



# Medycyna Doświadczalna i Społeczna

TOM XVII

PAMIĘTNIK V ZJAZDU MIKROBIOLOGÓW I EPIDEMJOLOGÓW POLSKICH  
ODBYTEGO W POZNANIU W DNIU 12 — 14 WRZEŚNIA 1933 R.

KOMITET REDAKCYJNY:

S. Adamowiczowa — Warszawa, L. Anigstein — Warszawa, W. Chodźko —  
Warszawa, S. Ciechanowski — Kraków, F. Czubalski — Warszawa, F. Eisen-  
berg — Kraków, N. Gąsiorowski — Lwów, M. Gieszczykiewicz — Kra-  
ków, B. Gutowski — Warszawa, L. Hirszfeld — Warszawa, T. Janiszew-  
ski — Warszawa, M. Kaepczak — Warszawa, E. Leyko — Warszawa,  
A. Ławrynowicz — Warszawa, J. Modrakowski — Warszawa, R. Nitsch —  
Warszawa, J. Nowak — Kraków, B. Nowakowski — Warszawa, L. Padlewski —  
Poznań, J. Parnas — Lwów, L. Paszkiewicz — Warszawa, F. Przesmycki —  
Warszawa, S. Przyłęcki — Warszawa, L. Rajchman — Genewa, S. Siera-  
kowski — Warszawa, S. Siengalewicz — Wilno, J. Sosnowski — Warszawa,  
H. Sparrow — Warszawa, G. Szule — Warszawa, Z. Szymanowski — Warszawa,  
R. Weigl — Lwów, C. Wroczyński — Warszawa, Fr. Venulet — Warszawa.



**Cena podwójnego zeszytu Zł. 4.**

Redakcja i Administracja tel. 883-90 Państw. Zakład Higieny

WARSZAWA, Chocimska 24.

Konto P. K. O. N-r 9223.

Zapomnienie i spokój

*niesie*

# IRENAL-MOTOR

*pewnie*

*szybko*

*bez złych następstw*

DAWKA KOJĄCA  
0.1—0.2

DAWKA NASENNA  
0.2—0.4

ORYGINALNY POLSKI  
HORMON KRAŻENIA.

# MYOSTRIATOL

DOPUSZCZONY DO LEKOSPISU  
ZWIĄZKU KAS CHORYCH.

Przewyższa działaniem leczniczym wszystkie podobne preparaty zagraniczne (Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, 1932).

## WSKAZANIA:

Dusznicza bolesna, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia rytmu serca, chromanie przestankowe, wrzody żołądka, dwunastnicy, gołeni, miazdzyca tętnic, żyłaki, krwawnice, jaskra, pęty gruczków

## POSTACIE:

Ampułki à 100 jedn. w 1 cm<sup>3</sup> do wstrzykiwań dożylnych i domięśniowych, lub fiakony do użytku wewnętrznego kroplami.

## OPAKOWANIE:

Pudelka po 2 i 5 ampulek. Fiakony około 20 ccm



LITERATURĘ I PRÓBKĘ PRZESYŁA NA ŻĄDANIE  
APTEKA I LABORATORJUM

**W. ROSPĘDZIHOŃSKI**

Warszawa Elektryczna 35. Tel. 538-53 i 664-64

# *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*

TOM XVII

## KOMITET REDAKCYJNY:

**S. Adamowiczowa** — Warszawa, **L. Anigstein** — Warszawa, **W. Chodźko** — Warszawa, **S. Ciechanowski** — Kraków, **F. Czubalski** — Warszawa, **F. Eisenberg** — Kraków, **N. Gąsiorowski** — Lwów, **M. Gieszczykiewicz** — Kraków, **B. Gutowski** — Warszawa, **L. Hirszfeld** — Warszawa, **T. Janiszewski** — Warszawa, **M. Kacprzak** — Warszawa, **E. Leyko** — Warszawa, **A. Ławrynowicz** — Warszawa, **J. Modrakowski** — Warszawa, **R. Nitsch** — Warszawa, **J. Nowak** — Kraków, **B. Nowakowski** — Warszawa, **L. Padlewski** — Poznań, **J. Parnas** — Lwów, **L. Paszkiewicz** — Warszawa, **F. Przesmycki** — Warszawa, **S. Przyłęcki** — Warszawa, **L. Rajchman** — Genewa, **S. Sierakowski** — Warszawa, **S. Siengalewicz** — Wilno, **J. Sosnowski** — Warszawa, **H. Sparrow** — Warszawa, **G. Szulc** — Warszawa, **Z. Szymanowski** — Warszawa, **R. Weigl** — Lwów, **C. Wroczyński** — Warszawa, **Fr. Venulet** — Warszawa.



