

MEDYCYNA DOŚWIADCZALNA I SPOŁECZNA

(Dawniej Przegląd Epidemiologiczny).

T O M XVI.

WARSZAWA 1933

ZESZYT 5-6

Z Zakładu Mikrobiologii i Przemysłu Rolnego Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego i Instytutu Przemysłu Fermentacyjnego i Bakterjologii Rolnej M. P. i R. w Warszawie.

Kierownik Prof. Dr. Wacław Dąbrowski.

ANALIZA UKŁADU KOLONIJ DROBNOUSTROJÓW NA PŁYTKACH PETRI'EGO Z PUNKTU WIDZENIA PRAWA POISSON'A (PRAWA MAŁYCH LICZB).

Statystyczno - matematyczne opracowanie tematu niniejszej publikacji wykonane było pod kierunkiem dr. *Jerzego Sława-Neymana*, kierownika Zakładu Biometrycznego Instytutu im. Nenckiego T. N. W. oraz Zakładu Statystyki Matematycznej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

P o d a l i

T. MATUSZEWSKI i J. SUPIŃSKA.

(Dokończenie).

V.

Zastosowanie obliczeń w praktyce laboratoryjnej.

Jeśli zechcemy posługiwać się opracowaniami tablicami musimy się uprzednio ustosunkować krytycznie do podanych cyfr. Pomijając konieczność operowania płytką poprawnie wylaną, o równej warstwie pożywki i na całej powierzchni rozrzuconych kolonjach pomijając także podkreślane już założenie, iż to, co nazywamy osobnikami, może w szeregu wypadków reprezentować nie pojedyncze komórki lecz ich połączenia — zwrócić musimy uwagę na dwa momenty celowo dotąd z rozważań eliminowane, a mianowicie

cie na grubość warstwy pożywki, na której i w której rosną kolonie, oraz na nierówność wymiarów kolonij. Dotąd zakładaliśmy, iż mamy do czynienia z kolonjami leżącymi na jednym poziomie i o jednakowej średnicy. Oczywiście w rzeczywistości tak nie jest. Wysokość warstwy pożywki, jeśli np. wylejemy 10 cm³. na powierzchnię płytki o średnicy 10 cm. wyniesie:

$$10000 \text{ mm: } \left(\frac{100}{2}\right)^2 \pi = 1,17 \text{ mm.} \quad (35)$$

zaś wymiar kolonij w mniejszych lub większych granicach zawsze podlega pewnym wahaniom.

Czynniki te rozpatrzymy oddzielnie dla zagadnienia otrzymywania na płytkach kolonij więcej niż z jednego osobnika, oraz dla zagadnienia dokładności liczenia osobników na podstawie liczenia kolonij.

Czynnik pierwszy — grubość warstwy pożywki — w wypadku pierwszym działa na naszą korzyść. W tem znaczeniu, iż w szeregu wypadków prawdopodobieństwa otrzymania z kolonij kultur z dwóch lub więcej osobników będą mniejsze niż przewidziane omówionym rachunkiem. Będzie to zachodzić wówczas, gdy kolonie są małe, tak małe, iż średnica ich kilkakrotnie zmieścić się może w warstwie pożywki, a więc o średnicy 0,25 — 0,5 mm. Odróżnić wówczas możemy kolonie leżące jedna pod drugą i mamy prawo traktować niezależnie od siebie dwie do trzech warstw układu kolonij. Rozróżnienie takie — jeśli założymy, iż ogół kolonij rozdzieli się równo w każdej warstwie pożywki — podwyższy nam oczywiście wartość P_0 w każdej z warstw, gdyż obniży tyle razy, ile rozróżniliśmy warstw, liczbę kolonij w każdej. Prawdopodobieństwo napotkania kolonij z kilku osobników moglibyśmy wówczas odczytać z pozycji liczby kolonij dwa do trzech razy mniejszej niż ogólna liczba kolonij na płytce, a więc byłoby ono odpowiednio niższe.

Sądzymy jednak, iż prawa tego nadużywać nie należy. Przy szczepieniu z kolonij drucikiem platynowym drgnięcie ręki o 0,25 — 0,5 mm jest trudne do opanowania i zawadzenie o kolonję leżącą pod wybraną bardzo prawdopodobne, tembardziej, że naogół uży-

wane są lupy zwykle i nastawiając ostrość widzenia na kolonję w jednej warstwie możemy poprostu nie zauważyć kolonji leżącej pod nią lub nad nią, gdyż znajdują się one poza ogniskiem obiektywu. Dlatego też przypuszczamy, iż właściwiej będzie traktować kolonje jako leżące na płaszczyźnie i honorować cyfry tablic. Z tych samych względów nie wydaje się celowem omawianie takich np. zjawisk, jak przewaga kolonij płaskich nad przestrzennymi, boczne położenie kolonij w masie pożywki i t. d. Oczywiście zawsze wybierając będziemy do szczepienia o ile możliwości kolonje wyraźne i leżące oddzielnie.

Drugi czynnik dotąd nierozpatrywany: nierówny wymiar kolonij na płytce omówić musimy bliżej. Przedewszystkiem zaznaczyć można, iż w szeregu wypadków, wówczas gdy operujemy t. zw. surową kulturą, to znaczy kulturą o zdecydowanej przewodze jednego gatunku, czynnik ten wogóle może mieć minimalne znaczenie, gdyż średnice kolonij właściwe niektórym gatunkom, w danych warunkach hodowli i czasu rozwoju, wahają się w wąskich granicach. W tablicy X zestawione są pomiary kolonij szeregu bakterij grupy fermentacji mlekowej. Kolonje, drobne zwłaszcza, w wymiarach swych ulegają nieznacznym wahaniom tak, iż bez zastrzeżeń możemy się oprzeć na wymiarze przeciętnym, celem odszukania w tablicy VII odpowiedniego prawdopodobieństwa. U innych jednak szczepów spotykamy dość znaczne wahania w wymiarach kolonij zwłaszcza na płytkach agarowych, co widzimy np. z danych w tablicy III.

Prawdopodobieństwo, iż kultura powstała z jednego osobnika, odczytywać będziemy oczywiście zawsze na podstawie średnicy kolonji wybranej do szczepienia. Popełniać jednak możemy czasami błąd, jeśli liczbę osobników odczytamy na podstawie policzonych kolonij. Dlaczego? Dlatego, że kolonje większe mogą częściej niż drobne powstawać nie z jednego osobnika i przyjmując liczbę kolonij za liczbę osobników, a jednocześnie opierając się na wymiarach kolonji wybranej do szczepienia, możemy nie uwzględnić tego momentu, że gdyby ogół kolonij był równy wybranej — liczba ich byłaby różna od znalezionej drogą liczenia. Poprostu mówiąc: kolonje większe mogą przykrywać kolonje mniejsze, a te kolonje przykryte pozostaną niepolicone i sztucznie przez to wzros-

T A B L I C A X. T A F E L.

Wahania wymiarów kolonii niektórych bakterij fermentacji mlekowej w czystych kulturach.
Dimensionsschwankungen der Kolonien einiger Milchsäurebakterien in Reinkulturen.

Rodzaj bakterij Bakterienart	Pożywka Nährboden	Dni hodowli Zucht in Tagen	Wymiar kolonii (Ø) w mm Kolonienengröße	
			Wahania Schwankungen	Przeciętne Durchschnittlich
Streptococcus lacticus 1	Buljon z żelatyną Gelatinebouillon	3	0,19—0,26	0,21
			0,29—0,31	0,31
			0,17—0,19	0,18
			0,15—0,22	0,19
			0,14—0,22	0,20
			0,32—0,36	0,35
			0,36—0,46	0,40
			0,13—0,26	0,23
Bacterium Beijerinckii	Brzeczka słodowa z agarem Malzwürze mit Agar-Agar	2	0,75—1,25	1,00
"	Brzeczka słodowa z żelatyną Malzwürze mit Gelatine	7	0,25—0,30	0,27
Thermobacterium Helveticum	Buljon z dekstrozą i agarem Dektrosebouillon mit Agar-Agar	7	0,05—0,15	0,08

nie otrzymana z równania (6) wartość P_0 , a stąd wzrośnie nie-słusznie prawdopodobieństwo, iż wybrana kolonia powstała z jed-nego osobnika.

Sądzymy, że najprostszym i najbardziej celowym sposobem uniknięcia tego błędu będzie odczytanie prawdopodobieństwa powstania kolonii z jednego osobnika z wymiaru wybranej do szczepienia kolonii, lecz z liczby kolonii o wymiarach więk-szych niż szczepiona, jeśli oczywiście znajdują się one w dosta-tecznie znaczącej liczbie na płytce. Popelnimy wówczas błąd, lecz taki, który obniży nam wartość prawdopodobieństwa „czystości” kolonii i zabezpieczy w ten sposób przed przecenieniem owego prawdopodobieństwa. Z praktycznego punktu widzenia znaczenia to większego nie posiada o czym przekonać się można konfrontu-jąc cyfry tablicy VII i VIII.

Przykład właściwego odczytania poszukiwanego prawdopodobieństwa omó-wimy dla fotografii płytki umieszczonej w tablicy XIV, fig. 1. Widzimy na niej kolonie różnych wymiarów. Załóżmy, iż do szczepienia wybraliśmy kolonję o średnicy 0,5 mm. Interesuje nas liczba kolonii, jaką przyjąć powinniśmy celem odczytania prawdopodobieństwa „czystości” tej kolonii. Ogólna liczba kolonii z licze-nia bezpośredniego wynosi 490. Gdybyśmy poszukiwane prawdopodobieństwo z tej liczby kolonii odczytali wprost z tablicy VII, nie uwzględnilibyśmy momentu, iż kolonie większe, znajdujące się na płytce, mogły przykryć część mniejszych. Wy-miary średnicy kolonii większych na płytce wynoszą około 2 mm. W tablicy VIII dla wymiarów kolonii o średn. 2 mm. poprawka dla liczby kolonii 500 wynosi 65. A więc z całym spokojem możemy odczytać prawdopodobieństwo „czystości” kolonii z wymiaru — 0,5 mm, zaś z liczby — 565. Mieścić się ono będzie w grani-cach: $0,9860 < P < 0,9930$.

Bardziej zawikłaną jest sprawa, jeśli zechcemy posługiwać się danymi tablicy VIII w praktyce laboratoryjnej. Trudności wyni-kają stąd, że tablica ta przyjmuje, iż kolonie są równe i leżą na płaszczyźnie. O ile w rozważaniach dotyczących powstania kolonii z jednego lub więcej osobników nie odegrały czynniki te roli za-sadniczej, o tyle w wypadku poszukiwania liczby osobników na płytce sprawiają one trudności istotne. Licząc kolonie, staramy się zawsze policzyć wszystkie. Leżące jedna pod drugą dają się nieraz

dobrze odróżnić. Jednostajność wymiarów w kulturach mieszanych zdarzać się będzie bardzo rzadko, w kulturach czystych — niezbyt często. Właśnie nierówny wymiar kolonij wikła nam sprawę gorzej niż układ kolonij na różnym poziomie. Jeśli kolonie są mniej więcej jednego wymiaru, grubość warstwy pożywki, może zostać w rachunku uwzględniona, przez podzielenie jej na tyle części, ile mieścić się może kolonij jedna pod drugą w całej tej warstwie. Oczywiście dotyczyć to może kolonij drobnych. Poprawkę możemy obliczyć dla każdej z części przyjmując równy podział osobników w częściach. Wówczas jednak, gdy kolonie są nierówne, dwa osobniki np., które z tych czy innych przyczyn dały małe kolonie, policzymy za dwa, jeśli zaś dadzą większe zlewając się, policzymy za jednego. Komplikowanie sposobu liczenia przez obliczanie np. oddzielnie kolonij o danym wymiarze, oddzielnie o innym, stosowanie dla każdego innej poprawki, wydaje się niecelowem ze względów natury technicznej, choć prowadzić mogłoby do rozwiązania. Sądzimy, iż dane tablicy VIII wskazują nam przedewszystkiem czy liczenie bezpośrednie wymaga poprawek, czy nie. Przy kolonjach równych możemy dojść nawet, jaką poprawkę wprowadzić należy.

Zanim przejdziemy do wskazania prostego sposobu rachunku przybliżonej liczby kolonij na płytce w wypadkach skomplikowanych wskutek gęstego wysiewu i nierównych kolonij, omówimy ogólne wnioski wynikające z przeprowadzonych obliczeń, opartych na prawie Poisson'a.

Przedewszystkiem stwierdzić należy, iż metoda płytkowa dać nam może duże prawdopodobieństwo otrzymania czystej kultury pod warunkiem, iż osobniki, z których powstały kolonie, są jako takie kulturami czystymi i pod warunkiem, że kolonie na płytce nie są zbyt gęsto ułożone. Do szczepienia należy wybierać kolonie możliwie małe, gdyż te znacznie rzadziej powstawać mogą z więcej niż jednego osobnika. Jeśli np. szczepić będziemy z kolonii o średnicy 0,5 mm., i na płytce o średnicy 10 cm. będzie 50 kolonij, to natrafienie na kolonję z dwóch lub więcej osobników prawdopodobne jest 0,06 razy na 100. Znaczy to, że dopiero z dwudziestu wylanych takich płytek, na jednej z nich mamy szanse spotkać

prawdopodobnie nie więcej niż jedną kolonię z dwóch lub więcej osobników. Stosunki dla 25 kolonij o tych samych wymiarach ułożą się tak, iż dopiero na 100 płytkach równoległych spotykilibyśmy prawdopodobnie jedną kolonię nie z jednego osobnika.

Raz jeszcze podkreślamy, że rozważania nasze mogą mieć zastosowanie ograniczone, jeśli w układzie osobników na płytkach interweniują czynniki biologiczne. Wówczas np. gdy w mieszaninie gatunków rozwój kolonij jednego typu warunkuje rozwój symbiotyczny drugiego (*Azotobacter* i *Radiobacter*), albo jeśli jeden z typów wysiany na płytkę nie rozwija się, lecz w postaci komórek żywych pozostaje nieujawniony w pożywce (analogicznie do hodowli negatywnych bakterij nitryfikacyjnych Winogradzkiego).

Sądzymy też, że w pierwszym rzędzie obliczenia nasze i tablice znajdą zastosowanie, gdy dobrze oczyszczoną t. zw. surową kulturę zechcemy doprowadzić do stanu absolutnej w znaczeniu praktycznem czystości. Odpowiednia uwaga przy dalszem opracowywaniu szczepu, jakie istnieje prawdopodobieństwo czystości kultury, może wzbudzić nie mniej zaufania niż wyprowadzenie hodowli z jednego osobnika metodą tuszową, kropelkową i t. d., w których zawodny nieraz czynnik psychiczny, wobec dużych trudności technicznych, odgrywa niewątpliwie rolę.

Obliczenia dotyczące właściwego obrachunku liczby osobników zdolnych do rozwoju na płytce mówią nam, że jeżeli płytka zawiera do stu kolonij, naogół nie potrzebujemy się liczyć z momentem zlewania się kolonij, a stąd z koniecznością wprowadzania poprawek. Przy większych liczbach kolonij na płytce, poprawki często są konieczne i istotne. Stąd wniosek ogólny: jeżeli chodzi o dokładność liczenia na danej płytce, lepszą dokładność osiąga się przy małej liczbie kolonij. Jeśli mamy płytki gęsto wysiane, większą rolę odgrywać będą błędy, nie tyle wynikające z nieuwzględnienia poprawki, ile będące następstwem trudności technicznych samego liczenia. W wypadkach operowania płytką o kilku tysiącach kolonij, zazwyczaj liczymy kolonie na pewnym odcinku płytki i otrzymany wynik mnożymy przez odpowiedni współczynnik. W każdym podręczniku metodyki bakterjologicznej spotykamy opisy odpowiednich przyrządów, ułatwiających takie postępowanie.

VI.

Metoda liczenia osobników na płytkach gęsto wysianych.

Stwierdzona przez nas uderzająca zgodność układu kolonij na płycie z prawem Poisson'a, pozwala nam zaproponować metodę obliczania kolonij w wypadkach gdy płytka jest gęsto zarosnięta. Obliczenie to oprzemy na obserwacji pewnego wycinka płytki, nie zaś całej jej powierzchni. Wynik otrzymać możemy stosunkowo dokładny, a metoda postępowania eliminuje trudności już omówione, jak nierówny wymiar kolonij i rozmieszczenie ich w masie pożywki.

Obliczenie oprzemy na oznaczeniu drogą bezpośredniej obserwacji wartości P_0 dla pól przez nas dobranych. Punktem wyjścia będzie tu nie rachunek według równania (6), lecz rachunek pól o liczebności kolonij równej 0, na pewnym odcinku powierzchni płytki. Powierzchnię tę podzielić możemy na pola o wymiarach tak dobranych, aby w pewnej części tych pól nie było kolonij. Jeżeli gęsto wysianą płytkę położymy na siatce tych pól, na pewnym odcinku płytki (o znanej powierzchni) i policzymy wszystkie te pola, które nie zawierają kolonij, następnie liczbę tych pól podzielimy przez liczbę wszystkich pól znajdujących się na przyjętym odcinku płytki, to otrzymamy w wyniku przybliżoną wartość P_0 . Wstawiając tę wartość do wzoru (1), uproszczonego, wskutek tego, że $k = 0$ do (2)

$$P_0 = e^{-\lambda_0} \quad (36)$$

otrzymamy równanie z którego możemy wyznaczyć λ_0 a mianowicie:

$$\lambda_0 = \frac{-\log P_0}{\log e} = \frac{-\log P_0}{0,4342945} \quad (37)$$

Wartość λ_0 będzie to przybliżona przeciętna liczba osobników, zdolnych do rozmnażania się, na objętość pożywki odpowiadająca przyjętemu polu liczenia. Pozostaje nam pomnożyć tę wartość przez liczbę pól jaka się zmieści na powierzchni całej płytki. W wyniku otrzymamy przybliżoną liczbę osobników zdolnych do wzrostu na całej płycie.

Jak widzimy rachunek jest analogiczny do proponowanego przez *Fishera*, a wspomnianego na str. 391.

Jakie wygrane daje nam ten rachunek i jak dalece można mu zaufać?

Przedewszystkiem metoda ta upraszcza sposób postępowania. Jeśli płytka jest gęsta, to pól „zerowych“ będzie niezbyt wiele, następnie zaś stwierdzenie, że w danym półku kolonij nie ma, jest prostsze i pewniejsze niż liczenie drobnych i nierównych kolonij. Odpadają wszelkie wahania, czy to, co widzimy jest kolonią pojedynczą, czy produktem zlania się kolonij, czy kolonie pokrywają się wzajemnie i t. d. Eliminujemy w ten sposób czynnik indywidualnego traktowania przedmiotu liczenia przez różnych obserwatorów, niewątpliwie odgrywający rolę. Zjawiska zlewania się kolonij, pokrywania i t. d. wnoszą wyraźny element niepewności w obliczaniu. Dla przykładu przytaczamy zestawienie liczenia kolonij drożdży gat. *Schizosaccharomyces Pombe* przez trzech różnych obserwatorów na tych samych płytkach. Wszyscy byli obeznani z pracą mikrobiologiczną i otrzymali przed liczeniem wyraźną wskazówkę podania najdokładniej liczby kolonij na płytce. Zestawienie podaje tablica XI. Jak widzimy pomimo całej skrupulatności i mimo niezbyt gęstego układu kolonij, wahania w obliczaniu sięgają 7,3%. Podczas liczenia pól pustych, „zerowych“ wahań z tego tytułu otrzymywać nie będziemy.

Eliminowany jest także przez taki rachunek błąd, wynikający ze zlewania się kolonij, a więc ten, dla którego poprawki (przy równych wymiarach kolonij) znajdujemy w tablicy VIII. Wartość P_0 przesądza nam wartości P_1 , P_2 , P_3 i t. d. i bez względu na to, czy kolonie utworzone przez poszczególne osobniki zlały się czy nie, wszystkie osobniki zostaną w rachunku uwzględnione. Opierając się na wartości P_0 , liczymy właściwie nie kolonie, lecz ujawniające się osobniki tak, jak w poprawkach poprzednio opracowanych dochodziliśmy z liczby kolonij do liczby osobników.

Dokładność oznaczenia tą drogą przybliżonej liczby osobników na płytce zależeć będzie w pierwszym rzędzie od liczby pól, jaka się mieści na tej części płytki, na której liczono pola „zerowe“. Sądzimy, iż bez wielkiego wysiłku możemy dobierać takie

T A B L I C A X I. T A F E L.

Wyniki liczenia kolonij tych samych hodowli płytkowych *Schizosaccharomyces Pombe* przez 3 różnych obserwatorów.

Ergebnisse des Zählens von Kolonien *Schizosaccharomyces Pombe* auf denselben Plattenkulturen durch drei verschiedene Beobachter.

Obserwator Beobachter	N u m e r p ł y t k i. P l a t t e n n u m m e r.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
I	259	239	225	282	273	195	286	208	217
II	265	234	223	287	269	196	280	210	217
III	247	230	225	286	280	197	275	217	213
Wahania w %% naj- niższego oznaczenia	7,3	3,9	0,9	1,8	4,5	1,0	4,0	4,3	1,8
Abweichungen in %% minimaler Bestimmungen									

wycinki, aby zawierały 200 — 400, a w każdym razie ponad 100 pól. Jeśli np. będzie to pole kwadracikiem o boku 2 mm., to dla otrzymania 100-u kwadracików należy „zerowe“ kwadraciki policzyć na przestrzeni 4 cm²., czyli w kwadracie o boku 2 cm., dla otrzymania 200 u kwadracików, w kwadracie o boku 4 cm. i t. d. Sposobem prostym będzie np. liczenie „zerowych“ kwadracików na papierze milimetrowym, przezroczystym, położonym na płytce z pożywką i z kolonjami. W świetle przechodzącym z łatwością odróżnimy kwadraciki „zerowe“.

Jeszcze prostszym i lepszym sposobem będzie liczenie „zerowych“ (bez kolonij) pól widzenia podczas obserwacji płytki pod lupą. Obliczenia wartości pola widzenia dokonać łatwo przez znalezienie jego średnicy. Doborem odpowiednich szkieł możemy także łatwo zastosować takie pole widzenia, aby w części tych pól kolonij nie było. Przesuwając płytkę pod lupą, dowolnie, notujemy liczbę pól „zerowych“ na ogólną liczbę obserwowanych i otrzymujemy wartość P_0 . Kolejność tych pól może być zupełnie dowolna. Nie jesteśmy wcale skrepowani danym wycinkiem płyt-

ki, co ma przewagę nad liczeniem w określonym miejscu płytki, na którym przypadkowo układ kolonij może być gęstszy lub rzadszy niż przeciętnie. Zastosowanie szkieł powiększających pozwoli nam dostrzec kolonie drobne. Jeżeli kolonie są bardzo drobne, możemy, co już jest metodą znaną, notować liczbę nie tylko pól „zerowych”, ale także pól z 1, 2, 3, 4 i t. d. kolonjami. Wynik takiego liczenia będzie dokładniejszy tylko wówczas, jeżeli mała średnica kolonij pozwoli je odróżnić, nawet gdy leżą blisko, to znaczy jeśli osobniki znajdują się bardzo rzadko bliżej niż średnica kolonij. W tablicy VIII znajdujemy wskazówki w jakich wypadkach to nastąpi. W przeciwnym razie liczymy tylko pola „zerowe”, na nich opierając dalszy rachunek.

Dokładność zależna od liczby obserwowanych pól może zostać scharakteryzowana przedziałem ufności, to znaczy granicami w jakich zamyka się rzeczywista wartość P_0 , a stąd rzeczywista wartość przeciętnej liczby osobników w polu widzenia, i których nie przekroczy częściej niż sobie tego życzymy. Znaczenie przedziału ufności jest następujące:

Jasne jest, że obliczenie zapomocą P_0 nie da nam prawdziwej liczby przeciętnej osobników, przypadającej na pole widzenia $= \lambda$. Liczba λ_0 obliczona z wzoru (37) jest tylko prawdopodobnym przybliżeniem poszukiwanej i byłoby nieostrożnie upierać się, iż $\lambda = \lambda_0$. Można natomiast twierdzić, że λ nieznacznie tylko różni się od λ_0 in plus lub in minus. Przedział ufności podaje nam właśnie granice, w których zawarta jest prawdziwa wartość λ . Oczywiście i tu możemy się czasem pomylić i wartość λ może się okazać poza granicami przedziału. Częstość takiego błędu będzie tem mniejsza, im przedział będzie większy. Teoria prawdopodobieństwa pozwala na takie dobranie przedziału ufności, by częstość (prawdopodobieństwo) błędu twierdzenia, iż λ jest w nim zawarta równała się zgóry ustalonej wybranej przez nas liczbie α , np. równej 0,05. Liczba ta nazywa się współczynnikiem ufności. Jeśli obierzemy ten właśnie współczynnik ufności i obliczymy odpowiedni przedział ufności, to możemy być pewni, że jakkolwiek poszukiwana przeciętna zawartość drobnoustrojów może się okazać poza przedziałem, nastąpi to jednak przeciętnie nie częściej, niż w 5% ogółu przypadków.

Obliczenie przedziału ufności dla λ musi być poprzedzone przez obliczenie takiegoż przedziału dla P_0 . Jeśli np. P_1 i P_2 są granicami dla P_0 , to granice dla λ otrzymamy podstawiając P_1 i P_2 do wzoru (37). Dla obliczenia przedziału ufności (licząc ponad 50 pól) możemy posługiwać się następującym przybliżonym wzorem:

$$P_{1,2} = \frac{2 Qn + x^2 \pm x \sqrt{x^2 + 4 Qn (1 - Q)}}{2 (n + x^2)}, \quad (38)$$

gdzie Q — stosunek liczby pól „zerowych” do ogólnej liczby pól obserwowanych,

n — ogólna liczba pól obserwowanych,

x — liczba pomocnicza, odpowiadająca przyjętemu współczynnikowi ufności.

Dla współczynnika 0,05 liczba ta wynosi 1,96

„ „ 0,02 „ „ „ 2,33

„ „ 0,01 „ „ „ 2,58

Dla przykładu omówimy przeprowadzony w ten sposób rachunek liczby osobników *Thermobacterium helveticum* na płytce agarowej z buljonem z dekstrozą. Płytkę tą scharakteryzowaną już jest przez nas w tablicach III i IV. Układ kolonii okazał się zgodny z prawem Poisson'a. Kolonie były tak drobne, że poza polami „zerowymi” można było policzyć i liczby kolonii w polach widzenia. Liczenia dokonano pod lupą pryzmatyczną Leitza z okulem 8 x i obiektywem nr. 4. Otrzymana liczba kolonii na płytce wynosiła dokładnie 5953. Obecnie opręmy rachunek wyłącznie na wartości P_0 , a więc na liczbie „zerowych” pól widzeń na ogólną liczbę obserwowanych. „Zerowych” pól widzenia otrzymano 59 na ogólną liczbę obserwowanych 244, a więc:

$$P_0 = \frac{59}{244} = 0,2418 \quad (39)$$

Wartość tę wstawiamy do równania (37):

$$\lambda_0 = \frac{-\log 0,2418}{0,4343} = \frac{0,6165}{0,4343} = 1,42 \quad (40)$$

Otrzymana tą drogą przybliżona liczba osobników w polu widzenia różni się od otrzymanej z liczenia kolonii we wszystkich 244 kwadracikach o 0,06. Kolonie były tak drobne, że moment zlewania się ich i liczenia dwóch za jedną nie od-

grywał roli. P_0 z równania (6) wynosiło 0,9961, co daje około 11 kolonij podwójnych na całej powierzchni płytki bez uwzględnienia grubości warstwy pożywki. Ponieważ tak drobne kolonje w warstwie pożywki mieszczą się swobodnie jedna pod drugą, a warstwę starannie analizowano, moment zlewania się kolonij możemy pominąć.

Mnożąc przeciętną liczbę osobników na pole widzenia przez liczbę pól widzenia mieszczących się na płytce otrzymamy: $1,42 \cdot 4022 = 5711$ osobników na całej płytce. Wynik ten różni się od otrzymanego uprzednio:

$$5953 - 5711 = 242.$$

Jak widzimy, osiągnięta dokładność przez obliczenie P_0 jest bardzo dobra. Nie należy jednak przypuszczać, że wynik podobny jest regułą. O tem, jakich wahań możnaby w analogicznych przypadkach oczekiwać, sądzić możemy z długości przedziału ufności, którego obliczenie przytaczamy poniżej.

Jeśli obierzemy za współczynnik ufności 0,05, to znaczy jeśli zgodzimy się, iż 5 razy na 100 mogą być przekroczone ramy obliczone w postaci przedziału ufności, podstawienie odpowiednich danych do równania (38) da nam żadaną odpowiedź.

W naszym wypadku

$$\begin{aligned} Q &= 0,2418 \\ n &= 244 \\ x &= 1,96 \end{aligned}$$

A więc:

$$P_{1,2} = \frac{2 \cdot 0,2418 \cdot 244 + (1,96)^2 \pm 1,96 \sqrt{(1,96)^2 + 4 \cdot 0,2418 \cdot 244 (1 - 0,2418)}}{2 [244 + (1,96)^2]} \quad (41)$$

co po rozwiązaniu dla znaku plus w liczniku daje nam wartość 0,2909 — zaś dla znaku minus — wartość 0,1852. Otrzymane wartości P_1 i P_2 wstawiamy do równania (37) i otrzymujemy wartości λ_1 i λ_2 :

$$\lambda_1 = \frac{-\log 0,2909}{0,4343} = 1,23; \quad \lambda_2 = \frac{-\log 0,1852}{0,4343} = 1,69 \quad (42)$$

Wartości λ_1 i λ_2 są to granice, w których zawarta jest rzeczywista wartość λ , czyli przeciętna liczba osobników w polu widzenia, przyczem poza temi granicami owa rzeczywista wartość znaleźćby się mogła nie częściej, niż 5 razy na 100.

Po pomnożeniu tych granicznych wartości przeciętnej liczby osobników na pole widzenia przez liczbę pól widzenia mieszczących się na całej płytce otrzymamy:

$$1,23 \cdot 4022 = 4947; \quad 1,69 \cdot 4022 = 6797. \quad (43)$$

Wyniki tych rachunków można przedstawić w sposób następujący:

$$4947 \leq M \leq 6797$$

(44)

gdzie M oznacza nieznaną (w przypadku rozpatrywanym M jest znane i równa się 5953) liczbę osobników na całej płytce.

Dokładność osiągniętego wyniku można scharakteryzować w sposób bardziej może przemawiający do intuicji, podając połowę długości przedziału ufności czyli:

$$\frac{6797 - 4947}{2} = 925 \quad (45)$$

w %% jego wartości środkowej, otrzymanej bezpośrednio z P_0 , czyli 5711. Otrzymamy w ten sposób liczbę 16,2% jako przypuszczalną, maksymalną częstość błędu in plus lub in minus.

Oczywiście w wypadkach, gdy możemy bez trudu policzyć ogół kolonij na płytce, to znaczy gdy kolonie leżą rzadko, wynik liczenia danej płytki będzie dokładniejszy, niemniej jednak z omówionych już względów przy gęstym układzie kolonij rachunek przez P_0 dać nam może zupełnie wystarczającą dokładność, a w każdym razie lepszą niż liczenie bezpośrednie kolonij.

VII.

Zagadnienie dokładności oznaczania liczby osobników na płytkach równoległych.

Reasumując rozważania dotyczące dokładności oznaczania liczby osobników zdolnych do życia w zastosowanej pożywce na danej płytce, powiemy, iż wszystkie względy przemawiają za tem, aby wysiewać zawiesinę tak rozcieńczoną, ażeby otrzymać nieznaną liczbę kolonij na płytce. Zasadniczy cel liczenia kolonij, jakim jest oznaczanie tą drogą liczby osobników w jednostce badanego środowiska, wymaga tymczasem, abyśmy stanęli na stanowisku wręcz odwrotnem, gdyż dokładność takiego oznaczenia zależy między innymi od liczby policzonych osobników. Im więcej policzymy tych osobników, ujawniających się w postaci kolonij, tem ściślej wnioskować możemy o przybliżonej ich liczbie w środowisku wyjściowem. Z tego więc punktu widzenia pożądane byłyby właśnie płytki o licznych kolonjach. Za takim postępowaniem przemawia jeszcze jeden wzgląd: wysiewając płytki o nielicznych kolonjach przy analizie środowisk o mieszanej mi-

kroflorze, możemy nie wykryć typów, które występują w nikłym odsetku, co nie przesądza jednak często ich znaczenia.

Założyć możemy, iż istnieje pewne optimum gęstości wysiewu, które dając możliwie dużą liczbę kolonij, jednocześnie nie wprowadza błędu wynikającego ze zlewania się kolonij. Pewne wskazówki co do tego optimum podaje nam tablica VIII, jednak, jak już podkreśliliśmy, dotyczy ona oderwanego założenia, iż kolonie są równe i że leżą na płaszczyźnie, co oczywiście, zwłaszcza w kulturach mieszanych, nie godzi się z rzeczywistością. Możemy teoretycznie sprawę tę rozwiązać nie przez zagęszczanie liczby kolonij na płytce, lecz przez powiększenie płaszczyzny płytki, otrzymując rzadsze rozmieszczenie kolonij. Nazywamy to rozwiązanie teoretycznem, gdyż wymiar płytki jest do pewnego stopnia już znormalizowany i znaczniejsze przekroczenie tego wymiaru stwarza trudności techniczne, jak konieczność zużycia większej ilości pożywki, konieczność posiadania większych termostatów i t. d. Drugie rozwiązanie, nasuwające się wyraźnie—to wysiew większej liczby płytek równoległych z danego rozcieńczenia. Sposób ten ma jeszcze tę zaletę, że niweluje błędy związane z manipulacją wysiewu. Względy jednak techniczne i tutaj nakazują oszczędność czasu, pożywki i pracy.

