost odmienia, lecz wpływały ujemnie również na rozwój bakterij chorobotwórczych. Stwierdzono, że przy zastosowaniu kwasu karbolowego w hodowlach mieszanych pałeczka durowa da się wyodrębnić tylko wtedy, gdy szczep odmienia jest w ilości mniejszej niż szczep grupy okrężnicowo-durowej (*Süring, Goldberżanka*). Surowica odpornościowa przeciwdmiennej działa na szczep, którym uodporniono królika, pozatem jako metoda technicznie kłopotliwa, nie może znaleźć zastosowania (*Goldberżanka*).

Pęksa zbadał metodę poleconą przez *Bergmann*, modyfikując ją o tyle, że stosował silniejsze roztwory ługu sodowego 30 — 35 — 40%. Doszedł on do wniosku, że 40% roztwór ługu dodany w ilość 0,1 cm.³ do 10,0 cm.³ mleka jest szkodliwy dla wielu szczepów odmienia, jednak w hodowlach mieszanych nie udało mu się oddzielić pałeczki okrężnicy i duru brzuszego od odmienia.

Najbardziej pomyślne wyniki otrzymał *Kleinsorgen* i *Jusatz* stosując żółć. Wychodzi on z założenia, że odmieniec jest bakterją gnilną, i dlatego czynniki hamujące gnicie, do których należy i żółć, powinny najlepiej doprowadzić do celu, tembardziej, że podane przez innych autorów czynniki, jak sól kuchenna w roztworze hipertonicznym, i fenol, są również środkami przeciwnilnemi. *Kleinsorgen* i *Jusatz* wykonał próbę w ten sposób, że do zwykłego podłoża Endo dodawał 3% żółci wołowej i przygotowywał płytki, zawierające pożywkę Endo z żółcią i jednocześnie płytki kontrolne bez żółci. Wszystkie szczepy odmienia zasiane na pożywce Endo z żółcią zostały zahamowane, gdy te same szczepy odmienia, zasiane na pożywce Endo bez żółci dały wzrost mgławicowy.

Czyste hodowle bakterij chorobotwórczych jak pałeczka durowa, pałeczka paratyfusowa A i B, oraz pałeczka okrężnicowa, dawały na pożywce Endo z żółcią znacznie obfitszy wzrost, niż na Endo zwykłym. Zachęteni tą próbą autorowie stosowali tę metodę przez cały rok zasiewając materiał badany równolegle na zwykłej pożywce Endo i na pożywce Endo z żółcią; we wszystkich prawie przypadkach stosowanie żółci okazało się celowym.

W celu wyjaśnienia wartości żółci do zahamowania mgławicowego wzrostu odmienia, wykonałam szereg doświadczeń w dwóch etapach: 1) chodziło mi o odpowiedź na pytanie, czy żółć istotnie działa hamująco na mgławicowy wzrost odmienia i w jakich dawkach działa najlepiej; 2) — czy istnieje możliwość wyodrębnienia z hodowli mieszanych pałeczek grupy okrężnicowo-durowej.

Do zwykłego podłoża Endo dodawałam żółć w różnych ilościach 3%, 5% i 10%. Zbadałam 25 szczepów odmienia wyhodowanych z materiału bieżącego pracowni, każdy szczep zasiewałam na 3 płytkach zawierających pożywkę Endo z żółcią w ilości 3,5 i 10% i na jednej płytce kontrolnej, zawierającej pożywkę Endo bez żółci. Płytki pozostawały w cieplarni przez 16 — 20 godzin w temperaturze 37°. Na płytkach z żółcią otrzymałam zahamowanie mgławicowego wzrostu odmienia w różnym stopniu w zależności od procentowej zawartości żółci; odmieniec zahamowany rósł w postaci oddzielnych, ściśle ograniczonych, kolonji, na niektórych płytkach odmieniec dawał mgławicowy wzrost nie rozlewający się po całej płytce, lecz mniej lub więcej ograniczony.

Na płytkach kontrolnych wszystkie szczepy dały typową mgławicę, zasnuwającą całą płytkę. Wyniki spostrzeżeń były następujące: przy 3% żółci na 25 szczepów wzrost mgławicowy był całkowicie zahamowany w 2-ch przypadkach; w 7-miu przypadkach — mgławica nie pokrywała całej płytki — była ograniczona; pozostałe 16 szczepów dawały typową mgławicę.

Przy 5% żółci zahamowaniu zupełnemu uległo 13 szczepów, a więc połowa szczepów.

Przy 10% żółci zahamowaniu zupełnemu uległy 24 szczepy, a więc prawie wszystkie szczepy.

Z powyższych danych widzimy, że najlepsze wyniki otrzymujemy przy zastosowaniu 10% żółci.

Następnie przystąpiłam do drugiej części doświadczenia czyli do próby wyodrębnienia bakterij chorobotwórczych z hodowli mieszanych.

Aby się przekonać jaki wpływ wywiera żółć na wzrost pałeczek grupy okrężnicowo-durowej, zasiałam kilka czystych szcze-

pów pałeczki durowej, paratyfusowej A i B oraz pałeczki okrężnicowej na płytkach zawierających pożywkę Endo z żółcią w ilości 3 — 5 — 10%, oraz na płytkach kontrolnych bez żółci; na płytkach z żółcią wzrost pałeczek był obfitszy, niż na płytkach bez żółci.

Przekonawszy się o tem, przystąpiłam do właściwej próby: w tym celu przygotowałam zawiesinę w soli fizjologicznej ze szczepu pałeczki okrężnicowej oraz odmienia i zasiewałam tę mieszanę na pożywce Endo z żółcią w takich samych dawkach, jak poprzednio, oraz na płytkach kontrolnych.

Zbadałam 7 szczepów okrężnicy; wyniki były następujące. przy dodaniu 3% żółci do pożywki Endo udało się wydzielić pałeczkę okrężnicową w dwóch przypadkach; przy dodaniu 5 i 10% udało się wydzielić pałeczkę okrężnicy w 5-ciu przypadkach.

W ten sam sposób przygotowałam zawiesinę ze szczepu pałeczki durowej i odmienia i zasiałam mieszaninę na podłożu, zawierajem pożywkę Endo z żółcią i bez żółci; zbadano trzy szczepy pałeczki durowej: 2 szczepy udało się wyodrębnić z podłoża, zawierającego 5 i 10% żółci; kontrolne płytki w obydwóch próbach były pokryte mgławicą odmienia.

W toku pracy zauważono, że niektóre szczepy odmienia nie dają się zahamować przy dodaniu 10% żółci; zachodzą tu dwie możliwości; albo mamy do czynienia ze specjalnie opornym szczepem, dającym stale wzrost mgławicowy, albo chodzi tu o skład i właściwości żółci, bowiem do pożywki Endo używano różnych seryj żółci. Dodanie żółci stwarza środowisko niekorzystne dla mgławicowego wzrostu odmienia; bakteria gnilna jaką jest odmieniec nie może rozwijać się dobrze w środowisku przeciwnym.

Ze wszystkich czynników zbadanych przez autorów żółć daje najlepsze wyniki; dodanie żółci do podłoża stwarza środowisko fizjologiczne w którym ulega zahamowaniu wzrost mgławicowy odmienia i które jednocześnie nie tylko nie uszkadza bakterji chorobotwórczych (pałeczka durowa) lecz przeciwnie pobudza je do obfitszego wzrostu.

WNIOSKI

Żółć działa hamująco na mgławicowy wzrost odmienia; najlepiej działa w ilości 10%; pałeczki grupy okrężnicowo-durowej dają się wyodrębnić z hodowli mieszanych z odmieniem na podłożu Endo zawierającym żółć w ilości 5% i 10%.

Laboratoire bactériologique de l'Institut municipal d'Hygiène à Varsovie.
(Dr. Ławrynowicz).

L'ACTION INHIBITRICE DE LA BILE SUR LA CROISSANCE EN NAPPE DE PROTEUS VULGARIS

PAR

DR. J. SZYMAŃSKA.

Nous avons examiné l'action inhibitrice de la bile sur la croissance en nappe de *Proteus vulgaris*. Nos conclusions sont suivantes:

1) Dans le milieu d'Endo la bile en quantité de 10% arrête le croissance en forme de nuage de *Proteus vulgaris*.

2) Dans les cultures mixtes du *Proteus* et de bacilles du groupe *Coli-typhus* on peut isoler ces derniers sur le milieu d'Endo, contenant la bile en quantité de 5 à 10 p. c.

PIŚMIENNICTWO.

- 1) Goldberżanka J. Medycyna Doświadczalna, 1924, T. VIII, str. 121.
2) Pęksa. Lekarz Wojskowy, T. 15, 1930, Nr. 10-11-12, str. 322. 3) Seydel J. Medycyna Doświadczalna, 1924, T. 'III, str. 113. 4) Braun i Schaeffer. Zeitschr. für Hygiene, T. 89, 1919, str. 339. 5) Kleinsorgen u. Jusatz. Centralbl. für Bact. 1927, T. 107, str. 439.

Wpłynęło 1. IX. 1930.

BADANIA NAD GRUPAMI KRWI W ZWIĄZKU Z ZAGADNIENIAMI SEROLOGJI KONSTITUCYJNEJ

PODAŁ

L. HIRSZFELD.

Częściowo według odczytu, nadesłanego do wygłoszenia, jako referat programowy na
Zjeździe Międzynarodowym Mikrobiologów w Paryżu w lipcu r. 1930.

Znaczenie pewnej przesłanki naukowej można mierzyć liczbą gałęzi wiedzy, które powstały pod jej wpływem. Nie mogę w krótkim odczycie uwypuklić całokształtu badań nad grupami krwi, zadowolnię się jedynie omówieniem kilku spraw, które są związane z temi badaniami i które umożliwiają pogłębienie pojęć o zjawiskach odpornościowych, w kierunku serologii konstytucyjnej.

Jak wiadomo, badania nad grupami zostały zapoczątkowane przez *Landsteinerja*, który wykazał różniczkowanie biochemiczne krwi i obecność izoaglutynin w surowicy normalnej. Obecna swoją postać, jako część serologii konstytucyjnej, zawdzięczają badania te stwierdzeniu, że grupy krwi są dziedziczne (*Dungern i Hirszfeld*). Dziedziczny się jak wiadomo nie przynależność grupowa, a poszczególne chwytniki (A i B). Nie będę omawiał dokładnie spraw wzoru genetycznego, wspomnę jedynie, że wzór zaproponowany przez *Dungerna* i przeze mnie w 1911 r., wychodzący z założenia dwóch niezależnych par allelomorfów, opierał się na naszym materiale doświadczalnym i na istniejących wówczas danych genetycznych;

obecnie wzór ten będzie musiał być prawdopodobnie zmodyfikowany. Jak wykazał *Bernstein* hipoteza allelomorfów wielorakich bardziej odpowiada analizie matematycznej. Ale i hipoteza *Bernsteina* wykazuje pewne niezgodności i wyjątki, których nie będę dyskutował w przekonaniu, że zadaniem serologa było stwierdzenie zapomocą metod serologicznych nowych cech konstytucyjnych, podczas gdy zadaniem genetyka jest opracowanie wzoru genetycznego i umiejscowienie genów.

Drugim krokiem naprzód, było stwierdzenie różnic w rozpowszechnieniu grup krwi w zależności od rozsiedlenia geograficznego danego narodu lub rasy. Kierunek ten dotyczy najgłębszych zagadnień powstania i migracji ludów i przewyższa rozmachem swoich prac doświadczalnych inne kierunki biologii i medycyny. Ale i tej sprawy nie chcę omawiać w przekonaniu, że powinna ona być przedstawiona przez antropologa mimo, że jest dzieckiem serologii. Chciałbym natomiast rozpatrzyć bliżej związek grup krwi z patologią. Wyniki tych prac nie są współmierne do wysiłku badaczy. Wyraźne korelacje pomiędzy zapadalnością na poszczególne choroby, a przynależnością grupową nie zostały stwierdzone. Odczyn Wassermanna jak stwierdzono przez *Amzelównę*, *Halberównę* i *Straszyńskiego* i innych znika coprawda łatwiej w obrębie grupy O, niż w innych grupach, specjalnie w obrębie grupy AB. Nie ma to jednak wpływu na zapadalność na kiłę i związek z kiłą trzeciorzędową wbrew pracom *Gundla*, bynajmniej nie jest wyraźny. Zagadnienie wartości selekcyjnej poszczególnych grup zwłaszcza sprawa krótkowieczności osobników, należących do grupy B, może jeszcze podlegać dyskusji: badania *Oppenheima* i *Voigta* zostały do pewnego stopnia potwierdzone na materiale polskim przez *Dąbrowską* i *Halberównę*, różnice jednak są zbyt drobne, aby mogły upoważnić do wyciągania wniosków.

Związek pomiędzy rzucawką porodową a odmiennością grup krwi pomiędzy płodem, a matką nie istnieje. W jaki sposób płód posiadający inne ugrupowanie niż matka, może się rozwijać normalnie, nie jest w szczegółach znane. Dlatego też pozostawiam na uboczu powyższe kierunki badania, będące treścią dotychczasowej nauki o grupach i przechodzę do zagadnień, w których

widzę przyszłość serologii konstytucyjnej. Zatrzymam się na zagadnieniach następujących:

a) kiedy zaczyna się różniczkowanie chwytników grupowych w rozwoju ontogenetycznym, czy istnieją pod tym względem analogie do innych zjawisk serologicznych,

b) kiedy pojawiają się poraz pierwszy izoaglutyniny i czy można na zasadzie przebiegu krzywej, ich rozwoju dać nowe ujęcie odporności fizjologicznej,

c) jakie tkanki są różniczkowane grupowo? Czy wszystkie tkanki ustroju posiadają te same chwytniki grupowe, czy też można stwierdzić w obrębie ustroju różnice serologiczne, jak gdyby zniekształcenia grupowe i jaką rolę grają te zjawiska w powstawaniu raka wzgl. w odpowiednich zjawiskach odpornościowych.

U w a g a : Wobec tego, że prace nowe nad rakiem zostały bardzo szeroko omówione w piśmiennictwie polskim, (p. Med. Dośw.) nie podaję tej części mego odczytu paryskiego. Natomiast rozwinę pewną syntezę spraw odpornościowych, której nie mogłem uwzględnić w odczycie paryskim.

Pierwsze spostrzeżenia dotyczące czasu pojawiania się chwytników w życiu płodowym były poczynione przez *Landsteina*, *Dungerna* i *Hirszfelda*, następnie zaś *Hirszfelda*, *Zborowskiego*, *Döltera*, *Pistudi*, *Badino*, *Morvilla*, *Thomsena*, *Bioruma*, *Kempa* i innych. *Schenk* wykazał, że krwinki noworodka słabiej się aglutynują z surowicą izoaglutynacyjną i ostatnio *Thomsen*, *Biorum*, *Kemp* i *Ketten* zbadali ilościowo wrażliwość krwinek płodu noworodków i ludzi dorosłych w rozmaitych okresach życia. Badania te były oparte na określaniu miana izoaglutynacji i dlatego nie są wolne od zastrzeżenia, że różnice te mogą polegać na odmienności niektórych cech fizykalnych, jak zawieszalność i t. p. Należałoby zatem przebadać nie tylko wrażliwość na izoaglutyniny, ale i własności absorpcyjne. Mimo tych zastrzeżeń prawdopodobnem jest jednak, że wrażliwość na izoaglutyniny idzie w parze z liczbą lub z powinowactwem chwytników. W związku z tem chciałbym podać tabliczkę nakreśloną przez *Thomsena* i jego uczniów, która wykazuje „rozwój” izoreceptorów. W tabliczce tej wrażliwość krwinek osobników dorosłych na izoaglutyniny jest oznaczona wartością 100, zaś wrażliwość krwinek osobników w poszczególnych okresach życia jest oznaczona przez stosunek miana izoaglutynacji dla krwinek ludzi danego wieku, i dla krwinek ludzi i dorosłych. Rozwój ten przedstawia się ilościowo, jak następuje:

stosunek procentowy wrażliwości
Wiek krwinek badanych do wrażliwości
krwinek osobników dorosłych

	A	B
Płody i noworodki	14	20
0— $\frac{1}{2}$ roku	20	21
$\frac{1}{2}$ — 1 „	29	23
1— 2 „	34	31
2— 7 „	45	47
7—16 „	73	56
20—30 „	100	100

Protokół ten wykazuje, że izoreceptory rozwijają się stopniowo. U noworodków mamy $\frac{1}{5}$, w dzieciństwie $\frac{3}{4}$ wrażliwości krwinek ludzi dojrzałych. Należy zaznaczyć, że podług badań *Dungerna* i *Hirszfelda*, potwierdzonych ostatnio przez *Landsteinera* i *Thomsena*, wrażliwość krwinek grupy A u dorosłych nie jest jednakowa; około 15% ludzi posiada krwinki zlepiające się słabiej. Również i element A w grupie AB jest (p/g *Thomsena*) słabszy. Określenie zatem zlepności krwinek ludzi dorosłych, jako „pełnowartościowej“ tyczy się większości, ale nie wszystkich osobników.

Czy ten rozwój izoreceptorów jest zjawiskiem *sui generis*, czy też jedynie łatwo spostrzegalnym wyrazem różniczkowania serologicznego w ustroju? Sądzę, że to ostatnie przypuszczenie jest słuszne. Wiemy, że krwinki młodych zwierząt (np. kurcząt) są niewrażliwe na niektóre jady np. na arachnolizynę, podczas gdy krwinki zwierząt dorosłych hemolizują się pod wpływem tego jadu z łatwością. Odczyny *Dicka* i *Schicka* są u noworodków zwykle ujemne. Zależy to czasami od fizjologicznej obecności antytoksyn, przekazanych przez matkę, często jednak antytoksyn we krwi stwierdzić nie można, a mimo to odczyny *Schicka* i *Dicka* są ujemne. (*Groer*, *Brokman* i inni). Ostatnio *Friedberger*, nawiązując do prac naszych, stwierdza niewrażliwość skóry noworodka na wiele czynników, wywołujących zapalenie. Istota tej areaktywności niezupełnie jest wyjaśniona, badania nad izoaglutynacją krwinek w zależności od wieku czy-

nią prawdopodobnem, że mamy tutaj do czynienia z brakiem chwytników, warunkujących powinowactwo tkanki do jądów. W związku z temi faktami mówimy o odporności areaktywnej, polegającej nie na czynnej obronie, nie na spotęgowaniu sił odpornościowych, lecz na biochemicznej obojętności tkanki. Ten rodzaj odporności spotykamy np. u zimnokrwistych w stosunku do jadu tężcowego, u szczura w stosunku do jadu błoniczego i t. p. Ale i odporność osobnicza, jak to podkreślił *Brokman*, może posiadać mechanizm podobny. Dopiero wytworzenie się powinowactwa do jadu warunkuje ustosunkowanie się organizmu do zarazku chorobotwórczego. Otóż zróżniczkowanie biochemiczne komórki, znajdujące swój wyraz w wytworzeniu się powinowactwa, podlega prawdopodobnie swoistej, bliżej nieznannej ewolucji. Czy powstanie chwytników, które znalazły tak przejrzysty wyraz w ewolucji izoreceptorów, zależy również od czynników zewnętrznych, od bodźców odpornościowych, czy też mamy do czynienia z rozwojem samorzutnym, niezależnym od warunków zewnętrznych?

Siły odpornościowe, jak omówimy to jeszcze później, mogą rozwijać się samoistnie, a czynniki uodparniające potęgują je. Powstaje zatem zagadnienie, czy i wytwarzanie się powinowactwa podlega prawom podobnym i czy bodźce zewnętrzne grają tutaj jakąkolwiek rolę. Dawna serologia rozstrzygała tę sprawę w sensie dodatnim. Znanem jest ciekawe spostrzeżenie *Behringa*, że czasami zwierzęta w czasie uodparniania nabierają zwiększonej wrażliwości. Zjawiska te były zresztą podstawą teorii bocznych łańcuchów *Ehrlicha* i *Morgenrotha*. Autorzy ci twierdzili, jak wiadomo, że pod wpływem toksyny chwytniki (łańcuchy boczne) komórek początkowo ulegają zniszczeniu, następnie odradzają się w nadmiarze i wreszcie, jako trzeci akt w przebiegu uodparniania, odrywają się i dostają się do krwioobiegu, jako ciała odpornościowe. A zatem w pewnym momencie komórka posiadałaby chwytników więcej, a co zatem idzie reagowałaby na antygeny w sposób silniejszy. W myśl koncepcji *Ehrlicha* uodparnianie swoiste tylko w swojej ostatniej fazie potęguje siły odpornościowe ustroju, w swojej fazie przedostatniej stwarza lub potęguje powinowactwo tkanki do antygeny.