---

Redakcja i Administracja tel. 883-90 Państw. Zakład Higieny

WARSZAWA, Chocimska 24.

Konto P. K. O. N-r 9223.

## II

### Treść zeszytu 1-2. Sommaire.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>R. Turnerówna.</i> Spostrzeżenia nad drobnoustrojami tlenowemi rozkładającemi błonnik i agar. — Observations sur les microbes aérobies décomposants la cellulose et la gélose . . . . .                                                                                                                                                                 | 1  |
| <i>Elżbieta Wałkowska-Woźniakowska.</i> Krzywe zmian Ph na wodzie peptonowej z mannitem, maltozą, laktozą i cukrem gronowym pod wpływem wzrostu bakterij z grupy okrężnicowo-durowej. — Courbes de changements de Ph dans l'eau peptonée additionnée de mannite, maltose, lactose et glucose sous l'influence de bacilles du groupe coli-typhique. . . . . | 19 |
| <i>Jerzy Kaulbersz.</i> Z badań nad opornością krwinek wobec osmozy i saponiny — Recherches sur la résistance des érythrocytes à l'osmose et à la saponine. . . . .                                                                                                                                                                                        | 40 |
| <i>Artur Ber.</i> Wpływ bakterij Banga na szczury białe. — Influence de bacilles de Bang sur les rats blancs . . . . .                                                                                                                                                                                                                                     | 62 |
| <i>A. Szniolis i J. Just.</i> Projekt ujednostajnionych metod badania wody. (Dokończenie nastąpi). — Projet de l'uniformisation de méthodes d'examen de l'eau (à suivre) . . . . .                                                                                                                                                                         | 99 |

### Treść zeszytu 3-4, 5-6. Sommaire.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Nitsch</i> ██████████ zarzki przesączalne (referat programowy).—Virus filtrants . . . . .                                                                                                                                                                                                                                 | 157 (3)   |
| <i>Eisenberg F.</i> O postaciach przesączalnych drobnoustrojów widzialnych (referat programowy). — Sur les formes filtrantes des microbes visibles . . . . .                                                                                                                                                                 | 196 (42)  |
| <i>Bohdanowiczówna Z. i Ławrynowicz A.</i> Ze spostrzeżeń nad przesączalnością pałeczki błoniczej i pał. durowej. — Etude sur la filtrabilité des b. diphtériques et typhiques . . . . .                                                                                                                                     | 276 (72)  |
| <i>Karwacki L.</i> Mikrobiologia gruźlicy (referat programowy).—Microbiologie de la tuberculose . . . . .                                                                                                                                                                                                                    | 230 (76)  |
| <i>Mikułowski W.</i> O zastosowan'iu w klinice w celach rozpoznawczych wczesnego wywoływania gruźlicy doświadczalnej na śwince morskiej metodą Ninniego. — L'application clinique, dans les buts diagnostiques, de la déclaration précoce, de la tuberculose expérimentale chez le cobaye, par la méthode de Ninni . . . . . | 253 (99)  |
| <i>Sierakowski S.</i> Mikrometoda hodowli gruźlicy. — Microméthode de la culture de la tuberculose . . . . .                                                                                                                                                                                                                 | 254 (100) |
| <i>Panek K.</i> Badania nad cyklogenią i patogenezą przesączalnej postaci zarazka gruźliczego.—Recheches sar la cyclogénie et la pathogenèse de l'ultravirus tuberculeux. . . . .                                                                                                                                            | 254 (100) |
| <i>Piasecka-Zeyland E. i Zeyland J.</i> Badania doświadczalne w związku z zagadnieniem przesączalności zarazka gruźliczego. — Recherches expérimentales en rapport avec le problème de la filtrabilité du virus tuberculeux . . . . .                                                                                        | 261 (107) |