Wskazówkę, dotyczącą liczby policzonych osobników (kolonij) koniecznej dla osiągnięcia żądanej dokładności oznaczenia łatwo byłoby podać, gdybyśmy mogli założyć a priori, że przeciętne liczby kolonij na płytkach równoległych podlegać będą prawom wynikającym z założeń teorii prawdopodobieństwa. Mogłoby mieć w tym wypadku zastosowanie także prawo Poisson'a. Stajemy jednak znów przed pytaniem, czy prawo to nie jest zakłócanie w warunkach pracy laboratoryjnej przez czynniki biologiczne, a przede wszystkim manipulacyjne. Zgodność układu kolonij na danej płytce z prawem Poisson'a nie przesądza bowiem zupełnie zagadnienia, czy odmierzyliśmy w sposób właściwy daną objętość, zawierającą drobnoustroje, w której chcemy oznaczyć liczbę przeciętną osobników, czy właściwie tę zawiesinę wymieszaliśmy, czy wskutek błędów manipulacyjnych nie ponieśliśmy strat w momencie wylewania pożywki na płytkę i t. d. Zgodność ta — doświadczalnie stwierdzona, mówi nam jedynie, iż ta liczba osobników,

która znalazła się na płytce, podlega prawu Poisson'a. Taksamo doświadczalnie należałoby poszukiwać zgodności z prawem Poisson'a przeciętnych zawartości osobników, ujawniających się w postaci kolonij na równoległe wylanych płytkach. Nie jest to właściwym tematem pracy niniejszej, zaznaczyć tylko możemy, iż doświadczenia takie, zmierzające do wyczerpującej odpowiedzi, musiałyby się liczyć z wielką różnorodnością czynników, mogących zakłócić zgodność z prawem matematycznym, jak: sposób mieszania zawiesiny, jej charakter fizyczny i chemiczny, jej lepkość, ewentualna obecność obcych ciał stałych i t. d.

Celem uzupełnienia rozważań, dotyczących tematu głównego naszej pracy, ograniczymy się tylko do wyciągnięcia wniosków z hipotezy, iż układ kolonij na płytkach równoległych nie da nam mniejszych wahań liczby osobników niż wtedy, gdyby prawo Poisson'a obowiązywało. Jasne jest, iż hipoteza taka jest do przyjęcia. Trudno przypuścić, aby czynniki biologiczne i manipulacyjne mogły wpłynąć na wyrównanie liczby kolonij na płytkach, łatwo natomiast przypuścić, że — przeciwnie — liczyć się należy z możliwością wahań znaczniejszych. Pozwoli nam to obliczyć najmniejszą liczbę płytek równoległych, którą należy wylać, aby otrzymać żadaną dokładność oznaczenia.

Jako pewna ilustracja tego, w jaki sposób układają się przeciętne liczby kolonij na równoległych płytkach służyć mogą dane z szeregu wysiewów na płytki drożdży gat. *Schizosaccharomyces Pombe* na pożywce agarowej z brzeczką słodową. Wysiewy w 30-u serjach nadają się do porównań, gdyż postępowanie było identyczne: 48 godzinne kultury drożdży, rozcieńczano w wyjałowionej wodzie, z końcowego rozcieńczenia pipetą wprowadzano 1 cm³ zawiesiny do pożywki płynnej, mieszano w jednakowy sposób i wylewano na płytki o tej samej średnicy. Liczenia dokonywano na 3-ci dzień hodowli w ciepłocie 25 — 30 C. Liczono kolonje bezpośrednio, nie wprowadzając poprawek dla gęstey wylanych płytek, gdyż interesowały nas wyłącznie liczby kolonij na płytkach równoległych, a nie oznaczenia liczby osobników w środowisku wyjściowem.

Próbę zanalizowania zgodności wyników z prawem Poisson'a, jedynie orjentacyjną, przeprowadzono drogą obliczenia dla każdej

poszczególnej serii równoległych płytek: 1) współczynnika dyspersji według wzoru:

$$D = \frac{\Sigma(x - \bar{x})^2}{\bar{x}} \quad (46)$$

oraz 2) średniego odchylenia według wzoru:

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{\Sigma(x - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (47)$$

We wzorach tych:

x oznacza — liczbę kolonij na poszczególnych płytkach w serii,

n „ — liczbę płytek równoległych w każdej serii,

$\bar{x}$ „ — przeciętną liczbę kolonij w każdej serii płytek.

Właściwe sprawdzenie prawa Poisson'a metodą, którą stosowaliśmy uprzednio, byłoby możliwe, gdybyśmy mogli rozporządzać znaczną liczbą płytek równoległych. Należałoby je rozklasyfikować według liczb policzonych kolonij i następnie porównywać otrzymane liczebności poszczególnych klas z liczebnościami, przewidzianymi przez prawo Poisson'a. W wypadku, gdy materiał zawiera zaledwie kilka płytek równoległych, metoda ta jest niemożliwa do zastosowania, gdyż ogromna większość klas byłaby pusta, a reszta zawierałaby po jednej płytce.

Sprawdzenie prawa Poisson'a polegać może jedynie na sprawdzeniu pewnych jego konsekwencji, dotyczących jakiejś jednej lub dwóch liczb cechujących ogół płytek badanych. Konsekwencją taką jest np. równość:

$$\sigma_x = \sqrt{\bar{x}}, \quad (48)$$

która musiałaby się spełniać dokładnie, gdyby liczba spostrzeżeń (równoległych płytek) była bardzo duża i gdyby liczebności kolonij podlegały prawu Poisson'a. Jeśli ten ostatni warunek jest spełniony, to równość ta powinna zachodzić w przybliżeniu nawet jeśli spostrzeżeń jest mało.

Spółczynnik dyspersji przewidziany przez wzór (46) nie powinien być zbyt wielki, jeśli liczebności kolonij podlegają prawu

Poisson'a, jest więc też dającym się zastosować momentem sprawdzenia hipotezy. Twierdzenie „nie może być zbyt wielki” daje się się sprecyzować. Dla każdego ewentualnego wyniku obliczenia D można oszacować prawdopodobieństwo P popełnienia błędu, gdybyśmy chcieli odrzucić hipotezę zgodności liczb empirycznych z prawem Poisson'a. Oszacowanie P odbywa się przez wyznaczenie górnego kresu tego prawdopodobieństwa, które odczytać możemy z tablic *Eldertona* (tych samych, którei posługiwaliśmy się uprzednio) biorąc

$$\chi^2 = D \quad (49)$$

oraz korzystając z liczby stopni swobody równej liczbie płytek równoległych mniej jeden. Wyniki rachunków wykonanych w myśl powyższych objaśnień znajdują się w tablicy XII. Wykres I ilustruje ustosunkowanie się wartości σ_x do $\sqrt{x}$. Linja ciągła reprezentuje teoretyczny przebieg wartości $\sigma_x = \sqrt{x}$. Rzędne punktów, oznaczonych kropkami równe są zanotowanym wartościom σ_x .

Jak z zestawień tych wynika, w większości seryj zarówno wartość P , jak i wartość średniego odchylenia przemawiają za przyjęciem hipotezy zgodności układu liczb kolonij na równoległych płytkach z prawem Poisson'a. W szeregu seryj odchylenia od tego prawa były jednak bardzo istotne, gdyż wartość P zbliżała się do zera, zaś wartość średniego odchylenia znacznie przekraczała wartość $\sqrt{x}$. Naogół serje o płytkach mniej gęsto wysianych dały wyniki zbieżniejsze z prawem Poisson'a niż płytki o gęsto leżących kolonjach. Przypuszczać należy, że omawiane już trudności liczenia kolonij gęsto ułożonych są jednym z istotnych czynników zakłócających to, co nazwaliśmy rzeczywistą przypadkowością układu. Z innych czynników zakłócających tę przypadkowość na pierwszym miejscu w tych doświadczeniach wymienić należy czynniki manipulacyjne, gdyż skutek operowania stale tym samym gatunkiem drobnoustrojów, znajdujących na zastosowanej pożywce bardzo pomyślne warunki rozwoju, czynniki biologiczne w znacznym stopniu wyeliminowano.

Doświadczenia te mimo ich fragmentaryczności mogą służyć za potwierdzenie przyjętej hipotezy, iż płytki równoległe wysiane

T A B L I C A X I I . T A F E L .

Zestawienie wyników liczenia kolonij na równoległych płytkach w 30-u serjach z liczbami charakterystycznymi dla prawa Poisson'a.
 Ergebnisse der Kolonienzählung auf parallelen Platten in 30 Serien und ihre Vergleichung mit den für Poissons Gesetz charakteristischen Zahlen.

L. P.	Liczba płytek. Zahl der Platten	$\bar{x}$	$\chi^2 = D$	P	σ_x	$\sqrt{\bar{x}}$
1	8	8,1	4,10	0,66	2,09	2,85
2	5	13,8	1,65	0,65	2,14	3,71
3	9	17,2	7,49	0,38	3,86	4,15
4	10	25,5	13,67	0,09	5,90	5,05
5	7	28,9	24,50	0,0002	10,05	5,38
6	10	32,6	7,37	0,50	4,90	5,71
7	8	61,4	9,97	0,12	8,63	7,83
8	10	61,8	4,50	0,81	5,20	7,86
9	8	63,8	34,69	0,000002	16,69	7,99
10	9	68,7	5,17	0,64	6,29	8,29
11	10	69,5	15,86	0,04	10,38	8,34
12	8	73,4	5,94	0,43	7,37	8,57
13	8	76,6	11,59	0,07	10,53	8,75
14	9	82,0	5,78	0,57	7,26	9,05
15	8	94,0	4,55	0,61	7,31	9,70
16	8	97,4	3,49	0,74	6,52	9,87
17	8	98,1	8,94	0,18	10,47	9,91
18	9	104,9	58,00	0,0000000	22,35	10,24
19	7	126,6	13,58	0,02	15,67	11,25
20	8	148,9	26,69	0,0002	22,29	12,20
21	8	155,9	9,60	0,14	11,21	12,49
22	7	160,0	25,92	0,00009	24,34	12,65
23	8	163,6	10,72	0,10	14,81	12,70
24	7	171,0	0,63	0,98	3,93	13,08
25	8	218,6	7,37	0,29	14,19	14,79
26	9	242,0	35,63	0,00005	30,95	15,56
27	6	267,0	10,69	0,03	21,81	16,34
28	8	313,0	47,27	<0,000001	43,01	17,69
29	7	319,7	8,53	0,13	19,74	17,87
30	8	647,0	10,62	0,10	29,31	25,43

- $\bar{x}$ — Przeciętna liczba kolonij na płytkach równoległych w każdej serji.
 Durchschnittszahl der Kolonien auf den parallelen Platten in jeder Serie.
 $\chi^2 = D$ — Współczynnik dyspersji. Dispersionskoeffizient.
 P — Górny kres prawdopodobieństwa pomyłki przy odrzuceniu hipotezy o zgodności liczb kolonij w serjach płytek z prawem Poisson'a.
 Obere Grenze der Wahrscheinlichkeit des Fehlers falls wir die Hypothese der Ubereinstimmung der Kolonienzahl in einzelnen Plattenserien mit Poissons Gesetz zuruckweisen.
 σ_x — Średnie odchylenie liczb kolonij na płytkach w każdej serji.
 Mittlere Abweichung der Kolonienzahlen auf den Platten jeder Serie.

dadzą nam układ liczb kolonij o wahaniach nie mniejszych od przewidzianych przez prawo Poisson'a. Przewidywać można, iż w wypadkach, w których czynniki biologiczne nie będą ujednolajnione, jak w naszych doświadczeniach, wywołają one — obok manipulacyjnych — większe jeszcze i częstsze odchylenia od układu przewidzianego przez prawo Poisson'a.

Celem zorientowania się, jaką najmniejszą liczbę płytek równoległych wylać należy dla osiągnięcia żądanej dokładności oznaczenia, przeprowadziliśmy rachunek specjalny.

Rachunek ten ma na celu wyznaczenie przedziału ufności dla „rzeczywistej” przeciętnej liczby kolonij na płytkach, którą chcemy poznać przez wylanie kilku płytek równoległych. Długość tego przedziału zależy: 1) od liczby n płytek faktycznie zbadanych i 2) od zmienności liczb kolonij na poszczególnych płytkach, która to zmienność cechowana jest wielkością σ_x . Połowę długości przedziału ufności (in plus i in minus) oblicza się ze wzoru:

$$t_{\infty} \frac{\sigma_x}{\sqrt{n}} \quad (50)$$

gdzie t_{∞} jest zależne od wielkości współczynnika ufności, a mianowicie dla współczynnika równego 0,05 — t_{∞} wynosi 1,95996, dla 0,01 — 2,57582, co znajdujemy w tablicach Fishera (²).

Z rozważań poprzednich wiadomo, iż równość σ_x (średniego odchylenia) z wartością $\sqrt{\bar{x}}$ charakteryzuje zgodność wahań liczby kolonij na płytkach w serjach z prawem Poisson'a. W przypadku małej liczby płytek, dokładnego spełnienia tej równości oczekiwać nie można, gdyż obliczona empirycznie σ_x musi ulegać wahaniom losowym, jednak jeśli wahania liczby kolonij są przypadkowe, poszczególne wartości σ_x muszą się niezbyt różnić od teoretycznych.

Gdyby natomiast, prócz przyczyn losowych, na wahania liczby kolonij na poszczególnych płytkach jednej serji, wpływały jeszcze jakieś inne czynniki, to „rzeczywista” wartość σ_x musiałaby być większa od przewidywanej równością (48). Odpowiednio byłby większy i przedział ufności dla poszukiwanej wartości $\bar{x}$, który to przedział jest proporcjonalny do „rzeczywistej” wartości σ_x .

O tem, że na zmienność liczb kolonij na poszczególnych płytkach wpływają jakieś inne czynniki poza losowemi, możemy sądzić chociażby z wykresu I-go, na którym znaczna liczba punktów empirycznych leży poza krzywą teoretyczną (zbyt duże empiryczne σ_x !), względnie z wartości P z tablicy XII.

Jeśli w ten sposób obliczymy przedział ufności dla $\bar{x}$, zakładając, że liczby kolonij ulegają ściśle prawu Poisson'a, to oszacowanie dokładności wypadnie nam raczej zbyt optymistycznie niż pesymistycznie. Innemi słowy, poszukując liczby płytek równoległych, któreby zapewniły pożądaną długość przedziału ufności, otrzymamy wartość raczej zbyt małą niż zbyt dużą.

Poszukiwaną długość połowy przedziału ufności dla $\bar{x}$ można wyrazić w $\% \%$ tejże liczby $\bar{x}$. Niech to będzie $\gamma \cdot \bar{x} \cdot 100$, tak, że γ oznacza ułamek właściwy. Chcąc, by rzeczywista wartość połowy przedziału ufności nie przekroczyła $\gamma \cdot \bar{x}$ i zakładając, że prawo Poisson'a sprawdza się dokładnie, możemy znaleźć takie n , by:

$$\frac{t_{\infty} \sigma_x}{\sqrt{n}} = t_{\infty} \sqrt{\frac{\bar{x}}{n}} \leq \gamma \cdot \bar{x}. \quad (51)$$

Rozwiązując tę nierówność względem n otrzymamy:

$$n \geq \frac{t_{\infty}^2}{\gamma^2 \bar{x}} \quad (52)$$

Jest to jedna z możliwych form odpowiedzi na postawione pytanie. Wynika z niej, że minimalna liczba płytek niezbędna do osiągnięcia pożądaney dokładności jest odwrotnie proporcjonalna do „rzeczywistej” przeciętnej liczby kolonij na płytkach $\bar{x}$.

Otrzymamy drugą formę odpowiedzi, mnożąc obie części równania przez $\bar{x}$:

$$n \cdot \bar{x} \geq \frac{t_{\infty}^2}{\gamma^2} \quad (53)$$

Nie zapominajmy, że $\bar{x}$ oznacza tu „rzeczywistą” przeciętną liczbę kolonij. Jest ona zapewne różna od empirycznej, którą możemy otrzymać w praktyce. Zakładając jednak, że różnica pomiędzy

obu nie może być zbyt wielka, możemy powiedzieć, że $n\bar{x}$ oznacza (w przybliżeniu) liczbę wszystkich kolonij policzonych na wszystkich n płytkach. Sens nierówności (53) polegałby wtedy na tem, że aby otrzymać dostateczną dokładność poszukiwanej liczby $\bar{x}$, należy sporządzić tyle płytek, by zawierały one ogółem nie mniej niż $\frac{t_{\infty}^2}{\gamma^2}$ kolonij.

Tablica XIII przedstawia liczbowe rozwiązania nierówności (53), do której podstawialiśmy różne wartości na $\bar{x}$, szereg wartości $\gamma \cdot 100$ od 1 do 50, oraz wartości t_{∞} , odpowiadające dwu współczynnikom ufności: 0,01 i 0,05.

Otrzymaliśmy w niej odpowiedź na pytanie, jaką najmniejszą ilość płytek równoległych o danej przeciętnej liczbie kolonij należy wylać, aby osiągnąć oznaczenie z żadaną dokładnością.

Uczy nas ona, iż wraz ze zmniejszeniem liczby kolonij na płytce, celem otrzymania oznaczenia o danej dokładności, należy zwiększyć liczbę płytek równoległych. Jeżeli zatrzymamy się na liczbie kolonij równej 100, a więc tej, która w większości wypadków nie daje jeszcze znaczniejszych błędów wskutek zlewania się kolonij na danej płytce, widzimy, że praktycznie liczyć się musimy z błędem nie mniejszym niż 10 — 20 %, gdyż chcąc mieć błąd mniejszy, stajemy przed warunkiem technicznie rzadko dającym się przyjąć, wysiewu 15 — 30 płytek równoległych. Dla płytek o rzadziej leżących kolonjach musimy analogicznie liczyć się z błędem 20 — 40 %, operując normalnie stosowanym wysiewem 2 — 3 płytek równoległych.

Zdajemy sobie najzupełniej sprawę, iż rozważania nasze nie wyczerpują bynajmniej zagadnienia dokładności oznaczania metodą płytkową liczby drobnoustrojów w danym środowisku. Zanalizowaliśmy układ kolonij i konsekwencje tego układu na danej płytce, oraz dotknęliśmy sprawy dokładności oznaczenia, zależnej od liczby policzonych osobników, a stąd od liczby równolegle wysianych płytek.

Pozostaje jednak całkowicie otwartą sprawą, czy i jak dalece metoda płytkowa może nas poinformować o stanie ilościowym drobnoustrojów w danym środowisku. Pomijając takie momenty,

T A B L I C A XIII. T A F E L.

Najmniejsza liczba równoległych płytek, dająca przy danej przeciętnej liczbie kolonij rezultat liczenia z przewidzianym błędem.

Obliczenie przy współczynniku ufnosci: 0,01 i 0,05.

Minimale Anzahl der Parallelplatten, die bei bestimmter Durchschnittszahl der Kolonien ein mit gegebenem Fehler behaftetes Zählungsresultat ergeben, Zuverlässigkeitskoeffizient: 0,01 u. 0,05.

Liczba kolonij Kolonien- anzahl	Dopuszczony błąd w %% — Zulässiger Fehler in %%															
	1		3		5		10		20		30		40		50	
	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05
25	265	1536	295	171	106	61	27	15	7	4	3	2	2	1	1	1
50	1325	768	147	85	53	31	14	8	4	2	2	1	1	1	1	1
100	665	384	74	43	27	15	7	4	2	1	1	1	1	1	1	1
250	265	154	30	17	11	6	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1
500	133	77	15	9	5	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1000	67	38	7	4	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2500	27	15	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5000	13	8	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10000	7	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Liczba np. 15 (w kolumnie 7, wiersz 3) oznacza, że chcąc otrzymać nie częściej niż w 5 doświadczeniach na 100 wynik liczenia różniący się więcej niż o $\pm 5\%$ od rzeczywistej przeciętnej liczby osobników na jednostkę objętości, musimy wysiać więcej niż 15 równoległych płytek o ok. 100-u kolonijach na każdej.

Die Zahl z. B. 15 (in der 7-en Vertikalreihe) bedeutet, dass man mehr als 15 ausgesäte Parallelplatten je mit etwa 100 Kolonien haben muss, um höchstens in 5 pro 100 ausgeführte Untersuchungen ein Zählungsresultat zu erhalten, das mehr als $\pm 5\%$ von den wirklichen Durchschnittszahl der Individuen in gegebener Volumeneinheit abweicht.

ograniczające jej uniwersalność, jak: selekcyjny charakter pożywki, brak wzrostu szeregu gatunków na płytce i t. d., już np. w dobraniu odpowiedniego rozcieńczenia badanego środowiska (gleba, woda, produkty spożywcze i t. p.), stajemy przed zagadnieniem, czy sposób i stopień owego rozcieńczenia nie będą stanowiły momentów manipulacyjno-biologicznych wpływających na wynik oznaczenia. Czynniki takie, jak antagonizm gatunków w ich mieszaninach, częsta trudność uwolnienia komórek ze składników środowiska, zjawiska adsorpcji, przylegania do części stałych środowiska, emulgowanie się pewnych składników i t. d. i wiele innych stwarzają trudności, których znaczenie może być bardzo różnorodne i na których ewentualne usunięcie ogólnej recepty przewidzieć się nie daje.

Jest miłym naszym obowiązkiem złożyć na tem miejscu serdeczne podziękowanie p. Doc. Dr. *Jerzemu Sława-Neymanowi* za współpracę i pomoc okazaną przy opracowywaniu powyższego tematu.

Streszczenie i wnioski.

Tematem głównym pracy jest sprawdzenie zgodności układu kolonij na płytkach Petri'ego z prawem Poisson'a i wyciągnięcie wniosków z wyników tego sprawdzenia. W doświadczeniach wstępnych zanalizowano zgodność układu komórek drożdżowych z tem prawem w komorze Thoma i wyniki zestawiono w tablicy I. Porównanie tych wyników z wynikami analogicznych doświadczeń „*Studenta*” ⁽⁹⁾ zestawia tablica II.

W doświadczeniach zarówno naszych, jak i „*Studenta*” w większości wypadków otrzymano zgodność układu komórek z prawem Poisson'a, w niektórych jednak zyskaliśmy dane liczbowe nie upoważniające nas do przyjęcia hipotezy o tej zgodności.

Analizowane przez nas hodowle płytkowe, których charakterystykę zestawia tablica III, wszystkie bez wyjątku wykazały zgodność układu kolonij z prawem Poisson'a, co ilustrują zestawienia liczb w tablicy IV. Zgodność tę wykazały także fotografie płytek, załączone do prac *Maurizio i Stauba* ⁽⁴⁾ oraz *Kellermana i McBetha* ⁽³⁾. Analizę układu kolonij na tych fotografiach zestawia tablica V.

TABLICA Vb. TAFEL.

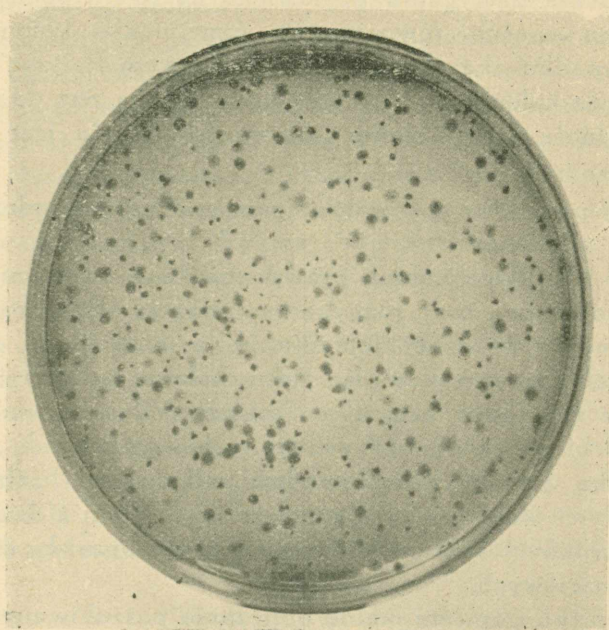


Fig. 1.

Fig. 1. Fotografia hodowli płytkowej *Saccharomyces Cerevisiae* (patrz płytka nr. 4 w tablicach III i IV). Wartość $P = 0.84$.

Photographie der Plattenkultur *Saccharomyces Cerevisiae* (s. Platte nr. 4, Tafeln III u. IV).

Fig. 2. Fotografia fotografii hodowli płytkowej *Monilia nigra* z pracy Maurizio i Stauba⁽¹⁾. (Patrz tablica V, płytka A). Wartość $P = 0.72$.

Photographie der Plattenkulturphotographie von *Monilia nigra* aus der Arbeit Maurizio u. Staub⁽¹⁾. (S. Tafel V. Platte A).

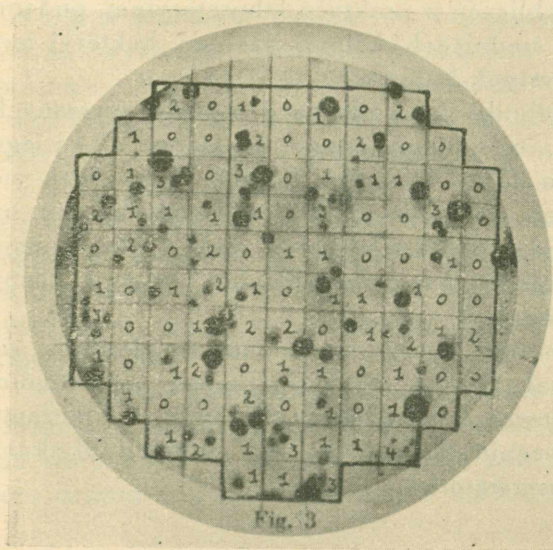


Fig. 2.

W tablicy VI przytaczamy analizę układu kolonij na płytce, którą celowo podczas zastygania postawiono na równi pochyłej zakłócając w ten sposób równomierne rozrzucenie kolonij. Układ i w tym wypadku okazał się zgodny z prawem Poisson'a. Wyniki analiz układu kolonij na płytkach upoważniają nas do stwierdzenia, iż zgodność tego układu z prawem Poisson'a jest obowiązującą regułą.

Na tej podstawie przeprowadzono rachunek, zmierzający do otrzymania odpowiedzi:

1. Ile na płytce kolonij prawdopodobnie powstanie z dwóch i więcej osobników, przy różnych wymiarach płytki, różnych wymiarach kolonij i różnej ich liczbie, a stąd jakie posiadamy prawdopodobieństwo—szczepiąc jedną kolonję z płytki—iż kolonja ta powstała z jednego osobnika. Tablica VII zestawia obliczone prawdopodobieństwa dla różnych danych wyjściowych.

2. Jaką poprawkę wprowadzić należy do liczby policzonych na płytce kolonij, z tytułu powstania kolonij z dwóch, trzech i t. d. osobników. Tablica VIII zestawia te poprawki dla różnych danych wyjściowych.

W związku z opisem metod obliczania poszukiwanych danych, w tablicy IX zestawiono prawdopodobieństwa w/g prawa Poisson'a dla niektórych małych przeciętnych, oraz w związku z omawianiem zastosowania tych obliczeń w praktyce laboratoryjnej, podano w tablicy X wahania w średnicach kolonij szeregu bakterij fermentacji mlekowej w czystych kulturach.

Metodę liczenia osobników na płytkach o gęsto wysianych i nierównych kolonjach proponujemy oprzeć na wzorze (36) i jego rozwiązaniu w równaniu (37). Technika liczenia sprowadza się wówczas do policzenia pól widzenia niezawierających kolonij na ogólną liczbę pól widzenia zaobserwowanych (P_0) i odnalezieniu przeciętnej liczby osobników na pole widzenia, a stąd liczby osobników na całej płytce.

Rachunek ten eliminuje błędy, wynikające ze zlewania się kolonij. Dla ilustracji jak dalece różnić się mogą poszczególni obserwatorowie w traktowaniu przedmiotu liczenia, przytaczamy w tablicy XI wyniki liczenia kolonij na tych samych płytkach przez trzech różnych obserwatorów.

W zakończeniu pracy omówiono doświadczenia, polegające na oznaczaniu liczby osobników w środowisku wyjściowym metodą wysiewu równoległych płytek. Celem scharakteryzowania zmienności liczb kolonij na równoległych płytkach, obliczono liczby, mogące cechować zgodność układów z prawem Poisson'a, a mianowicie: współczynnik dyspersji i wartość średniego odchylenia (p. tablica XII). Naogół zmienność liczb kolonij na płytkach równoległych w poszczególnych serjach otrzymano większą od przewidzianej prawem Poisson'a. Wykres I ilustruje, w postaci punktów, empiryczne wartości średnich odchyleń w stosunku do teoretycznych, wyznaczonych krzywą ciągłą.

Przyjąwszy hipotezę, iż układ liczb kolonij na płytkach równoległych wykaże zmienność nie mniejszą niż przewiduje prawo Poisson'a, drogą rachunku, opartego na znalezieniu długości przedziału ufności, opracowano tablicę XIII, podającą liczbę równoległych płytek, o różnej liczbie przeciętnej kolonij, jaką conajmniej sporządzić należy, celem osiągnięcia żądanej dokładności oznaczenia wyrażonej w $\% \%$, przy współczynniku ufności 0,01 i 0,05.

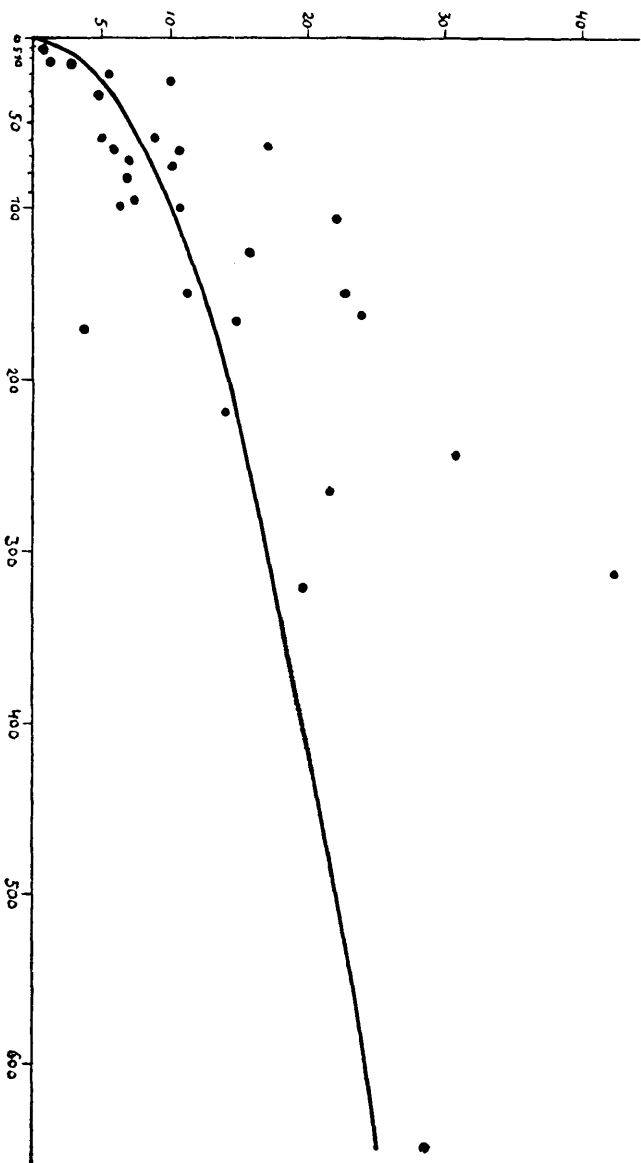
Wnioski.

1. Układ komórek drożdżowych w zawiesinie wodnej obserwowany w komorze Thoma w większości wypadków, lecz nie zawsze, wykazuje zgodność z układem przewidzianym prawem Poisson'a. Wyniki naszych doświadczeń naogół pokrywają się z wynikami analogicznych doświadczeń „Studenta”, który operował dodatkiem żelatyny do preparatu.

2. Układ kolonij różnych drobnoustrojów na płytkach Petri'ego w pożywce agarowej i żelatynowej wykazuje regularną i zupełną zgodność z prawem Poisson'a. Zanalizowane w liczbie 25 hodowle — wszystkie tę zgodność wykazały. Zgodność stwierdzono także na fotografiach płytek załączonych do prac innych autorów.

3. Prawdopodobieństwo otrzymania czystej kultury przy szczepieniu kolonii z płytki Petri'ego może być duże (ponad 0,9999) pod warunkiem, iż pojęcie osobnika pokrywać się będzie z pojęciem czystej kultury, i jeśli liczba kolonij na płytce jest mała.

WYKRES I. DIAGRAM M.



Vergleichung der mittleren Abweichungen $\bar{x}$ der empirischen mit den theoretischen Werten.

4. Liczba kolonij na płytce odpowiada liczbie czynnych w danej pożywce osobników pod warunkiem gęstości wysiewu nie przekraczającej — zależnie od wymiarów kolonji — kilkudziesięciu do kilkuset osobników.

5. W wypadku operowania płytką o gęsto leżących nierównych kolonjach, liczbę czynnych na płytce osobników znaleźć możemy notując liczbę pól widzeń nie zawierających kolonij na ogólną liczbę pól widzeń zaobserwowanych i przeprowadzając rachunek w/g wzorów: (36) i (37).

6. Opierając się na hipotezie zilustrowanej doświadczeniem, iż liczby kolonij na płytkach równoległych wykażą zmienność nie mniejszą od przewidzianej prawem Poisson'a — obliczone zostały liczby minimalne płytek równoległych, które sporządzić należy, aby otrzymać oznaczenie z żądaną dokładnością.

Aus dem Institut für Mikrobiologie und landwirtschaftliche Industrie der Hochschule für Bodenkultur und aus dem Institut für Gärungsgewerbe und landwirtschaftliche Bakteriologie beim Mus. für Gewerbe und Landwirtschaft in Warschau.

Leiter Prof. Dr. W. Dąbrowski.

KOLONIENANORDNUNG AUF PETRI-SCHALEN UND POISSONS GESETZ (DAS GESETZ DER KLEINEN ZAHLEN).

V o n

T. MATUSZEWSKI und J. SUPIŃSKA.

ZUSAMMENFASSUNG.

Die vorliegende Arbeit ist ein Versuch der Anwendung statistischer Methoden zur Analyse der Kolonienanordnung von Mikroorganismen auf Petri Schalen. Das Hauptthema war die Beantwortung der Frage wieviel Kolonien auf einer Platte aus 1, 2, 3 usw. Individuen entstehen können und daran anschliessend: 1^o wie gross ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine hervorgegangene Kolonie eine Reinkultur ist (falls der Begriff „Individuum“ sich mit dem Begriff der Zelle ev. der aus einer Zelle gebildeten Verbindungen deckt), 2^o wie man die Fehler bei der Bestimmung der auf einer Platte ausgesäten Individuenzahl vermeiden kann.

Eine Suspension von Mikroorganismen kann, sinngemäss der Wahrscheinlichkeitsrechnung, gut oder schlecht vermischt sein. Die erste ist durch eine spezielle Anordnung der Individuen in gleich grossen Proben der Suspension charakterisiert, die rein zufällige, von dem sg. Poisson'schen Wahrscheinlichkeitsgesetz (Gesetz der kleinen Zahlen) bestimmte Schwankungen aufweisen. Sind aber dieselben Schwankungen nicht rein zufällig, wobei sie von verschiedenen methodischen ev. biologischen Faktoren abhängen, so wird die betreffende Suspension als schlecht vermischt betrachtet. Um den obengenannten Fragen auf wahrscheinlichkeitstheoretischem Wege beantworten zu können, muss also empirisch geprüft werden, welche Individuenverteilung man in den uns interessierenden Proben erhalten könnte.