Ostatnie badania wskazują na to, że odczyny alergiczne są wyrazem powinowactwa tkanki, istniejącego już fizjologicznie, i jedynie ulegającego spotęgowaniu. *Brokman i Hirsfeldowa* stwierdzili wrażliwość fizjologiczną skóry na malleinę, co zostało w międzyczasie rozszerzone przez autorów na tuberkulinę. Wreszcie badania *Brokmana i Majznera* i wykazały możność potęgowania powinowactwa do poszczególnych jądów. Innemi słowy drogą zadziałania swoistego lub nieswoistego można potęgować istniejące powinowactwo lub pozornie nawet stwarzać nowe, a zatem, w myśl powyższych wywodów, powodować powstanie nowych chwytników. Badania nad grupami dają i w tym kierunku kilka spostrzeżeń analogicznych poniekąd do zjawisk omawianych powyżej.

Kilka lat temu w związku z badaniami nad dziedzicznością grup krwi i odczynu *Schicka* wśród ludności w Burakowie pod Warszawą zauważyłem, że krew pobrana z palca i zbadana dnia następnego, należała prawie bez wyjątku do grupy AB. Ponieważ grupa ta, jak wiadomo, jest najrzadszą, po kilku dniach pobrałem powtórnie krew jałowo tym razem z żyły i sprawdziłem grupę po raz drugi. Ku memu najwyższemu zdziwieniu okazało się, że określenie pierwsze było mylne, że krew należała do grupy O lub A. Nastąpiła więc jakgdyby masowa infekcja krwinek, która zmieniła ich aglutynację. Przypuszczenie to okazało się słusznem, albowiem krew zmieniona, dodana do krwi niezlepiającej się zmieniała jej własności grupowe. Zjawisko to nazwaliśmy z p. *Amzelówną*: przeszczepialną aglutynacją krwinek. Na kilka miesięcy wcześniej badacz duński *Thomsen* opisał zjawisko identyczne, wreszcie w piśmiennictwie istnieją podobne spostrzeżenia *Schiffa*. Zjawisko to zostało nazwane przez uczniów *Thomsena* zjawiskiem *Thomsena* (nazwa nieodpowiednia, gdyż nie mówi nic o istocie zjawiska). Zaproponowana przez nas nazwa: aglutynacji przeszczepialnej podkreśla analogję do przeszczepialnej lizy bakteryjnej. Spostrzeżenia autorów wskazywały na infekcję krwinek; dopiero jednak *Friedenreich* wyhodował kilka gatunków bakteryj, które pozwalają reproduковать to zjawisko doświadczalnie. Bliższa analiza tego zjawiska wykazała, że mamy tutaj do czynienia z chwytnikiem na pozór nie istniejącym,

względnie bardzo słabo zaznaczonym, który pod wpływem zakażenia ujawnia się i daje się z łatwością wykryć zapomocą surowic ludzkich, bez różnicy grupy, nie wyłączając własnej. Widzimy zatem, że istnieją powinowactwa utajone, chwytники na pozór nieistniejące ale jednak bez wątpienia uwarunkowane konstytucyjnie, które pojawiają się w pewnych warunkach doświadczalnych i dają się wtedy wykryć w fenotypie. Nie chcę naturalnie twierdzić, że mechanizm powstawania i ujawniania chwytników utajonych jest w istocie swojej identyczny z powstawaniem alergii, względnie parallergii, lub ze zwiększeniem wrażliwości na jady i ze złośliwością przeszczepialną krwinek. Chciałbym jedynie podkreślić, że pojawienie się nowych chwytników, wydobyć utajonych powinowactw z tkanki jest obecnie pewnikiem.

Badania nad grupami krwi dają nam więc nie tylko nową metodykę, ale umożliwiają nowe podejście do spraw ewolucji zjawisk odpornościowych. Chciałbym w związku ze spostrzeżeniami nad aglutynacją przeszczepialną krwinek, nad alergią i zwiększoną swoistą wrażliwością na jady, odróżniać podobnie jak to czyni *Brokman* powinowactwo fizjologiczne i powinowactwo nabyte, jako dwa niezależne zjawiska analogiczne do odporności fizjologicznej i odporności nabytej. Prawa powstawania powinowactwa nabytego nie są jeszcze bliżej znane. Zwłaszcza sprawa przejścia od powinowactwa nabytego do odporności humoralnej winna być zbadana. Teoria łańcuchów bocznych *Ehrlicha*, która identyfikuje nadmiar chwytników bocznych (powinowactwo nabyte) w stanie wolnym (*freie Receptoren*) z ciałami odpornościowymi, krążącymi (odporność nabyta) jest jeszcze hipotetyczna. Badania lat ostatnich wskazują na to, że jedynie niektóre układy komórek zdolne są do wytwarzania ciał odpornościowych; nie jest bynajmniej pewnikiem, czy wszelka zatruta komórka wytwarzająca nadmiar chwytników, może wydzielać je do krwiobiegu i czy takie chwytники wolne są w stanie grać rolę ciał odpornościowych.

Jak widzimy niema jeszcze wystarczających podstaw do analizy związku serologii konstytucyjnej z patologją. Wrażliwość na chorobę jest zależna od szeregu czynników odpornościowych,

jak przepuszczalność tkanki w stosunku do zarazka, odporność fizjologiczna i nabyta, powinowactwo fizjologiczne i nabyte, tempo rozwojowe tych zjawisk, sprawność fagocytów i t. p. Wszystkie te sprawy są jeszcze programem prac, brak jednak jeszcze faktów, umożliwiających syntezę.

Widzieliśmy, że sprawa powstawania i ewolucji izoreceptorów jest jedynie częścią wielkiego zagadnienia konstytucjonalizmu w sprawach odpornościowych. Badania nad grupami obejmują jeszcze jedną stronę tego zagadnienia, a mianowicie powstawanie i rozwój izoaglutynin. Kiedy i dlaczego powstają te ciała? Dotychczas jedynie pierwsze pytanie może być uważane za rozstrzygnięte. Noworodek nie posiada ciał odpornościowych własnych, a te, które u niego istnieją, są prawie zawsze pochodzenia macierzystego. Badania moje ze *Zborowskim* wykazały przytem kilka szczegółów, jak zależność obecności izoaglutynin od wzajemnego ustosunkowania się serologicznego matki i płodu, (najczęściej spotykają się, gdy matka i dziecko należą do grupy O, najrzadziej gdy oboje mają cechę A), Pozatem zanik izoaglutynin we krwi pozałożyskowej, które mogłyby aglutynować krwinki dziecka i t. p.. Badania te zostały potwierdzone przez *Forssmana* i jego uczniów, *Morvilla* i innych. Jedynie w rzadkich przypadkach, można stwierdzić we krwi noworodka ciała odpornościowe dla krwi matki. Zwykle jednak noworodek własnych ciał takich nie posiada, otrzymane od matki drogą łożyskową zanikają w przeciągu kilku tygodni i dopiero z wiekiem pojawiają się przeciwciała własne pod wpływem nieprzewyciężonych konieczności rozwojowych. Powstaje jednak pytanie, w jakim tempie te ciała odpornościowe powstają, jakie prawa tem rządzą i czy można zauważyć różnice w rozwoju rozmaitych ciał odpornościowych. Należy podkreślić, że czynnik konstytucyjny w powstawaniu izoaglutynin nie ulega obecnie wątpliwości, jak to wykazały badania *Szymanowskiego* i *Wachlerówny* oraz *Kączkowskiego*. U zwierząt zauważyć można często brak cech grupowych połączonych z nieobecnością odpowiednich izoaglutynin. Istnieją zatem osobniki grupy O bez anti - A, wzgl. anti - B. Krzyżując zwierzęta grupy O bez izoaglutynin z takimi, które je posiadają, autorzy wykazali, że zdolność w zgl. niezdolność do ich wytwarzania

jest dziedziczna. W piśmiennictwie dyskutuje się sprawę, pod wpływem jakich czynników powstają izoaglutyniny. Otóż należy odróżniać przyczynę powstania izoaglutynin, tam gdzie one mają prawo powstać, (np. w obrębie grupy O) i przyczynę, z powodu której brak ich dla krwi własnej.

Wytwarzanie ciał odporn. jest funkcją innych narządów niż wytwarzanie chwytników w krwinkach i wszelka dyskusja, czy geny warunkujące powstawanie lub brak izoaglutynin są allelomorfami w stosunku do genów grup krwinek, czy też nie, jest bezprzedmiotowa. A zatem, jako zagadnienie odrębne musimy traktować sprawę, czy powstanie izoaglutynin a więc i innych ciał odporn. jest uwarunkowane konstytucyjnie. Obserwacje *Szymanowskiego* i doświadczenia *Kączkowskiego* wykazują to z całą pewnością; wskazują one też na to, że obecność takich ciał odporn., które że tak powiem mają serologiczne prawo do powstania jest cechą dominującą, zaś brak ich jest cechą recesywną. Zjawisko to nie ma nic wspólnego z brakiem ciał odporn. dla krwi własnej i jej podobnej. To ostatnie zagadnienie tłumaczy się najpewniej zahamowaniem zdolności aglutynacyjnych przez rozpuszczone izoaglutynogeny, krążące we krwi, a zatem jest zjawiskiem fenotypowym.

Powstawanie izoaglutynin i ich ewolucja są więc uwarunkowane konstytucyjnie. Jest to koncepcja z samego początku wysuwana przezemnie i innych badaczy polskich. *Schiff* i *Mendlowicz* potwierdzili nasze dane i zauważyli, badając izoaglutyniny ilościowo, że zanikają one u ludzi w starszym wieku, co, nawiązując do pojęcia ewolucji serologicznej ujęli słusznie, jako inwolucję serologiczną. *Thomsen* i jego współpracownicy ostatnio zbadali dokładnie rozwój izoaglutynin w poszczególnych kategoriach wieku. Określając siłę izoaglutynacji jako średnią arytmetyczną miana surowic osobników danego wieku, podają autorowie następującą tabliczkę, uwypuklającą rozwój izoaglutynin.

Wiek	—1	1—2	2—5	5—10	10—20	20—30	30—40
O Anty A	27	130	287	386	332	291	246
O Anty B	17	69	124	162	139	105	76
A Anty B	18	55	99	214	176	156	81
B Anty A	31	42	295	350	269	224	234

Wiek	40—50	50—60	60—70	70—80	80—90	90—100
O Anty A	179	174	118	149	81	38
O Anty B	53	46	37	42	28	38
A Anty B	56	66	44	51	33	40
B Anty A	245	127	124	131	116	35

Tablica wykazuje, że najwyższe miano izoaglutynin mają dzieci pomiędzy 5 — 10 rokiem. Później następuje stopniowo spadek, który postępuje tak daleko, że surowice starców posiadają izoaglutyniny nie wiele mocniejsze niż małe dzieci. Dość ważne, o ile się to potwierdzi, wydają mi się różnice w ewolucji izoaglutynin w obrębie rozmaitych grup: miano anty-A jest zwykle wyższe niż anti-B, izoaglutyniny anty-A są w grupie O trochę mocniejsze, niż w grupie B, podczas gdy krzywa dla anty-B wykazuje przebieg odmienny. Tablica wykazuje dobitnie prawa wzrostu i rozwoju ciał odporn. fizjolog. Czy mamy tutaj do czynienia ze zjawiskiem, dotyczącem jedynie izoaglutynin? W pracach naszych staliśmy zawsze na stanowisku, że prawo to dotyczy również i rozwoju innych przeciwciał. Wspólnie z *Brokmanem* i *Hirszfeldową* zwróciliśmy uwagę na krzywe rozwoju antytoksyn, przypominające rozwój izoaglutynin. Z *Seydlówną* zajmowaliśmy się sprawą dziedziczenia przeciwciał u królików i świnek morskich. Podobne spostrzeżenia poczynili *Brokman* i *Przesmycki* w stosunku do fizjolog. antytoksyn czerwonych. Z naszej inicjatywy wykonał *Bay-Smith* odczyny *Schicka* wśród ludności Grenlandji, gdzie błonica nie panuje i stwierdził, że istnieją osobniki z ujemnym odczynem *Schicka*. *Klein* i *Kroo*, prowadząc swe badania w Afryce, stwierdzili, że surowice tybulców zawierają znaczne ilości antytoksyn błoniczej, pomimo że błonica w kraju tym nie występuje. Wszystkie te sprawy wskazują, że przeciwciała „normalne” zgodnie z pierwotnem ujęciem odczynu *Schicka* przez *Groera*, *Schicka* i *Kassowitza*, stanowią konstytucyjnie uwarunkowaną konieczność rozwojową ustroju. Ujęcie to zyskuje coraz więcej zwolenników. *Friedberger* zbadał rozwoju hemolizyn fizjolog. i stwierdził zasadniczo istnienie praw podobnych t. j. ewolucję ciał odporn. w młodości i inwolucję w starości. Podczas gdy *Thomsen* podaje, że szczyt krzywej dla izoaglutynin przypada na wiek od lat 5 do 10, to miano najwyższe dla hemolizyn normalnych występuje pomiędzy

rokiem 10 a 20. Jeżeli te spostrzeżenia nie są przypadkowe, to przemawiałyby za tem, że przeciwciała fizjolog. posiadają swój własny rytm i własne tempo rozwoju. Moment, w którym przeciwciała normalne pojawiają się we krwi dając ustrojowi odporność, moglibyśmy nazwać krytycznym punktem odpornościowym. Odnosi się wrażenie, że poszczególne ciała odporn. posiadają własne punkty krytyczne. Nie potrzebuję podkreślać, że cały szereg zjawisk patologicznych i epidemjologicznych znalazłby w tem świetle wytłomaczenie. Widzimy, że siły odpornościowe dochodzą do szczytu nasilenia w dzieciństwie i w młodości i że stosunkowo szybko rozpoczyna się inwolucja serologiczna. Pod względem sił odpornościowych jesteśmy nieomal wszyscy starcami. Nie oznacza to naturalnie, że ciągłe bodźce infekcyjne nie utrzymują naszych sił odpornościowych na należytych poziomach; jest to jednak wysiłek sztuczny. Niezależnie zatem od tego stanu odporności nabytej, wymuszonego przez warunki zewnętrzne, pragnąłbym odróżniać odporność ewolucyjną biologiczną, która naturalnie w sposób ciągły przechodzi w odporność nabytą. Dlatego analogicznie do morfogenezy odróżniam zjawisko serogenezy, przez którą rozumiem zróżniczkowanie fizjologiczne surowicy pod względem odpornościowym. Zbadanie praw serogenezy jest zatem częścią zagadnień serologii konstytucyjnej.

Brak ciał odporn. fizjolog. polega w pewnym wieku na niedojrzałości serologicznej, w innych przypadkach jest on stałą cechą konstytucyjną. Konstytucyjne podłoże tej nieudolności nie podlega, moim zdaniem żadnej wątpliwości. Badania *Groera*, *Brokmana* i *Barańskiego*, *Hirszfeldowej* i moje własne, potwierdzone *Rubaszową*, ostatnio przez *Fischera*, *Rowsinga* wykazują niezbicie, że dzieci rodziców z dodatnim odczynem *Schicka* lub *Dicka* posiadają zwykle również odczyn dodatni, co przemawia za tem, że brak ciał odporn., a zatem wrażliwość na błonicę wzgl. płonicę jest cechą ustępującą, względnie zależy od zespołu genów częściowo ustępujących. Spostrzeżenia nasze przemawiają również za tem, że wrażliwość wzgl. niewrażliwość jest sprzężona z genami grupowymi, co zostało potwierdzone przez *Rubaszową* i *Jakobiego* w Moskwie i *Fischera* we Frankfurcie nad Menem, podczas gdy *Rowsing*

w Kopenhadze otrzymał wyniki odmienne. Pozostawiając na boku sprawę sprzężenia, chciałbym jedynie podkreślić, że i odporność nabyta, czyli zdolność wytwarzania ciał odpornościowych daje się nawiązać do zagadnień konstytucyjnych. Odróżniać tu powinniśmy czynniki dwojakie. Z jednej strony spostrzeżenia wielu autorów, u nas w kraju *Celarka* i *Porebskiego* wskazują na to, że zwierzęta posiadające ciała odporn. fizjolog. dają po uodpornieniu surowice mocniejsze, niż zwierzęta nie posiadające tych ciał. Istnienie ciał odporn. fizjol. jest zatem wykładnikiem zdolności odpornościowych ustroju. Widzieliśmy zaś na przykładzie prac naszych, że ciała odporn. fizjol. są dorobkiem konstytucyjnym. Poszczególne spostrzeżenia nasze z *Brokmanem* i *Hirszfeldową*, potwierdzone w międzyczasie przez innych autorów wskazują na to, że dzieci rodziców z dodatnim odczynem *Schicka* uodparniają się gorzej nawet pod wpływem przebytej błonicy. Widzimy zatem, że organizm bynajmniej nie jest niezapisaną księgą, w której bodziec odpornościowy może wypisać co chce i kiedy chce. Niezależnie jednak od zjawisk odpornościowych ustroju dojrzałego spostrzeżenia wskazują także i na wpływ wieku. Badania w tym kierunku wykonane przez *Halberównę*, *Hirszfeldową* i *Majznera* pogłębiły poglądy na sprawę wrażliwości i uodolności odpornościowej dzieci w rozmaitym wieku. Dzieci do pewnego wieku uodparniają się gorzej niż dorośli. Można by to wyrazić w ten sposób, że rozwój przeciwciał normalnych przedstawia krzywą wzrastającą; zdolność zaś wytwarzania ciał odporn. zależna jest od tego, na jaki punkt krzywej padnie bodziec odpornościowy. Zdolności odpornościowe ustroju uzależniamy więc z jednej strony od jego cech konstytucyjnych, z drugiej zaś od stopnia dojrzałości serologicznej, przyczem spostrzeżenia wskazują na to, że rytm powstawania przeciwciał fizjolog., a zatem i pogotowia odpornościowego w stosunku do rozmaitych drobnoustrojów jest różny.

Analiza powyższa, opierająca się przedewszystkiem na badaniach nad grupami, rozszerzonymi do pojęcia serologii konstytucyjnej, wymaga nieco odmiennego ujęcia nauki o odporności. Spróbuję więc sformułować koncepcję uzgadniającą spostrzeżenia dawne z temi, które wyłoniły się na mocy prac obecnych.

Przedewszystkiem odróżniam dwa odmiennie pojęcia: postać odporności i jej mechanizm. Pod postacią odporności rozumiem genezę powstania odporności w ustroju. Podczas gdy większość podręczników uwzględnia odporność „normalną“, czynną i bierną i chciałbym odróżniać 4 jej postaci: a) odporność fizjologiczną t. j. „normalną“, b) odporność czynną, c) odporność na, d) odporność symbiotyczną. Pod odpornością symbiotyczną rozumiem tę postać odporności, która istnieje jedynie w czasie zakażenia i która znika po wyzdrowieniu. Odporność ta często określana jest, jako odporność śródzakaźna. Zakażenie o ile nie jest śmiertelne, ma swoje dobre strony, wytwarza ono, jak gdyby stan zbrojnego pokoju, mobilizację sił odpornościowych, która chroni od powtórnego zakażenia, ale jedynie tak długo póki zakażenie trwa. Zarazek chorobotwórczy nie jest zatem wrogiem, z którym niema pojednania. Aby podkreślić tę formę korzystnego współżycia z zarazkiem chorobotwórczym proponuję nazwę odporności symbiotycznej. Gra ona rolę w gruźlicy, kile, zimnicy i najpewniej wielu innych schorzeniach.