### III

- Fejgin Br.* O przesączalności prątka gruźlicy ptasiej.—Sur la filtrabilité du bacille de la tuberculose aviaire . . . . . 262 (108)
- Anigstein L.* Etjologja i epidemjologja duru plamistego i chorób pokrewnych (referat programowy). — Etiologie et épidémiologie du typhus exanthématique et des maladies alliées . . . . . 264 (110)
- Gqsiorowski N.* Sprawa etjologii twardzieli (referat programowy). — Sur la question de l'étiologie du sclérome . . . . . 277 (123)
- Meisel H. i Mikulaszek E.* O zmienności pałeczki twardzielowej. — Sur la variabilité du bacille du sclérome . . . . . 279 (125)
- Milińska-Szwojnicka Z., Epsteinówna T. i Abramowicz L.* Odczyny zlepne w serodjagnostyce twardzieli. — La réaction de d'agglutination dans le sérodiagnostic du rhinoclérôme . . . . . 281 (127)
- Zmigryder-Konopkówna L.* Badania nad obecnością pneumokoków w jamie noso - gardzielowej u dzieci zdrowych. — Recherches sur la présence des pneumocoques dans le mucus naso-pharyngien . . . . . 286 (132)
- Vacek B.* O některých podmínkách přezití bacila tyfu břišního ve vodě.— Sur quelques particularités biologiques du bacille typhique dans l'eau. 289 (135)
- Hirschfeld L. i Amzelówna R.* W sprawie standaryzacji odczynu Widal — Sur la standardisation de la réaction de Widal . . . . . 293 (139)
- Amzelówna R., Benklowa J., Hirschfeldowa H.* W sprawie odczynu Widal w związku z wiekiem. — Sur la réaction de Widal en rapport avec l'âge . . . . . 295 (141)
- Amzelówna R. i Rosenberg J.* O różnicowaniu typów biochemicznych w obrębie pałeczek durowych. — Sur les types biochimiques des bacilles typhiques . . . . . 299 (145)
- Bohdanowiczówna Z. i Ławrynowicz A.* Wartość praktyczna rozkładania ksylozy w różniczkowaniu szczepów pałeczki durowej. — Valeur pratique de la fermentation de la xylose dans la différenciation des souches typhiques . . . . . 302 (148)
- Dworecki S.* Parainfekcja w przebiegu duru brzuszego wywołana przez pałeczki kałowe zasadtowórcze. — Parainfection au cours de la fièvre typhoïde, due au b. faecalis alcaligenes . . . . . 307 (153)
- Flis S. i Rosenberg J.* W sprawie postaci aglutynacji w odczynie Widal — Sur la forme d'agglutination dans la réaction de Widal 312 (158)
- Gieszczykiewicz M.* Atypowe formy pałeczek okrężnicowych jako czynnik chorobotwórczy. — Les formes atypiques du bact. coli comme agent pathogène . . . . . 318 (164)
- Gieszczykiewicz M.* Osobliwa forma b. coli mutabile. — Une forme particulière du bact. coli mutabile . . . . . 320 (166)
- Lipska I.* Bakterje alkalizujące z grupy coli-aerogenes z mleka. — Bactéries alcalisantes du groupe coli-aerogènes du lait . . . . . 320 (166)

# IV

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Goldmann J.</i> O morfologii b. coli w moczu. — Morpologie du b. coli dans l'urine . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 322 (168) |
| <i>Warczewski Z.</i> Problem fermentacji cukru słodowego w różniczkowaniu szczepów bact. paradysenteriae. — Le problème de la fermentation du maltose et la différenciation des souches du bact. paradysenteriae . . . . .                                                                                                                                                                                 | 328 (174) |
| <i>Rymkiewicz W.</i> W sprawie chorobotwórczości pałeczek z grupy Morax-Axenfelda. — Sur la question de la pathogénie du bacille du groupe de Morax-Axenfeld . . . . .                                                                                                                                                                                                                                     | 330 (176) |
| <i>Pesek J.</i> Titr komplementu v ludskej krvi. — Le titre de l'alexine dans le sang humain . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 333 (179) |
| <i>Zoblocki B. i Sierakowski S.</i> Wpływ ciał hydrotropowych: neosalutanu, Bayer 205, heparyny i kwasu sulfosalicylowego na rozpuszczalność białka, na komplement i na odczyn Bordet-Wassermanna. Influence des corps hydrotropes tels que néosalutan, Bayer 205, héparine et acide sulfosalicylique sur la solubilité de l'albumine, sur le complément et sur la réaction de Bordet-Wassermann . . . . . | 336 (182) |
| <i>Supniewski J. i Hano J.</i> Przemiana związków chemicznych pod wpływem krętka bladego. — Transformation des composés chimiques sous influence du tréponème pâle . . . . .                                                                                                                                                                                                                               | 338 (184) |
| <i>Hirschfeld L. i Halberówna W.</i> O odczynie Bordet-Wassermanna w tyfusie plamistym. — Sur la réaction de Bordet-Wassermann dans les cas de typhus exanthématique. . . . .                                                                                                                                                                                                                              | 339 (185) |
| <i>Zajdel R.</i> Dalsze badania nad zagęszczaniem anatoksyny błoniczej. — Recherches ultérieures sur la concentration de l'anatoxine diphtérique par la méthode de l'ultrafiltration . . . . .                                                                                                                                                                                                             | 346 (192) |
| <i>Spasowicz F.</i> Stężanie toksyn, anatoksyn, bakteriofagów i antywirusu zapomocą adsorpcji. — Concentration des toxines, anatoxines, bactériophages par l'adsorption . . . . .                                                                                                                                                                                                                          | 350 (196) |
| <i>Kaczyński R.</i> Zachorowania na błonicę wśród dzieci szczepionych ochronnie anatoksyną. Cas de diphtérie parmi les enfants vaccinés préventivement avec l'anatoxine . . . . .                                                                                                                                                                                                                          | 351 (197) |
| <i>Bucek J. i Podrouzek.</i> O zajímavých fysikálně chemických zmenách krevniho sera. — Sur les changements physico chimiques du sérum de sang . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                   | 354 (200) |
| <i>Saski S. i Stelkiewicz S.</i> Uodparnianie ludzi anatoksyną tężcową. — Immunisation des hommes avec l'anatoxine tétanique . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                     | 355 (201) |
| <i>Sparrow H. i Mayzner M.</i> Szczepienia przeciw błonicy zapomocą anatoksyny zagęszczonej i oczyszczonej przez ultrafiltrację. — Vaccinations antidiphtériques à l'aide de l'anatoxine condensée et purifiée par l'ultrafiltration . . . . .                                                                                                                                                             | 356 (202) |
| <i>Sparrow H.</i> W sprawie jednoczesnych szczepień przeciwko ospie i błonicy. — Question des vaccinations simultanées antivarioliques et antidiphtériques . . . . .                                                                                                                                                                                                                                       | 356 (202) |