Am Anfang der Arbeit wurde analysiert, ob die Hefezellenanordnung im Haemozytometer dem genannten Gesetz unterworfen sei. Die Ergebnisse sind in der Tafel I zusammengestellt. Die Ergebnisse der analogen Untersuchungen von „*Student*“ zeigt die Tafel II. Sowohl unsere Untersuchungen, wie auch diejenigen von „*Student*“ weisen grösstenteils Übereinstimmung mit Poissons Gesetz auf, in manchen Fällen jedoch werden Zahlenwerte erhalten, die die Annahme dieser Hypothese nicht berechtigen. Daraus könnte man schliessen, dass die Anwendung der Poisson'schen Theorie im Falle so kleiner Proben, wie Volumina, die in den Quadraten des Haemozytometers enthalten sind, möglicher Weise zulässig sein können; dies bildet aber keine allgemeine Regel. Es kann auch sein, dass die Ursache in den allgemeinen Bedingungen des ausgeführten Experimenten liegt. Jedenfalls scheint es, dass die Lösung der Frage über die Anwendbarkeit der Poisson'schen Theorie speziellen Untersuchungen erfordert.

Im Gegensatz zu den im Haemozytometer beobachteten Erscheinungen zeigen die von uns analysierten Plattenkulturen (siehe Tafel III und IV) alle ohne Ausnahme eine sehr gute Übereinstimmung der Kolonienanordnung mit der durch Poissons Gesetz vorausgesehenen. Diese Übereinstimmung finden wir auch in den Photographien von *Maurizio u. Staub* ⁽¹⁾ dann von *Kellerman u. Mc Beth* ⁽³⁾ (Tafel V). Tafel VI stellt die Kolonienanordnung

auf einer Platte dar, die während des Erstarrens absichtlich schräg gelegt wurde, so dass eine gleichmässige Verteilung der Kolonien verhindert war. Auch in diesem Falle ist die Anordnung mit dem Poissons Gesetz im Einklang.

Diese Ergebnisse berechtigen uns zum Schluss, dass die Übereinstimmung der Kolonienanordnung in Plattenkulturen mit dem Poisson'schen Gesetz allgemein ist. Wir sehen uns deshalb berechtigt gewisse Folgerungen aus dem Poisson'schen Gesetz für unsere Aufgaben abzuleiten und festzustellen:

1. Wieviel Kolonien aus zwei oder mehr Individuen bei verschiedenen Platten = und Kolonienradius und bei verschiedener Kolonienanzahl entstehen können und weiter, wie gross ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine bestimmte Kolonie aus einem Individuum entstanden sei. Tafel VII stellt die unter verschiedenen Voraussetzungen berechneten Wahrscheinlichkeitswerte dar.

2. Welche Korrektur muss zur auf Platte gezählten Kolonienzahl eingeführt werden, infolge der Kolonienentstehung aus 2, 3 usw. Individuen. Tafel VIII stellt diese Korrekturen für verschiedene Ausgangsdaten zusammen.

Im Zusammenhange mit den erwähnten zufälligen Anwendungen des Auszählens in der Laboratoriumspraxis, sind die Wahrscheinlichkeiten nach dem Poissons Gesetz für einige kleine Durchschnittswerte zusammengestellt worden (Tafel IX). Als Beispiel eines Zustandekommens der Kolonien regelmässiger Dimensionen, wurden in der Tafel X die Kolonienradius gewisser Milchsäurebakterien in Reinkulturen angegeben.

Die Zählungsmethode von Individuen auf Platten mit dicht ausgesäten Kolonien von verschiedener Grösse, sollte sich unserer Meinung nach auf der Formel (36) und ihrer Lösung in Gleichung (37) gründen. Die Zählungsmethode beschränkt sich dann auf der Bestimmung des Verhältnisses der kolonienfreien Gesichtsfelder zu ihrer beobachteten allgemeinen Anzahl, woraus die Durchschnittszahl der Individuen pro Gesichtsfeld und weiter die Gesamtzahl der Individuen auf der ganzen Platte gefunden werden kann. Dank diesem Verfahren wird das Rechnungsergebnis der Individuen unabhängig von dem Bedenken, ob eine gegebene Kolonie aus einem oder mehreren Individuen entstanden ist. Wie-

fern die Zählungsergebnisse voneinander abweichen können, zeigt Tafel XI, in der die von drei Beobachtern erhaltenen Kolonienanzahlen einer und derselben Platte angegeben sind.

Zum Schluss wird die Genauigkeit der Bestimmung von Individuenzahl im Ausgangsmedium mittels Plattenverfahren kurz besprochen. Diese Genauigkeit hängt von der Variabilität der Kolonienzahl auf Parallelplatten ab. Wäre die Variabilität rein zufällig, so könnte man die Genauigkeit a priori ausführlich abschätzen. Es kommen aber andere Faktoren im Plattenverfahren vor, welche die sg. „groben Fehler“ im Sinne der Wahrscheinlichkeitsrechnung verursachen können. Sollte die Fluktuation der Kolonienanzahl die beiden oben erwähnten Ursachen haben, namentlich zufällige Variabilität und „grobe Fehler“, so besitzen sie einen ganz verschiedenen Charakter und sind meistens grösser als im Falle purer Zufälligkeit.

Unsere — in diesem Abschnitte — nur fragmentarischen Untersuchungen bestanden aus in 30 Serien, von verschiedener Verdünnung der Reinkultur *Schizosaccharomyces Pombe*, hergestellten Parallelplatten (5 — 10). Um die Schwankungen der Kolonienzahlen zu charakterisieren, wurden der Dispersionskoeffizient und die mittlere Abweichung σ_x berechnet und mit den aus Poissons Gesetz hervorgehenden Werten verglichen (siehe Tafel XII). Die Schwankungen der Kolonienanzahl auf Parallelplatten der einzelnen Serien waren im allgemeinen grösser, als die der Zufälligkeitshypothese nach vorgesehenen. Diagramm I zeigt den Vergleich der empirischen mittleren Abweichungen σ_x (Punkte) mit ihren theoretischen Werten (ausgezogene Kurve). Die Ergebnisse bestätigen den Einfluss der methodischen ev. biologischen Faktoren.

Tafel XIII stellt zusammen, wieviel Parallelplatten man muss ausstellen, um die Bestimmung der Individuenzahl in dem Ausgangsmaterial mit gewisser Genauigkeit zu erhalten. Die Tafel ist berechnet angenommen, dass die Schwankungen der Kolonienzahlen auf Parallelplatten im Sinne der Wahrscheinlichkeitsrechnung „zufällige“ sind und folglich man muss die in der Tafel angegebene Plattenzahlen, als unbedingt minimale betrachten.

Unseren herzlichsten Dank wollen wir Herrn Dr. J. Sława-Neyman ausdrücken für die freundliche und schätzenswerte Hilfe, bei Ausführung dieser Arbeit.

PIŚMIENICTWO.

- 1) Fisher R. A. Statistical Methods for Research Workers, 1930, str. 62 i 63. 2) Fisher R. A. l.c. Table IV. 3) Kellerman K. F. a. McBeth I. G., The Fermentation of Cellulose, Zentr. f. Bakt. ect. A. II, B. 34, 1912, str. 481, tabl. I, fig. 1 4) Maurizio A. u. Staub W. Monilia nigra Burri u. Staub. Weitere, Untersuchungen über Schwarzfleckigkeit bei Emmentalerkäse. Zentr. f. Bakt. etc, A. II, B. 75, 1928, str. 375, tabl. I, fig. 3. 5) Neyman J. a. Pearson E. S. On the use and interpretation of certain test criteria, Biometrika, Vol. XX, A. str. 175-240 i 263-295. 6) Pearson K. Tables for Statisticians and Biometricians, Part, I, 1930, str. 113. 7) Pearson K. l. c. str. 26, 8) Pearson K. l. c. str. 113. 9) „Student“ On the Error of Counting with a Haemocytometer Biometrika, 1907, Vol. V, str. 351 i 364.
-

Wydrukowano 28.IX. 1932.

Z Zakładu Anatomji Patologicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego.

(Dyrektor: Prof. Dr. Stanisław Ciechanowski).

W SPRAWIE T. ZW. MEDIONECROSIS AORTAE IDIOPATHICA CYSTOIDES Z PRZYPADKIEM WYGOJONEGO PĘKNIĘCIA TĘTNICY GŁÓWNEJ.

P o d a ł

KAZIMIERZ ŚCIESIŃSKI (Łódź dawniej Kraków).

Pęknięcie tętnicy głównej nie należy do rzadkości i zdarza się najczęściej po urazie; dotyczy wówczas przeważnie wszystkich warstw i staje się przyczyną nagłego zejścia śmiertelnego. W nieco rzadszych przypadkach pękają tylko błona wewnętrzna i środkowa, a krew drążąc między temi warstwami a błoną zewnętrzną wytwarza krwiak śródścienny czyli t. zw. aneurysma dissecans. O ile takie pęknięcie nie spowoduje szybko śmierci, może sprawa się przewlekać aż do chwili pęknięcia krwiaka do sąsiednich narządów, a wyjątkowo może życie trwać miesiącami i dłużej, jeżeli krwiak na drugim końcu otworzy się znów do światła aorty i stanie się jakby nowem korytem krążenia. (Dwa takie przypadki są w zbiorach Zakładu Anatomji Patologicznej w Krakowie). Jeżeli pęknięcie jest płytsze, może nawet — co zdarza się jednak nadzwyczajnie rzadko — nie utworzyć się krwiak śródścienny i następuje zupełne wyleczenie z pozostawieniem blizny. Urazem może być nie tylko bezpośrednie zadziałanie jakiejś siły zewnętrznej, lecz także nagłe wzmożenie ciśnienia krwi wskutek czy to wysiłku fizycznego czy też

działania czynników psychicznych, jak przestrasz itp.; takie pęknięcia zaliczają autorowie do pęknięć samorodnych. W tych przypadkach z trudnością udaje się ściśle stwierdzić przyczynę i sposób powstania pęknięcia, szczególnie w przypadkach, w których nawet nie wytworzył się krwiak śródścienny, a przynajmniej nie pozostał ślad po nim. Dopiero w ostatnich czasach niektórzy autorowie (*Gsell, Erdheim, Levinson*) przypisują pęknięcia szczególnej, niedawno wyróżnionej zmianie, mianowicie ogniskowej martwicy błony środkowej tętnicy głównej (*medionecrosis aortae idiopathica*).

Z piśmiennictwa dostępnego mi przytoczę tylko tych kilka (15) niezmiernie wyjątkowych przypadków, w których nie powstał krwiak śródścienny i pęknięcie się zabiłżniło. *Ernst* opisał okrężne pęknięcie tętnicy głównej (2 cm. poniżej odejścia tętnicy podobojczykowej lewej) w okolicy cieśni u 37-letniego kowala, u którego stwierdził przewlekłe śródmiąższowe zapalenie nerek, przerost lewego serca, średniego stopnia miażdżycę tętnic mózgowych, wieńcowych serca i tętnicy głównej. W przypadku tym autor nie znalazł krwiaka śródściennego, jednakże w głębi szczeliny pęknięcia między błoną zewnętrzną a resztkami błony środkowej stwierdził nieco hemosyderyny jako pozostałość po wybroczynie. Szczelina pęknięcia była wysłana świeżo wytworzoną tkanką łączną włóknistą. Przypadek był o tyle niezwykły, że chory nie zauważył żadnego zaburzenia wskutek powstałego pęknięcia. *Beneke* wspominał w dyskusji nad przypadkiem *Ernsta* o atlecie, u którego znalazł gładką bliznę w górnej części łuku aorty, długości 3 — 4 cm., szerokości 2 — 3 mm. Drobnowidzowo stwierdził zupełnie wygojone pęknięcie (mierna blizna w błonie wewnętrznej), poza tem tętnica główna okazała się niezmienioną. W drugim przypadku widział pęknięcie ponad zatokami Valsalvy ze skłonnością do wygojenia. *Schmorl* również opisał pęknięcie bezpośrednio nad zastawkami półksiężycowatemi aorty w przypadku przerostu serca; nie wywołało ono krwiaka śródściennego i zaczynało bliznować. *Fraenkel* nie potrafił sobie wytłumaczyć, dlaczego w jego własnym przypadku pęknięcia aorty nie powstał krwiak. *Chiari* przedstawił cztery przypadki *Asahiego*, mianowicie 1) dotyczący wygojonego poprzecznego pęknięcia na tylnej ścianie części wstę-

pującej aorty, 5 cm. ponad zastawkami z workowatym wypukleniem, u 67-letniego mężczyzny. *Chiari* poza miejscem pęknięcia stwierdził miażdżycę i niedomogę zastawek; mikroskopowo pęknięcie obejmowało błonę wewnętrzną i środkową, tętniak był wysłany świeżo wytworzoną błoną wewnętrzną; 2) przypadek dotyczący ciężko pracującego 37-letniego piwowara, pęknięcie aorty 4 cm. nad zastawkami; 3) wygojone rozległe nieregularne pęknięcie tylnej i prawej ściany części wstępującej z częściowym oderwaniem brzegów i wytworzeniem tętniaka wielkości pięści męskiej; 4) pęknięcie 5,5 cm. nad zastawkami u mężczyzny 39-letniego, z niedomogą zastawek. *Chiari* uznał uraz za przyczynę tych pęknięć, ponieważ nie dostrzegł ani zapalenia błony środkowej (*mesaortitis*) ani też innych zmian, wskazujących na poprzednio toczącą się sprawę chorobową. Jeszcze rzadziej zdarzają się pęknięcia aorty z częściowym oderwaniem płatków zastawkowych; przypadek taki u 37-letniego mężczyzny podał *Heller*. Pęknięcie uległo zabliznieniu z następową niedomogą zastawek aorty. Właśnie tą niedomogą i z nią obniżeniem ciśnienia krwi z rozszerzeniem lewej komórki tłumaczy *Heller* brak krwaka śródściennego. W miejscu blizny powstał tętniak.

Nieco szerzej roztrząsał powstawanie pęknięć aorty wogóle, to jest także z powstaniem krwaka śródściennego *Bay*, poddając równocześnie zapatrywania dawniejszych autorów krytycznemu rozpatrzeniu. Ten autor uznawał jako konieczne warunki do powstania pęknięcia następujące: 1) podniesienie ciśnienia krwi, 2) zmiany ściany naczyniowej. Za pierwszym warunkiem przemawiał bardzo często spotykany przerost komórki lewego serca, często przewlekłe zapalenie nerek. Niektórzy autorowie odrzucali warunek drugi, twierdząc, że podniesienie ciśnienia krwi wystarcza do powstania pęknięcia (przypadek *Bussego*, w którym aorta miała być prawidłowa, przypadek *Haustema*: pęknięcie aorty u 23-letniego żołnierza z prawidłową tętnicą główną). *Bostroem* podkreślał jako główną przyczynę pęknięcia uraz, nie uznawał zaś konieczności zmian naczyniowych, podobnie jak *Flockemann*, *Schede*. *Tolot* i *Sarvonat* sprzeciwiali się zdaniu poprzednich autorów sądząc, że do udowodnienia pęknięć istotnie samorodnych aorty zupełnie niezmienionej trzeba by stwierdzić co najmniej jeden

przypadek pęknięcia aorty u młodego osobnika z bezwzględnie zdrową aortą. Takie przypadki jednak zdarzały się np. przypadek *Oppenheimera* u 9-letniej dziewczynki i *Rokitansky'ego* u 8-letniego chłopca. *Schlipp* podał w zestawieniu 38 przypadków pęknięć, w tem 10 przypadków z czwartego dziesięciolecia życia; w dalszych latach są one rzadsze, zaś w późniejszym wieku (koło lat 70) znów częstsze. Stosunek liczbowy przemawiałby zdaniem tego autora za tem, że etiologia nie jest jednolita; poniżej 40 roku życia odgrywa może kiła rolę podłoża, w podeszłym wieku zaś częściej inne zmiany; co do pęknięć wieku dziecięcego zdaniem *Schlippa* kazuistyka jest zbyt mała. Ponieważ największa ilość pęknięć dotyczy wieku, w którym częsta jest miażdżycza tętnic, uważano ją za właściwą przyczynę. *Schede* jednak zwrócił uwagę, że pęknięcia powstają często właśnie w miejscach zdrowych między miejscami zmienionymi miażdżycowo, zgrubienia błony wewnętrznej mają bowiem stawiać większy opór pęknięciu niż zdrowe. W przypadkach pęknięć w młodym wieku znajdowano zwyrodnienia lub zmiany zapalne błony wewnętrznej, sprawy ropne i nowotwory uciskające od zewnątrz tętnicę główną (*Kahlden, Wilke*). *Wasastjerna* przyjął w swym przypadku pęknięcia aorty u 13-letniego chłopca jako czynnik usposabiający wrodzoną wąskość i słabość ściany aorty. *Bay* znalazł w swym przypadku pęknięcie w kształcie podkowy na łuku aorty poniżej odejścia tętnicy bezimiennej. Błona wewnętrzna i środkowa były na małej przestrzeni oddzielone od błony zewnętrznej, przez mały otwór w zewnętrznej części błony środkowej i zewnętrznej krew przedostawała się do worka osierdziowego. Drugie pęknięcie przebiegało okrężnie w tętnicy brzusznej poniżej odejścia tętnic nerkowych. Mikroskopowo znalazł dość znaczne ogniskowe zgrubienia błony wewnętrznej i znaczny zanik błony środkowej z małą ilością włókien sprężystych; nie spostrzegł nigdzie zmian wskazujących na odnowę. *Bay*, chcąc poznać bliżej zmiany, występujące w aorcie wieku późniejszego, zbadał tętnicę główną 20 osobników ponad lat 50. Błona wewnętrzna była zawsze mniej lub więcej zmieniona, tkanka łączna silniej rozwinięta, stwierdzał zmiany wsteczne, szczególnie stłuszczenie, martwicę, złogi wapniowe. Tylko w dwóch przypadkach (u osobnika 57 i 58-letniego) błona

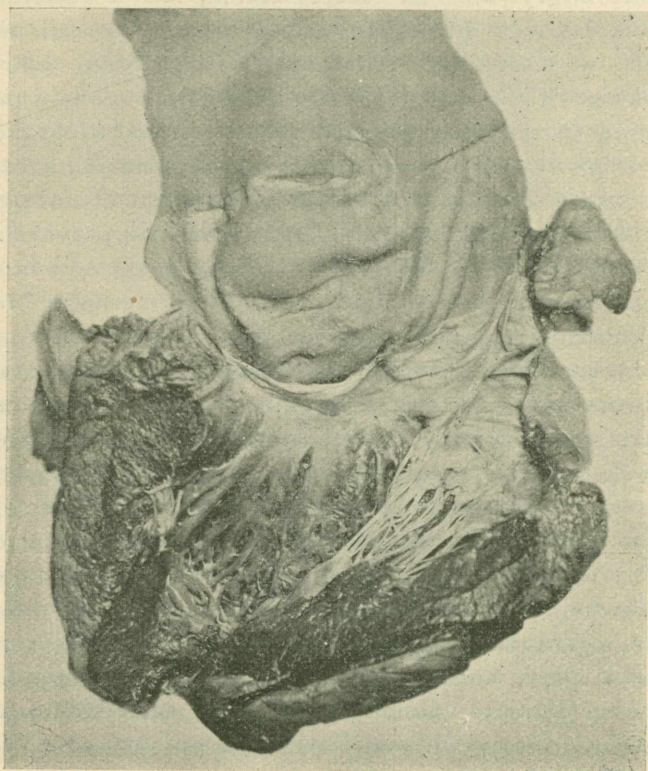
wewnętrzna była cienka. Zwapnienie błony środkowej znajdował w połowie przypadków; ograniczało się ono do środkowych warstw. Między miejscami zwapniałemi mięśniówka była nieco zanikła. Włókna podstawne błony środkowej były na cięciach poprzecznych proste, mało rozgałęzione, często dość gęste, w wewnętrznych warstwach prawie zawsze lepiej zachowane, silniejsze, gęstsze, więcej faliste niż w warstwach sąsiadujących z błoną wewnętrzną. Na granicy błony wewnętrznej zaczynał się zanik postępujący ku zewnątrz, polegający na ścieńczeniu i wyprostowaniu włókien i silniejszym rozwoju tkanki łącznej. *Bay* z tych badań wysnuwał wniosek dla swego przypadku, że w rzadkich przypadkach powstaje w starczej aorticie znaczny zanik tkanki sprężystej bez większych zmian błony wewnętrznej. Wytrzymałość ściany osłabia się w ten sposób tak znacznie, że sprawa może dojść do pęknięcia nawet bez szczególnej przyczyny. Podobnie sądził *Schede*, że podłożem dla powstania krwiaka śródściennego musi być sprawa chorobowa, której głównym objawem winienby być zanik błony środkowej, a wedle *Schmausa*, miażdżycę poprzedza schorzenie, osłabiające sprężystość ściany naczyńowej.

Dopiero w ostatnich latach pojawiły się w piśmiennictwie anatomopatologicznem prace, opisujące i określające dokładniej schorzenia tętnicy głównej jakkolwiek trudno uchwytne dla badania makroskopowego, to jednak mogące wywołać pęknięcie rzekomo z nieznaczonej przyczyny i zejście śmiertelne. Są to prace o martwicy błony środkowej tętnicy głównej, nazywanej „*medionecrosis aortae idiopathica*“, „*medionecrosis aortae idiopathica cystica*“, „*medionecrosis disseminata*“. Piśmiennictwo dotyczące tych zmian chorobowych, rzucające nowe światło na patogenezę pęknięć aorty, omówię poniżej po opisaniu własnego przypadku, — podczas rozpatrywania przyczyny pęknięcia w moim przypadku — zasługującego na uwagę ze względu na to, że 1) u mężczyzny 67-letniego powstało rozległe pęknięcie błony wewnętrznej i środkowej, przyczem nie wytworzył się krwiak śródścienny, oraz że 2) pęknięcie to powstało przy nieznaczących zmianach ściany tętnicy głównej i uległo zupełnemu zabliźnieniu. Przypadek ten będzie

równocześnie stosownie do wskazań *Erdheima* przyczynkiem do poznania t. zw. „medionecrosis aortae idiopathica cystica”.

Przypadek dotyczy 67-letniego mężczyzny, który na dwa dni przed śmiercią rąbiąc drzewo, doznał urazu w brzuch zeskakującą z toporzyśka siekierą. Uraz ten wywołał pęknięcie jelita czczego i rozlane zapalenie otrzewnej, z powodu którego operowano chorego na Oddziale Chirurgicznym Szpitala Św. Łazarza w Krakowie. Z historii choroby, dane kliniczne zawdzięczam uprzejmości Prymarjusza Prof. Dra *Glatzla*, nie dowiedziałem się żadnych szczegółów, mogących rzucić jakiekolwiek światło na powstanie pęknięcia tętnicy głównej, nie odgrywającego zresztą żadnej roli w zejściu śmiertelnym i stwierdzonego niejako ubocznie podczas sekcji, wykonanej przezemnie w Zakładzie Anatomji Patologicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (S. 65—1930) w 34 godzin po śmierci. Bezpośrednią przyczyną zejścia było rozlane włóknikoworopne zapalenie otrzewny, powstałe wskutek pęknięcia jelita czczego na wysokości około 200 cm nad zastawką Bauhina. Tamże znalazłem pęknięcie długości 1 cm, usadowione naprzeciw przyczepu krezki, biegnące poprzecznie do długiej osi jelita, zeszyte kilku szwami; po ich przecięciu śluzówka nieco wypada w kierunku błony surowiczej. Prócz tego stwierdziłem u mężczyzny o budowie silnej, dobrze rozwiniętych mięśniach i kościach, zarosnięcie prawej jamy opłucny, rozedmę płuc, rozszerzenie serca prawego, zwłaszcza przedsionka, przekrwienie bierne narządów wewnętrznych, wole koloidowe guzowate i torbielowate. Ze zmian, wymagających szczegółowego omówienia, znalazłem miażdżycę tętnicy głównej i tętnic obwodowych średniego stopnia, bliznę po pęknięciu części wstępującej tętnicy głównej oraz rozszerzenie części wstępującej tętnicy głównej, przerost komórki lewego serca, skrobiawicę rozlaną śledziony, nadnerczy i nerek. W błonie wewnętrznej tętnic obwodowych dość liczne, nieco wyniosłe nacieki lipidowe; koło ujścia prawej tętnicy wieńcowej serca, w sąsiedztwie pęknięcia, w łuku tętnicy głównej koło ujść wielkich pni tętniczych i w części zstępującej dość obfite nacieki lipidowe; w tętnicy brzusznej nie-liczne nacieki lipidowe. Naczynia wieńcowe serca przebiegają prawidłowo, są drożne, z drobnymi naciekami lipidowymi w błonie wewnętrznej.

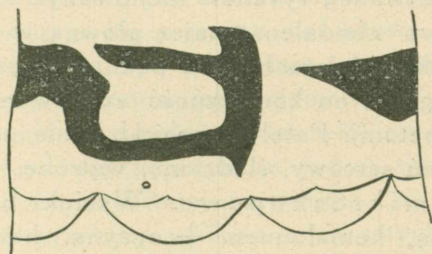
Tętnica główna: część wstępująca (p. ryc. 1 i 2) jednostajnie dość znacznie rozszerzona; największa szerokość wynosi 11 cm, znajduje się mniejwięcej w połowie części wstępującej. Obwód w ujściu 9 cm, w łuku 7 cm, nad przeponą 5,5 cm. Na wysokości 1,5 cm. ponad zastawkami półksiężycowatemi aorty biegnie poprzecznie, nieco skośnie, prawie okrężnie, biaława blizna, wyraźnie odcinająca się od otoczenia, która ponad prawą zastawką dzieli się na dwa ramiona, jedno idące 1,5 cm ponad zastawkami, szerokości 0,5 cm, drugie 4 cm nad zastawkami, długości 4,5 cm, szerokości 4—8 mm, zachodzące aż nad zastawkę tylną, a łączące się z pierw-



Ryc. 1.

Fotografia części wstępującej tętnicy głównej.
Widać nieregularnie przebiegające pęknięcie tuż nad zastawkami aorty.

szem pęknięciem ramieniem, odchodzącym pod kątem prostym, ku zastawkom skierowanem, długości 3 cm, kończącym się ostro. Górne ramię pęknięcia biegnie ponad zastawką tylną, lewą i częściowo prawą, nie dochodząc na 1 cm do ramienia podłużnego, kończąc się trójkątem, o brzegach ostrych. W innych częściach pęknięcia brzegi przechodzą łagodnie i gładko w białawe i gładkie dno pęknięcia. Dolny brzeg części pęknięcia, znajdującej się ponad zastawką lewą i tylną, jest poderwany, tak że można podejść



Ryc. 2.

Rysunek schematyczny pęknięcia, wykonany przed ustaleniem preparatu po rozciągnięciu tętnicy głównej ($1/2$ wielkości naturalnej).

pod niego zgłębnikiem 2 — 4 mm. Oprócz tego ograniczonego miejsca warstwy aorty nie są nigdzie oddzielone od siebie, nigdzie nie widać śladu krwiaka, ani w miejscu samego pęknięcia ani też poza niem. Błona zewnętrzna aorty wszędzie zachowana, grubość ściany aorty poza miejscem pęknięcia prawidłowa.

Serce: powiększone (wymary: 15—14—6 cm). Serce lewe pojemności prawidłowej, ściana komórki lewej zgrubiała (14 mm). Zastawka dwudzielna bez zmian, zastawki aorty: u podstawy kilka drobnych nacieków lipoidowych. W zastawce półksiężycowatej prawej u podstawy twarde trójkątne zgrubienie białawe. Serce prawe rozszerzone, zwłaszcza przedsionek, zastawki niezmienione. Mięsień sercowy jędrny, barwy ciemnoczerwonej, rysunek zachowany, połysk prawidłowy.

Śledziona: waga 130 g, wielkość i kształt prawidłowy, konsystencja wzmożona, po wyjęciu nie spłaszcza się na stole, na przekroju miąższ plastyczny, barwy podobnej do wędzonej szynki, jednostajny, o połysku tłustawym.

Nadnercza: konsystencji wzmożonej, na przekroju istota korowa rozszerzona, prześwieca szarawo, istota rdzeniowa szarawa,

Nerki: (waga 120 g, 130 g) wielkości i kształtu prawidłowego, konsystencji prawidłowej, powierzchnia gładka, na przekroju miąższ przekrwiony biernie, szerokość kory prawidłowa, rysunek zachowany.

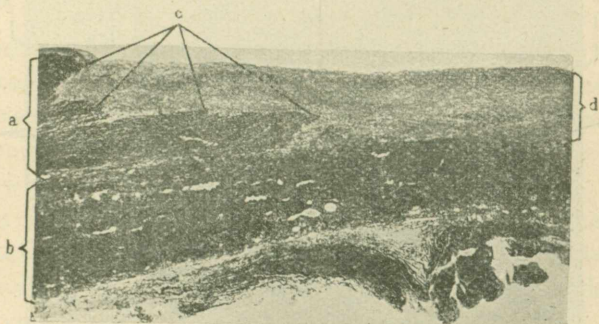
Wątroba: (waga 1440 g) wielkości, kształtu i konsystencji prawidłowej, powierzchnia gładka, przyćmiona, na przekroju miąższ barwy szarawoczerwonej, rysunek zachowany.

Mikroskopowo zbadałem tętnicę główną w dwóch miejscach pęknięcia i w kilku miejscach poza pęknięciem, ściętych z brzegu przekroju (ze względu na konieczność zachowania okazu w zbiorach Zakładu Anatomji Patologicznej U. J. nie pobrałem dalszych wycinków) mięsień sercowy, śledzionę, wątrobę, nadnercza i nerki.

Badanie mikroskopowe. Wycinki barwiono sudanem III, hematoksyliną, hemalaunem + eozyną, hematoksyliną żelazistą + barwikiem van Giesona, fukseliną sposobem Harta, fukseliną Weigerta + sposobem van Giesona, sposobem Fraenkla, sposobem Malloryego, mucikarminem.

Tętnica główna: Wycięto z brzegu miejsca pękniętego dwa wycinki tak, by objąć oba brzegi poprzecznie przebiegającego pęknięcia. Kierunek cięcia preparatów jest zatem równoległy do długiej osi aorty. Dla porównania wycięto także z miejsc nie objętych pęknięciem wycinki podłużne. Ściana aorty jest w miejscu pęknięcia prawie o połowę cieńsza (1,5 mm) niż na brzegach pęknięcia (2,5 mm) i w miejscach oddalonych, jak w łuku aorty. Ścieńczenie to nie jest całkiem równomierne. Brzegi pęknięcia są nieco wyniosłe, jeden brzeg jest poderwany, tak że między brzegiem a dnem pęknięcia widać wyraźną szczelinę głębokości 2 mm. W preparatach, w których barwiłem włókna sprężyste, mięsne i łącznotkankowe, widać w jednych pęknięcie szerokości 16 mm, w drugich szerokości 19 mm. Na brzegach błona wewnętrzna stanowi ciekłą warstwę, w której przebiega kilka jakby ściśniętych cienkich włókien sprężystych, dopiero w bezpośrednim sąsiedztwie błona wewnętrzna składa się z włókien łącznotkankowych z bardzo cienkimi włókieńkami sprężystymi (barwiącymi się wyraźniej orceiną sposobem Fraenkla niż fukseliną sposobem Weigerta);

włókna łącznotkankowe barwią się słabo buraczkowo sposobem van Giesona. Zarówno brzegi jak dno pęknięcia są pokryte śródbłonkiem, przeważnie dobrze zachowanym (tylko gdzieśśrodbłonek jest uszkodzony prawdopodobnie wskutek maceracji pośmiertnej). W błonie środkowej w sąsiedztwie pęknięcia włókna sprężyste przebiegają z jednej strony prawidłowo lekko falisto, z drugiej zaś strony widać pewne nieregularne przerzedzenie jakby rozsunięcie włókien sprężystych, dotyczące wszystkich części błony środkowej, tak wewnętrznej jak środkowej i zewnętrznej; w innych zaś częściach spostrzega się wyraźne ogniskowe podłużne ścieśnienia blaszek sprężystych, równocześnie zgrubiałych, temsamem uderzających w polu widzenia jako ciemniejsze ogniska; w tych właśnie miejscach niema zupełnie jąder włókien mięsnych lub też tylko zrzadka zdarza się pojedyncze jądro, tkanka łączna zaś w tych miejscach jest wybitniej rozwinięta. Im więcej zbliżamy się do brzegu, tem przebieg włókien sprężystych staje się mniej prawidłowy, tem częstsze są przerwy włókien sprężystych we wszystkich częściach błony środkowej, wreszcie widać na samym brzegu pęknięcia nieregularną zazębioną przerwę (patrz ryc. 3), przyczem włókna są nieco zgrubiałe i przebiegają silniej falisto. Po przerwie widać jeszcze kilka warstw włókien sprężystych sil-

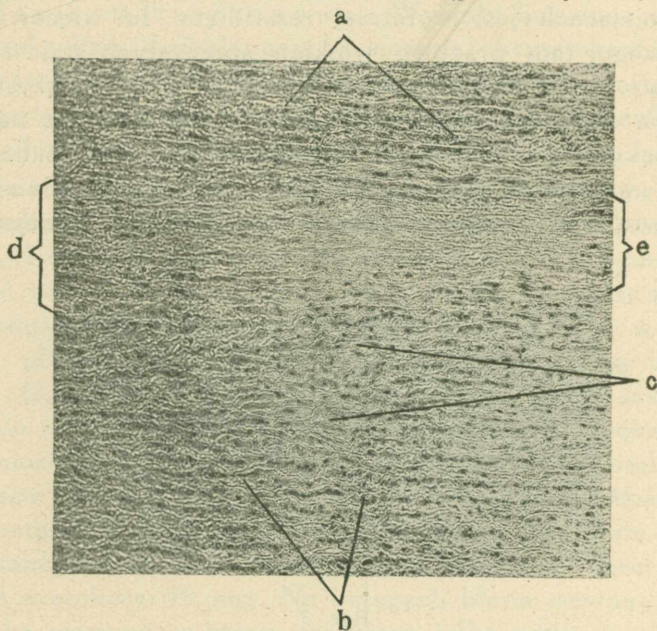


Ryc. 3

Mikrofotogram. Brzeg i dno pęknięcia. Barw. włókien spręż. spos. Weigerta.