Niesłusznie nauka o odporności zwraca główną uwagę na postaci odporności czynną i bierną. Nieskończenie potężniejszą jest odporność fizjologiczna, jako dorobek rasy i odporność symbiotyczna jako skutek współżycia z zarazkiem chorobotwórczym. Te cztery różne postaci odporności opierają się na częściowo jednakowych, częściowo odmiennych mechanizmach. Klasyczna serologia odróżnia odporność humoralną i cellularną (fagocytoza), jako odgłos przebrzmiałych dawno walk pomiędzy *Miecznikowem* i *Pfeifferem*. Ale obecnie możemy już powiedzieć, że mechanizmów odpornościowych jest znacznie więcej. Przedewszystkiem jak wyżej podkreśliliśmy, istnieje areaktywność, który może polegać na braku powinowactwa. Ten mechanizm odporności może cechować niewrażliwość gatunkową; znane są dawne spostrzeżenia, że jad tężcowy krąży we krwi zimnokrwistych, nie łącząc się z komórką, jad błoniczy nie łączy się z tkanką niewrażliwego na błonicę szczura białego. Widzieliśmy że areaktywność może być jednak źródłem odporności fizjologicznej indywidualnej w obrębie gatunku

Niewrażliwość noworodków na niektóre choroby zakaźne zdaje się być skutkiem areaktywności (*Groer, Brokman, Friedberger*), ale i w późniejszym wieku, jak wypływa z badań *Brokmana* i *Groera* nad szkarlatyną, areaktywność może być przyczyną niewrażliwości, a przynajmniej ujemnego odczynu *Dicka* względnie *Schicka*. Jako przeciwieństwo do areaktywności należy podkreślić reaktywność, jako wyraz powinowactwa i wreszcie hiperreaktywność — powinowactwo spotęgowane, związane już z wtórnymi zaburzeniami stanu koloidalnego komórek, wyrażającemi się zatem już nie tylko we wrażliwości swoistej, ale i w odczynach alergicznych, idiosynkrazji wzgl. anafilaksji¹⁾. Współodpowiednikiem humoralnym byłyby przeciwciała normalne wzgl. ich spotęgowanie jako ciała odpornościowe. Wreszcie, jako odrębny mechanizm odpornościowy, odczyny komórkowe fagocytarne, które, jak wiadomo obecnie, cechują nie tylko białe ciała krwi, ale i układ siateczkowo-śródbłonkowy. Że fagocytoza może być skutkiem zadziałania czynników humoralnych i, sprawności fagocytów, tego nie potrzeba od czasu *Neufelda*, *Wrighta* i innych specjalnie pokreślać. Należało jedynie w schemacie tym bliżej sprecyzować sposób działania ciał odpornościowych. Nie polega on bynajmniej jedynie na zabiciu drobnoustrojów. Koncepcja, która głosi, że przy ścieraniu się tych dwu potęg ustroju ludzkiego lub zwierzęcego i zarazków, jedna z nich zginąć musi, nie odpowiada już naszemu współczesnemu pacyfistycznemu światopoglądowi. Ustrój posiada zdolność przeistaczania bakteryj, pozbawienia ich zjadliwości. Jeśli zjadliwość ujmemy z punktu widzenia współczesnych poglądów na zmienność bakteryj, to przypuszczać należy, że ciała odporn. lub też komórki ustroju posiadają zdolność wywoływania dysocjacji w kierunku odzjadliwiania i dlatego poza aglutyninami i lizynami i t. p. powinniśmy zostawić miejsce dla przypuszczalnych ciał odporn. wzgl. czynników dysocjujących. Wszystkie te mechanizmy mogą warunkować odporność fizjologiczną, czynną lub bierną. Jaki jest

¹⁾ Pogląd ten, utożsamiający do pewnego stopnia działanie jądów wtórnych i allergenów, został ostatnio wysunięty przez *Brokmana*.

wości gatunku na jady zarazków chorobotwórczych. Areaktywność=brak powinowactwa, spotykamy u niektórych gatunków, na pewne jady niewrażliwych, zdaje się, że może ona jednak cechować niewrażliwość pewnych kategorii wieku, względnie czasami niewrażliwość osobniczą. W jakim stopniu reaktywność może być nabyta drogą uodparniania, musi być jeszcze dokładnie zbadane. *Brokman*, jak wspomniano, sądzi, że wrażliwość ustroju na jady wtórne jest ogniwem procesu odpornościowego, podobnie jak i alergja.

Hipoteza ta, opierająca się na teorii łańcuchów bocznych, tłumaczy najlepiej patogenezę niektórych chorób, jak np. szkarlatyny. Dla tego chciałbym z *Brokmanem* odróżniać powinowactwo wrodzone od powinowactwa nabytego. *Brokman* sądzi że pod wpływem nieznanых zresztą bliżej bodźców, powinowactwo do jadów może się zatracić niezależnie od procesów humoralnych t. j. antytoksyn, wiążących jady w krwiobieg i nie dopuszczających ich do komórki wrażliwej. Mimo, że mechanizm tej areaktywności wtórnej nie jest z pewnością ustalony, chciałbym dla podkreślenia tej możliwości odróżniać również areaktywność fizjologiczną=normalną i areaktywność nabytą, przyczem znak pytania podkreśla, że sprawy te muszą być jeszcze przebadane dokładniej doświadczalnie.

Należałoby zatem odróżniać powinowactwo wrodzone od powinowactwa nabytego. W myśl *Pirqueta* okres wylęgania dla niektórych chorób byłby niezbędny ze względu na to, że musi się wytworzyć powinowactwo aby objawy chorobowe mogły wystąpić.

W sprawie różnorodności ciał odpornościowych chciałbym jeszcze wspomnieć co następuje. Jestem zwolennikiem unitaryzmu i sądzę, że różne ciała odpornościowe są jedynie odmiennym wyrazem jednolitej zmiany, powstałej pod wpływem uodparniania. Należałoby więc mówić w myśl dawnych poglądów o funkcjach antytoksycznych, precypitujących, aglutynujących, rozpuszczających i bakterjotropowych. Współczesna bakterjologia wykryła jednak niezmiernie ważną nową funkcję surowic odpornościowych, a mianowicie wpływ na zmienność

bakteryj. Jeżeli hodujemy bakterje formy R w surowicy odpornościowej anty-R, to możemy wydobyć z niej formę S i vice-versa. Uda się wydobyć również i poszczególne fazy swoiste, wzgl. nieswoiste przez hodowanie na podłożach z dodatkiem surowicy odpornościowej. Surowice odpornościowe posiadają zdolności nadawania kierunku dysocjacji bakteryjnej i dla tego pragnąłbym mówić o ich funkcji dysocjującej. Różnice zjadliwości szczepów R i S, rozmaitych typów bakteryjnych w obrębie jednej grupy lub gatunku bakteryjnego wskazują na to, że zjadliwość drobnoustrojów jest jedną z faz w szeregu przemian możliwych. *Morgenroth* stwierdził, że w ustroju zakażonym drobnoustroje mogą tracić zjadliwość i nazwał tę postać odporności—depresyjną. Mamy tutaj do czynienia bez wątpienia z niezmiernie ważnym czynnikiem odpornościowym, podkreślanym ostatnio przez *Neufelda* i jego szkołę. Nazwa *Depressionsimmunität* jest jednak niesłuszna, ponieważ depresja tyczy się drobnoustrojów, a odporność zwierzęcia lub człowieka. Miesza on więc w jednym słowie zmiany subjektu i obiektu. Widząc we wpływie organizmu, wzgl. surowicy odpornościowej ogólny wpływ na dysocjację bakteryjną, chciałbym go nazwać ogólnie dysocjującym. Ponieważ jednak może on wydobyć zarówno fazy zjadliwe, jak i niezjadliwe, to odróżniałbym tutaj jako pododdziały wpływ odzjadliwiający i uzjadliwiający.

Synteza zjawisk odpornościowych, podana powyżej, opiera się naturalnie na spostrzeżeniach częściowo innej kategorii, niż badania nad grupami krwi. Badania te jednak umożliwiły bliższą definicję odporności i wrażliwości fizjologicznej i nabytej. W ten sposób nauka o grupach umożliwiła głębsze ujęcie szeregu spraw odpornościowych i dla tego zdecydowałem się nawiązać ich przedstawienie ogólniejsze do referatu nad grupami.



Wpłynęło w d. 15 sierpnia 1930 r.

Z działu Surowic i Szczepionek Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie.
(Dyrektor Dr. J. Celarek).

DZIAŁALNOŚĆ ODDZIAŁU PASTEUROWSKIEGO W R. 1929

P O D A Ł

DR. ZENON KARŁOWSKI

(Kierownik Oddziału).

W roku sprawozdawczym zgłosiło się o poradę do Oddziału osób 616. W 274 przypadkach uznano szczepienia za zbędne, ponieważ można było wykluczyć możliwość zarażenia się. Prócz tego, do szczepienia w miejscu zamieszkania skierowano 154 osoby. Pozostałe 188 osób rozpoczęło szczepienia w Oddziale. Z pomiędzy nich, 6 osób rozpoczęło szczepienia w Oddziale, a ukończyło na prowincji; w 20 przypadkach nie doprowadzono szczepień do końca, ponieważ psy, uważane początkowo za podejrzanе, okazały się w następstwie zdrowemi; w 12 przypadkach, ponieważ osoby szczepione przerwały szczepienia samowolnie. Pozostałe 150 osób ukończyło szczepienia.

Osoby pokasane zgłaszały się z następujących powiatów: Biała Podlaska 1, Białystok 2, Bielsk Podl. 2, Błonie 11, Brześć n.Bugiem 2, Brzeziny 2, Garwolin 6, Gniezno 1, Gostynin 1, Grójec 13, Iłża (Wierzbnik) 5, Katowice 1, Kobryń 3, Koło 1, Końskie 4, Konstantynów 2, Kozienice 1, Krzemieniec 2, Kutno 2, Lubartów 1, Łęczyca 1, Łódź 2, Łomża 1, Łuck 1, Łuków 1, Mińsk Mazow. 13, Mława 3, Nieśwież 1, Nieszawa 1, Opatów 1, Opoczno 1, Ostrowie Mazow. 2, Płock 1, Prużana 1, Puławy 7,

Pułtusk 2, Radom 2, Radomsk 1, Rawa Mazow. 4, Radzymin 25, Sandomierz 1, Siedlce 1, Skierniewice 5, Sochaczew 2, Sokołów 2, Stanisławów 1; Szczuczyn (Grajewo) 1, Warszawa 110, Warszawa miasto 348, Węgrów 4, Włodawa 2, Wysokie Mazow. 4.

Obecnie przeważająca większość osób pokąsanych jest szczepiona na prowincji. W ambulatorjum oddziałowem są szczepieni mieszkańcy Warszawy, prócz pracowników państwowych, szczepionych w przychodni, przy ul. Nowy Świat Nr. 67 i prócz pracowników kolejowych, szczepionych w ambulatorjach kolejowych, mieszkańcy okolic podmiejskich, a wyjątkowo tylko osoby przyjezdne z dalszych stron, mogące samodzielnie zamieszkać w mieście. Mieszkańcy Warszawy stanowią 56,6% ogólnej liczby zgłaszających się, a 48,4% ogólnej liczby szczepionych, powiatu Warszawskiego 18% i 34%, dalszej prowincji 25,4% i 17,5%. Z 348 osób, które zgłosiły się z miasta Warszawy szczepiono w oddziale 91, czyli 23%, z 110, które się zgłosiły z powiatu Warszawskiego 64 czyli 58% i z 158 osób, które się zgłosiły z dalszej prowincji 33, czyli 20,9% (wiele z nich skierowano do szczepienia w miejscu zamieszkania).

W styczniu rozpoczęło szczepienia w Oddziale 16 osób, w lutym 12, w marcu 8, w kwietniu 12, w maju 25, w czerwcu 18, w lipcu 18, w sierpniu 22, we wrześniu 22, w październiku 11, w listopadzie 15 i w grudniu 9.

Następujące zestawienia liczbowe odnoszą się wyłącznie do osób, które ukończyły szczepienia w Oddziale.

W pierwszym tygodniu po ukąszeniu rozpoczęto szczepienia u 113 osób, czyli 75% ogólnej liczby; w drugim u 18 — czyli 12%; w trzecim u 8 — czyli 5%; w czwartym 4 — czyli 2% i po czterech tygodniach u 7-miu, czyli 4½%.

Miedzy szczepionymi było 2 letnich — 2; 3 letnich 2; 4 letnich 5; 5 letnich 3; 6 letnich 4; 7 letnich 5; 8 letnich 8; 9 letnich 4; 10 letnich 6; od lat 11 do 15 . . . 17; od lat 16 do 25 . . . 50; od lat 26 do 35 . . . 22; od lat 36 do 45 . . . 14; od lat 46 do 55 . . . 6; od lat 56 do 65 . . . 2.

Pokąsanych przez psy szczepiono 139 osób, przez koty 11.

Zwierzętami kąsającymi były psy w 96 przypadkach, koty w 10.

Między szczepionymi było mężczyzn 107, kobiet 43.

Niżej podane zestawienia liczbowe są ułożone według schematu nadesłanego z Sekcji Higieny przy Lidze Narodów.

I. Osoby szczepione w Oddziale.

	liczba	%	przypadek. śmierci	%
liczba ogólna	150		1	0,66
w tem Europejczyków	150	100%	1	0,66
pokaszanych przez psy	139	92,6%	1	0,72
„ „ koty	11	7,3%	—	—
Kategorji A szczepiono	46	36,6%	1	2,17
„ B „	7	4,6%	—	—
„ C „	60	40%		
„ D „	37	24,6%		
Rany głębokie	21	14%		
„ powierzchowne	104	69,3%	1	0,96
nie było widocznych obrażeń	25	16,6%		
pokaszanych w nagie ciało	104	69,3%	1	0,96
„ przez rozdarte ubranie	46	30,6%		
pokaszanych w głowę	9	6%	1	11,1
„ w górne kończyny	93	62%		
„ w tułów	2	1,3%		
„ w dolne kończyny	46	30,6%		
W ile dni po pokasaniu rozpoczęto szczepienia				
0 — 4	75	50%		
5 — 7	38	25,6%		
8 — 14	18	12%	1	5,5
15 — 21	8	5,3%		
później	11	7,3%		

II. Osoby szczepione poza Oddziałem

(których karty rejestracyjne nadesłano)

liczba ogólna	880		1	0,11
w tem Europejczyków	880	100%	1	0,11
pokaszanych przez psy	788	89,5%	1	0,12

	liczba	%	przypadek. śmierci	%
pokąsanych przez koty	41	4,7%		
„ „ krowy ¹⁾	31	3,5%		
„ „ konie	7	0,8%		
„ „ wilki	3	0,3%		
„ „ człowieka ²⁾	10	1,1%		
Kategorji A szczepiono	134	15,2%		
„ B „	184	20,9%		
„ C „	381	43,3%		
„ D „	181	20,5%	1	0,55
rany głębokie	71	8,6%	1	1,4
„ powierzchowne	642	73%		
nie było widocznych obrażeń	167	19%		
ukąszenia w nagie ciało	596	67,7%	1	0,17
„ przez podarte ubranie	284	32,2%		
pokąsanych w głowę było	42	4,6%		
„ w górne kończyny	492	55,9%		
„ w tułów	26	2,9%		
„ w dolne kończyny	320	36,3%	1	0,31

W ile dni po pokąsaniu
rozpoczęto szczepienia

0 — 4	645	73,3%	1	0,15
5 — 7	113	12,8%		
8 — 14	80	9%		
14 — 21	31	3,5%		
później	11	1,2%		

Bez względu na rodzaj pokąsania, niezależnie od tego, czy rana była głęboka, powierzchowna, czy też stosowano szczepienia, choć nie było widocznych obrażeń, zawsze szczepienia trwały dni 20; szczepiono raz na dzień, dawka jednorazowa szczepionki wynosiła 2 cm., 2% zawiesiny w $\frac{1}{2}$ % fenolu. Szczepionka zachowuje swą siłę przez 6 miesięcy.

¹⁾ Między niemi było 12 osób, które piły mleko krowy wścieklej.

²⁾ Między niemi 4 osoby, pokąsane przez umyślowo chorego, a nie przez chorego na wściekliznę.

Z pomiędzy osób szczepionych w Oddziale zmarła pomimo ukończenia szczepień jedna; odsetek śmiertelności = 0,66%.

1. J. W. lat 41 (karta chorych Nr. 46.464) handlowiec, z Gucina, gminy Jabłonna pow. Warszawskiego. Był on ukąszony przez psa 5.IX. w lewe ucho, ranka długości 4 ctm. wzdłuż konchy usznej. Pies po paru dniach padł, lecz właściciele nie przypuszczali, że mógł być wściekłym. J. przywiózł 14.IX. głowę psa do Oddziału, prosił o wykonanie analizy, nie mówił jednak, że był przez tego psa pokąsany. lecz, ze względu na osoby trzecie zależy mu na wyświetleniu sprawy. Gdy po dwóch dniach, 16.IX. przyszedł dowiedzieć się o wyniku analizy, przyznał się, że uległ pokąsaniu i zaraz rozpoczęliśmy szczepienia. Analiza (książka analiz Nr. 265) wykazała obecność ciałek *Negri'ego* kat. A, o czym zawiadomiliśmy właścicieli psa za Nr. 1724. Szczepienia trwały od 16. IX. do 5. X. Zachorował 20 października. Wezwany lekarz rozpoznał wściekliznę i polecił przewieźć chorego do szpitala Jana Bożego w Warszawie.

Uprzejmie nadesłana przez Pana Naczelnego Lekarza Szpitala Jana Bożego historia choroby brzmi: (Nr. 323 z 9. XI.).

„Chory przywieziony przez siostrzeńca i D-ra K. z Jabłonny, który przypuszcza lyszę. Przed 6-cioma tygodniami ugryziony przez psa, głowa zwierzęcia była oddana do zbadania, miała być stwierdzona wścieklizna. W związku z ukąszeniem chory przeszedł leczenie specyficzne. Od kilku dni czuje się niezdrow, skarżył się na łamanie, był trochę niespokojny.

Przy przyjęciu krzyczy, lęka się, nie może podać przyczyny. Zorientowany w czasie i otoczeniu. Leży na noszach, nie może się podnieść. Zasłania twarz kapeluszem. Hydrofobia nie stwierdzono, aerofobia wyraźna. Temperatura normalna, tętno dobre 110.

O 11 $\frac{1}{2}$ wieczorem wyraźna aerofobia, temperatura 38,4⁰, tętno średnio napięte 120. Nie może się utrzymać w pozycji siedzącej. W płucach grubobąnkowe rżenia. Skarży się, że coś przeszkadza w gardle i że niema sił odkasłać, o godz. 12 w nocy umarł.

Sekcja wykazała przekrwienie mózgu i opon. Zastój żylny we wszystkich narządach, a zwłaszcza płuc. Rozszerzenie serca. Kość dodatkowa w sierpie opon”.

W przypadku tym, gdyby szczepienia rozpoczęto wcześniej, może ich wynik byłby pomyślny. Zasadniczo przy ukąszeniach w głowę, ze względu na krótszy okres wylęgowy, należy rozpocząć szczepienia nie tylko, nie czekając na wynik analizy, jeśli pies nie żyje, ale nawet podczas przyżyciowej obserwacji psa, aż do wyjaśnienia sprawy. J. dwukrotnie zlekceważył następstwa pokąsania: ufając właścicielowi, że pies jest zdrow, a w wyższym jeszcze stopniu po śmierci psa, nie przyznając się, że był przez niego pokąsany.

Okres wylęgowy trwał dni 42. J. zachorował w 12 dni po ukończeniu szczepień.

Z pomiędzy osób, których karty rejestracyjne nadesłano, zawiadomiono o dwóch przypadkach śmierci.

1. B. J., lat 36, rolnik ze wsi Cichny, gminy Bereza Kartuska, pow. Prużana (karta rejestracyjna Nr. 316). Był on 3. VI. pokąsany przez psa w palec i w grzbietową powierzchnię lewej ręki. Głowę psa przesłano do zbadania do Oddziału (ks. analiz Nr. 172). W mózgu psa znaleziono ciała *Negri'ego* kat. A. Szczepienia rozpoczęte 5. VI. czyli w dwa dni po pokąsaniu miały trwać dni 20. Dokonano jednak tylko 19 szczepień, bo już 24. VI. wystąpiły u B. objawy wścieklizny. Zmarł na wściekliznę w szpitalu w Prużanie 27. VI. (starostwo Prużana 3. VII. 29. IV. 7. I.). Okres wylęgowy dni 21, choroba trwała dni trzy, w tym przypadku zasługuje na uwagę krótki okres wylęgowy po ukąszeniu w rękę. B. zachorował przed ukończeniem szczepień i przypadek ten nie może być zaliczony przy obliczaniu odsetka osób, które ukończyły szczepienia.

2. Ł. E., lat 10 (karta rejestr. Nr. 564) z Chabowic gm. Dywin, pow. Kobyńskiego, była pokąsana 20. VII. przez psa niewiadomego, kat. B. Na prawym podudziu rana głęboka, szarpana o powierzchni 5×3 ctm., dwie rany kłóte pod kolanem. Szczepienia, rozpoczęte 20. VI., w dniu ukąszenia, trwały dni 20, do 8. VIII. Rany ropiały, opatrunki robiono w szpitalu do 10. VIII. Przy wypisaniu, rany na wygojeniu.

„Przywieziono ją 6. IX. do szpitala z wybitnymi objawami wodowstrętu po ukąszeniu przez psa przed 5 cioma tygodniami, przeszła kurację przeciwko wodowstrętowi, otrzymała 20 zastrzy

ków szczepionki. Zastosowano pantopon 0,01; morphii 0,015, chloral hydrat w lewatywie. Umarła 6. IX." (historja choroby Nr. 588 szpital sejmikowy w Kobryniu). Matka jej, która doglądając córkę w domu, mogła zawałać jej śliną przypadkowe starcia naskórka, ukończyła szczepienia (karta rejestr. Nr. 622).

Z osób szczepionych na prowincji, których kart rejestracyjnych nie nadesłano, zawiadomiono o śmierci jeszcze jednej osoby.

I, H. M. z Wysokiego Litewskiego, pow. Brześć n. Bugiem, była ukąszona przez wściekłego kota we wrześniu 1928 roku — w okolicy prawego stawu skokowego rana głęboka, drażąca, dochodząca do warstwy mięśniowej. Szczepienia, rozpoczęte w ośm dni po wypadku trwały dni 20. Zgon był zgłoszony w 41 tygodniu 1929 r. H. M. zmarła w 13 miesięcy po pokąsaniu. Jest to pierwszy przypadek, notowany w sprawozdaniach Zakładu, śmierci osoby szczepionej po pokąsaniu przez kota, na 1759 osób szczepionych, pokąsanych przez koty wściekłe lub podejrzan. Z pomiędzy osób nie szczepionych zawiadomiono o 7-miu przypadkach śmierci po pokąsaniu przez kota. W tym przypadku, śmierć pomimo ukończenia szczepień, po ukąszeniu w nogę, jakkolwiek rana była głęboka, można uzależnić, albo od niezwyklej zjadliwości szczepu wścieklizny ulicznej, albo od niezwyklej wrażliwości H. M. Z dotychczasowego naszego materiału nie można wnioskować, że zjadliwość wścieklizny u kota jak twierdzi *Babes*, jest wzmożona.