- Idberżanka J.* Badania bakteriologiczne zapalenia ucha u dzieci w związku ze schorzeniami jelitowemi i płucnemi. — Les examens bactériologiques de l'otite moyenne des enfants en connexion avec des affections intestinales et pulmonaires. . . . . 357 (203)
- Stryjecki T.* Wynik badania krwi na odczyn B-W u kandydatów na pracowników kolejowych. — Résultats des examens du sang au moyen de la réaction de Bordet-Wassermann des aspirants aux postes d'employés des chemins de fer . . . . . 357 (203)
- Morzycki J.* Dziedziczenie własności wydzielania ciał grupowych O, A, B w ślinie. — Sur l'hérédité des propriétés de la sécrétion des éléments groupaux O, A, B dans la salive . . . . . 358 (204)
- Meisel H. i Mikulaszek E.* Dysocjacja a budowa antygenów u pałeczek *Proteus X*. — La dissociation et la structure des antigènes chez les bacilles *Proteus X* . . . . . 362 (208)
- Drbohlav J.* Variace travů b. typhi abdominalis a b. dysenteriae Flexner. — Les formes de mutation du typhi abdominalis et du bacille dysentérique. . . . . 364 (210)
- Wróblewski W.* Morfologia mikroba zarazy płucnej bydła w płynie wysiękowym płuc chorych zwierząt. — Morphologie du microbe de la péripneumonie des bovides dans l'exsudat des poumons des animaux affectés . . . . . 382 (228)
- Wróblewski W.* Aparat do mikrofotografii i mikroprojekcji bez kamery. — Appareil sans chambre à l'usage de la microphotographie et de la microprojection . . . . . 385 (231)
- Łabędź M.* Szczepienia ochronne i ochronno-lecznicze przeciw wściekliznie u psów. — De la vaccination antirabique prophylactique et prophylactique—curative chez les chiens . . . . . 387 (233)
- Ławoynowicz A.* Spostrzeżenia nad drobnoustrojami tlenowego rozkładu błonnika i agaru. — Observations sur les microbes de la décomposition aérobie de la cellulose et de la gélose. . . . . 395 (241)
- Śnieszko S.* O przecinkowcach rozkładających błonnik. — Sur les vibrions décomposants la cellulose . . . . . 405 (251)
- Sembrat Z.* Badania nad pałeczkami rozkładającymi cellulozę w warunkach tlenowych. — Recherches sur la dégradation aérobie de la cellulose par les microbes ne formants par de spores . . . . . 409 (255)
- Konieczny W.* O zarodnikowych tlenowych bakterjach rozkładających cellulozę. — Sur la dégradation aérobie de la cellulose par les microbes sporogènes. . . . . 412 (258)
- Klima J.* O rozšírení strumy v Republice Českoslovencké — Le goitre en Rep. Tchecoslovaque . . . . . 414 (260)
- Джунковский Е.* К вопросу о развитии малярийных паразитов — „шизогаметы“. — Contribution à l'étude du développement des parasites du paludisme — „schizogamètes“. . . . . 420 (266)