- a) błona środkowa,
- b) zgrubiała błona zewnętrzna,
- c) schodkowato przerwane włókna sprężyste błony środkowej.
- d) tkanka bliznowata, wypełniająca dno pęknięcia.

nie falistych, oderwanych w języczku poderwanym, wyżej opisanym. Stąd zaczynając, widać przerwę włókien sprężystych błony środkowej aż poza połowę pęknięcia, gdzie w zewnętrznej części błony środkowej poczynają się pojawiać cienkie, dość nieregularnie splecione włókna sprężyste z przewagą przebiegu równoległe do osi długiej aorty. Warstwa włókien sprężystych powoli grubieje aż do drugiego brzegu pęknięcia, gdzie widać nieco łagodniejszą przerwę; dalej biegną włókna sprężyste z tej strony prawidłowo, nie widać też rozrzedzeń ani przerw jak po drugiej stronie. Natomiast spostrzega się w dwóch miejscach smugowate ogniska na granicy środkowej i zewnętrznej trzeciej błony środkowej, w których brak całkowicie jąder włókien mięsnych i łącznotkankowych (mniej więcej grubości 10 włókien); w innych miejscach brak jąder tylko w pojedynczych włóknach mięsnych (patrz ryc. 4). Ubytek



Ryc. 4.

Mikrofotogram. Bezpośrednie sąsiedztwo pęknięcia. Barw. hematoksyliną i eozyną.

a i b) włókna mięsne z zachowanymi jądrami.

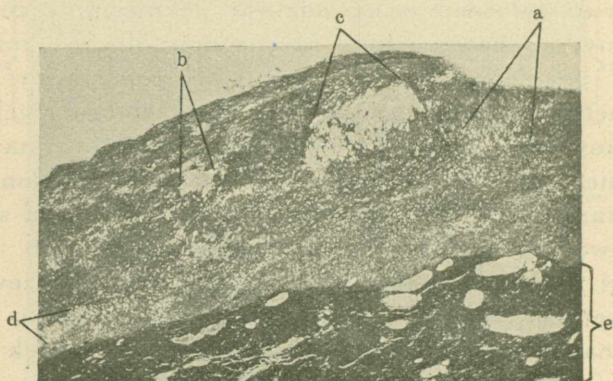
c) braki jąder w włóknach mięsnych.

d i e) smugowate ogniska martwicze w błonie środkowej.

powstały przez pęknięcie jest wypełniony przeważnie tkanką łączną włóknistą słabo unaczynioną z dość obfitą istotą kolejodajną i nielicznymi włóknami mięsnymi, przebiegającymi podobnie jak tkanka łączna przeważnie w kierunku długiej osi aorty, są jednak dość liczne komórki mięsne, biegnące okrężnie lub skośnie. W miejscach, gdzie z błony zewnętrznej wkraczają naczynia krwionośne, tkanka łączna jest bardziej zbita. W preparatach, barwionych sudanem III, znajduje się w obrębie błony wewnętrznej a szczególnie w części wewnętrznej błony środkowej w sąsiedztwie pęknięcia dość znaczne nacieki lipidowe, w pozostałych zaś częściach wyraźne stłuszczenie włókien łącznotkankowych włóknistych i sprężystych, tak że warstwa ta wygląda pod dużym powiększeniem jakby przyprószona kuleczkami tłuszczu. Większe stłuszczenie zauważa się tu i owdzie w warstwach powierzchniowych nowopowstałej tkanki w miejscu pęknięcia i na granicy tej tkanki i błony zewnętrznej. W obrębie tkanki wypełniającej pęknięcie widać cienkie włókienka sprężyste, zagęszczające się na powierzchni w błonkę sprężystą nowopowstałej błony wewnętrznej. Naczynia krwionośne typu naczyń włosowatych, drobnych tętniczek i żył widać prawie wyłącznie w sąsiedztwie pęknięcia w zewnętrznej trzeciej błony środkowej i tutaj są one dość liczne i rozszerzone. W miejscu pęknięcia znajdują się tylko pojedyncze naczynia. Błona zewnętrzna, składająca się z falisto przebiegających włókien łącznotkankowych z obfitą istotą międzykomórkową, na brzegach pęknięcia nieco zgrubiała, odcina się dość ostro od błony środkowej, tylko tam, gdzie brak włókien sprężystych zlewa się niewyraźnie z nowowytworzoną tkanką. Tamże na dużych przestrzeniach smugi tkanki bez jąder, a więc obumarłej. Na zewnątrz od błony zewnętrznej w tkance tłuszczowej widać w kilku miejscach ogniskowe nacieki (jeden dość duży) złożone z komórek drobnych okrągłych typu limfocytów.

Obraz z drugiego miejsca pęknięcia różni się od pierwszego pewnymi szczegółami, które jednak należy podkreślić. Podam tu tylko zmiany w błonie środkowej, gdyż zmiany innych warstw nie różnią się zasadniczo od zmian opisanych wyżej. Prócz rozsianych drobnych ognisk martwiczych widać we wszystkich częściach błony środkowej między włóknami sprężystymi drobne okrągławe

i owalne luki, znajdujące się głównie w miejscach martwiczych, wypełnione treścią, barwiącą się lekko niebieskawo hematoksyliną. Włókna sprężyste na jednym brzegu w dwóch trzecich wewnętrznych znacznie rozsunięte, ścieńczałe, przebiegają nieregularnie. Między włóknami dość obfita tkanka łączna włóknista. W brzegu pęknięcia widać nieregularne przerwy włókien sprężystych, wypełnione częściowo tkanką łączną włóknistą, barwiącą się dość wyraźnie sposobem van Giesona, wybitniej sposobem Malloryego. Włókna tkanki łącznej jak i pozostałe włókna mięsne przebiegają posplatane z sobą w różnych kierunkach. W przerwach oraz w samym pęknięciu, gdzie powstała nowa tkanka łączna, jak w poprzednim skrawku, widać tylko gdzieś tam ułamki włókien sprężystych w sąsiedztwie błony zewnętrznej. Tamże widać liczne torbielowate luki okrągławe i owalne (jednak nieregularne) różnej wielkości (np. długość 280 mikr., szerokość 128 mikr.; dł. 120 mikr., szer. 160 mikr.; dł. 200 mikr., szer. 120 mikr.). Luki te leżą tak w wewnętrznej jak środkowej i zewnętrznej trzeciej błony środkowej, są one najwyraźniej widoczne w barwieniu sposobem Malloryego (patrz ryc. 5). W tem barwieniu uwydatniają się też



Ryc. 5.

Mikrofotogram. Brzeg pęknięcia. Barw. spos. Malloryego.

- a) drobne luki w środkowej trzeciej części błony środkowej.
- b i c) duże torbielowate luki tamże.
- d) średnie luki torbielowate w zewnętrznej trzeciej części błony środkowej.
- e) błona zewnętrzna.

dość wyraźnie cienkie przegródki włóknikowate, dzielące te „torbielki” na liczne mniejsze przestrzenie. Tu i owdzie widać w tych przegródkach jądro wrzecionowate jak w komórkach łącznotkankowych. W części błony zewnętrznej, sąsiadującej z błoną środkową, w tym wycinku jeszcze wyraźniej występuje brak jąder, tak że ta warstwa błony zewnętrznej przedstawia się jako prawie jednolite lekko falisto biegnące pasmo szkliste. W skrawkach poniżej pęknięcia widać w błonie wewnętrznej dość liczne cienkie włókna sprężyste, w błonie środkowej rozsiane dość liczne, ale drobne ogniska, w których brak jąder włókien mięsnych, oraz tu i owdzie drobne „torbielki”; tkanka łączna jest tu dość silnie rozwinięta, włókna sprężyste przebiegają prawidłowo falisto, przerw nie spostrzega się. Błona zewnętrzna dość cienka, zawiera nieco rozszerzone naczynia krwionośne typu naczyń włosowatych, tętniczek i żył; w ścianach tych naczyń nie znalazłem zmian chorobowych.

Mięsień sercowy: niezmienny.

Śledziona: rozlana skrobiawica.

Wątroba: nieznaczne rozlane stłuszczenie komórek wątrobowych, skrobiawicy nie znaleziono.

Nadnercza: rozlana skrobiawica istoty korowej.

Nerki: skrobiawica niektórych pętli kłębków oraz drobnych naczyń krwionośnych w istocie rdzeniowej.

Jako materiał porównawczy¹⁾ zbadałem część wstępującą tętnicy głównej 10 osobników, mających ponad lat 60, u których nie stwierdziłem zmian miażdżycowych lub też tylko nieznaczne.

W 10 zbadanych przypadkach znalazłem błonę środkową tętnicy głównej w jednym przypadku niezmienną, w 7 przypadkach stwierdziłem mniej lub więcej liczne braki jąder w błonie środkowej, wreszcie w dwóch przypadkach rozsiane mniejsze i większe smugowate ogniska martwicze samoistne. Przypadki te, zbadane dorywczo — badałem tylko 6 — 8 miejsc części wstępującej aorty — potwierdzałyby bardzo ściśle badania *Celliny*, o których wspomnę niżej.

¹⁾ Materiał ten pochodzi z sekcji, wykonanych przeze mnie w proseksturze Szpitala im. Prez. Mościckiego (Kasa Chorych m. Łodzi).

W sprawie martwicy błony środkowej aorty ukazało się w ostatnich latach kilka prac, które muszę nieco szerzej omówić ze względu na dość ścisłą łączność ich z pęknięciem tętnicy głównej. *Gsell* podał pierwszy na materiale bazylejskiego Zakładu anatomji patologicznej na zlecenie *Rösslego* wyniki badań tętnicy głównej w związku z pęknięciami, poddając krytyce zapatrywania dawniejszych autorów na patogenezę tej zmiany chorobowej. W swych wnioskach przypisuje *Gsell* przyczynę pęknięcia aorty w głównej mierze ogniskom martwiczym błony środkowej. Popiera on swe wywody pięcioma przypadkami, w których martwica wystąpiła pierwotnie ogniskowo w błonie środkowej, a przebiegała bez jakichkolwiek cech zapalnych, doprowadzając do niezupełnego zbliźnowacenia. W dwóch dalszych przypadkach martwica była wywołana w pierwszym gruźlicą błony zewnętrznej, w drugim powstała na brzegu tętniaka na tle kiły w części wstępującej jeszcze prawidłowo zachowanej. Za przyczynę martwicy uważa *Gsell* uszkodzenie błony środkowej przez czynniki toksyczne, czasem natury kiłowej. Ogniskową martwicę błony środkowej należy uznać wedle tego autora za odrębną, nową jednostkę chorobową. Praca *Gsell*a wywołała ożywione badania tego tematu, podjętego głównie przez *Erdheima* i jego uczniów (*Cellina*, *Levinson*). *Erdheim* ogłosił przypadek pęknięcia aorty u 61-letniej kobiety, w którym pierwszy raz spostrzegł cechujące zmiany w błonie środkowej, głównie ogniskową martwicę i zanik błony środkowej. Jednakże tu nawet mikroskopowo ogniska martwiczne nie od razu wpadały w oczy, dopiero przeglądanie szeregu preparatów, barwionych różnemi sposobami naprowadziło na rozpoznanie tembardziej, że w stanach prawdopodobnie początkowych, kiedy obumierają nieliczne komórki błony środkowej, zrąb sprężysty pozostaje prawie nienaruszony, jakkolwiek *Erdheim* w tych miejscach spostrzegał pewne zbliżenie się i wyprostowanie włókien sprężystych. Natomiast tam, gdzie wiotka tkanka łączna z małą ilością włókien sprężystych zastąpiła martwiczo zmienioną błonę środkową, widać ostro ograniczone braki wśród zrębu sprężystego, jakie opisał już *Schächtelin*. *Erdheim* znajdował w swym przypadku wśród prawidłowej błony środkowej jamki, wypełnione ciecżą, nieregularnego kształtu, poprzez które czasem przebiegały

prawidłowe komórki mięsne. Jako szczególną cechę tego schorzenia podkreślił *Erdheim*, że wessanie martwiczych ognisk odbywa się wyłącznie na drodze humoralnej bez jakiegokolwiek udziału komórek. Także tkanka łączna powstająca na miejscu zniszczonych części bywa wiotka, ma cienkie włókienka sprężyste, nie bywa zbitą i nie kurczy się. Błona wewnętrzna i zewnętrzna nie bywają pierwotnie zajęte tą sprawą chorobową, natomiast zdarza się to wtórnie, ale w nieznacznym stopniu. Gdziekolwiek komórki mięsne przerastają i odradzają się, szczególnie na granicy błony wewnętrznej i środkowej; takie zmiany widział również *Gsell*. Co do przyczyn tego schorzenia *Erdheim* przyznaje, że dotychczas przyczyny są całkiem niejasne, stąd też nazwał sprawę „medionecrosis aortae idiopathica”. Sprawa ta, obejmując przede wszystkim prawie wybiórczo błonę środkową, działa ujemnie zdaniem tego autora przez zanik zrębu sprężystego na elastyczność naczynia; podobnie działa utrata włókien mięsnych, zakłócając równocześnie możliwość oddziaływania na bodźce nerwowe i kurczliwość ścian naczyniowych. Odnowa natomiast włókien sprężystych i mięsnych jest zupełnie niedostateczna. Ściana mogłaby w tych warunkach wytrzymać parcie, wywierane na nią od wewnątrz, gdyby nie ulegała podobnym zmianom także tkanka łączna błony środkowej. Musi tu nastąpić nadmierne rozciągnięcie ściany i wreszcie pęknięcie. *Erdheim* nie odmawiając włóknom sprężystym i mięsnym znaczenia dla wytrzymałości ściany aorty wysnuwa wniosek, że głównie utrata i niedostateczne uzupełnienie obumarłej łącznotkankowej części ściany tętnicy jest przyczyną pęknięcia. Wkrótce ogłosił *Erdheim* drugi przypadek pęknięcia tętnicy głównej na tle martwicy błony środkowej u wieśniaka 76 letniego. Pęknięcie było usadowione nad zastawką prawą i lewą, długości 2,5 cm., na szczycie tętniaka wielkości połowy orzecha włoskiego. Ściana w tem miejscu była ścięczała, szara, przeświecająca. Mikroskopowo znalazł ten autor ogniskowe braki jąder w błonie środkowej, zwykle dość małe, obejmujące na szerokość do 7 blaszek sprężystych. Wyraźne ogniska martwicze znajdowały się najczęściej w zewnętrznej warstwie błony środkowej, zajmując jedną trzecią do połowy grubości błony środkowej, rzadziej w środkowej trzeciej, a tylko raz w wewnętrznej war-

stwie. Blaszki sprężyste były zachowane, ale często ścieśnione. W jednym ognisku martwiczem znalazł ognisko wapniowe. Jak w pierwszym przypadku tak i tu nie spostrzegł żadnych objawów nacieku komórkowego w sąsiedztwie ognisk martwicznych, ani też tkanki włóknisto-sprężystej, wyrównującej ubytek po ognisku martwiczem, w przeciwieństwie do *Wiesela*, *Gsella* i swego pierwszego przypadku. Niezwykle wybitne było w tym przypadku t. zw. zwyrodnienie śluzowate (*mucoide Entartung*) w sąsiedztwie tętniaka, a w samym tętniaku liczne jamki wypełnione treścią śluzową, szczególnie w nowowytworzonej błonie środkowej, które to zmiany *Erdheim* uważa jako osłabiające ścianę za przygotowanie do pęknięcia. Badanie mikroskopowe nie zdołało ustalić, czy martwica poprzedza zwyrodnienie śluzowate. Na miejscu śluzowato zwyrodniałej błony środkowej powstaje świeża błona z udziałem wszystkich składników t. j. komórek mięsnych, włókien sprężystych i włóknistych, ale przebudowa ta jest niedostateczna, bo jakość, stosunek ilościowy i ułożenie tych składników odbiegają całkiem od stosunków prawidłowych starej błony środkowej. W nowej błonie środkowej przeważają włókna mięsne. Tkanka łączna jest słabiej rozwinięta, nieregularnie rozmieszczona, przeważnie wiotka, o cienkich włóknach, brak w niej naczyń odżywiających ścianę tętnicy. Niedostateczną jest również odnowa zrębu sprężystego, nie tworzą się blaszki sprężyste, lecz tylko cienkie, słabo barwiące się włókienka. Również układ wzajemny tych składników jest zakłócony, co wpływa ujemnie na wytrzymałość ściany. To też dla nadmiernego rozciągnięcia ściany jak i dla pęknięcia mniejsza wartość nowowytworzonej błony środkowej ma rozstrzygające znaczenie. Pęknięcie nie idzie przez ścianę równo i prostopadle, lecz schodkowato. Błona wewnętrzna jest cienka lub nieco zgrubiała, błona zewnętrzna prawie podwójnie zgrubiała, ale włókna ścieśnione zawierają mało komórek, czasem zupełnie brak komórek, szczególnie w pobliżu pęknięcia. Zdala od pęknięcia znalazł *Erdheim* w swym drugim przypadku w łuku na początku części zstępującej wybroczynej, niezależną od pęknięcia w części wstępującej.

Cellina zbadał w zakładzie *Erdheima* systematycznie tętnicę główną 10 starców i znalazł rozsiane pasmowate ogniska martwi-

cze w różnej ilości prawie we wszystkich przypadkach, najczęściej w łuku, ale także w części zstępującej i tętnicy brzusznej, w wewnętrznej i środkowej części błony środkowej; tkanka łączna i sprężysta była pomnożona, nie spostrzegał natomiast rozmiękania tych ognisk ani też wyrównania braków przez tkankę łączną. Przyczyna nieznana. Ogniska martwicze bywają prawdopodobnie poprzedzone przez drobne braki jąder komórkowych, co zdaniem tego autora należy uważać za zmianę starczą fizjologiczną; nie widział ich bowiem w dwóch przypadkach porównawczych u osób młodszych.

Levinson przytacza dwa przypadki pęknięcia aorty na tle zwyrodnienia śluzowatego i martwicy błony środkowej, pierwszy u 77-letniego mężczyzny, drugi u 83-letniej kobiety. W pierwszym przypadku znalazł (pęknięcie poniżej zastawek aorty) bardzo nieznaczne zmiany—mimo mikroskopowej kontroli 61 miejsc aorty—w postaci zwyrodnienia śluzowatego w obrębie pęknięcia i jego najbliższego otoczenia oraz martwicy błony środkowej w bliskości pęknięcia; w łuku znalazła się jedna torbiel śluzowata w błonie środkowej. W drugim przypadku pęknięcie biegło 3 cm, poniżej ujścia tętniczego, między błoną środkową a zewnętrzną znajdował się nieznaczny krwiak śródścienny. Mikroskopowo zbadał *Levinson* 64 miejsc aorty i znalazł prócz zwykłych zmian starczych tylko w dwóch miejscach ogniska śluzowatego zwyrodnienia; ognisk martwiczych nie było. W kilku skrawkach znalazł *Levinson* luki w zrębie sprężystym błony środkowej tylko w obrębie pęknięcia lub w najbliższym sąsiedztwie. Autor odnosi osłabienie ściany głównie do zwyrodnienia śluzowatego, gdyż martwica w jego przypadkach odgrywała całkiem podrzędną rolę. Mimo stwierdzenia nieznacznych zmian wiąże przyczynowo pęknięcie ze zwyrodnieniem śluzowatym.

Mój własny opisany wyżej przypadek należy na tle przytoczonego piśmiennictwa do tego rodzaju przypadków, jakie podali *Gsell*, *Erdheim*, *Levinson*. Pęknięcie jest nieregularne, niezupełne, dotyczy tylko błony wewnętrznej i środkowej, ubytek zaś pokrył się nowowytworzoną tkanką łączną z włóknami mięsnymi i włóknami sprężystymi. Niema ani śladu krwiaka śródściennego czy nawet wybroczyny. Część wstępująca tętnicy głównej dość

znacznie rozszerzona. Badanie mikroskopowe wykryło jako tło anatomiczne tego rozległego pęknięcia rozsiane braki jąder, mniejsze i większe pasmowate ogniska martwicze błony środkowej z licznymi przerwami blaszek spęzystych w najbliższym sąsiedztwie pęknięcia, dość znaczne zwyrodnienie śluzowate i dość liczne duże torbielowate luki błony środkowej, zgrubienie błony wewnętrznej na brzegach pęknięcia, zgrubienie błony zewnętrznej z martwicą części wewnętrznej tejże błony w obrębie samego pęknięcia. Na dnie pęknięcia nastąpiła atypowa przebudowa z przewagą tkanki łącznej włóknistej, splecionej nieregularnie z komórkami mięsnymi i cienkimi nielicznymi włókienkami sprężystymi.

Obraz makroskopowy i mikroskopowy różni się od opisanych przypadków niezwykle rozległością pęknięcia, zatrzymaniem się na błonie zewnętrznej bez wytworzenia krwiaka śródściennego oraz zupełnem pokryciem ubytku powstałego przez pęknięcie nowowytworzoną atypową błoną środkową, wysłaną śródbłonkiem. Byłby to pierwszy tego rodzaju przypadek, w którym jako podłoże pęknięcia znaleziono „medionecrosis aortae”. Przymiotnik „cystica” podany przez *Erdheima*, zastąpiłbym przymiotnikiem cystoides, ponieważ nazwa „cystica” jest nieścisła, luki bowiem, które znajdujemy w tych przypadkach nie są prawdziwymi torbielami, lecz raczej tylko lukami torbielowatymi. Nazwa tej postaci chorobowej brzmiałaby zatem „medionecrosis aortae cystoides”: martwica z torbielowatym zwyrodnieniem błony środkowej aorty.

Przyczyna tego schorzenia jest w moim przypadku podobnie jak w przeważnej liczbie przypadków dotychczas ogłoszonych nie całkiem jasna; przynajmniej niema histologicznych dowodów na korzyść przypuszczenia, jakie nasuwa się z uwagi na wynik sekcji w moim przypadku. Nie można tu z obrazu sekcyjnego określić stanowczo, jaka była podstawa skrobiawicy stwierdzonej makroskopowo, a potwierdzonej mikroskopowo w śledzienie, korze nadnerczy (rozlana postać) i kłębkach i naczyniach nerkowych; jedynie zmiana w części wstępującej aorty pozwalała myśleć o etiologii kiłowej. Niestety w czasie krótkiego spostrzegania szpitalnego nie zbadano krwi w tym kierunku, a podczas sekcji nie pobrałem krwi na odczyn Wassermanna. Mimo to, nie mając innego

wytlumaczenia skrobiawicy, można w opisanym przypadku przyjąć kiłę za tło rozszerzenia i pęknięcia części wstępującej aorty. Możeby badanie histologiczne dalszych miejsc aorty wyjaśniło sprawę. Z opisanych przypadków tylko w jednym *Gsell* podaje kiłę jako czynnik etiologiczny; miał on jednak dość pewną podstawę histologiczną rozpoznania sprawy kiłowej.

STRESZCZENIE.

Opisano przypadek samorodnego rozległego niepełnego pęknięcia części wstępującej tętnicy głównej u 67-letniego mężczyzny. W przypadku tym nie wytworzył się krwiak śródścienny, natomiast pęknięcie zabiłżniło się. Przyczyną pęknięcia była martwica z torbielowatym zwyrodnieniem błony środkowej, której nazwa anatomiczna winna raczej brzmieć: *medionecrosis aortae cystoides*, aniżeli *cystica*. W opisanym przypadku przyjęto kiłę za czynnik etiologiczny, opierając się głównie na całokształcie obrazu sekcyjnego, w szczególności na stwierdzeniu skrobiawicy śledziony, nadnerczy i nerek, dla której nie znaleziono innego wytłumaczenia.

Po ukończeniu niniejszej pracy i złożeniu jej Redakcji Med Dośw. i Społ. (we wrześniu 1932) ogłosił *K. Wolff* pracę „Über die Ursachen der sogen. spontanen Aortenzerreissungen“ (*Virch. Arch.*, tom 289, z. 1, 1933), w której na podstawie sześciu spostrzeżeń potwierdza wyniki badań *Gsella*, *Erdheima*, że w samoistnych pęknięciach błona mięsna jest ciężko uszkodzona. Autor ten przypuszcza działanie szkodliwości drogą krwi, ponieważ uszkodzenia znajdowały się pojedynczo ogniskowo koło naczyń odżywczych, uszkodzenia błony środkowej znajdowały się nietylko w miejscu pęknięcia, lecz także w aorcie brzusznej, tętnicy płucnej, szyjnej, biodrowej, udowej. Może zachodzić też schorzenie układowe tętnic typu sprężystego. Jako przyczynę uszkodzeń podaje uraz fali wzmożonego ciśnienia krwi w łączności z nieznanym czynnikiem (chemicznym) uszkadzającym ścianę tętnic.

Pathologisch-anatomisches Institut der Jagellonischen Universität Kraków.

(Dir. Prof. Dr. Stanislaw Ciechanowski).

UBER DIE SOGEN. MEDIONECROSIS AORTAE IDIOPATHICA CYSTOIDES MIT EINEM FALL EINER GEHEILTEN SPONTANEN AORTENRUPTUR.

VON K. ŚCIESIŃSKI (Łódź — Kraków).

ZUSAMMENFASSUNG.

Es wird ein Fall einer spontanen unvollständigen Aortenruptur im aufsteigenden Teil bei einem 67-jährigen Mann mitgeteilt. In diesem Fall war kein dissezierendes Aneurysma entstanden, die Ruptur dagegen geheilt. Als Ursache der Ruptur wird die sogen. Medionecrosis aortae idiopathica angegeben mit dem Vorschlag des Adjektivs „cystoides“ statt „cystica“. Im beschriebenen Fall wird Lues als ätiologischer Faktor angenommen und zwar unter Berücksichtigung des Gesamtabduktionsbefundes, namentlich des Befundes einer diffusen Amyloidose der Milz und der Nebennieren, sowie einer Amyloidose der Glomerulus Schlingen; für die Amyloidose wurde keine andere Deutung gefunden.

P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Asahi. Verhđg. d. D. Path. Ges. 7 (1904), str. 180. 2) Bay. Zur Lehre d. spontanen Aortenruptur. Frkft. Ztschr. f. Path. 6 (1911) str. 70. 3) Bencke. dyskusja Verhđg. d. D. Path. Ges. 7 (1904), str. 180. 4) Bostroem cyt. w. Baya. 5) Busse. Virch. Arch. 183 (1906). 6) Cellina M. Medionecrosis disseminata aortae. Virch. Arch. 280 (1931), str. 65. 7) Chiari. Über die Differenz im mikroskopischen Befunde bei an gebeilten Aortenrissen entstandenen und bei „spontanen“ Aortenaneurysmen. Verhđg. d. D. Path. Ges. 7 (1904), str. 180. 8) Erdheim J. Medionecrosis aortae idiopathica. Virch. Arch. 273 (1929), str. 454. 9) Erdheim F., Medionecrosis aortae idiopathica cystica. Virch. Arch. 276 (1930), str. 187. 10) Ernst. Eine geheilte zirkuläre Aortenruptur am Isthmus. Verhđg. d. D. Path. Ges. 7 (1904), str. 177. 11) Flockemana cyt. w. Baya. 12) Fraenkel dysk. jak 7. 13) Gsell O. Wandknokrosen der Aorta als selbständige Erkrankung u. ihre Beziehung zur Spontanruptur. Virch. Arch. 270 (1928), str. 1. 14) Haustem cyt. w. Baya. 15) Heller. Üb. ein traumati-

sches Aortenaneurysma u. traumatische Insuffizienz d. Aortenklappen. D. Arch. f. klin. Medizin. 79 (1904), str. 306. 16) Kahl den cyt. w. Baya. 17) Levinson B. Üb. tödl. Aortenerreissung aus geringen Ursachen. Virch. Arch. 282 (1931), str. 1. 18) Oppenheimer cyt. w. Baya. 19) Rokitansky cyt. w. Baya. 20) Schächtelin. Virch. Arch. 192. 21) Schede, cyt. w. Henke-Lubarsch. Handb. d. path. Anat. u. Histol. t. II. 22) Schlipp cyt. w. Baya. 23) Schmaus cyt. w. Henke-Lubarsch, tom II. 24) Schmorl. dysk. jak 7. 25) Tolot i Sarvonat cyt. w. Baya. 26) Wasastjerna cyt. w. Baya. 27) Wilke cyt. w. Baya.

Wpłynęło 20.IX.1932 r.

Z Zakładu Bakterjologii Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu Warszawskiego
(Kierownik Prof. Dr. Z. Szymanowski)

SEROFAGOAGLUTYNACJA.

P o d a ł

St. Asystent Zakładu Dr. med. vet. JULJUSZ BRILL.

Badania *Bordeta* ustaliły poraz pierwszy, że aglutynacja bakteryj pod wpływem swoistej surowicy odbywa się w dwu etapach. Pierwszy to adsorpcja składników swoistych surowicy przez bakterje, drugi to wypadnięcie z zawiesiny bakteryj, naładowanych składnikami swoistymi surowicy, pod wpływem działania elektrolitu. Aglutynacja zarówno w pierwszym, jak i w drugim etapie, może wykazywać pewne wahania pod działaniem różnych momentów. Wahania te znane są oddawna. Jedne szczepy wypadają łatwo już w roztworze fizjologicznym, czasami nawet nie dają się wcale zawiesić. Inne, jak na przykład pałeczka błonicy, okrężnicy i t. p., wypadają stosunkowo trudno pod wpływem wysokowartościowych surowic aglutynacyjnych; są wreszcie i takie, które się wcale nie zlepiają (*Bact. ozaenae*, *Friedländeri*, *Welchii*, *Rhinoscleromatis*). Różnice w zlepialności bakteryj znajdują swoje wytłomaczenie prawdopodobnie w rozmaitej budowie powierzchni (śluz, jako koloid ochronny) i w ładunku elektrycznym. Diagnostyka dawno już walczy zapomocą różnych zabiegów z trudną zlepialnością szczepów. Dotyczy to zwłaszcza niezlepialności szczepów tyfusu, świeżo wyizolowanych z ustroju zakażonego. Przez kilka-

krotny pasaż na pożywkach szczepy takie stają się przeważnie łatwo zlepliwymi. Trudno zlepliwe szczepy, jak to wykazał *Arkwright*, posiadają jednak pełną wartość antygenową i króliki, uodpornione takimi szczepami, dostarczają surowicy, zlepiającej w wysokiem rozcieńczeniu rozmaite szczepy tyfusu, pomimo pozornego braku własności zlepiających dla szczepu wyjściowego (*Mc. Intosh i Fabyan*). W praktycznych wskazówkach do wykonania aglutynacji znaleźć można pewne dane, świadczące o tem, że już przedtem starano się usunąć tę trudność djaagnostyczną przez: dobór odpowiednich kolonij lub też zmianę ustalonego postępowania. I tak na przykład, *Bruner* zalecał używanie motylkowych postaci kolonij tyfusu przy wykonywaniu aglutynacji orientacyjnej. *Hirsfeld i Seydlówna* radzą zagotować szczepy nieaglutynujące się przed wykonaniem aglutynacji ostatecznej. *Eliava i Pożarski* wskazują na to, że cechą charakterystyczną szczepów bakterjofagoodpornych jest ich słaba zlepliwość z odpowiednią surowicą: Drogą hodowli na zasadowych pożywkach szczepy takie można uwolnić od towarzyszącego im bakterjofaga, przez co stają się znowu łatwo zlepliwe. Do podobnych wniosków doszedł też *Plantureux i d'Herelle* pracując nad bact. typhi murium. *Porges* w badaniach nad niezlepliwymi otoczkowcami dowiódł, że przez rozpuszczenie otoczki ki w kwasie solnym przy równoczesnem podgrzewaniu można nadać niezlepliwym zawiesinom bakteryj własności zlepne. Niezlepliwość bakteryj nie jest wyrazem braku wiązania się z aglutyninami, świadczy raczej o niezdolności wytrącania się bakterji i polega na pewnych zmianach charakteru fizycznego, a nie na braku receptorów (*McIntosh i McQueen, Eisler i Silberstein, So*). Szczepom słabo zlepliwym brak zatem zdolności wypadania. Przekonać się o tem można przy pomocy próby wysycenia Castellaniego. Wysycając surowicę szczepem niezlepliwym tyfusu, możemy zabrać z niej wszystkie aglutyniny dla szczepu zlepliwego. Zmniejszona strącalność szczepów trudno zlepliwych w aglutynacji kwaśnej również przemawia za przytoczonem ujęciem sprawy.

Zjawisko trudnej zlepliwości niektórych szczepów było bodźcem do przeprowadzenia całego szeregu doświadczeń, idących wprost przeciwnym kierunku, a mianowicie do zamiany szczepów

łatwo zlepliwych na szczepy trudno zlepliwe. I tak na przykład, bakterje tyfusowe, hodowane na podłożu z surowicą antytyfusową, ztracały swą zlepliwość. *Bail i Kirstein* sądzili, że tym sposobem następuje zaczopowanie grupy chwytnej bakterji aglutynoidami, przez co aglutyniny nie mogą znaleźć punktu zaczepienia na powierzchni bakteryj. Ich zdaniem to właśnie stanowi przyczynę, dla której szczepy, wyosobnione z organizmu chorych, tak trudno się zlepiają. Dzisiaj wiemy, że zjawisko opisane przez *Baila i Kirsteina*, ma właściwie zupełnie inne podstawy, że chodzi tu o zasadniczą zmianę własności strukturalnych szczepu w sensie przejścia formy S w formę R. Z tego punktu widzenia zapatrywać się należy również na pracę szeregu autorów, którzy otrzymywali szczepy trudno zlepliwe na rozmaitych podłożach i przez hodowlę w wyższych temperaturach.

Porównajmy zachowanie się w odczynie aglutynacyjnym modyfikacji szczepów bakteryj typu S i R. Modyfikacja S (Smooth = gładka) posiada dużą zawartość antygeny ciepłostalego S i wskutek tego absorbuje chciwie odnośne aglutyniny z surowicy odpornościowej. Modyfikacja R zawiera zmniejszoną ilość antygeny ciepłostalego S, obok którego występuje nowy, odmienny od poprzedniego, antygen ciepłostaly kosmopolityczny. Wskutek tego szczepy R będą posiadały mniejszą zdolność absorpcyjną względem surowicy anty-S. Co się tyczy wypadalności, to sytuacja jest wręcz odwrotna. Modyfikacja R zawiesza się daleko trudniej niż S i może nawet wypadać samorzutnie. Ostateczny rezultat tych wzajemne zwalczających się czynników nie da się a priori przewidzieć.