W związku z tym przypadkiem miał miejsce i przypadek porażenia poszczepiennego.

Dr. med. H. K. lat 36, badając chorą na wodowstręt M. H. zawałał palce jej śliną. Obawiając się możliwości zarażenia się — na palcach mogły być drobne przypadkowe starcia naskórka — postanowił się szczepić. Po 12-stu szczepieniach zauważył on osłabienie odruchów i poczuł dotkliwy ból w plecach i dolnych kończynach. Zauważył również pewną nieźborność w ruchach palców, a także trudność w oddawaniu moczu. Po sześciu dniach wystąpił bezmocz i uporczywe zaparcie stolca. Wówczas pojechał leczyć się do Warszawy i przez dwa tygodnie leżał w prywatnej lecznicy D-ra F. Odczyn *Wassermana* ujemny, w płynie mózgowodzeniowym limfocytoza. Niepewność ruchów przy chodzeniu,

uczucie obcości w stopach, nieznaczna różnica źrenic. Po dalszych dniach 16-tu objawy pęcherzowe ustąpiły zupełnie, pozostało nadal pogorszenie dawnych hemoroidów. W kwietniu 1930 roku t. j. w pięć miesięcy po wypadku H. K. odczuwa jeszcze parestezje w dolnych kończynach.

Jest to na 5.753 osoby, szczepione szczepionką Karbolizowaną P. Z. H. w Warszawie, pierwszy przypadek t. zw. niedowładu poszczepiennego, o którym zawiadomiono Oddział.

Chociaż był to przypadek o bardzo lekkim przebiegu, ślady jego odczuwał chory jeszcze po upływie pół roku. Jak się często zdarza i ten przypadek miał miejsce u osoby, pracującej umysłowo i w tym również przypadku nie było rzeczywistego wskazania do stosowania szczepień.

Po użyciu zatem szczepionki Karbolizowanej P. Z. H., może jednak powstawać, choć rzadziej niż po użyciu dawnej, t. zw. niedowład poszczepienny.

Z osób pokąsanych, a nie szczepionych, zawiadomiono Oddział o dwóch przypadkach śmierci z których drugi uważamy za wątpliwy.

1. B. E. lat 4, z Rudy Pabjanickiej pow. Łódzkiego, była 13 kwietnia pokąsana przez psa sąsiedzkiego w twarz. Zachorowała 23 maja, zmarła 26. Przebieg choroby typowy. Z otoczenia zmarłej szczepiono osób 6.

2. Przypadek ten ze względów kazuistycznych załuguje na szczegółowe omówienie, rozpoznania nie można jednak uważać za stwierdzone.

Sędzia okręgowy śledczy w Nieświeżu nadesłał do Oddziału (za Nr. 1123 z 13. VIII. 29) mózg D. M., zmarłej, jakoby z powodu wścieklizny. Mózg ten nadszedł do Oddziału 17. VIII. w stanie daleko posuniętego rozkładu — szaro różowy cuchnący płyn i nie nadawał się do badania na obecność ciałek *Negri'ego*. Zaszczepiono nim trzy króliki (analiza 244), które jednak padły po dwóch, trzech dniach skutkiem zakażenia gnilnego. Analiza więc mózgu, nadesłanego w stanie daleko posuniętego rozkładu nie mogła dostarczyć danych do potwierdzenia przypuszczalnego rozpoznania wścieklizny, na którą miała umrzeć D. M.

Przeprowadzona w związku z analizą Nr. 244 korespondencja dała następujące dane.

D. M. lat 3, ze wsi Wielka Lipa, gminy Snowskiej, pow. Nieświeskiego miała być 30. VI., wraz z 9-cioorgiem innych dzieci, pokąsana przez psa miejscowego. Pies ten po paru dniach padł, lecz ani lekarz weterynaryjny narazie nie podejrzewał wścieklizny, ani badania mózgu psa w Zakładzie Higieny Zwierząt w Bydgoszczy nie wykazało jej również. Gdy jednak 9 lipca, lekarz weterynaryjny powziął podejrzenie możliwości wścieklizny u psa, lekarz powiatowy skierował wszystkie dzieci do sejmikowej przychodni lekarskiej w Nieświeżu. Przy oględzinach, u ośmiorga dzieci stwierdzono wyraźne ślady pokąsań, a u dwojga, między innymi u D. M. sińce na policzku, a u chłopczyka na nodze. Lekarz powiatowy zalecił bezwzględnie szczepienie ośmiorga pokąsanych, a szczepienie dwojga pozostałych zostawił do uznania lekarza przychodni. Wskutek tego D. M. nie była szczepiona. Dostarczono ją do szpitala w Nieświeżu 25 lipca w stanie bardzo ciężkim, po upływie pół godziny zmarła. Rozpoznanie na karcie szpitalnej odnotowano: *lyssa gravis*, aut tetania (?). Ojciec zmarłej, z art. 464, oskarżył lekarza powiatowego o spowodowanie zgonu B. M., z powodu, że rzekomo nie pozwolił na szczepienia.

Sekcja zwłok zmarłej, wykonana 27 lipca po ekshumacji, nie ustaliła przyczyny śmierci. Dla rozstrzygnięcia wątpliwości postanowiono przesłać mózg do analizy.

Rozważając szczegóły omawianego przypadku, zaznaczyć należy, że dzieci powinny być szczepione zaraz po śmierci psa a nie dopiero 9 lipca. Wiadomo, że wskazane jest szczepienie osób pokąsanych nie tylko wtedy, kiedy wścieklizna psa jest stwierdzona, lecz zawsze jeśli nie można jej wykluczyć. Wykluczyć jej możliwość możemy jedynie wtedy, jeśli pies żyje i zachowuje się normalnie w 14 dni po wypadku. Jedynie bowiem, wynik dwutygodniowej obserwacji psa pozwala wykluczyć wściekliznę.

Jakkolwiek, w przypadkach w których możemy być pewni, że nie miało miejsca obrażenie naskórka, nie zachodzi wskazanie do stosowania szczepień, oceniając szczegóły wypadku, należy uwzględnić wiek osoby badanej i czas jaki upłynął od wypadku

do badania. W danym razie, nie należało polegać na opowiadaniu dziecka trzyletniego i na własnym wrażeniu wzrokowym w 9 dni po wypadku, a raczej, stwierdziwszy obecność siniaków podejrzanego pochodzenia na twarzy dziecka, zalecić przeprowadzenie szczepień. Uraz musiał być dość silny i rozległy, jeśli nawet przy sekcji, w 27 dni po wypadku, można było stwierdzić sińce. Należało raczej przypuścić, że powierzchowne starcia wierzchnich warstw naskórka w ciągu 9-ciu dni mogły być zastąpione świeżym naskórkiem.

Niewątpliwie więc, ze względu na wiek dziecka i na umiejscowienie siniaków na twarzy, powinno być zalecone stosowanie szczepień. D. M. zatem powinna być szczepiona wraz z innymi dziećmi.

Czy D. M. zmarła z powodu wścieklizny. Już rozpoznanie kliniczne było wątpliwe: lyssa aut tetania (?). Do szpitala była przywieziona w agonji i nie było tutaj danych do obiektywnego rozpoznania, sugestjonowano się raczej wywiadami. Sekcja nie mogła dostarczyć danych, stwierdzających lysse, a badanie mózgu dostarczonego w stanie daleko posuniętego rozkładu również nie mogło rozstrzygnąć wątpliwości. Nie stwierdzono wścieklizny u psa, który pokąsał D. M., zachodziło tylko jej podejrzenie, nie stwierdzono klinicznie wścieklizny u D. M., nie potwierdziły podejrzeń ani sekcja, ani badanie mózgu — nie było więc obiektywnych danych do twierdzenia, że D. M. zmarła rzeczywiście na wściekliznę.

Niema więc podstawy do twierdzenia, że w danym wypadku lekarz przez zaniedbanie stosowania szczepień spowodował śmierć D. M.

Należy też zaznaczyć, że zdarzają się przypadki śmierci pomimo ukończenia szczepień nawet u osób, które rozpoczęły szczepienia, w tym samym dniu w którym uległy pokąsaniu.

Prócz robót bieżących związanych z wyrobem szczepionki i ze szczepieniem osób pokąsanych rozpoczęliśmy pracę nad:

1) otrzymaniem surowicy swoistej, a) przeciw zarazkowi ustalonemu wścieklizny, b) przeciw zarazkowi ulicznemu,

2) własnościami używanych w Oddziale szczepów zarazka ustalonego: lwowskiego, paryskiego i warszawskiego,

3) wyodrębnieniem zarazka wścieklizny z tkanki mózgowej według *Speranskiego*.

Szczepionki karbolizowanej *Semple'a* do szczepienia ludzi przygotowano 339 ltr. Za pośrednictwem Biura Sprzedaży wysłano 5.696 pudełek szczepionki. Wydawano też szczepionkę *Semple'a* klinikom wydziału weterynaryjnego uniwersytetu warszawskiego do doświadczeń z psami pokąsanymi i szczepionkę japońską do uodpornienia psów jeszcze nie pokąsanych.

Zapoczątkowanie w r. 1925 użycia szczepionki skarbolizowanej udostępniło stosowanie szczepień przeciw wściekliznie osobom, które nie mogły na czas szczepień samodzielnie zamieszkać w miastach, w których były Zakłady Pastaurowskie, a same szczepienia uległy zupełnej decentralizacji.

Skuteczność szczepionki karbolizowanej, jak wykazuje niżej podane zestawienie, nie jest mniejszą niż szczepionki dawnej, którą stosowaną na miejscu w Oddziale:

Szczepionka Pasteurowska				Szczepionka Karbolizowana		
szczepiono osób	+	poraż.		szczep. osób	+	porażeń
1924 2.550	8	—		200	—	—
1925 907	6	—		352	2	—
1926 804	1	2		1.577	5	—
1927 399	3	1		1.417	1	—
1928 —	—	—		1.177	1	—
1929 —	—	—		1.030	3	—
4 660	18	3		5.753	12	—
śmiertelność 0,38%				śmiertelność 0,23%		

Na 4.600 osób, szczepionych dawną szczepionką zmarło podczas szczepień i po ich ukończeniu ogółem osób 18. Ogólna zatem śmiertelność wynosi 0,38%. Prócz tego zaszły 3 przypadki ciężkich porażen poszczepionkowych, z nich jeden zakończony śmiercią.

Na 5.753 osoby, szczepione szczepionką karbolizowaną, których karty rejestracyjne nadesłano, zmarło ogółem osób 12. Ogólna zatem śmiertelność wynosi 0,23%. Porażenie spostrzeżono jedno.

Na zasadzie więc własnego doświadczenia i nadsyłanych do Oddziału danych, możemy stanowczo stwierdzić zupełną nieszkodliwość szczepionki karbolizowanej i skuteczność jej nie mniejszą, niż dawnej szczepionki. Przy równej skuteczności, a większej dostępności, ma nowa szczepionka tę zaletę że rzadziej wywołuje najcięższe powikłania poszczepienne — porażenia.

Absolutnego zera śmiertelności nie można jednak oczekiwać, ani przy użyciu dawnej szczepionki, ani nowej. Żłudne, jakoby znakomite wyniki otrzymywano przez czas krótki i dla małej liczby szczepionych, zwłaszcza, jeśli zbyt wcześnie zbierano dane o wyniku szczepień.

Dla utwierdzenia się w przekonaniu o skuteczności szczepionki karbolizowanej, należy nietylko zgłaszać wszystkie osoby szczepione, ale i w odpowiednim czasie zasięgać wiadomości o dalszym losie każdej z nich. Ze względu na długi okres wylęgowy wścieklizny Oddział, jak dawniej, od lat 30 zgóra, wysyła imienne zapytania o stanie zdrowia osób szczepionych nie wcześniej, jak w trzecim kwartale roku następnego po sprawozdawczym, na podstawie nadesłanych do Oddziału kart rejestracyjnych.

O ile jednak nie nadesłano Oddziałowi kart rejestracyjnych, nie ma możliwości wysłania zapytań i skutkiem tego może nie wszystkie przypadki śmierci z wodowstrętu u osób szczepionych dochodzą do wiadomości. Niewątpliwie jednak nie zawsze karty rejestracyjne osób szczepionych są nadsyłane, liczba bowiem kart nadesłanych jest wielokrotnie niższa, od liczby osób dla których wysłano szczepionkę.

	Wysłano pudełek szczepionki	Nadesłano kart
r. 1926	5.132	1.577
„ 1927	5.696	1.477
„ 1928	6.839	944
„ 1929	<u>5.696</u>	<u>880</u>
	23.363	4.878

Zaledwie więc od 21% wysłanej szczepionki są nadsyłane karty rejestracyjne. Większość wysłanej szczepionki 79%, albo

została zużyta bez wypełnienia kart rejestracyjnych, albo pozostaje na składzie w aptekach, albo też po upływie terminu ważności, została wymieniona na świeżą. Prawdopodobnie często szczepią nie lekarze, a osoby do szczepienia nieuprawnione, felczerzy, pielęgniarze, a nawet osoby niemające nic wspólnego z lecznictwem. Osoby te przypadków swoich nie zgłaszają, obawiając się odpowiedzialności i kart rejestracyjnych nie nadsyłają. Prowadzi to do zatajania przed władzami lokalnymi przypadków podejrzanych pokąsań, co w wysokim stopniu utrudnia zwalczanie wścieklizny. Niekiedy szczepionka, nabyta, jakoby do szczepienia ludzi, bywa używana do szczepienia psów, pokąsanych przez wściekłe. Jest to wzbronione, bo szczepienie psów pokąsanych może się przyczynić do dalszego szerzenia się wścieklizny.

Szczepionki karbolizowanej do szczepienia ludzi pokąsanych wysłano z Państwowego Zakładu Higieny w r. 1929 pudełek:

do województwa Białostockiego	200
„ „ Kieleckiego	190
„ „ Krakowskiego	70
„ „ Lubelskiego	240
„ „ Lwowskiego	81
prócz tego do filji Państwowego Zakładu Higieny we Lwowie	1.580
„ „ Łódzkiego	310
„ „ Nowogródzkiego	197
„ „ Poleskiego	207
„ „ Pomorskiego	100
„ „ Poznańskiego	130
„ „ Stanisławowskiego	60
„ „ Śląskiego	61
„ „ Tarnopolskiego	20
„ „ Warszawskiego	162
miasta Warszawy (przeważnie hurtownicy do wysłania na prowincję)	1.868
do województwa Wileńskiego	70
„ „ Wołyńskiego	150

Ogółem 5.696

W roku sprawozdawczym zrobiono osobom szczepionym 3.760 iniekcji i 180 opatrunków. Do hodowania zarazka ustalonego wścieklizny zużyto 790 królików, 20 do szczepień próbnych zarazkiem ulicznym, 125 do doświadczeń; 19 padło przed użyciem do jakichkolwiek celów. Prócz tego do kontroli szczepionki Karboli-zowanej i do badań doświadczalnych zużyto 35 świńek morskich.

Wykonano też 19 sekcji zwierząt podejrzaných o wściekliznę, w 14 z nich wyniki przemawiały za wścieklizną i 16 prób biologicznych, z wynikiem dodatnim w 10 przypadkach.

Do badania na obecność ciałek *Negri'ego* nadesłano do Oddziału 335 głów zwierząt. W 279 przypadkach nadesłano je w stanie nadającym się do analizy. Z nich w 174 otrzymano wynik dodatni, w 105 ujemny. Z miasta Warszawy nadesłano 55 głów, z powiatu Warszawskiego 34, z dalszej prowincji 246.

Z 55, nadesłanych z miasta Warszawy: 2 były w stanie daleko posuniętego rozkładu i nie nadawały się do wykonania analizy, w 38 był wynik ujemny, a w 26 dodatni. Stosunek procentowy: 3%, 69% i 28%.

Z 34, nadesłanych z powiatu Warszawskiego: 3 były zgniłe, w 5-ciu był wynik ujemny, a w 26 dodatni. Stosunek procentowy 9%, 14% i 77%.

Z 246 nadesłanych z dalszej prowincji: 41 było zgniłych, w 62 był wynik ujemny, w 133 dodatni. Stosunek procentowy, 17%, 36% i 57%.

Największy odsetek wyników dodatnich 77% otrzymano przy badaniu mózgów nadsyłanych z powiatu Warszawskiego, najmniejszy 28% z miasta Warszawy. Najmniejszy odsetek głów zgniłych nadsyłano z miasta Warszawy 3%, największy z dalszej prowincji 17%.

Energiczniejsze obecnie, niż przed kilku laty, zwalczanie wścieklizny daje już pewne, ale wciąż jeszcze niewystarczające rezultaty. Z samej Warszawy w ostatnich czterech latach zgłaszało się osób pokąsanych: w r. 1926 — 632, w r. 1927 — 689, w r. 1928 — 268, w r. 1929 — 348, (z nich potrzebowało szczepień 91). Z powiatu Warszawskiego: w r. 1926 — 231, w r. 1927 — 268, w r. 1928 — 186, w r. 1929 — 110 (z nich potrzebowało

szczepień 64). Pewne zmniejszenie się liczby osób potrzebujących szczepień w Warszawie i w powiecie Warszawskim powinno raczej zachęcić do dalszego zwalczania wścieklizny, aż do doszczętnego jej wytypienia. Poraz pierwszy w tym roku możemy stwierdzić powolne, lecz stałe zmniejszanie się liczby przypadków wścieklizny w całej Polsce. Podczas gdy np. w połowie września 1928 r. zgłoszono w Polsce 453 zakażone zagrody, a w połowie marca 1929 r., po niezwykle ostrej zimie 408, liczby te, odnoszące się do okresów dwutygodniowych, spadają następnie stale, bo w okresie od sierpnia 1929 do stycznia 1930 zgłoszonych tylko 2.045 zagród, czyli przeciętnie w okresie dwutygodniowym 205 a w pierwszej połowie stycznia r. 1930 tylko 143. Jeżeli zwalczanie wścieklizny będzie i nadal dawało tak pomyślne wyniki, to może po kilkunastu latach będzie wścieklizna doszczętnie wytypiona. Znaczne pomimo stosowania środków policyjno sanitarnych, rozpowszechnienie wścieklizny w powiecie Warszawskim (76% dodatnich wyników analiz) szczególnie w miejscowościach letniskowych, wskazuje, że dużo jeszcze jest w tym kierunku do zrobienia. Z początkiem roku 1930 gminy powiatu Warszawskiego mają utrzymywać czyścicieli i zwrócić większą uwagę na tępienie psów bezpańskich, włóczących się.

Najskuteczniejszym ze środków, zmierzających do wytypienia wścieklizny, jest wybijanie psów, pokąsanych przez wściekłe i tępienie psów bezpańskich i włóczących się. Szczepienie psów już pokąsanych jest wzbronione. Odróżniać jednak należy szczepienie leczniczo-ochronne psów już pokąsanych, które to szczepienia są zasadniczo zabronione i szczepienie psów jeszcze nie pokąsanych, szczepienie których zmierzałoby również do wytypienia wścieklizny inną drogą — przez zmniejszenie liczby psów wrażliwych. W tym celu Oddział wyrabia szczepionkę t. zw. japońską, glicerynowo-karbolizowaną. Może ona być stosowaną w zakładach weterynaryjnych, a psy szczepione pozostawiać pod ścisłą kontrolą weterynaryjną. Odporność nabyta w ten sposób trwa rok. Psy więc powinny być szczepione corocznie. Za przedwczesne i w naszych warunkach niewykonalne uważać należy pogłównie zapobiegawcze szczepienie psów, lecz należałoby je stosować u psów wysoce rasowych, hodowanych dla specjalnych celów, psów woj-

skowych lub policyjnych, o ile rzeczywiście nie uległy one jeszcze pokąsaniu przez wściekłe. MoŜnaby zachęcić właścicieli psów do częstszego szczepienia zapobiegawczego, obniŜając do połowy podatek od psów szczepionych.

Wbrew nawoływaniom prasy codziennej o osłabieniu dozoru nad psami, wskazane jest raczej, aby wprowadzone w ostatnich czasach obostrzone zarządzenia były i nadal utrzymane i ściśle przestrzegane dopóki wścieklizna nie będzie zupełnie wytępiona.



Panu Profesorowi L. Hirszfelowi, organizatorowi
i Dyrektorowi Państwowego Zakładu Badania Surowic
w 10-tą rocznicę powstania Zakładu pracę tę poświęca
A u t o r.

METODYKA BADAŃ ORAZ OFICJALNE PRZEPISY OKREŚLANIA WARTOŚCI SUROWIC LECZNICZYCH I PRODUKTÓW BAKTERYJNYCH

PODAŁ

Doc. Dr. F. PRZESMYCKI.