## VI

- Рамзин С. К изучению природы активного иммунитета. — Sur la question de l'immunité active . . . . . 426 (272)
- Matuszewski T. O pewnych zagadnieniach bakteriologicznych, dających się rozwiązać zapomocą metod statystyki matematycznej. — Sur certains problèmes bactériologiques se laissant résoudre à l'aide des méthodes de statistique mathématique . . . . . 439 (285)
- Surpińska J. Porównanie dokładności oznaczania liczby drobnoustrojów na jednostkę objętości zapomocą różnych modyfikacyj metody rozcieńczeń. — Comparaison de la précision de la détermination du nombre de microorganismes dans l'unité de volume à l'aide de différentes modification de la dilution . . . . . 440 (286)



---

---

Redaktorzy i wydawcy: L. Hirszföld, M. Kacprzak i Z. Szymanowski.

---

---

# MEDYCyna DOŚWIADCZALNA i SPOŁECZNA

(Dawniej *Przegląd Epidemiologiczny*).

TOM XVII.

WARSZAWA 1933

ZESZYT 1-2

Wpłynęło 14.IX. 1932.

Z Pracowni Mikrobiologicznej Wolnej Wszechnicy Polskiej.

Kierownik Prof. Dr. A. Ławrynowicz.

## SPOSTRZEŻENIA NAD DROBNOUSTROJAMI TLENOWEMI ROZKŁADAJĄCEMI BŁONNIK I AGAR.

(I. Metodyka hodowania drobnoustrojów fermentujących  
błonnik. II. Rozkład agaru przez drobnoustroje).

Pod a ł a

R. TURNERÓWNA.

### Część I. Metodyka hodowania drobnoustrojów fermentujących błonnik.

**R**ozwój badań nad drobnoustrojami fermentującymi błonnik jak też dokładna charakterystyka tych drobnoustrojów na podstawie danych z piśmiennictwa i własnych badań przedstawione została przez *Z. Judowicz* (Med. Dośw. T. XV, s. 64).

Sprawa odpowiedniej pożywki, któraby była łatwa w sporządzaniu i równocześnie umożliwiła otrzymanie hodowli tych drobnoustrojów nie jest dotąd rozwiązana. Zastosowanie pożywek wybiórczych również zawodzi, gdyż niektóre towarzyszące bakterie gleby również żyją w podobnych warunkach.

Prób otrzymania odpowiedniego podłoża było dużo. Najczęściej stosowane podają niżej.

Pierwsze podłoża zbliżone były do stosowanych przy wzbogacaniu hodowli w warunkach beztlenowych.

1) Do kolbki Erlenmeyera wlewa się roztwór soli mineralnych, dorzuca kawałki bibuły szwedzkiej i zasiewa się ziemią.

Następnie w celu otrzymania czystej hodowli, przesiewa się zaatakowane przez bakterje kawałki bibuły do innych kolbek, w ten sam sposób przygotowanych. Metoda ta zawiodła — hodowli czystych nie otrzymano, a opadająca na dno naczynia bibuła, znalazła się w warunkach, pod względem dostępu tlenu niekorzystnych (według *Bokora*).

2) W celu ułatwienia otrzymania hodowli czystych, zaczęto stosować podłoża stałe. Włókna błonnika roztarte piaskiem i wypłukane wraz z roztworem soli mineralnych, niezbędnych do rozwoju drobnoustrojów fermentujących błonnik, dodaje się do  agaru wodnego i po wyjałowieniu zasiewa się ziemią. Podłoże to ma tę zaletę, że jest stałe i że błonnik występuje w swej postaci naturalnej. Jednakże błonnik ten jest niedostatecznie roztarty i nierównomiernie w podłożu rozproszony (według *Bokora*).