Rozpatrując z ogólniejszego punktu widzenia różnice zlepliwości bakteryj, należy przyjść do wniosku, że każdy czynnik, wywołujący zmianę powierzchniową w bakterjach, może mieć wpływ na przebieg aglutynacji i że z drugiej strony przyczyny różnic odczynu aglutynacyjnego należy szukać w zmianach, dokonywujących się na powierzchni komórki bakteryjnej. Wskutek tego każdy dodatkowy proces adsorpcyjny tego czy innego czynnika przez bakterje może wpłynąć na przebieg adsorpcji surowicy swoistej i na wynik aglutynacji. Do kategorii takich czynników może należeć i bakterjofag, tembardziej, że dzisiaj większość badaczy

sądzi, że pierwsza faza działania czynnika litycznego polega na jego adsorpcji przez wrażliwą komórkę bakteryjną. (*Kimura, Gohs i Jacobsohn, d'Herelle i Seiffert*). *Bronfenbrenner i Béguet* przypuszczają że tylko pierwsza faza ma charakter odczynu swoistego i wyraża się pęcznieniem komórki bakteryjnej. Druga faza działania bakterjofaga, to jest rozpuszczenie bakterij, jest następstwem naruszenia równowagi osmotycznej. W zwykłych doświadczeniach z bakterjofagiem nie obserwujemy każdej z tych faz z osobna. A priori przewidzieć można, że bakterje w pierwszej fazie mogą się inaczej zachowywać, niż normalnie (najprawdopodobniej spostrzegana przez *Brunera* łatwiejsza zlepliwość kolonij motylkowych tyfusu tłumaczy się wpływem bakterjofaga). Drugi moment, kiedy bakterjofagi mogą wywrzeć wpływ na aglutynację, to sprawa powstawania szczepów wtórnych, odpornych na działanie bakterjofaga, zbliżonych mniej lub więcej do typu kolonij R., o których wspominaliśmy już wyżej.

Całkowite rozwiązanie zagadnienia wpływu bakterjofaga na aglutynację wymaga wszechstronnych i urozmaiconych doświadczeń. W doniesieniu poniższem udało mi się zaobserwować pewne fakty, stanowiące przyczynek do omawianej kwestji.

W doświadczeniach nad serologją szczepów z grupy *Salmonella* zauważyłem, że hodowle, wykazujące obecność bakterjofaga, zlepiają się niekiedy intensywniej z surowicą swoistą, aniżeli hodowle, nie zawierającego czynnika litycznego. Do badań nad tem spostrzeżeniem wybrałem szczep okrężnicy „Coli Fb”, dostarczony nam łaskawie przez dra *Sertića* z Zagrzebia z pracowni profesora *Praska*. Szczep ten pochodzi z kału ludzkiego i był przedmiotem specjalnych badań *Sertića*. Obserwował on mianowicie, że pod działaniem bakterjofaga swoistego „Fcz” na agarze 1%-wym, zasianym szczepem coli Fb, powstaje dookoła każdej łysinki strefa rozjaśnienia, która rozszerza się stopniowo. Strefa ta nie zawiera bakterjofaga i jest podług *Sertića* wytworem działania czynnika odrębnego. W doświadczeniach, przeprowadzonych w naszym

zakładzie (Prof. Dr. Z. Szymanowski i T. Świąszkowski), wyodrębniono z hodowli szczepu Fb trzy typy kolonii szczegółowo opisane w przytoczonej pracy, a mianowicie: typ Fbs — gładki, FbBr — brodawkowaty, FbR — szorstki. Trzy te typy różnią się pod względem zlepliwości, wrażliwości na działanie bakterjofaga i zdolności wytwarzania strefy rozjaśnienia dookoła łyśinki. Typ pierwszy — Fbs (Smooth) — posiada wszystkie cechy szczepu S (kolonie gładkie, łatwa zawieszalność); jest wrażliwy na działanie bakterjofaga, wytwarza przezroczystą strefę, a z surowicą odpornościową zlepia się słabo. Typ drugi — FbBr (brodawkowaty) — różni się od pierwszego brodawkowatym wzniesieniem w środku kolonii, pozatem sprawia wrażenie typu S. Typ ten jest wrażliwy na działanie bakterjofaga, ale nie wytwarza strefy przezroczystej. Zawiesina bakterij tego typu zlepia się dobrze z surowicą anti-S. Typ trzeci — FbR (rough) — tworzą kolonie o charakterystycznym wyglądzie szorstkim R. Rosną one na buljonie w przeciwieństwie do dwu poprzednich w postaci zaglutynowanej. Ta postać lizy bakterjofagowej nie podlega, nie wytwarza strefy rozjaśnienia i aglutynuje się dobrze z surowicą anti-S. Zestawienie własności zlepnych i wrażliwości na lizę poszczególnych typów szczepów coli Fb ilustruje zamieszczona poniżej tabelka.

T A B L I C A 1.

Typ. Bakt.	Agl. z sur. anty-S	Łyśinki	Strefa prze- zroczysta
FbS	1 : 40	+	+
FbBr	1 : 2560	+	—
FbR	1 : 2560	—	—

Doświadczenie 1. Wobec tak słabej zlepliwości modyfikacji S w stosunku do własnej surowicy, postanowiłem zbadać wpływ bakterjofaga Fcz na aglutynację tego szczepu z własną surowicą

aglutynacyjną. Zaraz w pierwszym doświadczeniu przekonałem się, że wpływ taki zaznacza się bardzo wybitnie. Dodanie kropli bakterjofaga do surowicy anty S, zlepiającej szczep FbS w rozcieńczeniu 1:40, podnosi miano zlepne surowicy do 1:1280. Wobec takiego wyniku wykonałem doświadczenie następujące:

Doświadczenie 2. Przedewszystkiem należało się przekonać, czy spostrzeżone zjawisko ma charakter ogólny, czy każda surowica anty FbS będzie się zachowywała tak samo. Dla wykluczenia wahań indywidualnych między zwierzętami, uodporniłem od razu cztery króliki szczepem coli FbS.

Przed pierwszym zastrzykiem pobrano od tych królików krew, celem określenia ich fizjologicznego miana zlepnego dla szczepu FbS. Surowice te szczepu FbS nie zlepiały. Równocześnie do odnośnych surowic dodano do poszczególnych rozcieńczeń po jednej kropli bakterjofaga Fcz, który w rozcieńczeniu 10—12 rozpuszczał szczep FbS. Tym sposobem nie udało nam się również otrzymać zlepiania.

Króliki te następnie poddano uodpornieniu szczepem FbS zmytym z 24 godz. hodowli agarowej płynem fizjologicznym z dodatkiem 0,5 % kwasu karbolowego. Uodpornienie przeprowadzono według następującego schematu:

dn. 6.V.1930 r.	po 0,1 ccm	zawiesiny	podskórnie
" 7.V "	" 0,2 "	" "	" "
" 8.V "	" 0,1 "	" "	dożylnie
" 12.V "	" 0,5 "	" "	" "
" 15.V "	" 0,5 "	" "	" "

W siedem dni po ostatnim zastrzyku pobrano krew i wykonano próbną aglutynację, nastawiając równocześnie drugi rząd rozcieńczeń surowic z dodatkiem jednej kropli bakterjofaga, jak w doświad. poprzednim, i zawiesiny szczepu FbS. Wyniki tych aglutynacji dla surowic, pochodzących od czterech królików NrNr. 40, 47, 48, 49, zebrane są w tabeli 2.

Na tablicy tej stwierdzić można, że surowice czterech uodpornianych królików przed uodpornieniem nie zlepiały szczepu FbS. Po uodpornieniu miano zlepne surowic królika Nr. 40 wynosi 1:10,

T A B L I C A 2.

Surowice anti-FbS	Szczep	Bakterjofag	Rozcieńczenia surowicy								Kontrola	
			1:10	20	40	80	160	320	640	1280		2560
Nr. 40	FbS	/	++++									—
	"	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	—
Nr. 47	"	/	++++	++++								—
	"	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+	—
Nr. 48	"	/	++++	+++								—
	"	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+	+	—
Nr. 49	"	/	++++	++++	++++	++++						—
	"	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—

Objaśnienia: / = bez bakterjofaga

+ = słabo dodatnia aglutynacja

++++ = silna aglutynacja

— = niema aglutynacji

królików Nr.Nr. 47 i 48 1:20, królika Nr. 49 1:80. Zupełnie jednak inne wyniki dla tych samych surowic otrzymaliśmy w tych rzędach, gdzie do próbki dodano po jednej kropli bakterjofaga Fcz. Tym sposobem udało mi się podnieść miano zlepnego surowicy królika Nr. 40 120-krotnie, t. j. do miana 1:1280, królika Nr. 47, 64-krotnie, królika Nr. 48 32-krotnie, królika Nr. 49 32-krotnie.

Doświadczenie 3. Króliki Nr.Nr. 40, 47, 48, 49 przetrzymaliśmy następnie przez cztery miesiące, nie używając ich w tym czasie do żadnych doświadczeń.

Dnia 15.IX.1930, t. j. po czterech miesiącach od chwili ostatniego zastrzyku, pobrano od nich krew. Okazało się wówczas, że miano zlepnego tych surowic spadło do 0 dla szczepu FbS. Jeśli jednak aglutynację wykonano w obecności bakterjofaga Fcz wten-

czas aglutynacja występowała z surowicą Nr. 40 w rozcieńczeniu 1:20
 „ „ 47 „ 1:80
 „ „ 48 „ 1:40
 „ „ 49 „ 1:80

Można zatem przez dodanie bakterjofaga wykazać we krwi królika obecność znikomo małej ilości aglutynin, które w zwykłych warunkach usuwają się z pod kontroli.

Badanym królikom zastrzyknięto następnie 17.IX 0,1 ccm zawiesiny szczepu FbS dożylnie, a 20.IX 0,5 ccm zawiesiny. Dzieśięć dni później, t. j. 30.IX, pobrano krew i wykonano aglutynację samym szczepem FbS i ze szczepem FbS w obecności bakterjofaga Fcz. Wynik tej próby zestawiony jest w tablicy 3.

T A B L I C A 3.

Surowica anti-FbS	Szczep	Bakterjofag	R o z c i e ń c z e n i a s u r o w i c y						Kontrola	
			1:10	20	40	80	160	320		640
N. 40	FbS	/	—							—
	"	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	—
N. 47	"	/	++	+						—
	"	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++		—
N. 48	"	/	+++	++	+					—
	"	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++		—
N. 49	"	/	++++	+++						—
	"	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—

Również i to doświadczenie wskazuje, że dodatek bakterjofaga wpływa na podniesienie miana surowicy.

Z tablic powyższych wynika, że badane przez nas surowice odpornościowe wybitnie źle zlepiają zawiesinę szczepu FbS i że miano to podnosi się bardzo znacznie w obecności bakterjofaga.

To słabe zlepianie się szczepu FbS może zależeć albo 1) od własności szczepu, albo 2) od własności surowicy. W pierwszym wypadku może wchodzić w rachubę utrudnione wiązanie się bakterij z surowicą odpornościową, lub trudna wytrącalność szczepu FbS. W drugim przypadku surowica może nie zawierać odpowiednich zlepników, wskutek słabej zdolności uodporniającej szczepu. Dla rozstrzygnięcia tych kwestyj postanowiliśmy zbadać zachowanie się innych typów szczepu Fb w stosunku do otrzymanych surowic odpornościowych.

Doświadczenie 4. Jak już na stronie 474-ej wspomniałem, warjanty FbBr i FbR zlepiają się pod wpływem surowicy odpornościowej FbS stosunkowo bardzo dobrze. Zjawisko to wystąpiło we wszystkich czterech badanych surowicach. Było więc rzeczą ze wszech miar ciekawą zbadać, jaki będzie wpływ bakterjofaga na miano aglutynacyjne surowicy względem szczepów łatwo zlepialych. Z szeregu równobrzmiących protokołów przytaczam dwa: (Tabl. 4).

Protokół ten stwierdza w pierwszym rzędzie, że surowice przygotowane przez uodpornienie królików szczepem FbS, zawierają zlepniki dla pochodnych FbBr i FbR, jakkolwiek własnego szczepu nie zlepiają.

Następnie z protokołu tego wynika, że dodanie bakterjofaga podnosi miano zlepne surowicy względem szczepu FbBr, aczkolwiek w bardzo nieznacznym stopniu.

Aglutynacja szczepu FbR, którego bakterjofag Fcz. nie rozpuszcza, nie ulega zmianie w obecności bakterjofaga.

Wiemy już z dotychczasowych doświadczeń, że aglutynacja warjantów szczepu Fb z surowicą anty FbS, zarówno bez bakterjofaga, jak i w jego obecności, wykazuje znaczne różnice. Dla analizy omawianego zjawiska należy się przede wszystkim zorientować co do różnic antygenowych poszczególnych odmian. W tym celu nie wystarcza porównanie zachowania się poszczególnych odmian w stosunku do jednej i tej samej surowicy, ale należy także porównać między sobą surowice, otrzymane przez uodpornienie różnymi odmianami.

T A B L I C A Nr. 4.

Surowica	Szczep	Bakterjo- fag	Rozcieńczenia surowicy									Kontrola
			1:20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	
anti-FbS król. Nr. 51	FbS	/	++	±	—	—	—	—	—	—	—	—
		Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	—	—	—
	FbBr	/	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	?	—
		Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	?	—
	FbR	/	++++	++++	++++	+++	++	++	+	—	—	—
		Fcz	++++	++++	++	++	++	++	++	+	—	—
anti-FbS król. Nr. 50	FbS	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—	—	—
	FbBr	/	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—	—
		Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—
	FbR	/	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—	—
		Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—	—

UWAGA. Król. Nr. 51 uodporniony był szybko przez trzykrotny zastrzyk 1 ccm. żywej zawiesiny szczepu FbS. Surowicę pobrano na piąty dzień po ostatnim zastrzyku.

Dwa króliki NNr. 54 i 56 uodporniono, jednego szczepem FbBr, drugiego szczepem FbR. Wyniki aglutynacji, przeprowadzonych z surowicami tych królików, zebrane są w poniższej tablicy.

Widzimy zatem, że szczep FbBr jest bardzo dobrym wywoływaczem i wytwarza dużą ilość ciał odpornościowych. Zlepniki, jakie powstają pod jego wpływem, posiadają również zdolność zlepiania szczepu FbS, ale tylko w obecności bakterjofaga. Zlepianie się szczepu FbS wystąpiło wtedy aż do pełnego miana surowicy, gdy tymczasem bez bakterjofaga surowica wcale szczepu FbS nie zlepia. Surowica królika, uodpornionego szczepem FbR, posiada bardzo słabą zdolność zlepiania szczepu R, zarówno w obecności bakterjofaga, jak i bez niego. Jest to zjawisko znane

T A B L I C A 5.

anty - FbR król. Nr. 55		anty - FbBr król. Nr. 54		Rozcieńczenia surowicy										Surowica	
FbR	FbBr	FbS	FbR	FbBr	FbS									Szczep	
/	/	/	/	/	/	1 : 20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	Bakterjo-fag
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—													

powszechnie, że szczepy R trudno wytwarzają ciała odpornościowe i same źle się zlepiają. Niemniej jednak i ta surowica zlepiła szczep FbS w obecności bakterjofaga.

Z zachowania się poszczególnych surowic odpornościowych anty-FbS i anty-FbBr wynika, że szczepy odnośne są pomiędzy sobą antygenowo zbliżone. Dla ostatecznego ustalenia tego faktu wykonaliśmy doświadczenia absorpcyjne. W szczególności chodziło o przyczynę niezlepliwości odmiany FbS. Pragnęliśmy się przekonać, czy przyczyną niezlepliwości nie jest brak odnośnego elementu antygenowego.

Doświadczenie 6. Surowicę anty-FbS wysyciliśmy zawiesiną szczepu FbS i następnie poddaliśmy aglutynacji z tą surowicą szczep FbBr. Aglutynacja nie wystąpiła, co świadczy o tem, że szczep FbS, jakkolwiek sam nie aglutynuje się, niemniej jednak zabiera wszystkie zlepniki z surowicy. Niezlepliwość jego polega zatem na niezdolności wypadania. W ten sam sposób wykonaliśmy wysycenia surowicy anty-FbBr zawiesiną szczepu FbS. Surowica ta również utraciła zdolność zlepienia szczepu FbBr, jakkolwiek przy wysycaniu FbS aglutynacja nie wystąpiła.

Z tego wszystkiego wynika, że pomiędzy szczepem FbS i szczepem FbBr niema różnic antygenowych oraz, że oba te szczepy wiążą odnośne zlepniki obu surowic. Tak więc niezlepliwość szczepu FbS nie zależy od braku ciał odpornościowych w surowicy, nie zależy od braku antygenów w bakterjach, zależy natomiast od trudnej wypadalności szczepu, którą zwiększa obecność bakterjofaga.

Taką aglutynację, występującą tylko w obecności bakterjofaga, proponowałbym nazwać odczynem serofagoaglutynacyjnym.

Dotąd zajmowaliśmy się własnościami zawiesin bakteryjnych i surowic. Z kolei wypada rozważyć, jaki wpływ na serofagoaglutynację wywiera ilość i jakość bakterjofaga. W tym celu wykonaliśmy doświadczenie aglutynacyjne ze zmienną ilością bakterjofaga.

Doświadczenie 7. Przygotowaliśmy po pierwsze pięć probówek z bakterjofagiem. W pierwszej zawarty był bakterjofag nierozcieńczony, w drugiej rozcieńczony 1:100, w trzeciej — 1:1000, w czwartej — 1:10.000, w piątej — 1.100.000. Następnie ustawiliśmy 6 szeregów rozcieńczeń surowicy anty-FbS od 1:20 do 1:5120. Do poszczególnych szeregów dodano po jednej kropli bakterjofaga do każdej probówki, rozmaicie uprzednio rozcieńczonego i zawiesinę żywego szczepu FbS. W szóstym szeregu, kontrolnym, zamiast bakterjofaga dodano po jednej kropli buljonu.

Jak wynika z załączonej tablicy 6, serofagoaglutynacja występuje tylko w obecności bakterjofaga nierozcieńczonego, względnie rozcieńczonego 1:100. W dalszych szeregach można mówić conajwyżej tylko o śladach wpływu bakterjofaga.

Chcąc uprościć ewentualnie doświadczenie, próbowaliśmy mieszać bakterjofag z surowicą przed wykonaniem odczynu aglutynacyjnego. Postępowanie to okazało się jednak niedogodne, gdyż jednoczesne zmniejszanie się dawki bakterjofaga i surowicy wpływa ujemnie na wyrazistość wyniku.

Doświadczenie 8. Z kolei przechodzimy do sprawy swoistości serofagoaglutynacji. Dwa mocne bakterjofagi, z których jeden działał litycznie na szczep Schottmüllera, drugi na szczep parat. abortus equi, puszczono na hodowlę szczepu coli FbS. Szczep nasz nie podlegał lizie pod wpływem tych bakterjofagów. Następnie nastawiono dwa rzędy rozcieńczeń surowicy anty-FbS i do jednego dodano zawiesiny szczepu coli FbS i bakterjofagów Schottmüllera, do drugiego rzędu dodano zawiesinę szczepu coli FbS i do poszczególnych probówek bg. parat. abortus equi. Aglutynacja wystąpiła tylko w rozcieńczeniu $\frac{1}{40}$ co świadczy o tem, że przez dodanie nieswoistego bg. nie można uczulić zawiesiny szczepu coli FbS. Przemawia to za swoistością opisaną przez nas serofagoaglutynacji.

Doświadczenie 9. Na zakończenie badaliśmy jeszcze zjawisko serofagoaglutynacji ze szczepami zabitemi. Aglutynacji poddano szczep FbS grzany w temperaturze 60°C. przez jedną godzinę, nastawiając równocześnie aglutynację ze szczepem żywym dla celów porównawczych (tabl. 7).

T A B L I C A 6.

Surowica	Szczep	Bakterjofag	Rozcieńczenie surowicy								Kontrola
			1 : 20	40	80	160	3320	640	1280	2560	
Anty-FbS krol. Nr. 49.	FbS	Fcz nierozcieńczony	+++++	—	—	—	—	—	—	—	—
	"	Fcz rozcieńczony 1 : 100	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	++	—	—
	"	Fcz rozcieńczony 1 : 1000	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+	—	—
	"	Fcz rozcieńczony 1 : 10000	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+	—	—
	"	Fcz rozcieńczony 1 : 100000	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+	—	—
	"	Fcz kontrola z buljonem	+++++	—	—	—	+	+	+	—	—
	"	Fcz kontrola z buljonem	+++++	—	—	—	+	+	+	—	—
	"	Fcz kontrola z buljonem	+++++	—	—	—	+	+	+	—	—

T A B L I C A 7.

Surowica	Szczep	Bakterio- fag	Rozcieńczenia surowic									Kontrola
			1 : 10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	
anty-FbS	FbS	/	++++	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	żywy	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	+	—
	FbS	/	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	ogrzany	Fcz	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—

Z doświadczenia tego wynika, że zawiesina bakterij zabitych daje dodatnią serofagoaglutynację, co najwyżej w słabszym nieco stopniu w porównaniu z bakteriami żywymi. Fakt ten przemawia za tem, że w serofagoaglutynacji ma ważne znaczenie adsorpcja bakterjofaga przez bakterje. Wiadomo bowiem z badań różnych autorów (*Joelten, da Costa Cruz, Jonesco Mihaiesti*), że zabite bakterje wiążą bakterjofaga chociaż lizie nie ulegają.

Ażeby ostatecznie stwierdzić, czy w przebiegu serofagoaglutynacji bakterjofag ulega adsorpcji przez bakterje, wykonaliśmy jeszcze następujące doświadczenie.

Doświadczenie 10. Hodowlę szczepu FbS podzielono na dwie części. Jedną pozostawiono żywą, drugą ogrzano przez jedną godzinę do temperatury 60°C. Następnie do jednej i do drugiej dodano $\frac{1}{10}$ objętości bakterjofaga Fcz o mianie 10^{-8} , pozostawiając zawiesiny na przeciąg 24 godzin w chłodni. Zawiesiny te następnie odwirowano i przemyto trzykrotnie fizjologicznym roztworem soli kuchennej. Tak uczulone szczepy poddano wreszcie aglutynacji z surowicą anty-FbS. Aglutynacja wystąpiła w obu wypadkach podobnie jak w doświadczeniu 9-tem. Obie zawiesiny przesączyliśmy potem przez świece „L 3”. Otrzymane przesącze badano na zawartość bakterjofagów przez miareczkowanie na płytkach. Okazało się, że miano bakterjofaga w przesączu hodowli zabitej spadło z 10^{-8} do 10^{-5} , gdy tymczasem przesącz hodowli żywej zachował swoje miano lityczne bez zmian.

Ostatnie doświadczenia pozwalają nam wejrzeć bliżej w mechanizm serofagoaglutynacji, który można sobie wyobrazić w sposób następujący. Bakterje adsorbują działającego na nie bakterjofaga; proces ten odbywa się o tyle szybko, że wystarczające naładowanie dokonywa się już w czasie aglutynacji, pod wpływem adsorpcji swoistego bakterjofaga bakterje stają się wrażliwsze na działanie swoistych aglutynin. Czy występuje przytem zwiększona adsorpcja aglutynin, czy tylko zwiększenie wypadalności, to stanowi narazie kwestję otwartą.

Jeśli teraz przejrzymy wyniki naszych doświadczeń, to uważam, że mechanizm serofagoaglutynacji ma najprawdopodobniej charakter odczynu powierzchniowego. Pod wpływem specyficznego bakterjofaga, adsorbowanego na powierzchni bakteryj, następuje opadanie bakteryj pod działaniem tak małych ilości aglutynin, które w nieobecności bakterjofaga są zupełnie nieczynne.

W N I O S K I.

1. Przez dodanie specyficznego bakterjofaga do źle zlepliwiej zawiesiny szczepu Coli „FbS” zawiesina ta aglutynuje się następnie łatwo ze specyficzną surowicą. Zjawisko to nazwałem serofagoaglutynacją.

2. Serofagoaglutynacja występuje zarówno z zawiesinami żywych, jak i zabitych bakteryj.

3. Zależy ona od ilości i od miana litycznego bakterjofaga.

4. Serofagoaglutynacja jest procesem swoistym, który przebiega z łączeniem się bakterjofagów z bakterjami.

Celem zbadania ewentualnej praktycznej wartości serofagoaglutynacji, poddałem aglutynacji w obecności bakterjofaga dwa słabo zlepliwie szczepy tyfusu brzuszego, które z surowicą antytyfusową o mianie 1:8000 zlepiają się w rozcieńczeniu na 1:1600. Szczepy te aglutynowały się następnie z surowicą rozcieńczoną 1:3200, względnie 1:6400. Jako bakterjofaga używałem do doświadczeń tych bakterjofaga tyfusowego Sonnenscheina z laboratorium prof. *Reinera Müllera* w Kolonji.

Trzeci szczep tyfusowy, który z surowicą antytyfusową zlepia się do pełnego miana t. j. 1:16.000 w obecności bakterjofaga *Sonnescheina* i bakterjofaga *gallinarum* (rozpuszcza szczep tyfusowy) zlepia się jeszcze w rozcieńczeniu 1:128.000.

Na zakończenie dziękuję serdecznie memu długoletniemu kierownikowi i nauczycielowi, p. prof. dr. Z. Szymanowskiemu, za cenne uwagi i wskazówki udzielone mi przy wykonaniu tej pracy, Panu koledze *Tadeuszowi Świąszkowskiemu* lek. wet. mł. asyst. Zakładu dziękuję za pomoc techniczną przy wykonaniu doświadczeń.

Aus dem Bakteriologischen Institut der Veterinär-Fakultät, Universität Warschau
(Leiter Prof. Dr. Z. Szymanowski).

SEROFAGOAGGLUTINATION.

Dr. med. vet. J. BRILL, Assistent.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Durch Zufügung eines spezifischen Bakteriophagen zu einer schlecht agglutinierbaren Suspension des Coli „FbS”—Stammes agglutiniert dieselbe leicht mit spezifischem Serum. Diese Erscheinung nannten wir *Serophagoagglutination*.

2. Die *Serophagoagglutination* tritt sowohl mit lebenden als auch mit toten Bakteriensuspensionen auf.

3. Die *Serophagoagglutination* ist abhängig von der Menge und von dem Titer des Bakteriophagen.

4. Sie stellt einen spezifischen Vorgang dar, welcher mit Bindung der Bakteriophagen mit Bakterien einhergeht.

PIŚMIENNICTWO.

Eliava i Pożerski. C. R. S. B., T. 84 i 85, 1921. •Plantureux, C. R. Acad. Sc. T. 104, 1930. DHerelle. C. R. S. B, 1930 p. 1254. Porges Otto. W. kl. W. 1905 s. 891. Hirschfeld i Seydel. C. R. S. B, 1923 p. 1334. Eisler u. Silberstein. Zschr. f. Hyg. 1921 p. 267. Eisler i Sonnenschein. Zschr. f. Immforschg, 1911 p. 136. Sonnenschein. D. M. W. 1928 p. 1034. Sertić. C. R. S. B. 1929 p. 477. Ztbl. f. Bakt. Orig. t. 110 str. 125. Szymanowski i Świąszkowski. Med. Dośw. i Społ. 1931 z. 1-2.

Wpłynęło 1.XII 1932.

Z Państwowego Zakładu Higjeny w Warszawie. Dział Bakterjologii
i Medycyny Doświadczalnej.

Dyrektor Prof. L. Hirszfeld.

W SPRAWIE SZCZEPÓW B. TYPHI FLAVUM.

P o d a ł a

J. SEYDEL

W posiewach z krwi, kału, moczu, wody zauważyć można niekiedy na płytkach Endo obecność kolonij, które na pierwszy rzut oka wyglądają jak typowe kolonie duru brzuszego. Kolonie te są przejrzyste ze słabym odcieniem żółtawym. Wyosobnione i posiane na agar skośny dają szczepy o barwie wyraźnie żółto-pomarańczowej.

Na tego rodzaju szczepy dawno zwrócono uwagę, bo już w 1906 r. Do takich autorów zaliczyć należy *Boita*, *Loefflera*, *Klimenkę*, *Gräfa* do późniejszych *v. Hövela*, który w roku 1906 znalazł te szczepy w 13 przypadkach w kale, w moczu chorych na dur brzuszny, u nosicieli po przebytej chorobie. *V. Hövel* jak i wyżej wspomniani autorzy uważali te szczepy za przypadkowe, nie przypisując im roli chorobotwórczej.

Podobne szczepy znalazł *Köhlisch* w posiewach z kału, moczu chorych podejrzanych o dur brzuszny, oraz ze krwi chorego w okresie drugiego nawrotu tej choroby. Szczepy żółte wyosobnił badacz ten z ziemi i z gnoju. *Köhlisch* pozostawił kwestję otwartą, czy znalezione przez niego szczepy są przypadkowe, czy też stoją w jakimkolwiek związku z prątkami duru brzuszego.

Baumgärtel w 1918 r. wyosobnił w czasie epidemii, wywołanej pr. paratyfusowemi A, 26 razy prątki o żółtem zabarwieniu. Przyjmuje on możliwość, że opisane przez niego szczepy są albo mutacyjną formą, albo też nową odmianą pr. paratyfusowych.

W późniejszych czasach *Sticklowi* udało się drogą pasażowania przez rośliny (tulipany) zmienić pr. durowe w szczepy o żółtem zabarwieniu. Mówiąc o swych wynikach *Stickl* wspominał o możliwym znaczeniu takich zmian dla epidemiologii duru brzuszego, posiadającej dotąd niejasne punkty. W 1928 r. *Dresel i Stickl* wykryli podobne szczepy żółte w krwi i w moczu chorych na dur brzuszny. Autorzy ci skłaniają się do poglądu, że otrzymane drobnoustroje mogą być zmienionymi postaciami prątków durowych, które w walce obronnej organizmu, z pasorzytów stały się saprofitami, niezdolnymi do wywołania zakażenia. Drobnoustroje te mogą istnieć dość długo poza organizmem ludzkim np. w wodzie, ale po pewnym czasie giną, gdyż nie znajdują organizmów, w których mogłyby przejść z powrotem z typu saprofitów w pasorzyty. Według *Dresela i Stickla* zarazki te po ponownym przeniknięciu do organizmu zależnie od okoliczności mogą nie wywoływać żadnego schorzenia, albo lekkie tyfoidalne, albo nawet dość typowy obraz duru brzuszego. W 1930 r. pojawiła się obszerna praca *Gary i Stickla*, zatytułowana „Bacterium typhi flavum i związek ich z typowymi prątkami Ebertha”. Autorzy zbadali 49 szczepów żółtych, wyosobnionych z ustroju chorych na dur brzuszny, z otoczenia tych chorych i od nosicieli. Poza tem 6 szczepów pochodziło z wody. W zależności od zachowania się na cukrach szczepy te podzielili na 6 grup. Drogą kolejnych pasażów pr. żółtych (do 250 pasażów na agarze zwykłym) udało im się otrzymać z kolonii odszczepionej szczepy, odchylające się pod względem biochemicznym i serologicznym od szczepu wyjściowego. W obrębie kolejnych pasażów jednego i tego samego szczepu, otrzymali takie, które należały do 6 grup biochemicznych. Poza tem w miarę ciągłych przeszczepów udało im się zauważyć przejście z jednej grupy biochemicznej w drugą, przyczem przejścia te były zwrotne. W 7 przypadkach na 45 zbadanych szczepów, otrzymali oni przejście szczepów żółtych w typowe pr. durowe. Zaznaczyć jeszcze należy, że

przejście w szczepy durowe odbywało się bezpośrednio, albo też pośrednio przez inne grupy. Pośród 7 szczepów b. typhi flavum, które przeszły w typowe pr. durowe, jeden pochodził z wody, co wobec znanych trudności wyosabniania pr. durowych z tego środowiska, posiadałoby duże znaczenie epidemiologiczne. Szczepy żółte zmienione w durowe aglutynowały się z surowicą durową niekiedy bardzo wysoko bo w rozcieńczeniu 1/6400, inne zaś słabo $\frac{1}{100}$ lub $\frac{1}{200}$. Absorpcja podług *Castellani*'ego wykazała całkowitą lub częściową wspólność receptorów szczepów żółtych i durowych. Na zasadzie powyższych obserwacji *Gara i Stickle* uważają prątki typhi flavum za „Spielarten” t. j. odmiany typowych prątków durowych. Podczas stwierdzania duru brzuszego, szczepy te według nich powinny być brane pod uwagę. Ponieważ autorom udało się stwierdzić przejście in vitro jednych szczepów w drugie, powstaje przypuszczenie, że to samo może się zdarzyć i in vivo. Ponieważ nie jest wykluczone, że odmiany te mogą być chorobotwórcze, autorzy uważają, że w każdym przypadku diagnostycznym należy uwzględnić szczepy żółte i wrazie ich wykrycia, rozpoznawać podejrzenie tyfusu. Nosicieli zaś tych szczepów uznawać za nosicieli pr. durowych.

Z innych autorów wymienić jeszcze należy *Lotzego*, który w r. 1930, robiąc próby nad przeprowadzaniem jednych drobno-ustrojów grupy okrężnicowodurowej w drugie, otrzymał obok szeregu modyfikacyj chwiejnych, również i odmiany stałe. Do tych ostatnich należy przejście pr. durowych i rzekomodurowych w odpowiednie szczepy żółte. Na zjeździe mikrobiologów niemieckich w Berlinie w 1932 r. sprawa prątków żółtych była szeroko omawiana, spotkała się z ostrą krytyką szeregu autorów, między innymi *Sonnenscheina*, *Kathego*, *Lentza*, *Kaufmannna*. Odrzucają oni całkowicie pokrewieństwo między szczepami żółtymi i durowymi, natomiast *Gotschlich*, *Neufeld*, *Klieneberger* zajmują stanowisko pośrednie. Przypominają spór, z przed kilku lat na temat pokrewieństwa b. alcaligenes z pr. durowymi. Ponieważ okazało się później, że wśród szczepów tej grupy znajdują się i takie, które posiadają własności chorobotwórcze, autorzy przypuszczają przez analogję że to samo może dotyczyć niektórych szczepów żółtych. *E. Kramer* przypisuje słuszność tym poglądom, gdyż

sama chorowała na zaburzenia żołądkowe i z krwi wyhodowano u niej b. typhi flavum, natomiast w kale i w moczu nie znaleziono ani pr. grupy durowej, ani prątków żółtych. Odczyn Widala był ujemny. Po kilku tygodniach zachorowała pielęgniarka na podobne zaburzenia jelitowe i z krwi jej również wyhodowano szczepy żółte. *Kramer* przypuszcza, że przyczyną choroby były pał. typhi flavum, lecz czy są one odmianą pr. durowych to wymaga zdaniem jej, jeszcze dalszych badań.

Jednocześnie z obserwacjami poczynionymi przez *Dresela*, *Garę* i *Stickla* w Niemczech w Państwowym Zakładzie Higieny w Warszawie zwrócono uwagę na szczepy żółte, które zauważono w posiewach z materiału zakaźnego, nadsyłanego do badania w kierunku duru brzuszego. 24-godzinne kolonie tych szczepów morfologicznie bardzo zbliżone do durowych, dawały niekiedy wybitną aglutynację z surowicami grupy durowej i rzekomodurowej. W ciągu 3 lat wyosobniono 180 szczepów żółtych z których dokładnie zbadano 80.