Sposoby miareczkowania surowic leczniczych do ostatnich czasów nie były ujednoliconie; jednostki używane do wyrażenia ich wartości różniły się często znacznie pomiędzy sobą. Surowica przeciwbłonicza przed wojną prawie na całym świecie była określana według jednej metody, a surowica wzorcowa była dostarczana przez Instytut we Frankfurcie nad Menem. Jedynie w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej przygotowana była przez *Rosenau'a* własna surowica wzorcowa. Ten stan rzeczy w stosunku do surowicy przeciwbłoniczej zmienił się na niekorzyść w okresie wojny, albowiem wytwórnice odcięte od Instytutu we Frankfurcie zmuszone były ustalić swoje własne wzorce, które być może różniły się od surowicy pochodzącej z Frankfurtu. W stosunku do innych surowic istniały jeszcze większe różnice, bądź w oznaczaniu jednostki, bądź też w metodach określania. Inne surowice jak np. czerwinkowa nie posiadały nawet w przybliżeniu podobnych metod miareczkowania. Ten stan rzeczy utrudniał lekarzowi praktykowi orientację w ocenie wyników otrzymanych przy stosowaniu rozmaitych surowic. Aby zapobiec tym usterkom Komitet Higieny przy Lidze Narodów zdecydował w październiku 1921 r. podjąć badania nad ujedno-

stajniem miareczkowania surowic leczniczych. Jako wynik uchwały Komitetu Higieny zebrała się w Londynie w dn. 12—13 grudnia 1921 r. konferencja dla omówienia zagadnień, związanych ze sprawą miareczkowania surowic.

Na konferencji tej zostały wybrane 4 podkomisje:

- 1) dla badania surowic przeciwbłoniczej i przeciwżółcowej.
- 2) dla badania surowicy przeciwczernkowej,
- 3) dla badania surowic przeciwmeningokokowej i przeciw pneumokokowej,
- 4) dla badania odczynów serodjagnostycznych w kile.

Do opracowania tych zagadnień został zaproszony szereg instytutów, a między innymi i b. Państwowy Zakład Epidemiologiczny i Zakład Badania Surowic w Warszawie. Państwowy Zakład Serologiczny w Kopenhadze pod kierunkiem Prof. *Madsena* uznany jako centralny Instytut dla przeprowadzenia tych badań, upoważniony został do dawania podjętym badaniom pewnych wskazówek oraz do rozsyłania surowic wzorcowych, jadów ew. szczepów. Od 1921 r. odbyto szereg konferencji, na których omówiono i przyjęto pewne metody badania surowic i ustalono jednostki międzynarodowe.

W pracy niniejszej mam zamiar przedstawić wyniki tych badań, sposób kontroli surowic oraz, w związku z tem oficjalne metody przyjęte do miareczkowania surowic.

I. Surowica przeciwbłonicza.

Miareczkowanie surowicy przeciwbłoniczej zostało bardzo ściśle opracowane przez *Behringa* i *Ehrlicha*. Zasady, na których oparte są badania tych autorów, stosowane są przy określaniu wartości większości surowic antytoksykacyjnych.

Pierwsze próby miareczkowania surowicy przeciwbłoniczej zostały wykonane z żywymi drobnoustrojami. Metoda ta jednakże nie dała wyników zadawalniających wobec niestałości szczepów, których zjadliwość musiała być określana za każdym razem i wobec dużych wahań wrażliwości osobniczej świnek morskich. *Behring* pierwszy zaproponował zastosowanie jądów błoniczych do określania wartości surowic przeciwbłoniczych i zawdzięczając ba-

daniom *Ehrlicha*, prowadzonym w ciągu kilku lat, metoda ta została ściśle opracowana i po dziś dzień jest stosowana do miareczkowania tych surowic. W związku z pracami nad miareczkowaniem surowicy przeciwbłoniczej poczyniono wiele bardzo cennych obserwacji, dotyczących właściwości samego jadu błoniczego.

Za jednostkę jadu uważano pierwotnie najmniejszą ilość jadu, która zabija świnkę morską wagi 250 gr. na 4-ty dzień. Jednostka ta została nazwana *Dosis Letalis Minima* (D. L. M.).

W pierwszych swoich próbach miareczkowania surowicy przeciwbłoniczej *Ehrlich* zaproponował stosowanie 10 D. L. M. jako jednostki, na której można się oprzeć przy określeniu wartości surowicy. Przy zastosowaniu tej metody wyniki otrzymane przez różne pracownie były niejednolite, a to dlatego, że, jak się okazało w dalszych badaniach, jad błoniczy przy jednakowej toksyczności różnić się może pod względem zdolności wiązania.

Ehrlich uważa, że jad błoniczy składa się z dwóch grup: jednej — wiążącej (haptoforowej), która łączy się z komórkami ustroju wzgl. z ciałami odpornościowymi i drugiej grupy — jadonośnej (toksoforowej). Przy dłuższem przechowywaniu jadu grupa jadonośna może zupełnie zaniknąć, natomiast grupa wiążąca pozostaje, zachowując swoje własności łączenia się z ciałami odpornościowymi. Wobec tego zrozumiałem jest, że oparcie miareczkowania na D. L. M. nie dało jednakowych wyników, albowiem dwa jady posiadające jednakowe D. L. M. różnić się mogą pod względem grup wiążących. A więc do zobojętnienia jadu, posiadającego więcej grup wiążących, należałoby użyć więcej surowicy antytoksycznej niż dla jadów o takiej samej D. L. M., ale posiadających mniej grup wiążących,

Należy również dodać, że jad podlega stosunkowo szybkim zmianom, tak że zachowanie go w jednakowym stanie jest rzeczą prawie niemożliwą.

Wobec tego *Ehrlich* postanowił użyć jako miary do określania wartości surowicy czynnika trwalszego, a mianowicie ciał odpornościowych zawartych w surowicy.

Badacz ten, nazwał najmniejszą ilość surowicy zobojętniającą całkowicie 100 D. L. M. jednostką antytoksyczną, albo

jednostką odpornościową (J. A. albo J. O.) (Immunität-oder Antitoxineinheit). Należy zwrócić uwagę na zupełną dowolność tej miary, albowiem o ileby ta jednostka zaginęła, to nie możnaby było przygotować identycznej, gdyż 100 D. L. M. innego jadu mogłoby posiadać inną zupełnie wartość wiążącą, niż jad, użyty przez *Ehrlicha* do ustalenia jednostki, a wobec tego i ilość surowicy użytej dla zobojętnienia musiałaby być zupełnie inna.

Aby zachować tę jednostkę w stanie niezmienionym, przechowuje się surowicę wysuszoną i sproszkowaną, umieszczoną w specjalnych aparatach *Ehrlicha*. Aparat ten składa się z dwóch ampułek połączonych rurką szklaną. W jednej znajduje się surowica, a w drugiej bezwodnik kwasu fosforowego P_2O_5 . Z aparatu tego usuwa się powietrze, tak że surowica znajduje się w próżni i jest idealnie wysuszona wskutek pochłaniania wilgoci przez bezwodnik fosforowy. Aparaciki te są przechowywane w ciemni i w chłodni. W tym stanie surowica przechowuje się przez czas nieograniczony. W 1901 r. *Rosenau* przygotował podobną surowicę wzorcową w Instytucie Higieny w Waszyngtonie. Surowica wzorcowa jest rozpuszczana co 2—3 miesiące. Przygotowuje się roztwór 10% (niemiecka) suchej surowicy, przyczem rozpuszcza się surowicę w 0,85% NaCl, poczem dodaje się gliceryny zachowując następujący stosunek: 1 część NaCl + 2 części gliceryny. Tak przygotowaną surowicę rozsyła się do innych instytutów z oznaczeniem, jak należy rozcieńczyć aby 1 ccm. zawierał 1 jednostkę antytoksyczną. Surowica wzorcowa duńska rozpuszcza się tylko w 0,85% NaCl bez dodatku gliceryny.

Po ustaleniu jednostki antytoksycznej przy opracowaniu metod miareczkowania wprowadził *Ehrlich* jeszcze 2 wartości, dwie nowe dawki jadu, a mianowicie:

1. Najmniejsza dawka jadu, która w połączeniu z 1 J. A. zabija świnkę wagi 250 gr. na 4-ty dzień, została nazwana L_+ (Limes).

2. Największa dawka jadu, która w połączeniu z 1 J. A. nie wywołuje żadnych objawów chorobowych, została nazwana L_0 .

Do miareczkowania surowicy przeciwbłoniczej według metody *Ehrlicha* używamy dawki L_+ jadu błoniczego.

Przystępując do określenia wartości surowicy, musimy właściwie wykonać 2 próby a mianowicie określamy L_+ dawki jadu przy pomocy surowicy wzorcowej, a następnie przy pomocy już znanej dawki L_+ jadu, określamy zawartość jednostek antytoksycznych w badanej surowicy.

Jad, który używamy do miareczkowania, musi być stabilizo-

wany, t. zn. że po przygotowaniu powinien być przechowywany przynajmniej w ciągu roku, a to dlatego, że świeżo wyprodukowany jad bardzo szybko zmienia się i dopiero po pewnym czasie następuje ustalenie się jego wartości. Jad należy przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze stałej około $+5^{\circ}$ i powierzchnię jego najlepiej jest pokryć toluolem.

Określenie dawki L_+ jadu, przeprowadzamy w sposób następujący: bierzemy różne dawki jadu badanego i dodajemy surowicy wzorcowej rozcieńczonej w ten sposób, aby 1 ccm. tej surowicy zawierał 1 J. A., poczem ilość tę dopełnia się do 4 ccm. zapomo-cą roztworu fizjologicznego soli. Mieszaninę trzyma się w cieplarni w temp. 37° w ciągu 45 minut i następnie wstrzykuje się śwince morskiej pod skórę brzucha. Najmniejsza dawka jadu, która spowoduje śmierć świnki na 4-ty dzień, będzie oznaczała L_+ dawki jadu. Następująca tabelka Nr. 1 ilustruje przebieg doświadczenia podczas określania L_+ dawki jadu. Dla każdej dawki jadu należy brać po 2—3 świnki aby zatrzeć różnice powstałe wskutek wahań wrażliwości osobniczej zwierząt.

T A B L I C A Nr 1.
Określanie L_+ dawki jadu.

Waga świnki	Dawka jadu	D n i e			
		1	2	3	4
250 gr.	0,16 ccm.	—	—	—	—
255 „	0,16 „	lekki obrzęk	idem	idem	idem
250 „	0,17 „	obrzęk	„	„	śmierć
260 „	0,17 „	„	„	„	śmierć
255 „	0,18 „	silny obrzęk	śmierć		
265 „	0,18 „	obrzęk	„	śmierć	

$$L_+ = 0,17 \text{ ccm.}$$

L_+ dawka jadu powinna być określana co 2 — 3 miesiące przy pomocy surowicy wzorcowej.

Badanie surowicy przeciwbłoniczej wykonywamy w ten sposób, że surowicę o nieznaney ilości jednostek antytoksycznych rozcieńczamy w kolbkach o pojemności 100 ccm. w sposób dowolny, odpowiadający przypuszczalnej zawartości J. A. i następnie przy pomocy pipet precyzyjnych 1 ccm. tego rozcieńczenia dolewamy do naczynia, zawierającego dawkę L_+ jadu. Następnie przy pomocy roztworu fizjologicznego soli dopełniamy wszystko do 4 ccm. Należy zwrócić uwagę, że według przepisów niemieckich dopełnia się do 4 ccm płynu tylko rozcieńczoną surowicę nie wliczając w to dawki L_+ jadu. Natomiast w instytucie w Kopenhadze ogólna ilość wstrzykiwanego płynu wynosi 4 ccm., czyli przy dopełnianiu bierze się też pod uwagę i objętość dawki L_+ . Mieszaninę jadu z surowicą trzymamy w cieplarni w tem. 37^0 w ciągu 45 minut i następnie wstrzykujemy świnie morskiej wagi około 250 gr. pod skórę w okolice brzucha. Rozcieńczenie przy którem świnka pada na 4-ty dzień będzie wykładnikiem ilości jednostek antytoksycznych zawartych w 1 ccm. Następująca tabela Nr. 2 ilustruje przebieg badania surowicy na zawartość jednostek antytoksycznych.

T A B L I C A Nr 2.

Oznaczanie wartości surowicy.

L_+ dawka jadu = 0,17 ccm.

Waga świnki	Rozcieńczenie surowicy	D n i e			
		1	2	3	4
260 gr.	$\frac{1}{200}$	—	—	—	—
270 „	$\frac{1}{200}$	—	—	—	—
250 „	$\frac{1}{250}$	śląd obrzęku	idem	idem	idem
255 „	$\frac{1}{250}$	—	—	—	—
260 „	$\frac{1}{300}$	obrzęk	idem	idem	śmierć
265 „	$\frac{1}{300}$	obrzęk	idem	idem	śmierć

Jak wynika z tabelki Nr. 2, 1 ccm. surowicy rozcieńczonej w stosunku $\frac{1}{300}$ w połączeniu z dawką L_+ jadu zabija świnkę morską na 4-ty dzień, wobec tego należy uważać, że 1 ccm. tego rozcieńczenia surowicy zawiera 1 jednostkę antytoksyczną, a zatem 1 ccm. surowicy nierozcieńczonej zawiera 300 jednostek antytoksycznych.

Świnki, które padły wskutek zatrucia jadem błoniczym, wykazują charakterystyczne zmiany, polegające przedewszystkiem na tem, że w miejscu wstrzyknięcia występuje przekrwienie i krwawe wybroczyny, a następnie przekrwienie i obrzęk płuc, krwawy wysięk surowiczy w opłucnej i otrzewnej, oraz, co jest najbardziej charakterystyczne, przekrwienie nadnerczy. Każda świnka, która padła podczas miareczkowania jadu, lub też surowicy powinna być poddana sekcji, aby ustalić przyczynę jej śmierci. W razie braku charakterystycznych zmian opisanych wyżej należy doświadczenie powtórzyć, uważając, że śmierć świnki wywołana została przez jakieś inne przyczyny.

Należy zaznaczyć, że wszystkie pipety, zwłaszcza używane do odmierzania jadów, lub surowicy wzorcowej, muszą być bardzo ściśle mianowane i przeznaczone wyłącznie do tego rodzaju pracy.

Podkomisja do badania surowic przeciwbłoniczych i przeciwieżonych postanowiła przyjąć dla określania wartości surowicy przeciwbłoniczej metodę opracowaną przez *Ehrlicha* i porównać 2 wzorcowe surowice przechowywane i rozsyłane przez Instytut we Frankfurcie nad Menem i przez Instytut w Waszyngtonie. Badania te zostały wykonane przez 5 instytutów, a mianowicie Instytut we Frankfurcie nad Menem, Instytut *Pasteura* w Paryżu, Instytut Państwowy w Rzymie, Instytut Higieny w Waszyngtonie i Instytut w Kopenhadze. W wyniku tych doświadczeń zostało stwierdzone, że jednostka niemiecka i amerykańska są identyczne i podkomisja poleciła prof. *Madsenowi*, aby raz na rok przeprowadzał badania porównawcze nad temi dwiema surowicami.

Inne metody miareczkowania, surowicy przeciwbłoniczej.

Metoda *Römera*.

Wstrzykiwanie jadu błoniczego śródskórnie wywołuje miejscową martwicę. Na tych własnościach jadu została oparta me-

toda *Römera*. Polega ona na tem, że przy pomocy surowicy wzorcowej określa się najmniejszą dawkę jadu, która w połączeniu z $\frac{1}{500}$ J. A. wywołuje ślady miejscowej martwicy. Tę dawkę jadu przyjmujemy za dawkę próbną. Dla określania mniejszych ilości przeciwciał dawkę próbną jadu ustalamy przy pomocy $\frac{1}{5000}$ J. A. surowicy wzorcowej.

Surowicę wzorcową rozcieńczamy tak, aby 1 ccm. zawierał $\frac{1}{50}$ J. A. Następnie bierzemy różne rozcieńczenie jadu błoniczego w ilości 0,1 ccm. i dodajemy po 0,1 ccm. surowicy wzorcowej ($1 \text{ cm}^3 = \frac{1}{50}$ J. A.). Mieszaninę tę trzymamy w cieplarni w temperaturze 37° w ciągu 45 min. i następnie wstrzykujemy śródskór-

T A B L I C A Nr 3
(według Groera).

J. A.	Surowica NaCl	J. A.	Surowica NaCl
10	0,1 + 50	$\frac{1}{20}$	0,1 + 0,25
9	0,1 + 45	$\frac{1}{30}$	0,1 + 0,166
8	0,1 + 40	$\frac{1}{40}$	0,1 + 0,125
7	0,1 + 35	$\frac{1}{50}$	0,1 + 0,1
6	0,1 + 30	$\frac{1}{60}$	0,1 + 0,083
5	0,1 + 25	$\frac{1}{70}$	0,1 + 0,071
4	0,1 + 20	$\frac{1}{80}$	0,1 + 0,0625
3	0,1 + 15	$\frac{1}{90}$	0,1 + 0,055
2	0,1 + 10	$\frac{1}{100}$	0,1 + 0,05
1	0,1 + 5	$\frac{1}{200}$	0,1 + 0,025
$\frac{1}{2}$	0,1 + 2,5	$\frac{1}{300}$	0,1 + 0,0166
$\frac{1}{3}$	0,1 + 1,66	$\frac{1}{400}$	0,1 + 0,0125
$\frac{1}{4}$	0,1 + 1,25	$\frac{1}{500}$	0,1 + 0,01
$\frac{1}{5}$	0,1 + 1,0	$\frac{1}{600}$	0,1 + 0,0083
$\frac{1}{6}$	0,1 + 0,83	$\frac{1}{700}$	0,1 + 0,0071
$\frac{1}{7}$	0,1 + 0,71	$\frac{1}{800}$	0,1 + 0,00625
$\frac{1}{8}$	0,1 + 0,625	$\frac{1}{900}$	0,1 + 0,0055
$\frac{1}{9}$	0,1 + 0,55	$\frac{1}{1000}$	0,1 + 0,005
$\frac{1}{10}$	0,1 + 0,5		

U w a g a. Każde rozcieńczenie odpowiada ilości J. A. zawartej w 1 cm.³

nie 0,2 ccm. Wprowadzamy zatem $\frac{1}{500}$ J. A. Wynik odczytujemy po 48 i 72 godzinach.

Rozcieńczenie jadu, przy którym wystąpiły jeszcze ślady miejscowej martwicy będzie oznaczało dawkę próbną jadu.

Świnki do doświadczeń powinny być na brzuchu i bokach wygolone. Na każdej śwince można wykonać conajmniej osiem. do 16 zastrzyknięć.

Dla określenia wartości surowicy zapomocą metody Römera bierzemy jedną „dawkę próbną” jadu i następnie różne rozcieńczenia surowicy badanej w ilości 0,1 ccm. Mieszaninę trzymamy w cieplarni w t. 37° w ciągu 45 min. i następnie wstrzykujemy śwince śródskórnie. To najmniejsze rozcieńczenie surowicy, przy którym nie wystąpiła miejscowa martwica t. zn., przy którym jad został całkowicie zobojętniony będzie zawierało w 1 ccm. $\frac{1}{50}$ J. A. (nieco więcej). Stąd łatwo można obliczyć zawartość J. A. w jednym ccm. badanej surowicy.

Metoda Römera jest stosowana do określania małych ilości jednostek badanej surowicy. Podaję tu tabelkę Nr. 3 rozcieńczeń, które należy przygotować przy wykonaniu tego doświadczenia.

Metoda kłaczkująca według Ramona.

Obok metod miareczkowania surowicy przeciwbłoniczej, wykonywanych na zwierzętach, ostatnio została opracowana przez *Ramona* metoda badania in vitro.

Metoda ta opiera się na zjawisku zauważonem przez *Ramona*, że w mieszaninach jadu błonicznego z surowicą przeciwbłoniczą występuje w pewnych warunkach kłaczkowanie; kłaczki powstają najszybciej w takiej mieszaninie, w której ilość antytoksyny wystarcza do możliwie dokładnego zobojętnienia jadu.

Z badań *Ramona* okazało się, że przy użyciu jednego i tego samego jadu ilość surowicy niezbędna do wywoływania najszybszego kłaczkowania jest odwrotnie proporcjonalna do siły surowicy wyrażonej w jednostkach antytoksycznych. Wynika stąd, że posiadając jad wymiareczkowany pod względem kłaczkowania z surowicą o sile antytoksycznej ściśle określonej na zwierzęciu, możemy drogą porównania określić siłę innych surowic.

Ramon dla określenia wartości surowicy przeprowadza właściwie dwa badania:

a) określa wartość strącającą jadu względem surowicy wzorcowej.

b) określa wartość surowicy opierając się na określonej wartości jadu.

Wartość strącająca jadu określa się przy pomocy surowicy wzorcowej oznaczając ją w/g t. zw. jednostek antygenowych *Ramona* (J. A. R.). Jednostką antygenową *Ramona* nazywamy ilość jadu, która zubożona zostaje przez jedną jednostkę antytoksyny dając w wyniku najwcześniej kłaczkę.