3) Pożywka *Kellermanna*. Błonnik rozpuszcza się w odczynniku Schweitzera następnie wytrąca się kwasem i płucze do zniknięcia odczynu kwaśnego. Błonnik w ten sposób otrzymany wraz z solami mineralnymi o składzie na 1000,0 cm<sup>3</sup> wody wodociągowej; 1,0 —  $\text{K H}_2\text{P O}_4$ ; 1,0 —  $\text{Mg S C}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ; 2,0 —  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ; 2,0 —  $\text{CaCO}_3$ ; 1,0 —  $\text{NaCl}$  przy  $\text{P}_\text{H} = 6,8 - 7$ , dodaje się do agaru i wyjaławia. Posiany agar rozlewa się na płytki. Miejsca, gdzie rozwijają się bakterje rozkładające błonnik, odznaczają się większą przejrzystością. Pożywka *Kellermanna* okazała się również niedostateczną, możliwe, że działają tu szkodliwie na bakterje resztki miedzi lub kw. siarkowego. Błonnik otrzymany przez strącanie odczynnikiem Schweitzera swą postacią (białego proszku) różni się od naturalnego.

*Bokor* podaje tę pożywkę w pewnej modyfikacji. Używa on innego składu soli mineralnych. Błonnik zaś rozpuszcza w 70% kw. siarkowym w t<sup>o</sup> 70 — 60°C, płucze wodą i wytrąca z powrotem amoniakiem.

Celowość modyfikacji takiej jest wątpliwa, gdyż błonnik w kw. siarkowym ulegać może hydrolizie (Hari).

4) Galaretka krzemionkowa *Winogradskiego* z błonnikiem w formie krążków papieru do sączenia. Na płytki Petriego nalewa się równe ilości krzemianu potasowego o c. wł. 1.05 i kw. solnego o c. wł. 1.10 i po zmieszaniu pozostawia się je na dobę dla

stopniowego przejścia hydrosolu kw. krzemowego w hydrogel. Następnie należy płytki płukać wodą przez 3 — 4 dni i gotować w wodzie destyl. aż do zniknięcia chlorków. Na płytki wypłukane nasypuje się po 0.036 g. azotanu potasu. W małych kolbach gotuje się przez 3 — 5 minut, po 10 cm<sup>3</sup> wody destyl. z dodatkiem 0,02 g. CaCO<sub>3</sub> i 2 cm<sup>3</sup> roztworu soli mineralnych składu następującego 1,0 — KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,5 — MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 0,5 — NaCl; 0,01 — MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O; 200 cm<sup>3</sup> wody destyl. Ph = 7,2. Wrzącą zawartość kolbek wylewa się na płytki, po odparowaniu nadmiaru wody nakłada się krążek jałowej bibuły i posiewa ziemią.

6) i 7) *Bokor* podaje 2 metody sporządzenia pożywki. Do 300,0 cm. kolby Erlenmeyera wsypuje się jałowe perełki szklane średnicy 5 mm na wysokość 1 cm. i polewa się je roztworem soli mineralnych: 1000,0 — wody destyl. 2,0 — KNO<sub>3</sub>; 0,5 — MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 0,5 — K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,1 — NaCl; 0,01 — FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O. Na perełkach umieszcza się bibułę, tak aby została zwilżona od dołu. Nadmiar wody po kilku dniach wyparowuje, niezbędna wilgotność zostaje dzięki perełkom zachowana.

Drugim podłożem *Bokora* są płytki z gipsem: równe ilości roztartej bibuły i gipsu z dodatkiem 10% wody rozrabia się i dolewa roztworu soli min. aż do utworzenia papki. Papkę tę umieszcza się na płytkach lub skośnie w probówkach i nakłada się na powierzchnię papki bibułę, po stwardnieniu wyjaławia się przez  $\frac{1}{2}$  godziny w autoklawie pod ciśnieniem dwu atmosfer. Podłoże to ma wiele zalet: a) jest stosunowo łatwe w sporządzaniu; b) jest porowate i dobrze nasiąka solami; c) można je wyjaławiać w każdej temperaturze i pod ciśnieniem. Prowadząc badania porównawcze równolegle na galaretkie krzemionkowej i płytkach z gipsem, *Bokor* otrzymał wyniki jednakowe. W pracowni naszej próbowała posiewów na płytkach z gipsem *Judowiczówna*, jednak jej wyniki okazały się mniej pomyślne.

8) *Krzemieniewska* podaje sposób sporządzania podłoża podobny do *Bokora* z tą tylko różnicą, że zamiast szklanych perełek używa piasku. Na warstwie piasku w płytkach Petri'ego umieszcza się sącdek z bibuły. Piasek przed użyciem zanurza się w kw. solnym, następnie przemywa się w wodzie do zniknięcia odczynu kwaśnego i poddaje działaniu ognia. Piasek zwilża się płynem

mineralnym o składzie wskazanym przez *Hutchinsona* i *Claytona* lub przez *Winogradskiego*.