Szczepy wyhodowano z następujących źródeł-

42 z krwi	6 z wody
6 z kału	1 z masła
13 z moczu	1 z wydzieliny nosa.

Prątki żółte są to pałeczki gramoujemne o średniej wielkości, niekiedy bardzo, innym razem słabo ruchliwe. Co się tyczy morfologii kolonij, to trudno znaleźć drugą grupę prątków, których wygląd na płytce Endo byłby tak różnorodny. Zwykle po 24 g. kolonie te różnią się mało od kolonij prątków duru brzuszego. Są one blado różowe z ledwo dostrzegalnym żółtem zabarwieniem. Dopiero po kilku dniach następuje zupełne ukształtowanie się typu kolonij. Jedne kolonie w dalszym ciągu pozostają soczyste, inne stają się pomarszczone, inne znowu śluzowe, inne wreszcie przybierają formę mocno wzniesionych pęcherzyków.

Różnorodność kolonij występuje niekiedy w zależności od szczepu, niekiedy zaś w obrębie jednego i tego samego szczepu, rzadziej zauważyć ją możemy w szczepach świeżo wyhodowanych, częściej natomiast w szczepach przez dłuższy czas przechowywanych w pracowni.

Niektóre szczepy żółte odszczepiają kolonie różowe. Nie można jednak powiedzieć, żeby właściwość tę posiadały wszystkie szczepy żółte, nadto jeśli jakiś szczep zdolność tę posiada, nie występuje ona stale. Opracowano np. bliżej szczep, który jako wyjściowy dał 2 typy kolonij, bardzo liczne żółte i pojedyncze różowe. Wyosobniono oddzielnie na płytce Endo kolonję różową i kolonję żółtą i przytem zauważono, że kolonie różowe są ustalone jako typ, gdyż nigdy nie można było zauważyć nawet najsłabszej tendencji do odszczepiania kolonij żółtych. Natomiast kolonie żółte odszczepiają różowe, lecz w zjawisku tem niema żadnego rytmu, gdyż na 23 przeprowadzone pasaże (wychodzące z pojedynczej kolonji żółtej) otrzymano odszczepienie kolonij różowych w I, VII o XXI pasażu, w innych zaś otrzymano tylko jeden typ kolonij żółtych.

Biochemiczne własności szczepów pochodzących z kolonij różowych są odmienne niż wyjściowych szczepów żółtych, gdyż nigdy nie zakwaszają one maltozy.

O ile wygląd kolonij szczepów żółtych jest bardzo różnorodny, o tyle biochemiczne ich własności są prawie jednolite.

Następujący protokół II przedstawia zestawienie cech biochemicznych prątka żółtego w porównaniu z pr. Ebertha.

P R O T O K O Ł I

	Ruch	Barwienie met. grama	Laktoza	Dekstroza	Sacharoza	Mannit	Maltora	Serwatka lakmusowo	H ₂ S	Mleko z lakmusem	Żelatyna	Indol
Ty abd.	+	—	—	k	—	k	k	sł. kw.	+	—	—	—
Ty flav.	+	—	—	k	k	k	k	alk.	—	alk. ścięte	+	—

Nadmienić należy, że nie zauważono nigdy zdolności wytwarzania gazu zarówno w szczepach żółtych hodowanych w temperaturze pokojowej, jak i w cieplarni w t° 37°.

Jak widać z protokołu własności biochemiczne szczepów duru brzuszego i szczepów b. typhi flavum, wykazują pewne

różnice. Szczepy b. typhi flavum posiadają niektóre cechy pałeczek durowych, lecz nadto posiadają dodatkowe właściwości (alkalizowanie serwatki, ścinanie mleka z lakmusem w reakcji alkalicznej, rozrzedzanie żelatyny) tak zasadniczo odmienne od pał. durowych, że na tej zasadzie trudno byłoby je uważać nawet za odmiany tych ostatnich.

Oprócz zwykłych własności fermentacyjnych, zbadano jeszcze zdolność przyswajania wybiórczego szczepów b. typhi flavum na podłożu syntetycznem.

Jak wiadomo typowe pr. Ebertha nie rosną na syntetycznych podłożach *Pescha*, ponieważ nie są zdolne do czerpania azotu z NH_4Cl wchodzącego w skład podłoża.

Następujący protokół II przedstawia zachowanie się szczepów typhi flavum na tych podłożach.

PROTOKÓŁ II.

Laktoza	Dekstroza	Sacharoza	Cytrynian sodu	Liczba	
—	—	—	—	7	jak ty.
—	+	—	+	0	jak parat.
+	+	+	—	1	jak coli
—	+	+	+	24	?
—	+	+	—	32	?
—	+	—	—	2	?
—	—	+	—	7	?
—	—	—	+	1	?
				74	

Na 74 zbadanych szczepów 7 zachowało się jak pał. durowe, ani jeden szczep nie zachowywał się jak paratyfus, jeden zachowywał się jak coli, natomiast o znacznej większości nic pewnego powiedzieć nie można, gdyż ich wybiórczość wobec poszczególnych źródeł węgla nie daje się ująć w żadne ustalone ramy.

Należy przypuszczać zatem, że pał. żółte są prawdopodobnie szczepami o charakterze przejściowym o niezupełnie pod tym względem ustalonych cechach.

Własności serologiczne.

Jak już zaznaczono, własności serologiczne szczepów żółtych zbliżone były bardzo do własności pał. durowych. I ta właśnie cecha skłoniła nas do zajęcia się bliżej temi drobnoustrojami. Przechodząc do dokładnej analizy serologicznej w pierwszym rzędzie staraliśmy się ustalić, czy szczepy żółte stanowią antygenowo jednolitą grupę. Badania przeprowadzone za pomocą 2 surowic odpornościowych, skierowanych przeciwko szczepom żółtym, wykazały, że w obrębie tych pałeczek istnieją conajmniej 3 serologicznie ściśle odgraniczone grupy. Szczepy, które z jedną surowicą aglutynują się wysoko, z drugą surowicą albo nie zlepiają się wcale, albo bardzo nisko. Oprócz tego są szczepy, które nie aglutynują się ani z jedną ani z drugą surowicą. Być może zatem, że w obrębie pał. żółtych dałoby się zróżnicować więcej grup serologicznych.

P R O T O K U Ł III.

Surowice	S z c z e p y						
	17378	8875	6767	7658	12086	12659	10800
17378	$\frac{1}{1600}$	—	—	—	$\frac{1}{800}$	—	$\frac{1}{1600}$
8875	—	$\frac{1}{1600}$	—	$\frac{1}{400}$	—	$\frac{1}{1600}$	—

Co się tyczy aglutynacji z surowicą tyfusową i paratyfusowemi oraz Gärtnera znajdujemy dane następujące.

P R O T O K U Ł IV.

Sur. anti Ty abd.	+	+	+	+	—	—	—	—	
„ „ paratyf.	+	—	+	—	+	+	—	—	
„ „ Ty flav.	+	+	—	—	+	—	+	—	
Aglut. samoistna	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Liczba ogólna	34	4	14	7	1	5	5	2	8

Na pierwszy rzut oka zadziwia fakt, że znacznie częściej niż w surowicami anti typhi flavum, aglutynują się szczepy żółte z surowicami durowymi i rzekomodurowymi, albowiem z surowicami durowymi i rzekomodurowymi aglutynuje się 81% tych szczepów, a z surowicami swoistymi 55%.

Być może, że w tych przypadkach mamy do czynienia z typami pr. żółtych, dla których nie mieliśmy jeszcze surowicy odpornościowej. Miano aglutynacyjne surowicy przeciwdurowej w stosunku do pał. typhi flavum było różne. W stosunku do niektórych szczepów było ono dość niskie w innych przypadkach znacznie wyższe. Dane dokładnie przedstawia protokół V.

PROTOKÓŁ V.

	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$
Liczba szczepów	15	18	10	16	0

Ustaliwszy w ten sposób dane, dotyczące zlepiania się szczepów żółtych przez surowice durowe, w dalszym ciągu staraliśmy się zbadać, czy surowice skierowane przeciwko szczepom żółtym aglutynują szczepy durowe oraz rzekomodurowe. Do aglutynacji użyto 12 szczepów durowych 5 P. A., 6 szczepów P. B., 5 szczepów P.C. i 1 szczep Gärtnera.

Otrzymane wyniki zestawione są w protokole Nr. VI.

PROTOKÓŁ VI.

Szczepy	Ty. abd	Ty. abd	Ty. abd	Ty. ebd	Ty. abd	Parat. A	Parat. B	Parat. C	Parat. C	Gärtner
miano aglutyn. z surow. anti Ty. flav.	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	—	—	—	—	$\frac{1}{400}$	—
Liczba szczepów	2	1	2	1	6	5	6	4	1	1

Pozostał jeszcze do rozpatrzenia punkt może najbardziej interesujący, a mianowicie stosunek surowic ludzi chorych na dur do szczepów żółtych.

Praktycznie sprawę rozwiązano w ten sposób, że do grupy szczepów służących do odczynu Widala włączono przedstawicieli dwóch typów serologicznych szczepów żółtych. Wyniki tych badań przedstawia protokół Nr. VII.

PROTOKOŁ VII.

Odczyn Widala ze szczepami			Liczba przypadków	Wyniki posiewów		
ty. abd	parat	ty. flav		ty. abd	ty. + flav.	ty. flav
+	—	+	284	111	1	1
+	—	—	39	12	—	1
+	+	—	87	34	1	4
—	+	+	11	1	1	—
—	+	—	7	—	—	—
—	—	+	98	6	—	—
—	—	—	154	4	—	5
			680	168	3	11

Jak widzimy z tablicy na 680 surowic badanych otrzymano w 284 przypadkach dodatnią aglutynację zarówno z pał. durowemi jak i żółtemi. W 39 przypadkach otrzymaliśmy odczyn dodatni. jedynie z pał. durowemi, w 87 przypadkach otrzymano aglutynację z pał. durowemi i rzekomodurowemi, w 11 przypadkach tylko z pał. rzekomodurowemi i pr. żółtemi, w 98 zaś tylko z pał. żółtemi. W 154 przypadkach odczyn zlepnny był zupełnie ujemny.

W załączonej tablicy uderza nas przedewszystkiem bardzo pokaźne liczba aglutynacyj dodatnich z pał. żółtemi, występuje ona. bowiem na 680 surowic badanych, 393 razy, 50,4 %. Z pałeczkami durowemi na tym samym materiale liczba odczynów dodatnich

wynosiła 410, a zatem jedynie o 17 dodatnich odczynów więcej. Jeżeli dodatni odczyn ze szczepem żółtym przyjąć za wyraz współaglutynacji grupowej, to podkreślić należy, że ten typ współaglutynacji występuje bez porównania częściej niż współaglutynacja ze szczepami rzekomodurowymi, czego wyrazem są liczby 105 — 393

Jeżeli porównamy nasilenie odczynów Widala i odczynów dodatnich dla szczepów żółtych, to otrzymamy następujące dane,

1. Miano silniejsze dla pr. durowych w 221 przypadkach.

P R O T O K O Ł VIII.

Liczba ogólna	Miano dla B. ty > B. ty flavum			
62	2 : 1			
	$\frac{200}{100}$	$\frac{400}{200}$	$\frac{800}{400}$	$\frac{1600}{800}$
	22	22	12	6
78	4 : 1			
	$\frac{400}{100}$	$\frac{800}{200}$	$\frac{1600}{400}$	
	39	24	15	
66	8 : 1			
	$\frac{800}{100}$	$\frac{1600}{200}$		
	36	30		
15	16 : 1			
	$\frac{1600}{100}$			
	15			

II. Miano silniejsze dla pał. żółtych w 26 przypadkach.

PROTOKUŁ IX.

Liczba ogólna	Miano dla B. ty < B. ty. flavum			
	1 : 2			
	$\frac{100}{200}$	$\frac{200}{400}$	$\frac{400}{800}$	$\frac{800}{1600}$
19	10	7	2	0
	1 : 4			
	$\frac{100}{400}$	$\frac{200}{800}$	$\frac{400}{1600}$	
6	5	1	0	
	1 : 8			
	$\frac{100}{800}$	$\frac{200}{1600}$		
1	0	1		

III. Miano jednakowe dla pr. durowych i pał. żółtych w 37 przypadkach.

PROTOKUŁ X.

	Miano dla B. typhi = B. typhi flavum				
Wysokość miana	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$
Liczba przypadków	13	17	3	1	3

Rozpatrzmy w dalszym ciągu jak często w związku z odczynem Widala i dodatnim odczynem dla szczepów żółtych otrzymujemy w posiewach z krwi pał. durowe i pał. żółte. Dane zestawienie w protokule VII (patrz wyżej).

Z zestawienia zdaje się wypływać, że posiew dodatni pod względem wzrostu pał. żółtych otrzymujemy najczęściej wtedy, gdy odczyn Widala ze szczepem żółtym jest ujemny. Ciekawy jest fakt, że w przypadkach, gdy odczyn był jedynie dodatni z pał. żółtymi otrzymaliśmy 6 dodatnich hodowli pał. durowych. Oczywiście może to być tylko przypadek i wyniki te możnaby interpretować jak zwykłe hemokultury dodatnie występujące, przy ujemnym odczynie Widala.

W dalszym ciągu jeżeli rozpatrzmy miano odczynu Widala i odczynu dla szczepów żółtych w tych przypadkach, gdy z posiewu z krwi wyhodowano szczepy żółte, to otrzymamy następujące dane, zestawiono w protokule XI.

P R O T O K O Ł X I.

	Numbry surowic	Odczyny Widala ze szczepami					Wyhodowano z krwi	Aglutynacja z surowicami	
		Ty.	P. A.	P. B.	P. C.	Ty. flavum		Ty.	Ty. flavum
1	6766	$\frac{1}{800}$	—	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	flavum	$\frac{1}{200}$	—
2	7334	$\frac{1}{400}$	—	—	$\frac{1}{200}$	—	Ty + flavum	$\frac{1}{800}$	—
3	7522	$\frac{1}{600}$	—	—	—	—	flavum	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{100}$
4	7657	—	—	—	—	—	"	—	$\frac{1}{400}$
5	8003	—	—	—	—	—	"	—	—
6	8248	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{100}$	—	—	—	"	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{1600}$
7	8874	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	—	"	—	$\frac{1}{1600}$
8	8897	—	—	—	—	—	"	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{1600}$
9	8932	$\frac{1}{100}$	—	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	—	"	—	—
10	9414	$\frac{1}{200}$	—	—	$\frac{1}{200}$	—	"	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$
11	9918	—	—	—	—	—	"	0	0
12	10334	—	—	—	—	—	"	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$
13	10786	—	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	Ty + flavum	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{200}$
14	11099	$\frac{1}{400}$	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	"	$\frac{1}{100}$	—

W ten sposób przedstawiają się wyniki pierwszej części naszej pracy. Jako wniosek ogólny należałoby zatem powiedzieć, że szczepy żółte występują niekiedy w materiale pochodzącym od ludzi podejrzanych o dur brzuszny, oraz, że aglutyniny dla szczepów żółtych występują w surowicy ludzi chorych na dur brzuszny w pokażnej liczbie przypadków bo w 50,4%.

Czy jednak szczepy żółte spotkać można tylko w wyżej wymienionym materiale?

Zagadnienie to jest niezmiernie ważne i było przedmiotem gorącej dyskusji na zjeździe bakterjologów niemieckich. *Stick* twierdzi, że obecność prątków żółtych jest bezwzględnie związana bądź z przebyciem zakażenia durowego, bądź też występuje w otoczeniu chorego na tyfus. *Dresel* twierdzi, że pr. żółte otrzymuje się najczęściej z okolic Stralsundu, gdzie dur panował endemicznie. Kol, *Amzelówna* mogła również w czasie epidemii w Busku zauważyć w niektórych wypadkach występowanie pr. żółtych nie tylko w ogniskach endemicznych, lecz co więcej w rodzinach, których członkowie chorowali i byli nosicielami pr. durowych.

Nasze dotychczasowe wyniki tylko do pewnego stopnia potwierdzałyby te obserwacje, albowiem przeprowadzona przez nas ankieta dotycząca 30 chorych, od których szczep żółty wyhodowano, w 67% przypadków dała odpowiedź wskazującą na brak związku z dudem.

Dalsze nasze badania rzucają na tę sprawę jeszcze bardziej jaskrawe światło, okazało się bowiem, że w powietrzu bardzo często, bo na 16 prób—7 razy stwierdzono obecność typowych b. typhi flavum.

Przedewszystkiem uwagę naszą zwróciła flora z płytek z krwią przypadkowo pozostawionych otwartymi przez dłuższy czas w pracowni oddziału diagnostycznego. Po wyosobnieniu charakterystycznych kolonii o żółtym pigmentie otrzymano szczepy identyczne z temi, które poprzednio wyosobniono z materiału zakaźnego. Nasunęło się przypuszczenie, że być może pr. żółte

spotyka się w pracowni bakteriologicznej jako wyraz pewnego zakażenia środowiska przez pr. durowe.

Dla wyświetlenia tej sprawy przystąpiono do systematycznych badań powietrza w mieszkaniach prywatnych, gdzie **nie** było przypadku duru brzuszego.

Umieszczano otwarte płytki agarowe na pewien czas w pokojach mieszkalnych, oddalonych nieraz bardzo od ubikacji, **jak** i w ubikacjach samych.

Po wyosobnieniu kolonij żółto zabarwionych okazało się, że biologiczne własności szczepów żółtych z powietrza identyczne są własnościami szczepów, które wyosobniono z ustroju człowieka. Własności serologiczne potwierdziły również identyczność tych szczepów z wyżej wyhodowanymi. A zatem szczepy b. typhi flavum znajdują się w naszym otoczeniu i to dość często. Jak zatem wytłumaczyć sobie tak często występującą aglutynację pr. żółtych przez surowice chorych durowych?

Jeżelibyśmy chcieli aglutynację tę ujmować jako paraglutynację, to w sensie Kühna i Woithego mielibyśmy do czynienia ze zjawiskiem przemijającym. Tymczasem wyosobnione szczepy **nie** tylko nie tracą z biegiem czasu pokrewieństwa serologicznego z grupą durową, lecz przeciwnie miano zlepne z surowicami odpornościowymi przeciwdurowymi staje się w miarę przechowywania szczepów w buljonie w temp. pokojowej bardziej wybitne, co można było stwierdzić na całym szeregu szczepów, które w chwili wyosobnienia zlepiały się z surowicą durową w rozc. 1:100 lub 1:200, miano badane zaś po 2-ach latach podniosło się niekiedy do 1:800.

Trudno byłoby również ujmować jako paraglutynację zjawisko że z 2-ech szczepów żółtych wyosobnionych w 2-ach różnych pokojach mieszkalnych, jeden szczep aglutynował się z surowicą durową w rozc. 1:400, drugi zaś 1:800.

Pozostaje jeszcze jedna sprawa dotycząca aglutynowania się szczepów żółtych przez surowice chorych na dur brzuszny oraz przez surowice durowe odpornościowe, mianowicie pewna chwiejność szczepów żółtych w środowisku zawierającym surowice chorych, wykazujących zwiększoną chwiejność kolloidową.

Zachodzi więc pytanie, czy i w surowicach durowych nie chodzi tylko o taką chwiejność kolloidową. W związku z tem należałoby przebadać jak zachowują się szczepy żółte w obecności innych surowic, wykazujących zwiększoną labilność.

Nasze dotychczasowe badania przemawiają jednak za pewną chwiejnością tych szczepów, albowiem szczepy żółte z naszych zbiorów, które aglutynowały się wysoko z surowicą durową, zlepiały się również pod wpływem surowic czerwonych, Shiga, Flexner, Strong i Y nieraz do wysokiego miana. Dalsze badania w tym kierunku są w toku.

P R O T K U Ł XII.

Szczepy	A g l u t y n a c j a z s u r o w i c a m i									
	Ty	P. A.	P. B.	P. C.	Gärtn.	Shiga	Flexn.	Strang	Y	Ty. flav.
B Ty flavum										
5235	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{50}$	—	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{400}$	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{1600}$
7335	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{50}$	—	—	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	—	—	$\frac{1}{50}$
11424	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{400}$	—	—	$\frac{1}{1600}$	—	—	—	$\frac{1}{800}$
3193	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{1600}$
12659	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	—	$\frac{1}{100}$	—	—	$\frac{1}{1600}$
12665	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	—	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{1600}$
12667	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	—	—	$\frac{1}{400}$	—	—	—	$\frac{1}{1600}$

Jak należy zatem pojmować obecność szczepów żółtych w posiewach z krwi? Czy jest to zwykle zanieczyszczenie z zewnątrz? Jak w takim razie wytłumaczyć sobie obecność w krwi chorych mocnych aglutynin dla tych szczepów przy jednoczesnej nieobecności aglutynin dla pr. durowych?

Czy należy sądzić, że prątki żółte związane są genetycznie z pr. duru brzuszego i stanowią jego formę rozsiewalną, podobnie jak opisana przez *Hadley'a* forma G pr. Shiga-Kruse, czy też są to saprofity, przypadkowo posiadające pewne struktury antygenowe podobne do struktury pr. durowych?

Jedynym faktem, któryby mógł niezbicie przekonać o genetycznym związku pr. żółtego z pr. durowym byłaby doświadczalna przemiana jednego w drugi, w jednym lub w drugim kierunku.

W dotychczasowych doświadczeniach nie udało nam się jednak tego otrzymać, wprawdzie *Gara i Stickl* oraz *Lotze* wspominają, że na 45 badanych przez nich szczepów żółtych 7 szczepów udało im się przekształcić w pr. durowe, jednakże badania te nie były dotąd potwierdzone.

Zachowanie się szczepów żółtych względem surowic chorych na dur brzuszny i względem surowic odpornościowych durowych jest ciekawym zjawiskiem teoretycznym, nie może być jednak uważane za bezwzględny dowód istnienia związku między pr. żółtymi i pr. durowymi.

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

1. Wyosobniono 180 szczepów żółtych, pochodzących z materiału zakaźnego, nadsyłanego do badania w kierunku duru brzuszego. Bliżej opracowano 80 szczepów, które wyhodowano 41 razy z krwi, 6 z kału, 13 z moczu, 6 z wody, 1 z masła i 1 z wydzieliny nosa.

2. Biochemiczne własności szczepów są prawie jednolite. Nie zakwaszają laktozy, zakwaszają bez wytwarzania gazu dekstrozę, sacharozę, mannit, maltozę (nie zawsze), w temperaturze zarówno pokojowej, jak i 37°. Rozrzedzają żelatynę po dłuższym lub krótszym czasie.

3. Własności serologiczne: 81% szczepów żółtych aglutynuje się z surowicami grupy durowej. Miano aglutynacyjne wahało się od $\frac{1}{100}$ do $\frac{1}{800}$. Niektóre szczepy durowe aglutynują się z surowicami, skierowanymi przeciwko szczepom żółtym, miano aglutynacyjne wynosiło $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{800}$.

Na 680 zbadanych surowic nadesłanych do badania na odczyn Widala w 50,4% otrzymano aglutynację ze szczepami żółtymi. Miano aglutynacyjne wahało się od $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{1600}$. Z 98 surowicami chorych odczynu Widala nie otrzymano, natomiast odczyn aglutynacyjny był dodatni ze szczepem żółtym, przyczem w posiewach z krwi tych chorych 6 razy wyhodowano pr. durowe.

4. Poza szczepami żółtymi wyosobnionymi z ustroju chorych, wyhodowano szereg szczepów żółtych z powietrza w mieszkaniach, gdzie nie było przypadków duru brzuszego. Własności biochemiczne i serologiczne szczepów żółtych z powietrza były identyczne z temi, które wykazały szczepy wyhodowane od chorych.

De l'Institut d'Hygiène d'Etat à Varsovie.
Département de Bactériologie et med. expérimentale.

SUR LES PROPRIETES BIOCHIMIQUES ET SEROLOGIQUES DE BAC. TYPHI FLAVUM.

P a r
J. SEYDEL.

R É S U M É.

Pendant trois années on a isolé 180 souches de bac. typhi flavum, 80 d'entre elles étaient soumises à une analyse très minutieuse. Les souches en question ont été isolées 41 fois du sang, 6 fois de selles, 13 fois de l'urine, 6 fois de l'eau, 1 fois du beurre, une fois de sécrétion nasale.

Au point de vue de morphologie le bac. typhi flavum est un batonnet mobile qui ne prend pas le Gram. Les propriétés biochimiques de ces bac. sont uniformes. Ils ne fermentent jamais le lactose, par contre fermentent sans production de gaz le dextrose, le saccharose, la mannite, le maltose. Le petit lait tournesolé est alcalinisé, le lait tournesolé est coagulé au bout de 4 — 6 jours. Les cultures de bac. typhi flavum ne produisent jamais d'indol. Ils liquéfient la gélatine, ne produisent pas de sulfure d'hydrogène, ne sont pas lysés par les bacteriophages du groupe ty-coli. L'examen de 74 souches de ces bac. sur les milieux synthétiques de Pesch démontra, que 4 parmi ces souches se comportaient au point de vue de leur métabolisme électif

comme les bac. typhiques. Une souche se comportait comme le bac. coli. Le métabolisme électif des autres souches ne présentaient rien de caractéristique ni pour le bac. typhique, ni les paratyphiques ni le bac. coli.

81 p. c. de souches jaunes sont agglutinées par les sérums du groupe paratypho-typhique. Le titre oscille entre $\frac{1}{100}$ et $\frac{1}{800}$. Certaines souches du B. typhique sont agglutinées par les sérums anti B. typhi flavum, le titre varie de $\frac{1}{100}$ a $\frac{1}{800}$.

D'entre 680 sérums des malades examinés par nous, dans 284 sérums à la réaction positive de Widal on observait l'agglutination de bac. jaunes, le titre varie de $\frac{1}{100}$ a $\frac{1}{1600}$. 98 sérums envoyés pour la réaction de Widal agglutinaient uniquement le bac. jaunes, l'hémoculture révéla en ces cas 6 fois le B. typhique.

Outre les souches jaunes isolées des matières infectieuses on a cultivé le *B. typhi flavum* de l'air dans les appartements particuliers, ou il n'y avait aucun cas de la fièvre typhoïde. Les propriétés biochimiques et sérologiques de souches isolées de l'air étaient identiques avec celles de souches jaunes, isolées de matières infectieuses.

P I Ś M I E N N I C T W O.

- 1) Boit. Inaug. Dessertat. Jena 1905. 2) Löffler. Deutsche Med. Woch. Nr 8, 1906. 3) Klimenko. C. f. B. Orig. Bd. 43 755. 4) Gräff. Zeit. f. Hyg. H. 54 201. 5) Baumgärtel. Zeit. f. Hyg. H. 85 1918. 6) v. Hövel. C. f. B. Bd. 77 1915. 7) Köhlisch. C. f. B. Orig. Bd. 78 1916. 8) Dreseli Stickl. Deutsche Med. Woch. Nr 13 1928. — Arch. f. Hyg. Bd. 104 1930. 9) Stickl. Krankheitsforsch. Bd. 5, H. 1 1927—Deutsche Med. Woch. Nr 28 1927. 10) Dreseli Stickl. Deutsche Med. Woch. Nr 13 1928. 11) Gara i Stickl. C. f. B. Orig. Bd. 117 1930. 12) Sonnenschein. C. f. B. Orig. Bd. 119 H. $\frac{3}{4}$ 1930. 13) Lotze. C. f. B. Orig. Bd. 121 1931. 14) Sprawozdanie ze Zjazdu Mikrobiologów. C. f. B. Orig. Bd. 122, H. $\frac{1}{3}$ 1931.

Wpłynęło 9.VII.1932

Z pracowni Mikrobiologicznej Wolnej Wszechnicy Polskiej

(Kier. Dr. A. Ławrynowicz)

SPOSTRZEŻENIA NAD METODĄ WYOSABNIANIA BAKTERYJ PROTEOLITYCZNYCH (KAZEOLITYCZNYCH), TLENOWYCH MLEKA ORAZ NAD ICH WŁASNOŚCIAMI

P o d a ł a

N. ROTKOPFÓWNA

Bakterje proteolityczne (kazeolityczne) mleka posiadają znaczenie praktyczne ze względu na zdolność rozkładania substancji białkowych mleka. Substancje powstające w wyniku rozkładu mleka (peptony i i.) nie są obojętne dla ustroju niemowląt, mogą one powodować mniej lub więcej ciężkie zaburzenia jelitowe.

Do badania własności proteolitycznych drobnoustrojów w praktyce codziennej bakterjologicznej używa się żelatyny. Wymagało wyjaśnienia pytanie, czy rozkład żelatyny i kazeiny przez bakterje proteolityczne mleka idzie równolegle, czy można w badaniu bakteryj kazeolitycznych mleka posilkować się żelatyną jako podłożem, czy też należy do tego celu zastosować podłoże specjalne.

Szczepy do badania wyodrębniałam z podłoża żelatynowego i kazeinowego. Metodyka otrzymywania szczepów z żelatyny była następująca: Mleko rynkowe rozcieńczone (1:100.000 — 1.000.000) zasiewałam na zwykłą żelatynę, kolonie rozrzedzające przesiewałam na agar; czystość hodowli sprawdzałam posiewem rysami na płytkach agarowych.

Z podłoża kazeinowego (metodykę sprawdzania ob. niżej) przesiewałam kolonie otoczone przezroczystymi polami.

Szczepy otrzymane zasiewałam w celu zbadania ich własności na rozmaite odmiany substancyj białkowych: żelatynę, kazeinę, ściętą surowicę końską, ścięte białko jaja kurzego, mleko, na buljon trypsynowy, również na wodę peptonową z dodatkiem 1% glukozy, laktozy i mannitu.

Na podłożu żelatynowym siałam badane szczepy przez wkłucie.

Badanie rozkładu kazeiny wykonane być może dwiema metodami: jedna polega na badaniu zasianego danym drobnoustrojem mleka na obecność produktów rozkładu kazeiny, druga posługuje się specjalną pożywką kazeinową.

Metodą pierwszą posługiwali się w niektórych swych pracach badacze angielscy *Frazier i Rupp*. Posiewali oni drobnoustroje otrzymane z mleka na mleku sterylizowanym, które badali następnie na obecność tryptofanu, posługując się próbą bromową (tryptofan w obecności wody bromowej daje różowe zabarwienie).

Metodą drugą posługiwał się cały szereg autorów.

Freudenreich używał w swych pracach agaru mlecznego (10% mleka sterylizowanego w agarze zwykłym). To najprostsze z podłoży kazeinowych okazało się niezdatne do użytku z tego względu, że bakterje kwasotwórcze w obecności cukru dają na niem ten sam obraz co kazeolityczne.

Ayers stosował podłoże, które sporządzał w sposób następujący: 10 gr. kazeiny rozpuszcza się, gotując, w 300 cm³ wody destylowanej do której dodaje się 1 cm³ N ługu sodowego. Pozostawia się, dla lepszego rozpuszczenia kazeiny, płyn na kilka godzin, następnie dopełnia się wodą destylowaną do 500 cm³. Osobno rozpuszcza się 10 gr. agaru w 500 cm³ wody destylowanej, miesza oba płyny, sączy, rozlewa do probówek i wyjaławia.

Wspomniani już wyżej badacze angielscy *Frazier i Rupp* wyszli ze słusznego założenia, że najlepszym podłożem kazeinowym byłoby podłoże w którym kazeina występowałaby możliwie w takiej postaci, roztworze i środowisku, w jakim występuje w mleku i podali na tej zasadzie pożywkę w której jakby zrekonstruowali występujący w świeżym mleku kazeinowy fosfat wapnia.

Podłożem tem posługiwałam się w niniejszej pracy. Sposób jego przyrządzenia jest następujący: 3,5 gr. kazeiny Hammarstena moczyć przez 15 minut w 150 cm³ wody destylowanej. Dodać 72 cm³ nasyconej wody wapiennej. Wstrząsać w celu łatwiejszego rozpuszczenia kazeiny; dodać 0,35 gr. cytrynianu potasu i wstrząsać do zupełnego rozpuszczenia kazeiny. Dodać 10 cm³ podwójnie stężonego wyciągu z mięsa wołowego. Dopełnić wodą destylowaną do 300 cm³. Dodać 100 cm³ 0,15 % roztworu chlorku wapnia i 100 cm³ roztworu fosfatu o pH 7,4 zawierającego 0,105 % Na₂HPO₄·2H₂O i 0,035 % KH₂PO₄. Otrzymane 500 cm³ roztworu kazeiny rozlać do 200 cm³ flaszek po 50 cm³ i wyjałowić w autoklawie pod ciśnieniem 1,5 atmosfer w ciągu 15 minut.

Pożywka gotowa powinna po wyjałowieniu opalizować i mieć pH 7,0.

Oddzielnie przygotować 3 % płukany agar i rozlać do butelek po 50 cm³. Przed użyciem rozpuścić agar i ogrzać roztwór kazeiny. Agar wlać do butelek z roztworem kazeiny i dokładnie zmieszać. Rozlać na płytki. Roztwór kazeiny bez agaru można często ogrzewać bez wpływu na jakość pożywki, po zmieszaniu z agarem należy ją odrazu rozlać na płytki, gdyż podczas ogrzewania mieszaniny kazeiny z agarem tworzą się kłaczkki.

Na podłożu *Frazier* i *Ruppa* na zlekką mętnawem tle widać wyraźnie przezroczyste pola, występujące w miejscach wzrostu kolonij bakterij kazeolitycznych.

Hodowle otrzymane z posiewów mleka zasiewałam rysam; na powierzchni podłoża.

Surowicę końską ścinałam skośnie w probówkach 3 dni z rzędu po pół godziny w t. 90° C.

Ścięte białko jaja kurzego sporządzałam w ten sam sposób.

Metodyka badania zdolności peptonizowania mleka przez drobnoustroje napotykała na dość duże trudności ze względu na to, że albumina mleczna, tak jak i pepton daje reakcję biuretową.

Postępowałam więc w sposób następujący: mleko wyjaławiałam bezpośrednio po udoju. Na części wyjałowionego mleka wykonywałam próbę biuretową w celu sprawdzenia, czy nie zawiera peptonu. Próbę tę wykonywałam w ten sposób, że przedewszyst-

kiem kwasem octowym i czterochlorkiem węgla strącałam wszystkie ciała białkowe mleka (przepis *Serkowskiego*: na 10 cm³ mleka podzielać kilkoma kroplami kwasu octowego i 1 cm³ czterochlorku węgla. Ogrzać i przesączyć) i dopiero na tej serwatce bezbiałkowej wykonywałam próbę na pepton, polegającą na tem, że siarczany miedzi i ług sodowy dają w obecności peptonu zabarwienie ametystowe. (Pg. *Serkowskiego*: 5 cm³ serwatki potraktować 1 cm³ 1% CuSO₄ i 2 cm³ 10% NaOH). Jeśli mleko okazywało się zdatne do użytku, t. zn., nie zawierało peptonu, posiewałam na nie szczepy badane i po 24 godzinach postępowałam z niem tak, jak z mlekiem jałowem a więc strącałam wszystkie ciała białkowe i na otrzymanej serwatce wykonywałam próbę peptonową.