Ramon miareczkuje surowice biorąc do doświadczeń tych 20 ccm. jadu. Przypuśćmy, że surowica wzorcowa zawiera w 1 ccm. 250 J. A. i 20 ccm badanego jadu daje najwcześniej strąty z surowicą wzorcową w ilości 0,8 ccm, a zatem 20 ccm tego jadu odpowiada $250 \times 0,8 = 200$ J. A. Inaczej mówiąc, badany jad zawiera 200 J. A. R. w 20 ccm. i ta ilość surowicy, która z danym jadem wywoła najwcześniej strąty będzie zawierała 200 J. A.

Jeżeli np. weźmiemy ten sam jad i dodamy do niego różne ilości surowicy badanej to jeżeli strąty najwcześniej wystąpią przy użyciu 1 ccm. tej surowicy t. zn., że zawiera ona w 1 ccm. 200 J. A. Jeżeli przypuścmy, strąty wystąpiły najszybciej przy użyciu 0,4 ccm. t. zn., że ta ilość surowicy zawierałaby 200 J. A. w 0,4 ccm. czyli w 1 ccm. 500 J. A.

Opierając się na doświadczeniach wyżej przytoczonych można dla każdego jadu ustalić tabelkę, która pozwoli z łatwością określić ilość J. A. zawartych w 1 ccm.

Metodę *Ramona* w zastosowaniu do miareczkowania surowicy przeciwbłoniczej, potwierdzono ogólnie; w Polsce odpowiednie badania przeprowadzone zostały przez *Porębskiego* i *Saskiego*. Badacze ci doszli do wniosków następujących:

1. Oryginalny sposób *Ramona* określania siły surowic przeciwbłoniczych dający w większości przypadków możliwość dostatecznie ścisłego oznaczania miana surowicy, jest niepraktyczny ze względu na znaczne spożycie jadu (20 ccm. do każdej próbki, więc do określenia jednej surowicy potrzeba 100 do 200 ccm. jadu).

2. Modyfikacje sposobu *Ramona*, polegające na używaniu mniejszych ilości jadu i surowicy, dają wyniki niemniej dokładne.

3. Do odczynu należy używać jadów mocnych, których dawka śmiertelna (D.L.M.) dla świnki morskiej wynosi co najmniej 0,02 ccm.

4. Dodatek do jadu karbolu, trójkrezolu lub formaliny w dawkach zwykłych oraz przesączanie przez świecę Berkefelda nie obniża wartości kłaczkującej jadu.

5. Używając jadu wymiareczkowanego względem surowicy o średniej sile antytoksycznej (250—300 jednostek), otrzymuje się znaczne błędy w określaniu siły surowic bardzo mocnych (900 — 1000 i więcej jednostek w 1 ccm), jak również słabych, zawierających poniżej 100 jednostek w 1 ccm.

6. Sposób *Ramona*, posiadający tę zaletę, że daje szybką odpowiedź i pozwala na znaczne zaoszczędzenie zwierząt laboratoryjnych nadaje się szczególnie do częstych określań siły surowicy w przebiegu uodparniania koni, jak również do orjentacyjnego określania surowicy o sile nieznanej, jednak jako mniej pewny, nie może narazie zastąpić powszechnie dotychczas stosowanych sposobów mianowania surowic przeciwbłoniczych in vivo przy ostatecznem oznaczaniu ich siły przed oddaniem do użytku leczniczego.

Praktyczne wskazówki dla określenia wartości surowic przeciwbłoniczych według met. *Ramona*.

Cały szereg badaczy próbował przeprowadzić miareczkowanie surowic zasadniczą metodą *Ramona*, z tą tylko zmianą, że używali oni do doświadczeń mniejszej ilości jadu. Bardzo dokładne badania zostały przeprowadzone przez *Glenny* i *Okella*.

Podają modyfikację stosowaną przez *P.Z.H. (Porębski)* wykonywaną z 2 ccm. jadu i 1 ccm. surowicy odpowiednio rozcieńczonej, tak że ogólna ilość płynu wynosi 3 ccm.

Dla określenia miana jadu potrzebna jest surowica wzorcowa dokładnie wymiareczkowana, dobrze i szybko kłaczkująca. Do tego celu można używać naturalnej surowicy płynnej bez dodatku środków dezynfekcyjnych lub wysuszonej, każdorazowo rozpuszczonej w odpowiedniej ilości roztworu fizjologicznego soli.

Surowicę wzorcową należy rozcieńczyć tak, aby 1 ccm zawierał 40 J.A. Wtedy 0,025 ccm. tego rozcieńczenia będzie zawierało 1 J.A. Dla mocniejszych jądów lepiej surowicę wzorcową rozcieńczać tak, aby 1 ccm. rozcieńczenia zawierał 100 J. A. Wtedy 0,01 ccm. tego rozcieńczenia zawiera 1 J. A.

Podana poniżej tabelka wskazuje jaką ilość rozcieńczonej surowicy należy dodać do 2 ccm. jadu, aby określić miano jadu (J. A. R.).

T A B L I C A Nr 4
(według Porębskiego).

Sur. 1 ccm.= 40 J. A.	Rozcz. fizj. dop. do 1,0	Odpowiada mia- nu (J. A. R.)	Sur. 1 ccm.= 100 J. A.	Rozcz. fizj. dop. do 1,0
0,05	0,95	1	0,02	0,98
0,1	0,9	2	0,04	0,96
0,15	0,85	3	0,06	0,94
0,2	0,8	4	0,08	0,92
0,25	0,75	5	0,10	0,90
0,3	0,7	6	0,12	0,88
0,35	0,65	7	0,14	0,86
0,4	0,6	8	0,16	0,84
0,45	0,55	9	0,18	0,82
0,5	0,5	10	0,20	0,80
0,55	0,45	11	0,22	0,78
0,6	0,4	12	0,24	0,76
0,65	0,35	13	0,26	0,74
0,7	0,3	14	0,28	0,72
0,75	0,25	15	0,30	0,70
0,8	0,2	16	0,32	0,68
0,85	0,15	17	0,34	0,66
0,9	0,1	18	0,36	0,64
0,95	0,05	19	0,38	0,62
1,0	—	20	0,40	0,60

Mieszanie surowicy i jadu trzymamy w łaźni wodnej w t° 39—40° i oglądamy co 15—20 min. Probówka, w której najwcześniej wystąpią kłaczkki, wskazuje miano badanego jadu. Przypuśćmy

np. że najwcześniej strąty zjawiają się w probówce zawierającej 0,3 ccm. surowicy (1 ccm. = 40 J. A.) t. zn. na każdy ccm. jadu przypada 0,15 ccm. surowicy co odpowiada 6 J. A. sur. (1 J. A. = 0,025 ccm.). A wobec tego, że jednostką antygenową *Ramona* nazywamy ilość jadu, która zubożniona zostaje zapomocą jednej jednostki przeciwnadu — to jeden ccm. tego jadu zubożniany przez 0,15 ccm. surowicy będzie zawierał 6 J. A. R.

Dla badania surowicy używamy jad lub anatoksynę dokładnie wymiarczkowaną według powyżej podanej metody. Badaną surowicę rozcieńczamy odpowiednio do przewidywanej liczby jednostek tak, aby zawierała 40 J. A. w 1 ccm. i z tych rozcieńczeń, na każdą jednostkę miana jadu (J. A. R.) wzorcowego, bierzemy po 0,025 ccm. (1 J. A.). Przy 2 ccm. jadu bierzemy dwa razy więcej surowicy — czyli 0,05 ccm.

T A B L I C A Nr 5

(według Porębskiego).

Rozcieńczenie surowicy dla określenia jej wartości
1 ccm. powinien zawierać 40 J. A.

Przewidywana ilość jednostek	Rozcieńczenie sur. + roz. fiz.	Ilość z każ- dego rozc.	Dopełn. rozc. fizjol. soli	Jad lub anato- ksyna wzorcowa
100	0,4 + 0,6	Z każdego rozcieńczenia po 0,05 ccm. na 1 J. A. R. użytego jadu lub anatoksyny.	Wszędzie dopełnić do 1,0 ccm.	Do każdej próbki po 2 ccm.
150	0,4 + 1,1			
200	0,4 + 1,6			
250	0,4 + 2,1			
300	0,2 + 1,3			
400	0,2 + 1,8			
500	0,2 + 2,3			
600	0,2 + 2,8			
800	0,2 + 3,8			
1000	0,2 + 4,8			
1500	0,2 + 7,3			
2000	0,2 + 9,8			

Mieszaninę badanej surowicy i jadu trzymamy w łaźni w t° 39—40° i oglądamy co 15—20 min. Probówka, w której najwcześniej wystąpią kłaczkki wskazuje miano badanej surowicy.

Kraus i jego współpracownicy starali się określić własności lecznicze surowicy przeciwbłoniczej. Uważali oni, że działanie surowicy zależne jest nie tylko od zawartości J. A. ale również i od szybkości z jaką łączy się jad z surowicą. Badania te były również wykonane przez cały szereg badaczy głównie w Instytucie Ehrlicha we Frankfurcie, w Instytucie Roberta Kocha w Berlinie. Badacze przeważnie nie potwierdzili obserwacji *Krausa* i jego szkoły. Dalsze badania w tym kierunku zostały przeprowadzone ostatnio przez *Madsena* i *Schmidta*, którzy wykazali, że szybkość z jaką występuje kłaczkowanie (metoda Ramona) jest wskaźnikiem większego lub mniejszego powinowactwa do jadu. Surowice szybko kłaczkujące, czyli wykazujące wybitne powinowactwo do jadu, posiadają własności lecznicze wielokrotnie wyższe niż surowice kłaczkujące wolne. Równoległość pomiędzy szybkością kłaczkowania i własnościami leczniczymi surowic ilustruje następująca tabelka.

T A B L I C A N r 6
(według *Madsena* i *Schmidta*).

SUROWICA	J. A. w 1 ccm.		Szybkość kłaczkowania	Czas potrzebny dla zubożenia	Dawka lecznicza
	Ehrlicha	Ramona			
a	250	275	1 godz. 15 m.	0	10 J. A.
b	150	175	15 godz.	14	150 J. A.

W doświadczeniach *Madsena* i *Schmidta* własności lecznicze surowicy były określone na królikach w ten sposób, że wstrzykiwano im surowicę przeciwbłoniczą, a następnie w różnych odstępach czasu (od 1 godz. rozpoczynając) po 6 D. L. M. jadu.

Z doświadczeń tych widzimy, że własności lecznicze nie idą równolegle z zawartością J. A.

Wobec tego *Madsen* i *Schmidt* uważają, że przy określaniu surowic przeciwbłoniczych należy zwrócić uwagę na szybkość klączkowania i szybkość zubożenia jadu przez surowicę. Proponują oni zatem wprowadzenie dwóch nowych wartości K_f i K_n . K_f oznacza czas potrzebny dla wystąpienia klączków; K_n oznacza czas potrzebny dla zubożenia jadu. Obydwie wartości dążą do wykazania stopnia powinowactwa surowic (avidité) w stosunku do jadu.

W każdym razie zagadnienie poruszone przez *Madsena* zasługuje na specjalną uwagę i powinno być przedmiotem dalszych badań.

II. Surowica przeciwężcowa.

Sprawa miareczkowania surowicy przeciwbłoniczej nie przedstawiała większej trudności, albowiem metoda ustalona przez *Ehrlicha* była stosowana przez wszystkie prawie instytuty świata, a jednostki antytoksyczne, przechowywane przez różne instytuty okazały się identycznymi.

Inaczej przedstawiała się sprawa miareczkowania surowicy przeciwężcowej, nie było bowiem jednolitej metody jej określenia. Istniały 3 jednostki odrębne, różniące się pomiędzy sobą a mianowicie niemiecka, amerykańska i francuska.

Metoda niemiecka.

Behring do miareczkowania surowicy przeciwężcowej przyjął jako jednostkę pewną dowolną dawkę jadu suchego. Należy zaznaczyć na wstępie, że jad tężcowy toksoidów nie zawiera, a zatem spadek toksyczności idzie równolegle ze spadkiem wiązalności. Wobec tego jad tężcowy łatwiej mógł być użyty, jako miara do określenia wartości surowic. Przez jednostkę jadu tężcowego *Behring* rozumie ilość jadu, która wstrzyknięta podskórnie byłaby zdolna zabić po 4-ch dniach białe myszy, w ilości 40 milionów gramów żywej wagi ciała, czyli ilość, która zabiłaby 2 miliony białych mysz ważących po 20 gr. Normalny jad tężcowy zawiera według *Behringa* 1 jednostkę jadu w 1 ccm.

Określanie surowicyprzeciwężcowej wedł. *Behringa* przebiegało w następujący sposób. Surowicę badaną rozcieńczano zapomocą 0,85% NaCl w stosunku $\frac{1}{100}$ (1 ccm. surowicy + 99 ccm. NaCl). Z tego rozcieńczenia brano 1 ccm. do kolbki, zawierającej 38 ccm. wody przekroplonej, do której również dodano 1 ccm. jadu tężcowego, zawierający $\frac{1}{10}$ normalnej dawki jadu. Mieszaninę trzymano w temperaturze pokojowej w ciągu $\frac{1}{2}$ godz. i następnie w ilości 0,4 ccm. wstrzykiwano podskórnie myszce wagi 15 gr. Jeżeli nie wystąpiły żadne objawy chorobowe, to należało uważać, że 0,01 ccm. surowicy zobojętniało $\frac{1}{10}$ dawki normalnego jadu.

Ilość jednostek antytoksycznych w 1 ccm. surowicy badanej, określamy w sposób następujący. Jad normalny służył za jednostkę, na której opierają się wszystkie badania, a zatem jeżeli $\frac{1}{100}$ ccm. surowicy zobojętniało $\frac{1}{10}$ dawki jadu normalnego, to 1 ccm. tej surowicy zobojętni 10 dawek jadu normalnego. Inaczej mówiąc, surowica badana jest 10-krotna, czyli w 1 ccm. zawiera 10 jednostek antytoksycznych. Jeżeli wzięto dla zobojętnienia surowicę rozcieńczoną, przypuśćmy w stosunku $\frac{1}{50}$, wówczas należałoby ją określić jako 5-krotną, czyli zawierającą 5 jednostek antytoksycznych w 1 ccm. W ten sposób przeprowadza się obliczenie zawartości J. A. w badanej surowicy.

Z doświadczenia powyższego łatwo ustalić L_0 i L_+ dawki jadu dla myszy. Myszka otrzymała $\frac{1}{1000}$ J. A. + 0,001 dawki normalnego jadu. Jeżeli mysz przeżyła, to w takim razie powyższa dawka jadu będzie odpowiadała L_0 , w przeciwnym zaś razie L_+ .

Behring przygotował surowicę tężcową wzorcową, która po rozcieńczeniu wg. przepisu zawiera w 1 ccm. $\frac{1}{100}$ J. A., przy jej pomocy możemy ustalić L_0 do L_+ jadu tężcowego.

Przy miareczkowaniu surowicy przeciwężcowej opieramy się na doświadczeniach *Behringa* i przeprowadzamy te badania porównawczo z surowicą wzorcową. Surowicę badaną rozcieńcza się tak, aby podobnie do wzorcowej 1 ccm. zawierał $\frac{1}{100}$ J. A., a następnie bierzemy różne dawki jadu w granicach od L_0 do L_+ . Bierzemy zatem do doświadczenia od 0,8 do 1,5 ccm. jadu, odpowiednio rozcieńczonego. Mieszaninę jadu i surowicy dopełnia się 0,85% NaCl do 4 ccm. i po zmieszaniu trzyma się temperaturze pokojowej w ciągu $\frac{1}{2}$ godz., a następnie wstrzykuje się 0,4 ccm.

tej mieszaniny pod skórę myszce wagi 15 gr. A zatem każda myszka otrzymuje $\frac{1}{1000}$ J. A. i różne ilości jadu od 0,08—0,15 ccm.

Na zasadzie objawów i dnia śmierci myszek w porównaniu ze stanem myszki, której dano mieszaninę jadu z surowicą wzorcową, możemy ustalić, czy badana surowica ściśle odpowiada surowicy wzorcowej, czy też jest słabsza lub silniejsza od niej.

Objawy chorobowe występujące u myszy i świnek morskich pod wpływem zatrucia jadami tężcowemi polegają na skurczu i sztywności mięśni pierwotnie w miejsca zastrzyku, a następnie rozszerzających się na wszystkie mięśnie ciała.

U myszy, której wstrzyknięto podskórnice, w okolicy boku jad niecałkowicie zobojętniony występuje w tem miejscu skurcz mięśni, wskutek czego drugi bok jest łukowato wygięty. W zależności od stopnia wygięcia mówimy, o łuku lekkim, wyraźnym lub silnym. W dalszym rozwoju zatrucia stopniowo sztywnieją wszystkie mięśnie, mysz, lub świnka nie może zupełnie poruszać kończynami, jest „twarda“, położona w jakiegokolwiek pozycji jest zupełnie nieruchoma; jest to właściwie tężec ogólny, poprzedzający śmierć zwierzęcia.

Załączona tabelka (Nr. 7) przedstawia przebieg doświadczenia na myszach.

Widzimy zatem, że objawy chorobowe występujące u myszy, którym wstrzyknięto mieszaninę jadu i surowicy wzorcowej są identyczne z objawami występującymi u myszy, którym wstrzyknięto mieszaninę jadu i surowicy badanej. A zatem surowica badana ma takie same miano, czyli 4 J. A.

Metoda amerykańska.

Metoda opracowana przez *Behringa* i stosowana w Niemczech nie zadowalniała badaczy amerykańskich, którzy opracowali inną metodę i ustalili J. A. opartą na odmiennych zasadach.

J. A. amerykańska jest to ilość surowicy 10-krotnie większa od najmniejszej jej dawki, która w połączeniu z pewną stałą dawką jadu chroni od śmierci świnkę morską wagi 350 gr. w ciągu 96 godzin, taka dawka jadu wynosi 100 D. L. M. dla świnki wagi 350 gr. (L+).

T A B L I C A Nr 7.

Miareczkowanie surowicy przeciwężcowej.

Miano podane przez wytwórnę = 4 J. A. w 1 ccm.

	Surowica wzorcowa	Surowica badana	Surowica wzorcowa	Surowica badana
	Dawka jadu 0,08.		Dawka jadu 0,12.	
	Mysz Nr. 1.	Mysz Nr. 9.	Mysz Nr. 5.	Mysz Nr. 13.
20,7	0	0	ślady łuku	lekkie ślady łuku
21,7	0	0	łuk lekki	ślady łuku
22,7	0	0	" " wyraźny	łuk lekki
23,7	0	0	" wyraźny	" " wyraźny
24,7	0	0	" dosyć silny	" wyraźny
25,7	0	0	" silny	" dosyć silny
	Dawka jadu 0,09.		Dawka jadu 0,13.	
	Mysz Nr. 2.	Mysz Nr. 10.	Mysz Nr. 6.	Mysz Nr. 14.
20,7	?	0	łuk lekki, wyraźny	ślady łuku
21,7	lekkie ślady łuku	?	" wyraźny	łuk lekki
22,7	" " "	lekkie ślady łuku	" dosyć silny	" " wyraźny
23,7	" " "	" " "	" silny	" wyraźny
24,7	" " "	" " "	padła po upływie	" dosyć silny
25,7	" " "	" " "	6 dni	" silny
	Dawka jadu 0,1.		Dawka jadu 0,14.	
	Mysz Nr. 3.	Mysz Nr. 11.	Mysz Nr. 7.	Mysz Nr. 15.
20,7	lekkie ślady łuku	?	łuk lekki, wyraźny	łuk lekki
21,7	" " "	lekkie ślady łuku	" wyraźny	" wyraźny
22,7	ślady łuku	" " "	" dosyć silny	" dosyć silny
23,7	" "	ślady łuku	" silny	" silny
24,7	" "	" "	padła po upływie	padła po upływie
25,7	" "	" "	5 dni	5 dni
	Dawka jadu 0,11.		Dawka jadu 0,15.	
	Mysz Nr. 4.	Mysz Nr. 12.	Mysz Nr. 8.	Mysz Nr. 16.
20,7	lekkie ślady łuku	lekkie ślady łuku	łuk wyraźny	łuk wyraźny
21,7	ślady łuku	" " "	" dosyć silny	" dosyć silny
22,7	" "	ślady łuku	" silny	" silny
23,7	lekki łuk	" "	padła po upływie	padła po upływie
24,7	" "	" "	4 dni	4 dni
25,7	" "	lekki łuk		

W Instytucie Higieny w Waszyngtonie znajduje się surowica wzorcowa i jad wysuszony. W każdym doświadczeniu określa się przy pomocy surowicy wzorcowej L_+ dawki jadu, którą w dalszym ciągu stosuje się do mianowania surowicy nieznanej. Wszystkie rozcieńczenia przygotowuje się zapomocą roztworu 0,85% NaCl. Mieszaninę jadu i antytoksyny dopełnia się do 4 ccm. roztworem fizjol. soli i trzyma się w temp. pokojowej w ciągu godziny, a następnie wstrzykuje się śwince pod skórę brzucha.