9) *Bermanowa* (pracownia mikrobiologiczna W. W. P.) zwróciła uwagę, że możnaby zamiast gal. krzemionkowej stosować agar wodny z solami mineralnymi nakładając na agar tak samo, jak na podłoże z gal. krzem. sączek bibuły.

Opracowanie techniki sporządzania tego podłoża i zbadania jego wartości w porównaniu z gal. krem. zostały przezemnie podjęte.

---

Spostrzeżenia moje obejmują 69 posiewów równoległych na podłożu *Winogradskiego* i na agarze z błonnikiem oraz 10 równoległych posiewów na podłożu *Krzemieniewskiej*, *Winogradskiego* i na agarze. Podłoże *Winogradskiego* sporządzałam według modyfikacji podanej przez *Judowiczównę*. 50 cm<sup>3</sup> krzemianu potasowego c. wł. 1, 25, 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej wlewa się szybko do kolby i mieszając dolewa się szybko 150 cm<sup>3</sup> HCl o c. wł. 1, 10, tak aby się nie utworzył strąt. Klarowny ten płyn wylewa się na płytki. W dalszym ciągu postępuje się według przepisu *Winogradskiego*.

Agar z błonnikiem sporządzałam w sposób następujący. Do kolby Erlenmeyera wlewam 500 cm<sup>3</sup> wody wodociągowej, dodając 10,0 g. agaru, i wyjaławiam w autoklawie pod ciśnieniem 1,5 — 2 atmosfer przez  $\frac{1}{2}$  godziny. W mniejszej kolbie gotuję 3 minuty: 40 cm<sup>3</sup> roztworu soli min. (według przepisu *Winogradskiego* z dodatkiem 0,4 — CaCO<sub>3</sub>; 0,72 — KNO<sub>3</sub>). Gotujący się roztwór soli wlewam do dużej kolby i sączę do niej agar wyjałowiony w aparacie Kocha. Po przesączeniu skłócam pożywkę, rozlewam na płytki Petri'ego i po stężeniu przykrywam krążkiem papieru do sączenia. W ten sposób sporządzanie podłoża nie napotyka trudności i w przeciągu 1 — 1 $\frac{1}{2}$  godzin podłoże jest gotowe do użytku. Próby ziemi posiewałam na podłożach grudkami w odstępach mniej więcej dwu cm. Pożywka w ten sposób przygotowana posiada wiele zalet: łatwa jest w sporządzaniu, przejrzysta, jałowa i przez długi czas nie wysycha. Unika się też płynu na powierzchni, sprzyjającego mieszaniu się drobnoustrojów.

Dla stwierdzenia, czy pożywka ta zdolna jest zastąpić pożywkę *Winogradskiego* wykonałam badania porównawcze, równoległe. W spostrzeżeniach brałam pod uwagę: 1) jak często wyrastają drobnoustroje rozkładające błonnik (*Cytophaga Hutchinson'a*, *Cellvibrio* i *Cellfalcicula*); 2) intensywność rozkładu błonnika przez drobnoustroje na pożywkach z gal. krzem. i z agaru; 3) szybkość wzrostu na tych podłożach oraz 4) zdolność wytwarzania barwików przez drobnoustroje.

Charakterystyka bakteryj. Z pośród trzech wyżej wymienionych grup drobnoustrojów najczęściej wyrastała *Spirachaeta Cytophaga*, nazwana przez *Winogradskiego* *Cytophaga Hutchinsoni*. Jest to drobnoustrój o kształcie wydłużonym 3 — 8  $\mu$  długości, na końcach zaostzony, a w środku nieco grubszy 0,3 — 0,4  $\mu$ , lekko wygięty, często przyjmujący kształt litery V lub S, być może w wyniku zniekształcenia przy utrwalaniu (płonący alkohol). Metodą Grama barwi się ujemnie, sposobem *Winogradskiego* (5 minut erytrozyną i 5—10 minut rozcieńczonym wodnym fioletem goryczkowym), młode komórki barwią się na kolor czerwony, zaś pochodzące ze starych hodowli na fioletowy. Od krętków różni się brakiem ruchu.

Kolonje wyrastają na błonniku dokoła grudek posianej ziemi w temp. 19° po 10 — 14 dniach, w temp. 25° — 28° po 3 — 4 dniach. Wytwarzają dużo śluzu i dają barwy: żółtą, brunatną, morelową, różową, często jednak otrzymywałam kolonie bezbarwne. Bez względu na zabarwienie kolonji *Cytophaga Hutchinsoni* zawsze jednakowo energicznie atakowała błonnik. *Mc. Beth* i *Kellermann* (według *Bokora*) uznają tę cechę za fenotypową (nie dziedziczącą się), gdyż według nich Cytofagi, przesiane na inne podłoża, tracą zdolność rozkładania błonnika.