Zbadałam ogółem 103 szczepy proteolityczne tlenowe, z których 79 wyodrębniłam z podłoża żelatynowego, 24 z podłoża kazeinowego.

Wśród 79 szczepów wyodrębnionych z żelatyny, pałeczek Gr — było 66, pałeczek Gr + 9 (6 zarodnikujących, 3 niezarodnikujące) i ziarników 4.

Wzrost tych drobnoustrojów w t. 37° C był na wszystkich podłożach naogół dość obfity i odbywał się również i w temperaturze pokojowej, lecz znacznie wolniej.

Żelatynę rozrzedzały dość intensywnie, w 55 przypadkach po 2 — 4 dobach. Najdłuższy okres do wystąpienia rozrzedzenia trwał 23 dn. (1 szczep b. cloacae Jordani i 1 b. incanum Pohl).

Na agarze wzrost był zawsze obfity, niekiedy występował barwik biały lub białawy, rzadziej żółty lub żółtawo-zielony (8), oraz zielony rozpuszczalny (3).

Na podłożu kazeinowym drobnoustroje rosły bardzo dobrze. Wzdłuż rysy posiewu rozwijały się białe, połyskujące kolonje.

Rozkład kazeiny można było zaobserwować czasem już po kilkunastu godzinach; najpóźniej występował po 3 — 4 dobach. Podłoże pozostawione dłużej w cieplarni ulegało stopniowemu wysychaniu. Rozkład następował również w temperaturze pokojowej, lecz znacznie wolniej.

Wzrost na surowicy ściętej był mniej obfity niż na poprzednich podłożach, dość delikatny, kolonje często miały połysk. Rozkład szedł dość wolno. Rozpoczynał się najwcześniej po 3 do-

bach, zaznaczając się wgłębieniami, w miejscu posiania. (Występowała jakby falistość powierzchni podłoża). Najpóźniej wystąpiły takie wgłębienia po 23 dobach (1 szczep b. *incanum* Pohl). Rozkład prowadził do częściowego lub zupełnego rozpuszczenia podłoża. Przeważnie towarzyszyło rozrzedzeniu ściemnienie podłoża, które przybierało zabarwienie od kremowego do brunatnego. (To ostatnie w 4 przypadkach: 1 szczep bac. *mycoides* Flügge, 2 b. *incanum* Pohl i 1 b. *paracloacae*).

Rozrzedzenie następowało tylko w t. 37° C, w temperaturze pokojowej nie występowało.

Barwik wystąpił tylko u b. *fluorescens* (po 2—3 tygodniach) nie rozkładającego surowicy i nie był zielony, jak na innych podłożach, lecz żółty.

Najsłabszy wzrost obserwowałam na ściętym białku jaja kurzego. Kolonie były bardzo drobne, połyskujące, często zabarwione. Rozkład białka nieznaczny, rozpoczynający się najwcześniej po 4 dobach, nigdy nie prowadzący do całkowitego rozpuszczenia podłoża, zaznaczał się wgłębieniami w miejscu wzrostu. Zjawisku temu towarzyszyło zwykle nieznaczne ściemnienie podłoża.

Barwik występował bardzo często (37 razy) i to nierozpuszczalny (rozpuszczalny tylko w przypadku b. *fluorescens*). W dwóch przypadkach wystąpił u szczepów (b. *liquefaciens* Tataroff i b. *aquatile commune* Flügge), która później białko rozłożyły. Najczęściej występował barwik kremowy i jasno-żółty, rzadziej żółty, cytrynowy, pomarańczowy, brunatny. Barwik występował często po dłuższym czasie i tem się tłumaczy fakt że u drobnoustrojów rozkładających białko, trudno go było obserwować.

Jeżeli zestawić częstość występowania barwika na agarze i białku jaja kurzego, okaże się, że na 37 przypadków wystąpienia barwika na białku jaja kurzego, tylko 8 razy uwidocznił się on na agarze. (Pomijam w tem zestawieniu barwik biały, występujący dość często na agarze, gdyż barwik ten na białku się nie uwidacznia).

Ponieważ ścięte białko jaja kurzego jest podłożem na którym bardzo często uwidacznia się barwik, mimo, że na innych podłożach nie występuje, podłoże to może być wykorzystane przy ba-

daniach zdolności barwikotwórczych drobnoustrojów. Podał je do tego celu Ławrynowicz (1924 r.).

Próby na obecność peptonu w mleku okazały się w 55 przypadkach po 24 godzinach dodatnie, w 15 przypadkach rozkład był już posunięty dalej, gdyż próba wypadła słabo (+), w 9 przypadkach wypadła ujemnie. Można z tego wyciągnąć wniosek, że naogół biorąc, okres 24 godzinny jest dla drobnoustrojów zbyt krótki na to, aby rozłożyły cząsteczkę białkową do ciał abiuretowych.

Wśród 24 szczepów wyodrębnionych z podłoża kazeinowego dał się zauważyć większy procent ziarników i brak pałeczek Gr + (16 szczepów pałeczek Gr — i 8 szczepów ziarników).

Niektóre szczepy tych ziarników rozkładały, w przeciwieństwie do ziarników opisanych wyżej, surowicę i białko jaja kurzego, lecz również w nieznacznym stopniu.

Pałeczki Gr — nie różniły się naogół od pałeczek wyodrębnionych z podłoża żelatynowego, można tylko stwierdzić mniej intensywny rozkład żelatyny.

Szczepy wyhodowane należały do 14 gatunków, a mianowicie: (Uszeregowane są w zależności od zdolności fermentacyjnych).

I. Pałeczki GR —

1. *Bacterium cloacae* Jordani (13 szczepów — z podłoża kazeinowego). 2. *Bacterium cloacae anindolicum* (14 szczepów — 12 z podłoża żelatynowego, 2 z kazeinowego). 3. *Bacterium paracloacae* (3 szczepy z podłoża żelatynowego). 4. *Bacterium punctatum* Zimmermann (2 szczepy z podłoża żelatynowego). 5. *Bacterium fluorescens* Flügge (3 szczepy z podłoża żelatynowego). 6. *Bacterium vulgare* Hauser (2 szczepy z podłoża żelatynowego). 7. Grupa *bacterium aquatile commune* Flügge 5 szczepów — 1 z podłoża żelatynowego, 4 z kazeinowego). 8. *Bacterium liquefaciens* Tataroff (12 szczepów z podłoża żelatynowego). 9. *Bacterium incanum* Pohl (28 szczepów — 18 z podłoża żelatynowego, 10 z kazeinowego).

II. Pałeczki Gr +

(Wszystkie z podłoża żelat.) a) bezzarodnikowe: 10. *Bacterium album cadaveris* Strassmann i Strecker (1 szczep), 11. *Bacterium fulvum* Zimmermann (1 szczep), b) zarodnikujące: 12. *Bacillus subtilis* F. Cohn (2 szczepy), 13. *Bacillus mycoides* Flügge (5 szczepów).

III. Ziarniki.

14. Gronkowce (12 szczepów — 4 z podłoża żelatynowego, 8 z kazeinowego).

W określaniu przynależności gatunkowej opierałam się na podręczniku *Lehmann*a i *Neumann*a oraz na materiałach zgromadzonych w pracy *Goldman*ówny

Krótką charakterystykę bakterij badanych podaję.

Bacterium Cloacae Jordani.

Gatunek ten wyodrębniono w 13 przypadkach.

Stwierdzono tylko odmianę zakwaszającą laktozę.

Wszystkie szczepy posiadały naogół cechy typowe. Z cech nietypowych zaznaczyć należy pewne wahania w sile fermentacyjnej na podłożach węglowodanowych, np. brak zdolności wytwarzania gazu na mannicie (4 razy) i glukozie (3 razy).

Z 13 szczepów żelatynę i kazeinę rozkładają wszystkie, surowicę 9, białko jaja kurzego — żaden, lecz w 10 przypadkach wytwarzają na tem podłożu kremowy, żółty lub cytrynowy barwik; 11 peptonizuje mleko.

Bacterium cloacae anindolicum.

Bakterje tej grupy wykryto w 14 przypadkach (12 szczepów z żelatyny, 2 z kazeiny).

Żelatynę rozrzedzały wszystkie, kazeinę w 13 przypadkach, surowicę w 5, białko jaja kurzego w 1, przyczem 3 szczepy wytwarzały na tem podłożu kremowy barwik; pepton w mleku występował u 12 szczepów.

Bacterium Paracloacae.

Różni się od *bacterium cloacae* Jordani częściowym brakiem cech typowych (mniejsza zdolność fermentowania węglowodanów oraz wahania w zdolności wytwarzania indolu).

Wyodrębniono drobnoustrój ten w 3 przypadkach z podłoża żelatynowego.

Żelatynę, kazeinę i surowicę rozkładają, białko jaja kurzego rozkłada 1 szczep i 1 wytwarza kremowy barwik. mleko peptonizują.

Bacterium punctatum Zimmermann.

Wyhodowano 2 szczepy zachowujące się typowo.

Żelatynę i kazeinę rozrzedzają, surowicy i białka jaja kurzego nie rozrzedzają, przyczem na tem ostatniem podłożu 1 szczep wytwarza kremowy barwik. Mleko peptonizują.

Bacterium Fluorescens Flügge.

Wyodrębnione 3 szczepy zachowywały się typowo.

Żelatynę i kazeinę rozrzedzały wszystkie, surowicy i białka jaja kurzego — żaden, na mleku pepton wytwarzał się w małych ilościach.

Bacterium vulgare Hausser.

Wyodrębniono drobnoustrój ten w 2 przypadkach.

Żelatynę i kazeinę rozrzedzają, surowicę i białko jaja kurzego — nie, pepton na mleku obserwowano w 1 przypadku.

Grupa bacterium Aquatile Commune Flügge.

Wyhodowano 5 szczepów (1 z żelatyny, 4 z kazeiny), w żadnym fermentacja wodoru nie nastąpiła. 1 szczep wykazał zdolność odbarwiania lakmusu.

Z cech nietypowych wymienić należy brak u 1 szczepu zdolności wytwarzania indolu.

Żelatynę i kazeinę rozkładają wszystkie, surowicę 4 (1 bardzo słabo), białko jaja kurzego 2 (1 nieznacznie), przyczem na tem podłożu wystąpił w 3 przypadkach barwik (kremowy, żółty i pomarańczowy); mleko peptonizowały wszystkie.

Bacterium liquefaciens Tataroff.

Drobnoustrój ten wykryto w 12 przypadkach.

Naogół szczepy wyhodowane posiadały cechy typowe. Występowały tylko pewne wahania w sile fermentacyjnej na podłożach węglowodanowych; podczas gdy stosunek do glukozy i laktozy był u wszystkich szczepów jednakowy, mianowicie, glukozę rozkładały bez wytwarzania gazu, laktozy wcale nie rozkładały, w stosunku do mannitu wykazywały pewne wahania (10 szczepów mannitu nie rusza, 2 zakwaszają).

Żelatynę rozrzedzają wszystkie szczepy, kazeinę w 10 przypadkach, surowicę w 2, białko jaja kurzego w 3, przyczem w 5 występował barwik (kremowy, jasny-żółty, pomarańczowy, brunatno-żółty). Mleko peptonizowały wszystkie szczepy.

Bacterium incanum Pohl.

Drobnoustrój ten wyodrębniono w 28 przypadkach (18 z żelatyny, 10 kazeiny).

Wszystkie szczepy zachowywały się naogół typowo, z cech nietypowych zaznaczyć należy, że 2 szczepy nie rozrzedzały żelatyny.

Rozkład żelatyny nastąpił w 26 przypadkach, kazeiny w 23, surowicy w 13 (w 3 przypadkach podłoże stało się brunatne), białka jaja kurzego w 2, przyczem u 13 szczepów wytworzył się na tem podłożu barwik (kremowy, słaby-żółty, żółty, cytrynowy, brunatny), mleko peptonizowały w 23 przypadkach.

Bacterium album cadaveris Strassmann i Strecker.

Pałeczkę tę wykryto w 1 przypadku.

Żelatynę i kazeinę rozrzedza, surowicy i białka jaja kurzego nie, mleko peptonizuje.

Bacterium fulvum Zimmermann.

Drobnoustrój ten wyodrębniono w 1 przypadku.

Szczep ten indolu nie wytwarzał.

Żelatynę rozrzedza powoli, kazeinę rozkłada, surowicy i białka jaja kurzego — nie, lecz tworzy na niem słaby, żółty barwik; mleka nie peptonizuje.

Bacillus subtilis F. Cohn.

Drobnoustroje te wyhodowano w 2 przypadkach. Zakwaszały glukozę i laktozę.

Żelatynę, kazeinę i surowicę rozkładały, białka jaja kurzego nie, pepton na mleku wytworzony był w 1 przypadku.

Bacillus mycoides Flügge.

Drobnoustrój ten wyodrębniono w 5 przypadkach. Cukier gronowy został zakwaszony tylko przez 3 szczepy. Laktoza pozostawała bez zmiany.

Żelatynę i kazeinę rozrzedzają wszystkie szczepy, surowicę 3, białka jaja kurzego nie rozkładają wcale (w 1 przypadku wystąpił jasno-żółty barwik), mleko peptonizują.

Gronkowce.

Wyodrębniono 12 szczepów (4 z żelatyny, 8 z kazeiny).

Żelatynę rozkładało 9 szczepów (ze szczepów kazeinowych 5), kazeinę wszystkie, surowicę 3 (tylko kazeinowe — 1 bardzo słabo), białko jaja kurzego 6 (tylko kazeinowe — 1 bardzo słabo), mleko peptonowało 11 (2 bardzo słabo).

Drobnoustroje proteolityczne tlenowe, występujące w mleku rynkowem są to przeważnie pałeczki Gr — (82 szczepy na 103), przyczem znaczna ich część (33 na 82) ma własności mieszane, mianowicie zakwaszają cukier mlekowy i rozkładają kazeinę; inne bądź ścinają kazeinę a później ją rozpuszczają, bądź bez uprzedniego ścięcia powodują jej rozkład.

Ogólne zestawienie zdolności rozkładu badanych ciał białkowych wykazuje, że:

	Liczba szcz. żel.	Liczba szcz. kaz.	Łączna liczba szcz. żel. i kaz.
Ogółem	79	24	103
Rozkłada żelatynę	79 — 100%	19 — 79,1%	98 — 95,1%
Rozkłada kazeinę	73 — 92,4%	24 — 100%	97 — 94,4%
Rozkłada surowicę	32 — 40,5%	12 — 50%	44 — 42,7%
Rozkłada białko jaja kurzego . .	5 — 6,3%	10 — 41,5%	15 — 14,5%

Z tabelki powyższej i z toku pracy można wnioskować, że do badania własności kazeolitycznych drobnoustrojów mleka najlepiej nadaje się specjalne podłoże kazeinowe, a to ze względu na to, że nie wszystkie drobnoustroje rozkładające kazeinę rozpuszczają jednocześnie żelatynę oraz ze względu na to, że odczytywanie wyników na podłożu kazeinowym jest znacznie pewniejsze i łatwiejsze niż na żelatynowym.

Co do rozkładu innych badanych podłoży białkowych, rozrzedzenie surowicy ściętej idzie u szczepów wyodrębnionych z podłoża kazeinowego i żelatyny mniej-więcej jednakowo często (z przewagą na stronę szczepów kazeinowych), rozrzedzenie natomiast ściętego białka jaja kurzego występuje znacznie częściej u szczepów z podłoża kazeinowego niż z żelatyny, przyczem znaczny procent przypada na ziarniki, które w grupie szczepów wyodrębnionych z żelatyny nie rozkładają ani surowicy ani białka jaja kurzego.

Z podanego zestawienia wynika również, że najłatwiej ulega rozkładowi z badanych substancyj białkowych żelatyna, następnie kazeina, dalej ścięta surowica krwi, najtrudniej ulega rozkładowi ścięte białko jaja kurzego.

Z faktów tych wynika, że nie można zasadniczo mówić o ogólnych własnościach proteolitycznych drobnoustrojów lecz o własności rozkładu poszczególnych ciał białkowych, czyli, że każde ciało białkowe wymaga działania specjalnego fermentu.

Dużą rolę odgrywa również środowisko.

W N I O S K I.

1. Wśród bakterij proteolitycznych mleka rynkowego przeważającą postacią są pałeczki Gr — (82 szczepy na 103 — 79,6%).
2. Znaczna większość (97 szczepów na 103—94,4%) drobnoustrojów proteolitycznych mleka rozkłada kazeinę.
3. Nie wszystkie szczepy rozkładające kazeinę rozrzedzają żelatynę; z tego względu do wyosobniania bakterij kazeolitycznych wskazaniem jest stosowanie specjalnego podłoża kazeinowego. Podłoże kazeinowe *Frasiera* i *Ruppa* dobrze nadaje się do tego celu.

4. W ciągu 24 godzin drobnoustroje rozkładają kazeinę prze-
ważnie do peptonów (73 szczepy na 103—70,8%), niewielka tylko
liczba bakteryj (12 szczepów na 103—11,6%) doprowadza w ciągu
tego czasu rozkład do ciał abiuretowych.

5. Dla rozkładu poszczególnych rodzajów ciał białkowych
konieczne są specjalne warunki (rodzaj zaczynu, odczyn środo-
wiska).

6. Ścięte białko jaja kurzego dobrze nadaje się do stwier-
dzenia własności barwikotwórczej drobnoustrojów.

Microbiological Laboratory of the Free University of Poland.
(Dir. Prof. Dr. A. Ławrynowicz).

REMARKS ON THE METHODS OF ISOLATION OF PROTEOLYTIC (CASEOLYTIC) AEROBIC-BACTERIA OF MILK AND ON THEIR PROPERTIES.

by

N. ROTKOPF.

SUMMARY.

The purpose of this work is to determine methods of inve-
stigating milk on the presence of proteolytic bacteria.

These remarks are summarised in the following conclusions.

1. Among 103 strains of proteolytic bacteria cultivated from
market milk 82 strains (79.6 percent) consisted of gramnegative
rods.

2. The great majority (97 strains of 103 — 94,1 percent) of
proteolytic milk-bacteria decomposes casein.

3. Not all strains decomposing casein liquefy gelatine; for
this reason it is desirable to use a special casein medium. *Frazier's*
and *Rupp's* casein-medium is recommended for this purpose.

4. The cultivated microorganisms digest caseino within 24 hours mostly to peptones (70,8 percent) while in few instances (11.6 percent) peptones were digested to amino-acids.

5. Special conditions (the kind of enzyme and the reaction of the media used) are indispensable for the decomposition of certain proteins.

6. Precipitated egg white is recommended for the tests on the chromogenic properties of bacteria.

P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Ayers. (Wg. Omelańskiego Praktyczeskoje rukowodstwo po mikrobiologii. Petr. 1922, 261. 2) Goldmanówna. Archiwum Hydrobiologii i Rybactwa T. II, Nr 3 — 4, 1927. 3) Frasier i Rupp. J. Bacteriol. Vol. 16, str. 57 — 63 i 65 — 78, 1928. 4) Freudenreich. (Wedł. Serkowskiego). 5) Lehmann u. Neumann. Bakteriologische Diagnostik, München, 6 Aufl., 1920. 6) Ławrynowicz A. Prace Komisji Lekarskiej Pozn. Towarz. Przyj. Nauk T. II, z. 4. Poznań. 1924. 7) Serkowski S. Mleko i mleczarstwo. Warsz. 1917.

Wpłynęło 10.X.1932.

Z Kliniki Dermatologicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego
Dyrektor Prof. Dr. Fr. Walter.

STUDJA IN VIVO NAD CYTOLOGJĄ KRWI SZPIKU KOSTNEGO W PRZEBIEGU KIŁY.

P o d a l i

Prof. Dr. FR. WALTER i Dr. R. TRZEBICKY.

W okresie rozsiewania się krętków białych w ustroju w następstwie zakażenia kiłowego, niema narządu, do którego krętki nie mogłyby wtargnąć. Pobyt krętków białych w tych narządach wywołuje znane objawy chorobowe przejściowe lub trwałe. Pod wpływem więc zakażenia kiłowego musi znajdować się i krew a przede wszystkim narządy krwiotwórcze, dostarczające składników morfologicznych krwi.

Sprawą zachowywania się krwi w przebiegu zakażenia kiłowego zajmowało się wielu badaczy; badania hematologiczne jednakowoż dopiero wówczas mogły być skierowane na właściwe tory, kiedy rozwinęła się technika barwienia, a nauka *Ehrlicha*, *Pappenheima*, *Naegелеgo* zdołała rzucić światło na znaczenie zmian chorobowych powstających we krwi obwodowej.

W następstwie tych zdobyczy badania krwi, kiła stała się ośrodkiem szczegółowych badań, zajmujących dziś jeszcze umysły badaczy, że wspomnę tylko o ostatnich badaniach *Meinickiego* nad krzepliwością krwi w przebiegu kiły. Mimo licznych badań i bar-

dzo obfitego piśmiennictwa stwierdza się niejednokrotnie znaczną rozbieżność zdań co do występowania nieprawidłowych stosunków we krwi kiłowych. Obraz ciałek białych krwi, tak pod względem zmian jakościowych jak i ilościowych, rozmaicie przez różnych autorów bywa ujmowany. Możemy śmiało powiedzieć, że dziś jeszcze zmiany w krwi u kiłowych czekają na nowe badania i na właściwe ich oświetlenie.

Przyczyną tej rozbieżności zdań jest bezwątpienia brak systematycznych badań według pewnych jednolitych wytycznych. Towarzyszące przebiegowi kiły przypadkowe schorzenia mogą zmieniać właściwy obraz krwi, np. przypadkowo pojawiające się zwiększenie ilości ciałek białych eozynochłonnych krwi, dalej sposób życia chorego, sposób jego odżywiania, konstytucja ustroju i t. p.

Dotychczasowe badania hematologiczne odnosiły się głównie do zachowania się ilości hemoglobiny, czerwonych ciałek krwi, jak i wpływów leczenia na ich zachowanie się (*Tempka i Walter*). Najciekawsze zmiany dotyczą zachowania się ciałek białych krwi i ich badaniom poświęcono stosunkowo największą ilość prac. Ilościowe zachowanie się ciałek białych obojętnochłonnych lub limfocytów, ciałek eozynochłonnych, znaczenie ich dla zwalczania zakażenia kiłowego (*Bergel*) były przedmiotem licznych badań. Z nowszych badań na krótki czas zajęły umysły klinicystów wyniki spostrzeżeń *Antoniego* nad zwyrodniającym wpływem jadu kiłowego na jądra ciałek białych krwi. Badania *Marcjaniaka* wykonane w Klinice Dermatologicznej U. J. stwierdziły, że zmiany opisane przez *Antoniego* w jądrach ciałek białych krwi, nie są ani pod względem jakościowym, ani ilościowym patognomoniczne dla kiły. Trzeba je raczej uważać za wyraz szkodliwego działania na krew czynników toksycznych; badania te nie mają żadnego praktycznego znaczenia dla klinicysty.

Studja hematologiczne nad zachowaniem się krwi królików zakażonych kiłą w celach doświadczalnych, są dalszym etapem studjów hematologicznych w przebiegu kiły, jednakowoż ze względu na zupełnie odmienny materiał doświadczalny, pozwolić będą tylko mogły na wyciąganie niezupełnie pewnych wniosków

odnośnie do zmian zachodzących we krwi w przebiegu kiły u ludzi.

Wobec niezawodnego zajęcia wszystkich narządów krętkami bladymi w przebiegu kiły i widocznych zmian w składzie krwi, przypuszczać możemy, że zmianom chorobowym ulegnie przede wszystkim miejsce wytwarzania się części składowych krwi, t. j. szpik kostny.

Badanie bezpośrednie szpiku kostnego dostępne nam jest tylko w wyjątkowych i bardzo nielicznych okolicznościach i to przede wszystkim w przypadkach późnej kiły; o zachowaniu się szpiku kostnego w przebiegu wczesnych zmian kiłowych niczego pewnego nie wiemy. Obraz krwi obwodowej jest jedynym wskaźnikiem informującym nas o czynnościach szpiku kostnego.

Nowoczesne badania nad niedokrwistością i innemi chorobami krwi, stwierdziły doniosłe znaczenie badaniu krwi bezpośrednio otrzymywanej ze szpiku kostnego. W roku 1903 *Wolf* wydobywał in vivo szpik z kości goleniowej lub udowej a w r. 1908 *Ghedeni* dla celów rozpoznawczych wydobywał szpik kostny wywiercając trepanem czaszkowym otwór w kości. Z obrazu krwi obwodowej możemy w wielu przypadkach stawiać poprawne rozpoznanie, w przebiegu jednak atypowych schorzeń szpiku kostnego, jedynie na podstawie badania krwi obwodowej nie możemy ustalić właściwego rozpoznania. W tych trudnych warunkach doskonałym sposobem rozpoznawczym jest badanie bezpośrednio szpiku kostnego, wzgl. badanie krwi aspirowanej z jamy szpikowej kości.

Zasługą *Seyfartha* było wypracowanie metody badania szpiku kostnego, która jednakowoż nie mogła zyskać sobie powszechnego uznania, z powodu dość brutalnego zabiegu i niebezpieczeństwa następowego zakażenia. *Seyfarth* u ludzi in vivo po uprzednim znieczuleniu okolicy mostka, ewentualnie okolicy w obrębie 7-go lub 8-go żebra, po nacięciu skóry na przestrzeni 5 cm., otwierał zewnętrzną blaszkę mostka lub żebra i ostrą łyżeczką wyskrobywał szpik, który następnie roztarty na szkiełku podstawowem odpowiednio barwił. O wiele prostszą metodą i w zupełności bezpieczną podał *Arinkin*; pewną jej odmianą posługiwaliśmy się w naszych badaniach.

Badania *Łisicyna* objaśniły w sposób wystarczający stosunki anatomiczne w obrębie mostka, co znakomicie ułatwiło zabieg i pouczyło o rodzajach kości i przeszkodach jakie napotyka się przy tym zabiegu. W tych przypadkach, kiedy substancja zbita kości jest tak twarda, że nie można jej przebić, należy wykonać trepanację kości mostka.

Szpik mostka nadaje się najlepiej do badania u dorosłych od 15-go roku życia, główna bowiem masa szpiku ogranicza się do kości — płaskich, jak kręgów, żeber i mostka. W tych kościach spotyka się tylko u dorosłych właściwy czynny szpik kostny, obfitujący w komórki. W pierwszych latach życia żywy, czerwony szpik komórkowy znajduje się we wszystkich kościach, w późniejszych latach życia znika w kościach długich i zamienia się na szpik stłuszczony, ubogi w komórki.

Nakłucie szpiku kostnego *in vivo* w obrębie rękonożki mostka i badanie aspirowanej krwi z jamy szpikowej, pozwala stwierdzić w obrazie mikroskopowym krwi pewne zmiany chorobowe, świadczące o rozpoczynającym się lub trwającym schorzeniu krwi, mimo że w krwi obwodowej zmiany widoczne nie występują w typowej postaci. *Sokołowski* w chorobie Gauchera zamiast nakłucia śledziony, stanowiącego zabieg poważny, i niezawsze nawet prowadzący do celu, zaleca nakłucie szpiku rękonożki mostka, aby w obrazie aspirowanej krwi stwierdzić obecność charakterystycznych dla tej choroby tworów komórkowych. Toteż w badaniu chorób krwi nakłucie szpiku kostnego *in vivo* i badanie aspirowanej krwi z jamy szpikowej, zdobywa sobie pełne prawa obywatelstwa.

W obrazie cytologicznym krwi szpikowej, w porównaniu z obrazem krwi obwodowej uderza bardzo znaczna ilość ciałek białych oraz niespotykane w warunkach prawidłowych w krwi obwodowej, jądraziste ciała czerwone; tu i ówdzie spostrzega się pojedynczego normocyta polichromatycznego. Jądraziste ciała czerwone stanowią 0.2 — 0.8% ogólnej liczby erytrocytów. Spotyka się tam rozmaite postaci układu leukoblastycznego, zarówno myeloblasty, jako też ich pochodne metamyeloblasty, promyelocyty, myelocyty, metamyelocyty i ciała białe o jądrach sztabkowych i segmentowanych. W mniejszej ilości spostrzega się

limfocyty, względnie limfoblasty, podobnie jak i monocyty i komórki plazmatyczne. Postaci układu trombocytoblastycznego występują jako gotowe płytki względnie megakaryocyty, oraz megakaryoblasty. Z innych elementów komórkowych spotyka się bardzo charakterystyczne komórki Ferraty, w znacznych ilościach i skąpe histjocyty. Prócz tych dających się określić komórek spostrzegali *Tempka i Braun* komórki, których nie można było zaliczyć z całą pewnością do pewnego typu, i nazwali je komórkami limfoidalnymi ze względu na ich pewne podobieństwo do limfocytów.

Badania nad zachowaniem się krwi szpiku kostnego, ile mi wiadomo, w przebiegu kiły nie były dotychczas przez nikogo systematycznie przeprowadzone. Przypuszczaćby należało, że zmiany chorobowe w przebiegu kiły w różnych okresach mogą i powinny występować w szpiku kostnym i że moglibyśmy się o nich przekonać tylko na podstawie cytologicznego obrazu krwi szpikowej; badając krew z jamy szpikowej może znaleźlibyśmy klucz do rozwiązania zagadki zachowania się obrazu mikroskopowego krwi obwodowej w przebiegu kiły. Tą drogą możeby było można poznać przyczynę różnorodnych niekiedy wyników badań krwi, podawanych przez różnych autorów. Tą myślą powodowani przystąpiliśmy do systematycznego badania krwi szpikowej otrzymanej drogą nakłucia jamy szpikowej rękojeści mostka. Badania nasze wykonywaliśmy u chorych na kiłę w różnych okresach choroby, przyczem w pewnej części przypadków przeprowadzaliśmy równoczesne badania krwi obwodowej dla celów porównawczych; w niektórych przypadkach mogliśmy wykonać powtórne nakłucia szpiku — po skończonem leczeniu, aby przekonać się o ewentualnych zmianach w składzie krwi szpikowej powstałych pod wpływem swoistego leczenia. Niestety badania powtórne napotykały na zaciekły opór chorych, tak że niemożliwym było przeprowadzić ich systematycznie w każdym przypadku.

Nakłucie szpiku rękojeści mostka wykonywaliśmy w położeniu leżącym chorego, po uprzedniem przygotowaniu pola nakłucia (ewentualne ogolenie, oczyszczenie eterem lub jodbenzyną) znie-

przypadków kiły wrodzonej późnej (III-rz)	1
„ „ złośliwej	2
„ wiaǳu rdzenia.	1

Prawidłowy obraz krwi szpiku kostnego według *Tempki i Brauna* przedstawia się następująco:

Normoblasty ortochromatyczne	44 — 75%
Normoblasty polychromatyczne	25 — 56%
Reticulocyty	0.8%
Myeloblasty	4.66 — 7.5%
Metamyeloblasty	1.5 — 5.5%
Promyelocyty neutrochłonne	3.75 — 6.83%
„ eozynochłonne	0.55 — 0.66%
Myelocyty neutrochłonne	12.75 — 13.33%
„ eozynochłonne	1.5 — 2.66%
„ basochłonne	0.0 — 0.33%
Metamyelocyty neutrochłonne	14.33 — 16.25%
„ eozynochłonne	0.33 — 3.66%
„ basochłonne	0.0 — 0.16%
Sztabkowe neutrochłonne	17 — 22.5%
„ eozynochłonne	0.5 — 1%
„ basochłonne	0.0 — 0.16%
Płatowe neutrochłonne	16.16 — 20.33%
„ eozynochłonne	0.66 — 2.5%
„ basochłonne	0.16 — 0.33%
Limfoblasty	0.0 — 0.25%
Limfocyty	2.66 — 3%
Komórki plasmatyczne	0.25 — 1.66%
Monocyty	0.5 — 0.75%
Megakaryoblasty	0.16 — 1%
Megakaryocyty	2 — 3%
Komórki Ferraty	1.33 — 3.75%
Histiocyty	0.5 — 1%
Komórki limfoidalne	0.0 — 3%

Prawidłowy obraz krwi szpiku kostnego określić można jako normocyto-ziarnisty. Ilościowe zachowanie się ciałek białych nie wykazuje żadnych większych odchyłeń od normy; w przypadkach

chorobowych uwzględniać należy również zachowanie się jakościowe morfologicznych składników szpiku. Ilość czerwonych ciałek krwi obliczają *Tempka* i *Braun* na 4.5 milj. w 1 mm³. (w krwi obwodowej 4.4 milionów $\pm$ 0.2% reticulocytów, ilość ciałek białych — 55200 w 1 mm³. we krwi obwodowej 7.100).

Tymczasowe wyniki naszych badań odnoszące się do obrazu cytologicznego ciałek białych, wykonane u 22 chorych kiłowych przedstawiają się jak następuje.

W załączonej tabeli zamieściliśmy wyniki badań cytologicznych krwi szpiku chorych na kiłę przed leczeniem. Z wyników tych przede wszystkim można wnioskować o zwiększonej ilości limfocytów w krwi szpiku kostnego, analogicznie do zachowania się limfocytów we krwi obwodowej. Przeciętna liczba limfocytów według *Tempki* i *Brauna*, wynosi 2.95%; w naszych obrazach krwi znaleźliśmy liczby przewyższające wybitnie przeciętne liczby limfocytów, spotykane w krwi szpiku kostnego. Ilość limfocytów wahała się od 5.25 — 28% bez względu na postać kiły.

Ilościowo myeloblasty i metamyeloblasty były zmniejszone również bez względu na postać kiły. Ogólna liczba ciałek białych obojętnochłonnych (a więc promyelocytów, myelocytów, metamyelocytów, pałeczkowych i segmentowanych) uległa zwiększeniu w 12 przypadkach, w 10 natomiast była zmniejszona. Jednakowoż wobec wzmożenia się ilościowego limfocytów, zmniejszenie się ilościowe innych ciałek białych może być zjawiskiem względnym i następstwem.

Ilość monocytów ulegała zwiększeniu i to w znacznych granicach od 3 — 9,66% (według *Tempki* i *Brauna* 0,62%), i tylko w 5-u przypadkach stwierdzić można było zmniejszenie się ilości monocytów względnie utrzymanie się ich liczby w granicach mniej więcej prawidłowych.

Ciałka białe eozynochłonne ulegały ilościowemu zwiększeniu stosunkowo rzadko (4 przypadki), raczej było ich mniej niż zazwyczaj.