Amerykanie odróżniają w pracowniach 5 stopni stanów chorobowych u świnek morskich zatrutych jadem tężcowym, a mianowicie:

- 1) Hypertonus, napięcie mięśni bez objawów tężca.
- 2) Słaby tężec, który stwierdzamy tylko przez dotknięcie rękami.
- 3) Tężec widoczny.
- 4) Tężec silny: świnka położona na boku nie może się sama podnieść.
- 5) Bardzo ciężkie objawy tężca. Świnka ginie.

Przykład miareczkowania surowicy.

L_+	dawka jadu po rozcieńczeniu zawiera w 1 ccm.	0,0006 gr.
0,0006	jadu + 0,001 ccm. antytoksyny	śmierć po 2 dn. 4 godz.
0,0006	" + 0,0015 "	" " 4 dn. 1 godz.
0,0006	" + 0,002 "	" objawy tężca
0,0006	" + 0,0025 "	" lekkie objawy tężca
0,0006	" + 0,003 "	" bez objawów

A zatem 0,0015 ccm. surowicy zawiera $\frac{1}{10}$ J. A. amerykańskiej, czyli 1 ccm zawiera 66 J. A.

Metoda francuska.

Metoda francuska polega na określaniu działania leczniczego surowicy przeciwtężcowej. Świnkom morskim wstrzykuje się podskórnie spadające dawki surowicy od $\frac{1}{500000}$ do $\frac{1}{10000000}$, a następnie po upływie 12—20 godzin wprowadza się do otrzewnej 1 dawkę śmiertelną jadu tężcowego. Miano surowicy określa się zapomocą tego rozcieńczenia, które chroni świnkę od śmierci. Miano zwykle wynosi około 1 miliona dawek w 1 ccm.

Metoda duńska.

Metoda duńska oparta jest wyłącznie na dawce L_0 jadu, którą określa się przy pomocy surowicy wzorcowej. Jad używany do badań jest przechowywany w stanie płynnym pod toluolem w t^0 od $2-4^0$. Mieszaninę surowicy i jadu trzyma się w temperaturze pokojowej w ciągu godziny i następnie wstrzykuje się ją w ilości 0,5 ccm. myszce u nasady ogona; największa dawka jadu, która w ciągu 5 dni nie wywołuje śladów tężca została określona jako dawka L_0 . Opierając się na tej dawce przeprowadza się badanie nieznanych surowic przeciwtężcowych.

Metoda włoska.

Pierwotnie surowica przeciwtężcowa we Włoszech określana była na królikach według metody *Tizzoniego*, który począwszy od r. 1912 brał do miareczkowania surowicy strychninę zamiast jadu tężcowego, uważając oba jady za równoznaczne wobec podobieństwa objawów zatrucia. Metoda ta skontrolowana przez *Gosio*, została odrzucona. Autor ten zaleca stosowanie metody amerykańskiej, nieco zmienionej przez *Pergolę*. Modyfikacja polega na tem, że przygotowuje się w 3 ccm. mieszaninę jadu z surowicą w ten sposób, że każdy ccm. zawiera L_+ dawkę jadu; mieszaninę wstrzykuje się świnkom morskim podskórnie w ilości 1 ccm.

Podkomisja, na zasadzie wszystkich tych metod opracować miała jednolity sposób miareczkowania, porównać i ustalić jednostkę międzynarodową. Prace nad temi zagadnieniami zostały wykonane w tych samych instytutach, które zajmowały się miareczkowaniem surowicy przeciwbłoniczej, a mianowicie: w Paryżu, Londynie, Rzymie, Frankfurcie i Kopenhadze. Porównawcze badania jednostek amerykańskiej, niemieckiej i francuskiej przeprowadzone były przez *Walbuma* w Kopenhadze. Badania te wykonano według metody duńskiej. W wyniku tych doświadczeń zostało stwierdzone, że 1 jednostka niemiecka odpowiada mniej więcej 66 jednostkom amerykańskim i 3750 jednostkom francuskim. Inni badacze otrzymali wyniki bardzo podobne, a mianowicie:

Gosio (Włochy) 1 J. A. niemiecka = 65—70 J. A. amerykańskich
Kolle (Niemcy) 1 „ „ = około 66 J. A. „
Mc. Coy (Ameryka) 1 „ „ = trochę mniej niż 66.6 J. A. amerykańskich.

Walbum zajmując się określaniem jednostki antytoksycznej, przeprowadził porównawcze badania nad dawkami jadu L_0 i L_+ na myszach i świnkach morskich. Jak widzimy z załączonej tabelki Nr. 8 ściśle określenie ilości jednostek przy stosowaniu L_+ dawki jadu, jest niesłychanie trudne, gdyż myszy względnie świnki morskie padają w tak różnym czasie, że otrzymuje się wyniki bardzo niejednolite.

T A B L I C A Nr 8.

Data badania	Dawki L_0 jadu		Dawki L_+ jadu	
	Myszy	Świnki	Myszy	Świnki
9.IX 1922	70 J. A.			
18.IX 1922	70 J. A.			80 J. A.
17.X 1922	70 J. A.	74 J. A.	76 J. A.	76—80 J. A.
28.X 1922	70 J. A.	72 J. A.	80 J. A.	76—80 J. A.

Wobec tego, że nie udało się ściśle porównać istniejących jednostek, postanowiono po szeregu doświadczeń i posiedzeń komisji na zebraniu Stałego Komitetu do spraw wzorcowych w dn. 11—13 października 1926 r. ustalić nową jednostkę antytoksyczną dla miareczkowania surowicy przeciwężcowej.

Jednostka ta będzie określana przy pomocy surowicy wzorcowej tego rodzaju, co surowica wzorcowa amerykańska. Dwie J. A. międzynarodowe ściśle odpowiadają 1 J. A. amerykańskiej.

Załączam tu protokół (Tab. Nr. 9) porównawczego badania surowic wzorcowych: niemieckiej, amerykańskiej i międzynarodowej, wykonanego według metody duńskiej i amerykańskiej w instytutach w Kopenhadze, Londynie i Waszyngtonie.

Data bad.	Miejsce badania	Metoda	P O C H O D Z E N I E		Z O B O J Ę T N I E N I E		U W A G I
			J a d	Antytoksyna	J a d	+ Antytoksyna	
1927	Kopenhaga	Duńska	Duński 146	Amer. Wz. Sur.	0,110	0,1 am. jedn.	$L_0=0,110$
12.III	"	"	"	"	0,110	0,1 "	$L_0=0,110$
18.III	"	"	"	Duńsk. Wz. Sur. A.	0,110	0,2 międz. jedn.	0,2 międz. jedn. = 0,1 am. jedn.
26.III	"	"	"	"	0,110	0,2 "	jedn.
1.X	"	"	"	"	0,125	0,2 "	$L_0=0,125$
6.X	"	"	"	"	0,125	0,2 "	$L_0=0,125$
"	"	"	"	Ang. Wz. Sur.	0,125	0,2 "	$L_0=0,125$
1928	"	"	"	Duńsk. Wz. Sur. A.	0,135	0,2 "	$L_0=0,135$
11.II	"	"	"	"	0,135	0,2 "	$L_0=0,135$
17.II	"	"	"	Ang. Sur. Wz. (stycz. 1928)	0,135	0,2 "	$L_0=0,135$
"	"	"	"	Niem. Sur. Wz. (grudz. 1927)	0,135	0,2 "	$L_0=0,135$
23.II	"	"	"	Duńsk. Sur. Wz. A.	0,135	0,2 "	$L_0=0,135$
"	"	"	"	Ang. Sur. Wzor.	0,135	0,2 "	$L_0=0,135$
"	"	"	"	Niem. Sur. Wz.	0,135	0,2 "	$L_0=0,135$
1927	"	"	"	"	0,135	0,2 "	$L_0=0,135$
26.IV	Waszyngton	Ameryk.	Ameryk. G.	Amer. Sur. Wzor.	0,00078	0,1 am. jedn.	0,1 Amer. jedn. = 0,2 międz. jedn.
"	"	"	"	Duńsk. Sur. Wzor.	0,00078	0,2 międz. jedn.	
1928	Londyn	"	Angielski E.	Amer. Sur. Wzor.	0,095	0,24 "	
Luty	"	"	"	Ang. Sur. Wzor.	0,095	0,24 "	
"	"	"	"	Duńsk. Sur. Wzor.	0,0475	0,22 "	
"	"	"	Angiels. L. C.	Amer. Sur. Wzor.	0,0475	0,22 "	
"	"	"	"	Ang. Sur. Wzor.	0,0475	0,24 "	

P. Z. H. przyjął do miareczkowania surowicy przeciwtężcowej jednostkę międzynarodową i określa tę surowicę według metody duńskiej.

Praktyczne wskazówki do miareczkowania surowicy przeciwtężcowej.

Surowicę przeciwtężcową rozcieńczamy tak, aby 1 ccm. zawierał 1 J. A. Jeżeli, przypuścimy, mamy surowicę zawierającą 200 J. A. w 1 ccm. to rozcieńczamy ją $\frac{1}{200}$ i do próby bierzemy 0,2 ccm., co odpowiada 0,2 J. A. Następnie bierzemy dawkę L_0 określoną ściśle przy pomocy surowicy wzorcowej. Przypuścimy, że dawka naszego jadu wynosi 0,065 ccm. A zatem przygotowujemy następującą mieszaninę:

Jad (L_0)	0,065 ccm.
Surowica odpowiednio rozcieńcz.	0,2 ccm.
0,85% NaCl.	0,235 ccm.
	0,5 ccm.

Mieszaninę trzymamy w temperaturze pokojowej (około 20°) w ciągu jednej godziny i następnie wstrzykujemy myszce pod skórę u nasady ogona. Myszki trzymamy pod obserwacją 5 dni, przychem nie powinny wystąpić żadne objawy chorobowe. Każde rozcieńczenie surowicy wstrzykujemy 2-m myszkom. Badanie zawsze przeprowadzamy porównawczo z surowicą wzorcową.

III Surowica przeciwczerwonkowa.

Podkomisja druga dla miareczkowania surowicy przeciwczerwonkowej miała znacznie trudniejsze zadanie, niż podkomisja pierwsza (surowica przeciwbłonicza i przeciwtężcowa), gdyż badania nad jadami czerwinkowymi nie były ostatecznie zakończone. Zanim zatem przystąpiono do opracowania metod miareczkowania, musiano przedewszystkiem poznać istotę i skład jadów czerwinkowych. Do prac nad miareczkowaniem surowicy przeciwczerwonkowej został zaproszony cały szereg instytutów, a między innymi b. P. Z. Badania Surowic i Zakład Epidemjologiczny w Warsza-

wie i b. P. Zakład wyrobu surowic w Krakowie. Prace te były przeprowadzone pod kierunkiem prof. *Hirszfelda* przez *Przesmyckiego*, *Seydlównę* i *Sierakowskiego* w Warszawie i przez *Gieszczykiewicza* i *Lipińskiego* w Krakowie.

Prawie wszyscy badacze rozpoczęli swe badania od prób wyjaśnienia istoty i składników jadów czerwonych. Zanim przejdę do streszczenia wyników prac, przeprowadzonych nad jadami przez różne zakłady, chciałbym pokrótce zestawzić badania i poglądy na istotę jadów czerwonych, przyjęte ogólnie, przed rozpoczęciem prac zainicjowanych przez Ligę Narodów.

Conradi był pierwszym, który wykazał, że przesącz z hodowli pałeczek *Shigi-Krusego* są jadowite dla królików i wywołują podobne objawy jak drobnoustroje żywe. W ocenie jadów czerwonych powstały dwa wyraźnie zarysowane kierunki. Zwolennicy pierwszego kierunku, jak np. *Dopter*, *Besredka*, *Neisser*, *Shiga* i *Vaillard* potwierdzili spostrzeżenia *Conradi*'ego i zaliczyli jady czerwone do endotoksyn, ściśle związanych z ciałem bakteryjnym. Inny kierunek zapoczątkowały prace *Rosenthala*, *Todda*, *Krausa*, *Doerra*. Autorom tym udało się otrzymać jady w przesączach płynnych hodowli pałeczek *Shigi-Krusego*. Jady te zaliczali oni do ekzotoksyn. Dalsze prace miały na celu wyjaśnienie istoty jadów czerwonych. Wyniki badań były sprzeczne, gdyż niektórzy badacze przypisywali jadowi czerwonkowemu budowę złożoną, obecność w nim kilku jadów o odrębnych własnościach i działaniu.

Pfeiffer i *Ungermann* zaliczają jady czerwone do endotoksyn i dzielą je na jad króliczy, który wywołuje objawy nerwowe u królika i jad świnki morskiej, który nie zubojeźnia się przez surowicę swoistą. Jady dla świnki morskiej miały być identyczne z jadami, wywołującymi czerwonkę u człowieka. *Bessau* stoi na podobnym stanowisku, uwzględniając obecność ekzotoksyn i endotoksyn, a te ostatnie nazywa jadami świnki morskiej, identyfikując je z jadami dla człowieka. *Selter* odróżnia 3 jady: dla królika, dla psa i świnki morskiej, ten ostatni, zdaniem autora, składa się z jadu łatwo ulegającego ekstrakcji, niedającego się zubojeźnić przez surowicę swoistą i z jadu związanego z ciałem

bakterji, właściwej endotoksyny, na którą surowica swoista wywiera pewne działanie.

Na odmiennem stanowisku stoi szkoła *Krausa*. *Baecher* i *Laub* zaliczają jady świnki morskiej do protein nieswoistych, o których zobojętnianiu przez surowicę swoistą nie może być mowy. Na podobnem stanowisku stoi *Doerr*. Dążenie do podziału jadu czerwonego na kilka jadów zostało rozwinięte dalej w pracy *Horimi'ego*, który w jadach czerwonych odróżnia jady dla całego szeregu narządów, jako to: dla kiszek ślepej, dla kiszek grubej, dla jelit cienkich i wreszcie dla układu nerwowego. Autor zalicza jady dla kiszek ślepej do ekzotoksyn, a wszystkie inne do jadów związanych z ciałem drobnoustrojów czyli do endotoksyn. *Owczarewicz* w doświadczeniach swoich nie mógł potwierdzić badań *Horimi'ego* i uważa podział oparty na zmianach anatomo-patologicznych za nieuzasadniony wobec niestałości tych zmian.

Jak widzimy z powyżej przytoczonej literatury kwestja jadów czerwonych nie została ostatecznie rozstrzygnięta, a wielka wojna usunęła te badania na dalszy plan. Dopiero w r. 1920 praca *Olitzkiego* i *Kliglera* porusza to zagadnienie nanowo. Badacze ci sądzą, że pałeczki *Shigi-Krusego* wytwarzają zarówno endotoksyny, jak i ekzotoksyny. Jady kiszkowe jako ciepłostale, autorzy zaliczają do endotoksyn, jady nerwowe jako ciepłochwienne do ekzotoksyn. Podają oni różne metody, pozwalające odzielić endotoksyny od ekzotoksyny. Według ich badań hodowle 5-dniowe zawierają tylko ekzotoksyny, posiadają zatem zdolność wywoływania objawów nerwowych. Natomiast w 12-dniowych hodowlach występują już endotoksyny, które wywołują u zwierząt objawy mieszane (nerwowe i kiszkowe), a w hodowlach 18-dniowych ilość endotoksyn jest tak znaczna, że maskuje obecność ekzotoksyn i króliki padają z objawami wyłącznie kiszkowymi. Autorzy przygotowali surowice, skierowane przeciwko ekzotoksynom i endotoksynom, t. j. przeciwko hodowlom młodym i starym i starali się określić w nich ilość jednostek anty-endotoksycznych i anty-ekzotoksycznych. przyczem surowice anty-endotoksyczne nie powinny były zobojętnić ekzotoksyn i odwrotnie.

Praca *Olitzkiego* i *Kliglera*, była punktem wyjścia dalszych badań, gdyż potwierdzenie obserwacji w niej zawartych miałoby

bardzo duże znaczenie dla sprawy przygotowania surowic i ich miareczkowania. W pracach naszych, wykonanych z jadami płynnymi i z drobnoustrojami żywymi, nie mogliśmy oddzielić neurotoksyn od enterotoksyn. Nie poprzestając jednak na tych badaniach, staraliśmy się przy pomocy innych metod skontrolować obserwacje *Olitzkiego* i *Kliglera*. W tym celu zostały uodpornione 3 konie: jeden jadami młodemi 6-dniowymi — neurotoksynami, drugi jadami oraz żywymi drobnoustrojami, a trzeci tylko żywymi drobnoustrojami. Otóż surowica pierwszego konia powinna była w myśl autorów amerykańskich zawierać anty-neurotoksyny, surowica drugiego — anty-enterotoksyny i anty-neurotoksyny, a surowica trzeciego tylko anty-enterotoksyny. Posiadając surowice tych trzech koni, próbowaliśmy zubożętniać wyciągi baktericyjne oraz jady młode i stare. Jednakże, nie udało się nam wyodrębnić jednego składnika przez zubożętnienie drugiego; każda surowica posiadała zdolność zubożętniania wszystkich jadów. W wyniku tych doświadczeń, przeprowadzonych przez nas (*H. P. S. S.*), krakowskich badaczy (*G. i L.*), badaczy japońskich i *Doerra*, nie udało się potwierdzić wyników *Olitzkiego* i *Kliglera* i wobec tego stanęliśmy na stanowisku, że jad czerwony jest biologicznie jednolity i posiada zdolność wywoływania objawów zarówno nerwowych, jak i kiszkowych.

Działanie jadu na organizm jest ściśle zależne od drogi, jaką jady te zostają wprowadzone. Dla królików ustalono, że najregularniejsze wyniki dają wstrzykiwania dożylne. Dla zabicia zwierzęcia drogą wstrzykiwania podskórnego lub dootrzewnego, muszą być stosowane dawki 5, 10 a nawet 20-krotnie większe. *Kolle*, *Heller* i *Mestral* w swoich pierwszych pracach proponowali wprowadzanie jadu dootrzewnowo; jednakże obecnie, na mocy prac dalszych, sądzą, że jad wprowadzany śródżylnie daje najregularniejsze wyniki.

Zwierzętami najbardziej wrażliwymi na jad czerwony okazały się króliki, które po otrzymaniu dawki śmiertelnej wykazywały najczęściej objawy nerwowe, polegające na niedowładzie kończyn przednich, a następnie na porażeniu, które rozwijało się powoli przechodząc w paraliż ogólny, kończący się śmiercią. Jednakże obserwowano czasami przypadki zdrowienia, nawet u zwierząt dotkniętych paraliżem ogólnym. Objawy kiszkowe występują rzadziej

i widocznie zależne są od czasu trwania choroby, gdyż w przypadkach szybkiego jej przebiegu, kończącego się po 3—4 dniach śmiercią, kliniczne objawy kiszkowe są stosunkowo rzadkie. W razie dłuższego trwania choroby objawy kiszkowe rozwijają się stopniowo w postaci biegunki. U myszy, zatrutych jadem czerwonym, występują objawy podobne do objawów u królików. Obserwowano porażenia przednich i tylnych kończyn, porażenia ogólne i biegunkę. U myszy zatrutych jadem obserwować można często łukowate wygięcie kręgosłupa. Porażenia występują zazwyczaj na parę godzin przed śmiercią, chociaż obserwowano przypadek wyzdrowienia po porażeniu trwającym kilka dni. Czasami mysz, znajdującą się w klatce, pozornie zupełnie zdrowa, przy dotknięciu dostaje drgawek i wkrótce pada, lub dostaje porażenia. U myszy, podobnie jak u królików, biegunka występuje dość rzadko i to przeważnie w przypadkach przewlekłych. Myszy są naogół znacznie mniej wrażliwe na jad czerwony niż króliki. Badania porównawcze nad dawką śmiertelną dla królików i myszy wykazują, że myszy są 20—50 razy mniej wrażliwe, niż króliki. Cały szereg badaczy jest zdania, że badanie na myszach daje regularniejsze wyniki, a zatem zwierzęta te stanowią odpowiedniejszy materiał do miareczkowania. Z drugiej strony *Doerr*, *Zangger* i *Shiga* oraz *Hirszfeld*, *Przesmycki*, *Seydlówna* i *Sierakowski* uważali króliki za bardziej nadające się do miareczkowania, chociaż myszy mogą też być używane do tego celu,

W wyniku dyskusji, przeprowadzonej w podkomisji drugiej, zdecydowano używać myszy do miareczkowania surowicy przeciwczerwonkowej.

Shiga, *Kawamura* i *Tsuchiya* podkreślają tak dobrze znaną każdemu badaczowi, nierównomierność w oddziaływaniu zwierząt na wprowadzenie jadu t. zn., że z pośród 2 zwierząt, zatrutych taką samą dawką jadu jedno może paść, a drugie pozostać przy życiu, dając bardzo nieznaczne objawy chorobowe, albo nie dając żadnych. Wobec tego wszystkie badania oparte na D. L. M. dają wyniki niedość ścisłe.

Zangger uczeń *Doerra* dochodzi do wniosku, że przy miareczkowaniu jadów D. L. M. nie posiada dużej wartości i należy zastąpić ją czemś bardziej stałym. *Zangger*, *Doerr*, a następnie *Ta-*

wern i O'Brien sądzą, że należy stosować Dosis Certe Letalis t. zn. taką dawkę jadu, która zabija napewno wszystkie zwierzęta. Z badań wykonanych przez Zanggera widzimy, że D. C. L. jest 10-krotnie większa, niż D. L. M. i jasnym jest, że przy porównawczych badaniach, nie możemy się opierać tylko na D. L. M., która może dawać jedynie wyniki względne. W tych badaniach zatem oprócz dawek wymienionych w poprzednich rozdziałach podane będzie nowe określenie jadu Dosis Certe Letalis, które będzie stosowane zawsze przy miareczkowaniu surowic przeciwczerwonkowych.

Należałoby jeszcze zwrócić uwagę na wahania wrażliwości różnych ras zwierząt. Tak na przykład (według Jonesco, Michaesti i Combiescu) małe czarne króliki o krótkich uszach, są bardziej odporne na jady, niż inne rasy królicze. W naszych badaniach zauważyliśmy, że również i myszy pochodzące z różnych hodowli wykazują duże wahania w wrażliwości na jad czerwony (czasem w stosunku 1:3).

Stopień zmienności jadu nie zawsze jest jednakowy. Shiga, Kawamura i Tsuchiya, podają że jady trzymane w jednakowych warunkach nierównomiernie traciły swoją jadowitość. Jeden z jadów badanych w ciągu 2—3 miesięcy zmniejszył swoją jadowitość do $\frac{1}{5}$ poprzedniej swej wartości, inny zaś w tym samym czasie osłabł niezmiernie mało z 0,1 ccm. do 0,125 ccm. Jonesco Michaesti i Popescu sądzą, że po okresie mniej więcej 3-miesięcznym następuje pewna stabilizacja jadu i że po tym czasie, jady nie zmieniają się i stan taki trwać może około roku. W naszych doświadczeniach jad 53 wykazywał nieznaczne zmniejszenie jadowitości, gdyż dawka śmiertelna wzrosła po 3 tygodniach z 0,05 do 0,075 ccm. utrzymując się na tej wysokości w ciągu roku. Dla myszy zaś dawka śmiertelna wcale się nie zmieniła, inne jady zmieniały jednak swoją jadowitość w stopniu znacznie większym, tak że nie zawsze mogliśmy otrzymać stabilizację jadu.

W związku z badaniami nad jadami czerwonymi powstało w dalszym ciągu zagadnienie wiązalności jadów. Ehrlich w badaniach nad jadami błoniczemi wykazał, że jad ten składa się z dwóch grup, a mianowicie grupy chwytniej, mającej powinowactwo do komórek organizmu i do przeciwciała i z grupy jadowej, której działanie na tkanki organizmu występuje tylko wtedy,

kiedy grupa chwytna połączy się z komórkami ciała. Podczas przechowywania jad błonicy ulega zmianom, polegającym na zniszczeniu grupy jadonośnej podczas gdy grupa chwytna pozostaje niezmienną. Pomimo zniszczenia grupy jadonośnej — grupa chwytna istnieje i może łączyć się z przeciwwadami, tak że pomimo zmiany jadowitości wiązanie jadu pozostaje niezmienną t. zn., że dawka jadu chociaż zmniejszyła swą jadowitość wiąże tę samą ilość antytoksyny. Badania te jednak jak dotąd odnoszą się wyłącznie do jadów błonicy.

Prace *Fukuhary*, a następnie *Shigi*, *Kawamury* i *Tsuchiyi* oraz nasze doświadczenia wykazały, że spadek miana jadu łączy się ściśle ze spadkiem wiązalności jadu, czyli że jady czerwone nie wytwarzają toksoidów w przeciwstawieniu do jadów błonicy.

Do miareczkowania surowic czerwonych zaproponowano stosowanie jadów suchych. Jak wykazały badania, wiązalność tych jadów nie jest jednakowa i różni się nawet bardzo znacznie od wiązalności jadów płynnych.

Badania porównawcze zostały przeprowadzone przez *Madsena*, brał on do doświadczenia 10 D. C. L. jadu płynnego i suchego, następnie próbował go zubożyć przy pomocy surowic wzorcowych: niemieckiej, japońskiej, polskiej, angielskiej i Instytutu Listera:

S u r o w i c e:

	Niem.	Jap.	Pol.	Ang. wzor.	Inst. List.
10 D. C. L. jadu suchego	150 jedn.	250	125	60	250
10 D. C. L. jadu płynnego	300 jedn.	500	250	125	550

Jak widzimy z powyższego zestawienia dla zubożenia suchego jadu potrzebna była prawie dwukrotnie większa ilość surowicy niż dla jadu płynnego.

Widzimy zatem, że powinowactwo surowicy do jadów suchych i płynnych nie jest jednakowe i może się wahać w dość szerokich granicach (dwukrotnie). Na ten szczegół należy zwrócić specjalną uwagę wobec tego, że różne pracownie używały różnych jadów dla miareczkowania surowic.

W dalszym ciągu badań powstało zagadnienie, w jakiej proporcji łączą się jady z przeciwwadami. W stosunku do prawdzi-

wych ekzotoksyn, takich jak jad błoniczy, lub tężcowy, zostało ustalone, że łączą się one z surowicą na zasadzie prawa wielorakich proporcji. Zastanawiano się zatem, czy to samo prawo obowiązuje w stosunku do jadów czerwonych. Opinie różnych badaczy były rozbieżne w tym względzie, o ile *Fukuhara*, *Shiga*, *Kolle*, *Doerr* i *Tarasiewicz* sądzili że jady łączą się z przeciwwiadami na zasadzie prawa wielorakich proporcji, to *Mc Conkey*, *Hirszfeld* i *Przesmycki* uważają, że prawo to nie daje się stwierdzić przy stosowaniu większych dawek jadu.

A zatem reasumując wszystkie badania nad jadami czerwonymi, przychodzimy do wniosków następujących:

- 1) jad czerwony jest biologicznie jednolity,
- 2) nie wytwarza toksoidów,
- 3) wiązalność płynnych i suchych jadów jest niejednakowa,
- 4) jad czerwony łączy się z surowicą na zasadzie proporcji wielorakich tylko w pewnych granicach.

Po omówieniu prac przygotowawczych, dotyczących głównie jadów czerwonych, przechodzę do prac nad miareczkowaniem surowic czerwonych i do ustalenia jednostki międzynarodowej.

Istniało dotąd kilka sposobów określania wartości surowic przeciwczerwonych.

Opieranie się na wysokości miana aglutynacyjnego daje wyniki niezadawalające, gdyż, jak wykazały badania *O Briena* i nasze, własności antytoksykcyjne nie postępują równolegle do miana aglutynacyjnego.

Określenie wartości surowicy na zasadzie własności zapobiegawczych, były wykonane w ten sposób, że wstrzykiwano śródtrzewnowo 2 dawki śmiertelne drobnoustrojów żywych i różne dawki surowicy. Wartość surowicy określano zależnie od tego, czy zwierzęta pozostawały przy życiu conajmniej w ciągu 24 godz. Ścisłejsze badania nad tym sposobem miareczkowania wykazały, że daje on wyniki niejednolite i w praktyce sposób ten jest trudny do zastosowania, gdyż dla szczepów zjadliwych ta sama dawka śmiertelna wymaga większej ilości surowicy. Do tych wniosków

doszli badacze japońscy, *Kolle* ze swemi współpracownikami oraz *Hirschfeld*, *Przesmycki*, *Seydlówna* i *Sierakowski*.

Wszyscy zresztą badacze zgadzają się, że określanie własności surowic przeciwczerwonkowych powinno być przeprowadzane na zasadzie własności antytoksycznych. Metody te były stosowane w Instytucie *Ehrlicha* we Frankfurcie prawie do ostatnich czasów.

Metoda określania własności antytoksycznych została opracowana przez *Kollego*, *Hellera* i *Mestrala* i polega na wstrzykiwaniu myszkom śródżylnie mieszaniny 2—4 D. L. M. i różnych dawek surowicy. Wartość badanej surowicy określano według tego, kiedy następowała śmierć zwierzęcia. Badania te przeprowadzano porównawczo z surowicą wzorcową.

W państwowym Zakładzie Badania surowic określano wartość surowicy przeciwczerwonkowej na zasadzie metody *Rosenthala*, która polegała na wstrzykiwaniu królikom mieszaniny różnych ilości D, L. M. (od 5—10) ze stałą ilością surowicy, obliczając 0,001 ccm. surowicy na 300 gr. wagi królika. Zależnie od śmierci, lub pozostania zwierzęcia, przy życiu, określano jej wartość zobojętniającą mówiąc, że dana surowica jest 5 lub 10-krotna, to znaczy, że zawiera 5 lub 10 jednostek antytoksycznych.

Powyższe metody oparte na dawkach D. L. M. jadu nie mogły nawet w przybliżeniu dać wyników podobnych albowiem, jak wykazały badania, o których poprzednio wspominałem, zachodzą niebrane dotąd wcale pod uwagę duże wahania we wrażliwości osobniczej zwierząt.

Wobec tego *Madsen* opracował nową metodę miareczkowania surowicy przeciwczerwonkowej, przyjętą przez drugą podkomisję jako obowiązująca.

Madsen przygotował surowicę wzorcową w stanie wysuszonym na wzór surowic wzorcowych przeciwbłoniczej i przeciwżółciowej. Z surowicy tej przygotowuje się 1% roztwór w płynie składającym się $\frac{2}{3}$ gliceryny, $\frac{1}{3}$ roztworu fizjologicznego soli. $\frac{1}{200}$ część tego 1% roztworu surowicy została uznana za 1 jednostkę antytoksyczną. Jednostka antytoksyczna w połączeniu z dawką próbną jadu powinna uchronić od śmierci $\frac{2}{3}$,

badanych zwierząt. Ta dawka surowicy wzorcowej została nazwana dawką zobojętniającą *Dosis neutralisata*. A zatem $\frac{1}{200}$ ccm. surowicy wzorcowej zawiera 1 jed. ant. równą dawce zobojętniającej *Dosis neutralisata*. $\frac{1}{300}$ część surowicy wzorcowej w połączeniu z dawką próbną jadu powinna uchronić od śmierci tylko $\frac{1}{4}$ część zwierząt użytych do doświadczenia. Dawka ta została nazwana dawką niezobojętniającą *Dosis non neutralisata*. Przy rozsyłaniu surowicy wzorcowej dawki powinny być wypisane na nalepkach.

Przy pomocy surowicy wzorcowej, a mianowicie *Dosis neutralisata* i *Dosis non neutralisata* określamy dawkę próbną jadu, którą stosuje się do określania wartości surowic badanych.

Do miareczkowania surowic używamy jadu suchego, przygotowanego w następujący sposób. Hodowlę agarową zmywamy wodą przekroploną, ogrzewamy w $t^{\circ} 58^{\circ}$ w ciągu 20 minut i następnie zawiesinę wirujemy, a osad suszymy, rozcieramy i po wysuszeniu nad bezwodnikiem kw. fosforowego (P_2O_5), przechowujemy w ampulkach. Jad rozpuszczamy przed każdym doświadczeniem. Jad taki nie może być używany później niż w 24 godz. po rozpuszczeniu. Rozpuszczenie jadu wykonywamy w ten sposób, że odważamy określoną ilość, potrzebną nam do próby, wysypujemy do buteleczki z perełkami i następnie dodajemy określonej ilości roztworu fizjologicznego soli. Buteleczkę z perełkami mocno wstrząsamy i otrzymujemy jednolitą zupełnie zawiesinę, którą umieszczamy w cieplarni w $t^{\circ} 37^{\circ}$ na przeciąg 45 min., wstrząsając od czasu do czasu. Tak przygotowana zawiesina nadaje się do doświadczeń. Ampułka, która już była otwierana powinna być przechowywana w próżni nad bezwodnikiem kw. fosforowego.

Należy zaznaczyć, że w pierwszych doświadczeniach *Madsena* dawka próbna jadu wynosiła około 10 D. C. L.

Określamy dawkę próbną jadu przez wstrzykiwanie myszom *Dosis neutralisata* surowicy wzorcowej zmieszanej z różnymi ilościami jadu, rozcieńczonego w powyższy sposób. Załączone tabelki podają przebieg określania dawki próbnej jadu.

T A B L I C A Nr. 10.

Określanie dawki próbnej jadu przy pomocy Dosis neutralisata surowicy wzorcowej.

$\frac{1}{200}$ ccm. surowicy wzorcowej	Odsetek myszy, które pozostały przy życiu
+ dawka próbna jadu 0,50 mg.	0
0,45 „	0
0,40 „	17
0,36 „	67
0,32 „	83
0,28 „	83

A zatem, jak widzimy z tabelki Nr. 10, dawka próbna jadu określana przy pomocy Dosis neutralisata wynosi 0,36 miligramów, gdyż przy użyciu tej ilości pozostało przy życiu 67% myszy, czyli $\frac{2}{3}$ myszy użytych do doświadczenia.

T A B L I C A Nr. 11.

Określenie dawki próbnej jadu przy pomocy Dosis non neutralisata

$\frac{1}{300}$ ccm. surowicy wzorcowej	Odsetek myszy, które pozostały przy życiu
+ dawka próbna jadu 0,36 mg.	17
0,32 „	67
0,28 „	83

Jak widzimy z tabelki Nr. 11, dawka próbna jadu, określana przy pomocy Dosis non neutralisata wynosi również 0,36 mg., gdyż, przy użyciu tej dawki pozostało przy życiu mniej niż $\frac{1}{3}$ myszy. Mając w ten sposób określoną dawkę próbną jadu, przystępujemy

do określenia wartości surowic badanych, które należy przeprowadzać według wskazówek następujących:

1) Jad i surowica muszą być świeżo rozcieńczone przed samem doświadczeniem. Do rozcieńczenia używamy roztworu fizjologicznego soli. Jad i przeciwwyd powinny być tak rozcieńczone, aby ilość, którą wstrzykujemy myszom, wynosiła 0,5 ccm. Mieszanina jadu z surowicą trzymana jest przed wstrzyknięciem w t⁰ 37° w ciągu 45 minut.

2) Wstrzyknięcie powinno być wykonane natychmiast po upływie 45 min., przyczem 0,5 ccm. tej mieszaniny wstrzykuje się myszom śródżylnie.

3) Waga myszy powinna być mniejwięcej jednakowa i nie przekraczać 15—20 gr.

4) Do każdej surowicy należy użyć przynajmniej 6 myszy. Myszy, które padają w ciągu 18 godz. po wstrzyknięciu nie bierze się w rachubę przy obliczaniu liczby padłych myszy. Myszy powinny być obserwowane w ciągu 7 dni.

5) Określanie wartości surowicy powinno być przeprowadzane każdorazowo porównawczo z surowicą wzorcową.

Według metody, opracowanej przez *Madsena*, zostały przeprowadzone doświadczenia nad surowicą wzorcową i jadem, dostarczonymi każdorazowo przez Instytut w Kopenhadze. Doświadczenia te polegały na tem, że jednakowe ilości surowicy i jadu wstrzykiwano myszom i obserwowano wyniki tych doświadczeń. Serje tych badań były powtarzane 4-krotnie. Naogół obserwowano dość dużą zgodność wyników. Aby przekonać się, jakie wyniki daje stosowanie tej metody w praktyce, *Madsen* rozsyłał co kilka miesięcy surowicę wzorcową rozcieńczoną (1%) i jad suchy wszystkim pracownikom, biorącym udział w miareczkowaniu surowicy przeciwczerwonkowej. Przebieg tych doświadczeń podaje tabelka Nr. 13, z której widzimy, że otrzymane wyniki są naogół dość jednolite. Pewne odchylenia zależne są zapewne od różnej wrażliwości poszczególnych hodowli myszy (ras).

T A B L I C A Nr. 12.

Doświadczeniu nad zobojętnianiem suchego jadu zapomocą surowicy wzorcowej, wykonane w różnych pracowniach.

BADACZ	Odsetek myszy, które pozostały przy życiu									
	Grudzień 1926					Marzec 1927				
	Dawka próbna jadu B 0,45 mg.					Dawka próbna jadu B 0,36 mg.				
	Rozcieńcz. surowicy wzorcowej					Rozcieńcz. surowicy wzorcowej				
	1/150	1/200	1/300	1/400		1/150	1/200	1/250	1/300	1/400
Madsen.	100	83	33	33		100	67	—	17	0
O'Brien	90	80	10	0		—	—	—	—	—
Cantacuzène . .	100	60	0	0		90	30	18	—	—
						(100)	(50)	(40)		
Dale.	80	17	17	0		100	67	—	67	0
Doerr	100	67	0	0		83	100	—	0	0
Dumas	100	66	0	0		—	—	—	—	—
Hirszfeld	75	36	17	17		100	83	—	17	17
Kolle	100	100	0	0		—	—	—	—	—
Lister I (Petrie).	33	0	0	0		—	66	—	0	0
Shiga	66	17	0	0		—	—	—	—	—
	Czerwiec 1927					Sierpień 1927				
	Dawka próbna jadu B 0,36 mg.					Dawka próbna jadu B 0,4 mg.				
	Rozcieńcz. surowicy wzorcowej					Rozcieńcz. surowicy wzorcowej				
	1/150	1/200	1/300	1/400		1/150	1/200	1/250	1/300	1/400
Madsen.	83	100	17	0		73	75	—	17	0
O'Brien	83	50	50	0		—	—	—	—	—
Cantacuzène . .	—	—	—	—		83	17	17	—	—
						(50)	(33)			
Dale.	100	100	17	33		66	13	—	0	—
						70	33	—	0	—
Doerr	100	83	0	0		—	—	—	—	—
Dumas	100	83	33	0		100	100	—	50	17
Hirszfeld	50	20	7	0		33	0	—	20	0
Kolle	100	100	50	0		100	100	—	0	0
Lister I (Petrie).	—	80	0	0		0	0	—	0	0
Shiga	100	87	0	0		—	—	—	—	—

Wskazówki praktyczne dla miareczkowania surowicy przeciwczerwonkowej.

Mieszaninę jadu i przeciwjadu przygotowujemy w 5 ccm. płynu i z tego wstrzykujemy myszom śródżylnie po 0,5 ccm.

Dawka próbna jadu wynosi, przypuścmy, 0,36 mgr. Jad rozcieńczamy w ten sposób, aby 1 ccm. płynu zawierał 2 mgr. jadu suchego.

Surowicę wzorcową (albo badaną) dla otrzymania dawki zobojętniającej (Dosis neutralisata) powinniśmy rozcieńczyć tak, aby ilość płynu, którą bierzemy do próby, zawierała $\frac{1}{200}$ część (1 JA) surowicy. Jeżelibyśmy wstrzykiwali myszom 1 ccm. rozcieńczonej surowicy, to należałoby przygotować rozcieńczenie $\frac{1}{200}$, jednakże musimy brać znacznie mniej i ilość tę zmieścić w 0,25 ccm. płynu, czyli powinniśmy przygotować rozcieńczenie 4-krotnie silniejsze, a zatem $\frac{1}{50}$.

Jeżeli chcemy otrzymać do wstrzyknięcia Dosis non-neutralisata, co dla naszej surowicy wzorcowej wynosi $\frac{1}{300}$ ccm., to należy w myśl powyższych rozważań, przygotować rozcieńczenie $\frac{1}{75}$. Na ten szczegół rozcieńczania surowicy należy zwrócić specjalną uwagę, bo zdawałoby się przez analogję do surowicy przeciwbłoniczej lub przeciwieżcowej, że, o ile surowica zawiera np. 400 JA, to należałoby przygotować rozcieńczenie $\frac{1}{400}$. Tymczasem w myśl powyższych przesłanek należy przygotować rozcieńczenie $\frac{1}{100}$.

Po rozcieńczeniu jadu i surowicy, przygotowujemy mieszaninę w następujący sposób:

Jadu	1,8 ccm. (1 ccm.=2 mgr., czyli 1,8 ccm.=3,6)
Surowicy wzorcowej $\frac{1}{50}$	
dos. neutr.	2,5 ccm.
Rozczynu fizjologiczn.	
solii	<u>0,7 ccm.</u>
Razem	5,0 ccm.

Mieszaninę tę wstawiamy do cieplarki w temp. 37° na 45 min. Z tej mieszaniny wstrzykujemy myszom śródżylnie po 0,5 ccm., a zatem wprowadzamy jadu 0,36 mgr. (dawka próbna) i surowicy 0,25 ccm. (zawiera $\frac{1}{200}$ część=1 jednostce międzynarodowej).

(Dokończenie nastąpi).

E R R A T A.

W numerze t. XIII zesz. 1-2 „Medycyny Doświadczalnej i Społecznej“ w pracy dr. Anny Goldfederówny wkradły się następujące błędy:

Str. 82 wiersz 6-ty od dołu:

jest: 1,2 cząsteczek—powinno być: *1—2 cząsteczek.*

Str. 84 wiersz 12-ty od góry:

jest: na trzech nowotworach—powinno być: *na trzech różnych rodzajach nowotworów.*

Str. 86 wiersz 12-ty od dołu:

jest: na tkance—powinno być: *na tkance zdrowej.*

Str. 97 wiersz 3-ci od dołu:

jest: wąskości pH—powinno być: *wartości pH.*