Obraz krwi szpiku kostnego po skończonem leczeniu przedstawiał się jak następuje.

Limfocyty nie znajdowały się już w tak znacznej ilości jak w przypadkach badanych przed leczeniem. W 5-u przypadkach

T A B L I C A I.

Uproszczone zestawienie wyników badania cytologicznego krewi szpiku kostnego.

Przypadki nieleczone.

	Przeciętn. prawidłowo	Sclerosis initialis	"	"	Lues secund.	"	"	"	"	"	"
Myeloblasty	% 8.83	% 30%	% 0	% 3	% 6	% 63	% 8	% 5.75	% 3.50	% 3	% 1.25
Metamyeloblasty . .											
Ciałka białe neutrochłonne (Promyelocyty, Myelocyty, Metamyelocyty, Pałeczkowe, Segmentowane	71.52	73	78	78	64	51.99	64	76.75	79.75	67.20	76
"eozynochłonne" . .	6.95	1.5	1.65	4	5.2	2.3	8.5	5.5	1.50	8.80	4.75
Limfocyty	2.95	17	22.99	11	20.6	20.33	12	6.75	10	14.4	12.75
Komórki plazmatyczne .	0.95	1.0	0.33	0.75	1.2	3	1	1.25	0.5	1	1.5
Monocyty	0.62	3	0.66	0.75	0.6	6.66	6	2.75	1.75	6.4	1.25

ilość limfocytów była znacznie zwiększoną, w granicach od 9,25—12%, w 2 przypadkach miernie od 3,66—6%, a w jednym nawet przypadku spadła poniżej normy do 2% a mianowicie w przypadku drugorzędnej kiły leczonej. Również limfocytoza w przypadku badanym w 6 miesięcy po skończonem leczeniu, przy braku objawów klinicznych i przy ujemnych odczynach serologicznych wykazywała stosunki mniej więcej prawidłowe. W tych przypadkach, w których limfocytoza była zwiększoną, odczyny serologiczne w 3 przypadkach były dodatnie, poza tem były ujemne.

Ogólna ilość meyeloblastów i metamyeloblastów ulegała również zmniejszeniu.

Ilość ciałek białych obojętnochłonnych w 5 przypadkach była większa niż w warunkach prawidłowych, w 1 przypadku utrzymywała się na zwykłym poziomie, a w 2 przypadkach uległa zmniejszeniu.

Ilość ciałek białych eozynochłonnych w 2 przypadkach uległa zwiększeniu, w 4 zmniejszeniu, a w 2 przypadkach utrzymała się w granicach prawidłowych.

Ilość monocytów uległa zwiększeniu w 4 przypadkach, zmniejszeniu w 3 przypadkach, a w jednym pozostała na poziomie prawidłowym.

Odnosnie do zachowania się morfologicznego ciałek białych, można było częściej spotkać zmiany nieprawidłowe, których w takich ilościach w stosunkach prawidłowych nie spotyka się.

Najczęściej spotkać się było można z obrazem zwyrodnienia protoplazmy ciałek białych w postaci pojawiających się w nich wodniczków, jak również i zmiany w jądrach, powiększenie się jądra, utratę prawidłowych własności barwienia i występowanie wodniczków w jądrach; również można było stwierdzić w niektórych elementach szybsze przekształcanie się starszych postaci w młodsze, z pominięciem niejako jednego lub dwu okresów przejściowych; tak np. można było zauważyć komórki z protoplazmą myeloblastów względnie promyelocytów z jądrem odpowiadającym metamyelocytom, albo nawet pałeczkowym ciałkom białym neutrochłonnym. Również można było zauważyć elementy komórkowe które np. miały cechy myeloblastów i metamyelocy-

TABLICA II.

Uproszczone zestawienie wyników badania cytologicznego krwi szpiku kostnego.

Przypadki leczone.

	Przeciętne Prawidłowe	Scleros. initial.		Lues secund.		Lues secund.		Lues secund.		Lues lat.		Lues malign.	
		przed	po	przed	po	przed	po	przed	po	przed	po	przed	po
l e c z e n i e m													
l e c z e n i e m													
l e c z e n i e m													
Myeloblasty . . .	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Metamyeloblasty .	8.83	2	3	1.25	4.5	4.33	75.75	75.31	70	63.20	85.25	61.58	69.75
Ciałka białe neutro- chłonne. Promye- locyty. Myelocyty. Metamyelocyty. Pałeczkowe. Se- gmentowane . . .	71.52	78	64.75	67.20	78.99	76	76.75	68.71	81	75.75	75.31	70	63.20
" eozynochłonne .	6.95	4	3	8.80	7.99	4.75	4.5	2.66	2	2.75	10.99	10.25	4.2
Limfocyty	2.95	11	24.75	14.4	3.66	12.75	9.25	2	10	10	11	12	20.60
Komórki plasmacyjne . . .	0.95	0.75	0.5	1.0	1.33	1.5	2	0.33	0.4	0.4	0.66	1	1.6
Monocyty	0.62	0.75	4	6.40	2	1.25	0.75	3.33	4.2	2.25	0	0.75	0.4
													6.25
													9.33
													0.75

tów lub myelocytów, a nawet jądra mogły odpowiadać postaciom ciałek białych o jądrze pałeczkowatym.

Działanie dłuższe jadu kiłowego doprowadzić może do uszkodzenia aparatu krwiotwórczego i wywołać zmiany w strukturze elementów szpikowych, a następnie i zmiany w częściach składowych i krwi obwodowej. W przypadkach kiły dłużej trwającej, spotykaliśmy się ze znaczną ilością elementów komórkowych, które ulegały procesom zwyrodnienia. Bardzo często bez względu na postać kiły spotykaliśmy zmiany degeneracyjne znacznego stopnia w monocytach, jednakowoż pamiętać należy, że już w warunkach prawidłowych można spotkać w protoplaźmie monocytów wodniczki. Wybitne objawy zwyrodnienia spostrzegać można było w przypadku kiły trzeciorzędnej, jak również i w przypadku kiły złośliwej, gdzie zmiany zwyrodniające dotyczyły i limfocytów. Najmniej stosunkowo zmian nieprawidłowych w elementach składowych krwi szpiku kostnego spotykaliśmy w przypadkach zmiany pierwotnej (na 3 przypadki tylko w jednym).

Po skończonem leczeniu w obrazie cytologicznym krwi szpiku kostnego nie spotykało się już elementów komórkowych zwyrodniałych wogóle, względnie w znaczniejszej ilości. Tak np. w przypadku kiły drugorzędnej, przed leczeniem można było stwierdzić bardzo znaczną ilość elementów zwyrodniałych, ciałek białych obojętnochłonnych o jądrze pałeczkowem, i przejścia postaci promyelocytów na metamyelocyty, podczas gdy po skończonem leczeniu, jak również i po upływie 6 miesięcy, w okresie ujemnego odczynu Wassermanna (trzecie nakłucie) nie można było stwierdzić wogóle nieprawidłowych zmian w tychże komórkach. Podobne wyniki mogliśmy stwierdzić i w pozostałych leczonych przypadkach.

Uważając badania nasze za nieukończone i spodziewając się rozporządzać później większą ilością badanych przypadków, wstrzymujemy się dziś od wyciągania wniosków zwłaszcza odnośnie do zachowania się zwyrodniałych elementów krwi szpiku kostnego i tylko stwierdzić możemy stosunkowo nieznaczne zmiany pojawiające się w krwi szpiku kostnego. W przebiegu kiły bez względu na jej postać, poza zwiększoną stale i w sposób znaczny ilością limfocytów, — analogicznie do zmian we krwi obwodo-

wej—spotykamy i zmiany ilościowe stosunkowo nieznacznego stopnia. W zachowaniu się innych części składowych krwi szpiku kostnego, stwierdzić się daje tylko zwiększenie ilości monocytów.

Zwiększenie ilości limfocytów przypisać należy analogicznemu zjawisku zwiększenia się limfocytów w krwi obwodowej wskutek wzmożonej działalności narządów limfocytotwórczych, a krew przepływająca przez szpik kostny musi wobec tego zawierać ich większą ilość.

W każdym bądź razie te zmiany ilościowe, a przede wszystkim zmiany jakościowe spotykane przez nas w elementach składowych krwi szpiku kostnego świadczą, że i aparat krwiotwórczy pozostaje pod działaniem jadu kiłowego. Zmiany te jednakowoż są przejściowe i po skończonem leczeniu stosunki w krwi szpiku kostnego kształtować się mogą prawidłowo.

Aus der Dermatologischen Klinik der Jagellonischen Universität Kraków
(Dir. Prof. Dr. Fr. Walter).

STUDIEN IN VIVO ÜBER DIE CYTOLOGIE DES KNOCHEN- MARKS IM VERLAUFE DER SYPHILIS.

v o n

Prof. Dr. FR. WALTER und Dr. K. TRZEBICKY.

ZUSAMMENFASSUNG.

Die längere Einwirkung des syphilitischen Virus, kann zu einer Schädigung des blutbildenden Apparates führen und dadurch Aenderungen in der Struktur des myeloischen Gewebes und folglich auch der morphotischen Elemente des peripheren Blutes hervorrufen. An der Hand der cytologischen Knochenmarkblutbilder (Sternalpunktion nach Arinkin) haben wir folgende pathologische Veränderungen im Markblute festgestellt: In Fällen länger dauernden Syphilis beobachteten wir eine bedeutende Zahl weisser Blutzellen, welche Degenerationszeichen aufwiesen. Ausgeprägte Degenerationszeichen konnten in einem Falle von tertiärer sowie auch in einem Falle maligner Syphilis festgestellt werden. Am häufigsten konnte man das Auftreten von Vacuolen im Protoplasma wie auch Veränderungen des Kernes, seine Vergrösse-

rung, schwache Färbbarkeit, sowie Vacuolen im Kerne beobachten. Ebenfalls konnte man in manchen Fällen einen sozusagen überhasteten Uebergang in spätere Formen feststellen, so z. B. kamen Zellen vor, deren Protoplasma denjenigen der Myeloblasten resp. Promyelozyten entsprach, während der Kern ein Metamyelozytenkern oder sogar stabförmig war. Unbeachtet der Syphilisform lässt sich ständig eine bedeutende Vermehrung der Lymphozyten feststellen, analog wie im peripheren Blute, während die quantitativen Verhältnisse der übrigen weissen Zellen relativ geringen Schwankungen unterworfen sind.

Nach beendeter Behandlung traten die degenerierten Elemente im Markblutbilde entweder überhaupt nicht oder nur in geringer Zahl auf. So konnten z. B. in einem Falle sekundärer Syphilis vor der Behandlung sehr zahlreiche Degenerationsformen, unter anderen auch der stabförmigen Neutrophilen festgestellt werden, sowie auch Uebergänge von Promyelozyten und Metamyelozyten, während nach der Behandlung, sowie auch bei der nach 6 Monaten später vorgenommenen dritten Punktion konnten überhaupt keine anormalen Zustände der genannten Zellen festgestellt werden. Aehnliche Verhältnisse konnten wir auch in den übrigen behandelten Fällen feststellen.

Jedenfalls beweisen die von uns festgestellten quantitativen und vor allem qualitativen Veränderungen der Markblutzellen, dass auch der blutbildende Apparat unter dem Einflusse des Syphilisvirus steht. Diese Veränderungen sind jedoch vorübergehende und nach beendeter Behandlung können die Verhältnisse im Knochenmarkblute zur Norm zurückkehren.

P I Ś M I E N N I C T W O.

Naegeli. Lehrbuch der Blutkrankheiten 1931. Tempka-Braun. Das morphologische Verhalten des Sternumpunktes in verschiedenen Stadien der perniziösen Anaemie (rękopis). Hauck. Lehrbuch der Haut u. Geschlechtskr. Jadassohn-Sprinz. B. IV, ref. Arinkin. Folia haematol. B. 38. Bessemans i Lambin. Zentralbl. 38. Marcjaniak. Pol. Gaz. Lek. 1929, Nr. 13. Mienicki. Przegl. Dermatol. 1931. Pearse i Rosahn. Zentralbl. für Hautkr. 39. 1931. Seyfarth Deut. med. Wochschr. 1923, Nr. 6. Sokołowski. Pol. Gaz. Lek. 1932, Nr. 11.

W SPRAWIE POWSTAWANIA WITASTERYNY D

Podali

F. VENULET i F. GOEBEL.

Niedawne to czasy, kiedy zagadnienia prawidłowego odżywiania ustroju zwierzęcego rozpatrywano wyłącznie z punktu widzenia energetyki, a jednak minęły one bezpowrotnie. Jak wykazała nauka o witaminach, o losie zwierzęcia, pomimo dostatecznego odżywiania, decydują niekiedy pewne ciała swoiste, w ilościach wagowo prawie nieuchwytnych, pozbawione zatem bezpośredniego działania energetycznego. *Hopkins* pierwszy wypowiedział przypuszczenie, że chodzi tutaj o kompleksy, posiadające własności katalityczne. Pośrednio, najprawdopodobniej drogą gruczołów wkrewnych, witaminy wpływają na zużytkowanie przez ustrój substancyj odżywczych; brak witamin wywołuje w ustroju swoiste zaburzenia rozwojowe i troficzne.

Witaminy niezbędne do życia nie są wytwarzane w ustroju zwierzęcym, w przeciwieństwie do roślin. W stosunku do witamin ustrój zwierzęcy jest więc tylko konsumentem. Trudno jednak pogodzić się z myślą, żeby ustrój, chociażby w pewnych granicach, nie posiadał również zdolności wytwarzania witamin.

Wiadomo zresztą, że w stosunku do witamin rola ustroju zwierzęcego nie jest wyłącznie bierna. Nie wszystkie witaminy otrzymuje organizm w stanie gotowym i doskonale daje sobie z tem radę. Posiadając karotynę czyli prowitaminę A, ustrój może

wytworzyć witaminę A. *Eulerowi* udało się nawet *in vitro* przeprowadzić karotynę w witaminę przez zastosowanie surowicy kurzej, z czego wynika, że przemiana karotyny w witaminę A odbywa się we krwi. Prowitasteryna D pod wpływem promieni pozafioletkowych przeobraża się w ustroju w czynną witasterynę. Powstanie witasteryny D jest więc w znacznym stopniu uzależnione od działania światła. Tem się tłumaczy, że dzieci, karmione piersią, naświetlaną sztucznym słońcem górskim, osiągały większą wagę, niż kontrolne. Zaś u dzieci większych, pod wpływem promieni pozafioletkowych, można osiągnąć nawet wyleczenie krzywicy.

Przytoczne fakty dowodzą tylko możliwości przetwarzania, a nie wytwarzania witamin przez ustrój.

Już bliższą poruszonego tutaj zagadnienia jest inna grupa. *Portier* i *Randoin*, zauważyli że pośród królików żywionych kapustą i marchwią ogrzewanymi przez godzinę do temperatury powyżej 125°, jeden nie tylko nie zapadł na awitaminozę, lecz nadal przybierał na wadze. Jak się okazało, miał on zwyczaj pożerania swego kału. W innym doświadczeniu królikowi (nr. 1) do paszy, pozbawionej witamin przez sterylizację, dodawano kału królika (nr. 2), otrzymującego pożywienie wyłącznie sterylizowane. I w tych warunkach królik nr. 1 nie tylko nie zachorował, lecz po pewnym czasie podwoił swą wagę. Ten sam kał, podany gołębiowi, choremu na awitaminozę, spowodował wyleczenie.

Badania własne, wykonane na szczurach, miały na celu zagadnienie powstawania witasteryny D w ustroju.

Doświadczenie Nr. 1. Grupa szczurów otrzymuje w ciągu 31 dni djetę krzywiczą Mc. Colluma 3143 z domieszką kału szczurów, odżywianych prawidłowo. Dwie kontrole: szczury, odżywiane awitaminowo, i szczury, odżywiane normalnie. Wyniki (p. tabl.): domieszka kału normalnego nie zapobiegła rozwojowi krzywicy, stwierdzonej rentgenologicznie¹⁾; poziom fosforu krwi niski, przyrost wagi nieco większy, niż u szczurów awitaminowych.

Doświadczenia Nr. 2 i 3. Powtórzenia poprzedniego w ciągu 50 i 36 dni dają także wyniki (p. tabl.).

¹⁾ Panu Doc. Dr. Adamowi Elektorowiczowi za dokonanie zdjęć uprzejmie dziękujemy.

Wobec wyników ujemnych z kałem normalnym do następnych dwóch doświadczeniach do diety awitaminowej Mc. Colluma 3143 dodano 10% kału normalnego, naświetlonego promieniami pozafiołkowymi. Jako kontrola służyły szczury, otrzymujące czystą dietę Mc. Colluma.

Doświadczenia Nr. 4 i 5. W przeciwieństwie do doświadczeń poprzednich domieszka do diety krzywiczej Mc. Colluma kału szczurów, odżywianych prawidłowo, ale naświetlonego promieniami pozafiołkowymi, całkowicie zapobiega powstaniu krzywicy. Uderza, że poziom fosforu krwi (nr. 4) jako też i waga wykazały tylko nieznaczne odchylenia w porównaniu ze szczurami, otrzymującymi dietę krzywiczą bez żadnych domieszek.

Jak wykazały jednak ostatnie badania Hessa i inn. (cytowane podług *Kołodziejskiej*), wahania poziomu fosforu nieorganicznego we krwi mogą być niezależne od krzywicy; w pewnych warunkach dobremu uwapnieniu kości może towarzyszyć nawet niewysoki poziom fosforu.

W celu sprawdzenia, czy sam kał szczurzy nie wywiera ujemnego wpływu na poziom fosforu krwi, wykonano doświadczenie następujące.

Doświadczenie Nr. 6. Grupa szczurów otrzymuje dietę normalną z 10% domieszką kału szczurów, żywionych prawidłowo. W porównaniu z kontrolą żadnych odchyleń nie stwierdzono.

W dalszych badaniach jako domieszki do diety Mc. Colluma używano kału szczurów, odżywianych awitaminowo zapomocą tejże diety Mc. Colluma.

Doświadczenia Nr. 7 i 8. Jak zgóry oczekiwać należało, w warunkach naszych doświadczeń domieszka do diety Mc. Colluma kału szczurów, odżywionych awitaminowo, nie zapobiegała powstaniu krzywicy.

Wobec tego i tutaj zastosowano naświetlanie domieszki kałowej promieniami pozafiołkowymi.

Doświadczenie Nr. 9. Grupa szczurów w ciągu 31 dni otrzymuje dietę awitaminową Mc. Colluma z 10% domieszką kału, pochodzącego od szczurów, żywionych awitaminowo, lecz naświetlanego promieniami pozafiołkowymi. Tym razem między kałem

naświetlanym, a nienaświetlanym, niema różnicy: obie grupy zwierząt wykazują wyraźną krzywicę.

Analizując otrzymane wyniki, zastanówmy się przedewszystkiem nad tem, jakiego pochodzenia są czynniki przeciwkrzywicze, wydalone z kałem. Dwojake może być ich źródło. Przedewszystkiem należy uwzględnić niewessane pozostałości witamin z otrzymanego pożywienia. Z drugiej strony producentem witamin w przewodzie pokarmowym mogły być bakterje, gdyż, jak to wykazały badania *Kollatha*, obok nielicznych gatunków drobnoustrojów, potrzebujących witamin do swego rozwoju zzewnątrz, większość bakteryj sama wytwarza witaminy. Oczywiście, witaminy, zawarte w kale, mogą być pochodzenia mieszanego, czyli bakteryjnego i z pożywienia jednocześnie.

Dla lepszej orientacji zestawimy nasze wyniki z otrzymaniami przez wspomnianych autorów francuskich. Jeżeli *Portierowi* i *Rondoinowi* w swych doświadczeniach na królikach, żywionych pokarmem sterylizowanym, udało się uchronić zwierzę przed awitaminozą, nawet przez podawanie kału, królika żywionego awitaminowo, to nie ulega wątpliwości, że w tym wypadku witaminy musiały być pochodzenia bakteryjnego. Dodatni wynik doświadczeń *Portiera* i *Rondoina* tłumaczy się, nietylko gatunkiem użytych zwierząt, ale i witaminotwórczymi własnościami ich flory jelitowej, zależnej również od składu pożywienia.

W zupełnie odmiennych warunkach odbywały się nasze doświadczenia, do których użyto szczurów, a djetę stosowano krzywiczą.

Skuteczność kału normalnego dopiero po naświetlaniu go promieniami pozafiołkowemi wskazuje na obecność prowitasteryny D w przewodzie pokarmowym szczurów normalnych. Być może, iż naświetlanie byłoby zbędne, jak w doświadczeniach autorów francuskich, gdyby szczury nasze nie przebywały w miejscu prawie pozbawionem światła dziennego. Co do pochodzenia owej prowitasteryny D, to bakteryjna geneza jej jest wątpliwa, gdyż kał szczurów, żywionych awitaminowo, okazał się nieskuteczny, nawet po naświetlaniu. Chociaż i tutaj, wobec zamiany pokarmu naturalnego na swoistą djetę *Mc. Colluma*, flora jelitowa

mogła ulec znacznym odchyleniom od normy, uniemożliwiającym wytwarzanie prowitasteryny D.¹⁾

W związku z tem przypomina się nam teoria, według której powstawanie krzywicy przypisywano ongi zmianom patologicznym flory jelitowej. Należy jednak zaznaczyć, że witaminy, powstałe w przewodzie pokarmowym, zapobiegając awitaminozie innego zwierzęcia i lecząc ją, dla własnego ustroju, w warunkach naturalnych, znaczenia nie mają. Przecież zwierzęta, żywione awitaminowo, padają pomimo obfitej flory bakteryjnej jelit. Nie stwierdzono też różnic w rozwoju zwierząt, żywionych jałowo, w warunkach bezwzględnie aseptycznych i nieaseptycznych (*Wollman*). Tenże autor podaje, że wytwarzana przez *bac. lacticus* witamina C nie zapobiega powstawaniu gnilca u świnek, otrzymujących wyjałowiony owies i także mleko, zasiane powyższymi bakteriami na 48 godzin wcześniej. Jest to tem dziwniejsze, gdyż w danym przypadku nie wchodzi w grę czynniki ujemne, panujące w jelicie grubem: odczyn alkaliczny oraz miejscowe warunki wchłaniania, nie sprzyjające zużytkowaniu wytwarzanych tam witamin.

Pragnąc wyjaśnić, czy komórki ustroju zwierzęcego są istotnie całkowicie pozbawione zdolności syntetyzowania witamin, postąpiliśmy w sposób następujący. Szczury, żywione w ciągu kilku tygodni wyłącznie djetą *Mc. Colluma* 3143, zabijano, mielono w maszynce do mięsa, otrzymaną miazgę suszono i proszkowano. Jak wykazaliśmy w doświadczeniach Nr. 7—9, kał tych szczurów nie zawierał prowitasteryny D, gdyż nawet po naświetlaniu promieniami pozafioletkowymi nie zapobiegał powstawaniu krzywicy u szczurów, będących na djecie krzywicznej. Zrozumiałe jest, że po zastosowaniu diety awitaminowej zwierzę korzysta z zapasów witamin, znajdujących się w ustroju. Z biegiem czasu, w okresie wzmożonej śmiertelności szczurów, zapasy te muszą się wyczer-

¹⁾ Badania orientacyjne nad mikroflorą jelitową naszych szczurów, dokonane w pracowni *Doc. A. Ławrynowicza* przez *Dr. J. Szymońską*, za co najmocniej dziękujemy, wykazały widoczne przesunięcie w kierunku wybitniejszego wystąpienia własności hemolitycznych i proteolitycznych szczepów, otrzymanych w późniejszym okresie żywienia bezwitaminowego. Zgadzałoby się to z zaznaczonemi poprzednio w pracach *Gajewskiej i Piotrowskiej* oraz *Tenenbaumówny* własnościami mikroflory podczas awitaminozy.

pywać. W tych warunkach obecność witamin w tkankach zwierzęcia mogłaby przemawiać za syntezą ich przez ustrój zwierzęcy.

Doświadczenie Nr. 10. Partja szczurów w ciągu 3 tygodni otrzymuje djetę Mc. Colluma 3143 z 5% domieszką sproszkowanych szczurów. Kontrola.

Doświadczenie Nr. 11. Warunki prawie identyczne, z tą różnicą, że sproszkowane szczury poddano działaniu promieni pozafioletkowych.

Wyniki: w doświadczeniu Nr. 10 typowa krzywica, jak u szczurów, będących wyłącznie na djecie krzywiczej; natomiast szczury z doświadczenia Nr. 11 nie wykazują najmniejszych śladów krzywicy; również pod względem poziomu fosforu krwi i przyrostu wagi nie różnią się prawie od zwierząt kontrolnych, żywionych prawidłowo (p. tabl.).

Nie ulega zatem wątpliwości, że w ustroju przez czas dłuższy będącym na djecie Mc. Colluma 3143, znajduje się prowitasteryna D. Czy jest ona pochodzenia tkankowego, trudno z całą stanowczością powiedzieć. W każdym razie, dla potrzeb ustroju, musi ona być niewystarczająca.

W związku z powyższem na szczególną uwagę zasługuje wzmianka *Steppa*, że świeża wątroba szczurów, którym usunięto z pożywienia witaminę C, posiada wyraźne własności przeciwnie, co przemawiałoby za istotnem wytwarzaniem witaminy C przez ustrój szczura.

STRESZCZENIE.

Szczury, otrzymujące djetę krzywiczą Mc. Colluma 3143 z domieszką kału szczurów, odżywianych prawidłowo, pod względem przejawów krzywicy, poziomu fosforu we krwi i zahamowania wzrostu nie różnią się niczem od szczurów, trzymanych wyłącznie na djecie, wywołującej krzywicę. Podanie w tych samych warunkach kału naświetlanego zapobiega krzywicy, nie wywierając wpływu na wzrost i fosfor. W przeciwieństwie do kału prawidłowego, kał szczurów, żywionych awitaminowo, nawet po naświetlaniu, nie chroni przed rozwojem krzywicy.

Co do przyczyn tego zjawiska, to należy przypuszczać, że kał zwierząt, żywionych prawidłowo, posiada lepsze warunki dla syn-

Doświadcz.		% przyrostu wagi	% poziomu P	Krzywica
1 22.V. — 22.VI.	Djeta awit i 10 ⁰ / ₀ kału norm. . . . Kontrola awitaminowa Kontrola normalna	24 18,3 32	4,8 4,8 8,4	wybitna wybitna brak
2 24.II. — 15.IV.	Djeta awit, i 10 ⁰ / ₀ kału norm. . . . Kontrola awitaminowa Kontrola normalna	74 86 101	3,2 3,3 10,8	wybitna wybitna brak
3 14.X. — 20.XI.	Djeta awit, i 10 ⁰ / ₀ kału norm. . . . Kontrola awitaminowa Kontrola normalna	45 45 73	3,6 3,5 8,8	wybitna wybitna brak
4 13.V. — 13.VI.	Djeta awit, i 10 ⁰ / ₀ kału norm. naśw. Kontrola awitaminowa	22 27	3,9 3,7	brak wybitna
5 13.V. — 13.VI.	Djeta awit, i 10 ⁰ / ₀ kału norm, naśw. Kontrola awitaminowa	37 21	— —	brak wybitna
6 22.V. — 22.VI.	Dleta norm. i 10 ⁰ / ₀ kału norm. . . . Kontrola normalna	32 32	8,4 8,4	brak brak
7 22.V. — 22.VI.	Djeta awit. i 10 ⁰ / ₀ kału awit. . . . Kontrola awitaminowa Kontrola normalna	25 18,3 32	4,8 4,8 8,4	wybitna wybitna brak
8 24.II. — 15.IV.	Djeta awit. i 10 ⁰ / ₀ kału awit. . . . Kontrola awitaminowa Kontrola normalna	51 64 100	5,9 3,4 10,1	wyraźna wybitna brak
9 13.V. — 13.VI.	Djeta awit. i 10 ⁰ / ₀ kału awit. naśw. Kontr.: djeta awit. i 10 ⁰ / ₀ kału awit.	20 29	3,8 3,7	wybitna wybitna
10 15.X. — 7.XI.	Djeta awit. i 5 ⁰ / ₀ szczur. awit. . . . Kontrola awitaminowa	53 52	4,0 3,8	wybitna wybitna
11 5.X. — 7.XI.	Djeta awit. i 5 ⁰ / ₀ szczur. awit. naśw. Kontrola normalna	69 79	7,8 8,4	brak brak

tezy prowitasteryny D przez drobnoustroje jelitowe, przy uwzględnieniu ewentualnych zmian flory jelit, ilościowych i jakościowych.

W innej grupie doświadczeń do diety krzywiczej dodawano sproszkowanych ciał szczurów, również przez czas dłuższy odżywianych awitaminowo, co jednak nie zapobiegło powstaniu krzywicy. Podanie natomiast tegoż sproszkowanego ciała po uprzednim naświetleniu, nie tylko zapobiega całkowicie krzywicy, ale pod względem wzrostu i zawartości fosforu krwi szczury te zachowują się jak zdrowe kontrolne.

Obecność nieczynnej ergosteryny, w tkankach szczurów, dłuższy czas odżywianych awitaminowo, przemawia raczej za możliwością jej syntezy w ustroju.

De l'Institut de Pathologie Générale et Exper. Université de Varsovie.

SUR L'ORIGINE DE LA VITASTÉRINE D DANS L'ORGANISME.

Par

F. VENULET et F. GOEBEL.

R É S U M É.

Des rats recevant la diète rachiticogène McCollum 3143, additionnée d'excréments des rats nourris normalement, ne différen-
tent pas au point de vue du rachitisme du taux du phosphore dans la sang et de l'arrêt de la croissance, des rats recevant exclusivement la nourriture provoquant le rachitisme. Dans les mêmes conditions l'ingestion des excréments irradiés empêche l'apparition du rachitisme, n'exerçant aucune influence ni sur la croissance ni sur la teneur en phosphore. Par contre, les matières fécales des rats privés de nourriture vitaminée, n'empêchent pas le développement du rachitisme, même après leur irradiation.

Quant aux causes de ce phénomène, il faut admettre que les excréments d'animaux nourris normalement, possèdent des meilleures conditions pour la synthèse de la provitastérine D par les microorganismes intestinaux.

Dans un autre groupe d'expériences la diète rachitogène fut additionnée de corps pulvérisés des rats ayant également reçu pendant un temps assez long une nourriture avitaminée, ce qui n'a pas empêché l'apparition du rachitisme. Cependant l'ingestion du même corps pulvérisé après son irradiation préalable, empêche non seulement l'apparition du rachitisme, mais au point de vue de la croissance et du taux du phosphore dans le sang, ces rats se comportent comme ceux de contrôle.

La présence de l'ergostérine inactive dans les tissus des rats, dont la nourriture a été privée de vitamines, plaide en faveur de la possibilité de sa synthèse dans l'organisme.

P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Hopkins, wedł. L. Randoïn, Biol. Lek. 1932, t. II, str. 18. 2) Euler, Tamże, str. 37. 3) Portier et Randoïn. C. R. des Séances de l'Acad. des Sciences 1920, t. 170, str. 478. 4) Kołodziejska. Medycyna 1932, Nr. 4. 5) Kollath. Klin. Wochenschr. 1926, str. 930. 6) Gajewska i Piotrkowska. Med. Dośw. i Społ. 1927, t. 8, z. 1—2. 7) Tenenbaumówna. Med. Dośw. i Społ. 1929, t. 10, z. 5—6. 8) Wollman. C. R. de la Soc. de Biol. 1921, t. 85, str. 801. 9) Stepp. Handb. d. norm. u. pathol. Physiologie 1928, t. 5, str. 1165.



Treść zeszytu 5-6. Sommaire.

<i>T. Matuszewski i J. Supińska.</i> Analiza układu kolonij drobnoustrojów na płyt- kach Petri'ego z punktu widzenia prawa Poisson'a (prawa małych liczb. (Dok.) — Analyse de disposition de colonies bactériennes sur les boîtes de Petri au point de vue de la loi Poisson (fin.) . . .	415
<i>Kazimierz Ścieszński.</i> W sprawie t. zw. medionecrosis aortae idiopathica cy- stoides z przypadkiem wygojonego pęknięcia tętnicy głównej.—Medio- necrosis aortae idiopathica avec un cas de guérison de rupture de l'aorte	448
<i>Juljusz Brill.</i> Serofagoaglutynacja. Serofagoagglutination	470
<i>J. Seydel.</i> W sprawie szczepów b. typhi flavum. — Sur les propriétés bio- chimiques et sérologiques de bac. typhi flavum	487
<i>N. Rotkoppówna.</i> Spostrzeżenia nad metodą wyosabniania bakterij proteo- litycznych (kazeolitycznych), tlenowych mleka oraz nad ich własno- ściami. — Sur la méthode d'isolation et les propriétés de bactéries protéolytiques (caséolytiques) aérobies de lait	505
<i>Fr. Walter i R. Trzebiński.</i> Studja in vivo nad cytologią krwi szpiku kost- nego w przebiegu kiły. — Etude in vivo de la cytologie du sang de la moelle osseuse au cours de la syphilis	518
<i>Fr. Venulet i Fr. Goebel.</i> W sprawie powstawania witasteryny D. — Sur l'ori- gine de la vitastérine D dans l'organisme	533

REGULAMIN

ogłaszania prac w „Medycynie Doświadczalnej i Społecznej”.

—

1) „Medycyna Doświadczalna i Społeczna” zamieszcza prace oryginalne z dziedziny: a) medycyny doświadczalnej (fizjologii, patologji, chemji fizjologicznej, farmakologji i t. d.), b) bakterjologii i serologji, c) higieny i medycyny społecznej, epidemiologii, statystyki i t. p., oraz referaty zbiorowe. Prace są drukowane w obrębie każdego działu z zachowaniem kolejności złożenia w redakcji.

2) Rękopisy należy nadsyłać pod adresem: Redakcja „Medycyny Doświadczalnej i Społecznej”, Państwowy Zakład Higieny, Warszawa, Chocimska 24, lub do jednego z członków Komitetu Redakcyjnego.

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

4) Tablice i fotografie mogą być wykonane w wyjątkowych tylko przypadkach z funduszków wydawnictwa. Objętość artykułu, zajmującego się poszczególną sprawą naukową, nie może przekraczać 1½ arkusza. Pismo przyjmuje jednak również prace oryginalne w opracowaniu monograficznym w większych rozmiarach. Autorowie, którzy życzą sobie ogłosić prace w rozszerzonej formie, proszeni są o uprzednie porozumienie się z redakcją.

5) Celem uniknięcia zwłol prekty będą posyłane autorom pozamiejscowym tylko na specjalne żądanie, lub o ile redakcja uzna to za konieczne.

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



Biblioteka Główna WUM

A.048



400000001339