W moich obserwacjach, po dwukrotnem przesianiu w siedmiodniowych odstępach czasu na agar z solami mineralnymi bez błonnika, kolonie przeniesione z powrotem na błonnik rozkładały go równie energicznie jak poprzednio.

Hodowle swoje obserwowałam w przeciągu 4 — 8 tygodni i zawsze mogłam zauważyć, że w pierwszym okresie, 8 — 14 dni, otrzymuję prawie czystą hodowlę cytofag, w następnych dniach obok cytofag występował duży ziarniak. Cytofagi stopniowo ule-

gały autolizie i w starych hodowlach otrzymywałam ziarniaki wyłącznie, lub w przeważającej ilości. Możliwe, że mamy tu do czynienia z cyklem rozwojowym i nie jest wykluczone, że obie te postacie — wydłużona pałeczka i ziarniak — pozostają w pewnym związku.

Zdania badaczy co do istnienia cyklu rozwojowego cytofagi są jednak podzielone. *Hutchison Clayton*, ostatnio również *Krzemieniewska*, przyjmują istnienie cyklu rozwojowego, *Winogradski* i *Bokor* — odrzucają go.

Drugi z kolei drobnoustrój, *Cellovibrio*, to mała zgięta pałeczka długości 2—5  $\mu$  o końcach zaokrąglonych, metodą *Winogradskiego* barwi się fioletowo. Ruch posiada bardzo intensywny, na błonniku wyrasta po 2—4 dniach, pokrywając go barwnymi plamami, najczęściej żółtymi i rdzawymi, rzadziej kremowymi, brązowymi i innymi. Śluzu nie wytwarza, plamy barwne są suche lub wilgotne. *Cellovibrio* atakuje błonnik mniej energicznie niż *Cytophaga Hutchinsoni*, działanie jego obejmuje większą powierzchnię.

*Cellfalcicula* wyrasta rzadziej. Jest to drobnoustrój długości 2  $\mu$ , zaokrąglony na końcach i grubszy pośrodku, prosty lub wygięty łukowato. Barwi się tak samo jak poprzednie, posiada słaby ruch. Na błonniku wyrasta po 5—6 dniach dając suche plamy seledynowe lub zielone z żółtym odcieniem. Błonnik rozkłada nieznacznie, daje się łatwo otrzymać w hodowli czystej.

Wszystkie drobnoustroje, rozkładające błonnik, działają nań zapomocą endoenzymu, wydzielającego się nazewnątrz przy zetknięciu się drobnoustrojów z włóknem błonnika (*H. Pringsheim*).

Dla zbadania wartości podłoża *Krzemieniewskiej*, przeprowadziłam równoległe badanie porównawcze na dziesięciu płytkach z gal. krzemionkową, z agarem i piaskiem. Brałam piasek wiślany i poddawałam go przez 24 godz. działaniu HCl o c. wł. 1,10, dla rozpuszczenia substancji organicznych, następnie piasek płukałam w dużym strumieniu wody bieżącej aż do zniknięcia odczynu kwaśnego i chlorków (trwało to dwie doby). Wyjaławiałam przez godzinę w suszarce w temp. 165°C, dodawałam roztworu soli miner. (wedł. *Winogradskiego*), nakładałam krążek papieru do sączenia i posiewałam ziemią. Wzrost bakterij okazał się bardzo powolny barwy kolonij mniej wyraźne niż na innych

podłożach, na 10 płytek trzy zarosły grzybkami pleśniowemi. Podłoże jest nieprzejrzyste, chropawe i błonnik źle do niego przylega.

Próby ziemi do posiewów pobierałam przez cały rok. Ogółem posiałam 69 prób ziemi, starałam się uwzględnić tereny jaknajdalej od siebie położone i różnie uprawne. Z nich: 19 prób pochodziło z trawników, 19—z kwietników, 11—z pól, 17—z ugorów i 4—z pól uprawnych, 11—z prób ziemi wykopanej z różnej głębokości podczas robót (kanalizacja, budowa domów, naprawa jezdni) 7—z doniczek i 2—z lasów. Wszystkie te posiewy obserwowałam następnie w przeciągu 4—8 tygodni.

Wyniki spostrzeżeń zestawia tabela.

T A B L I C A Nr. 4.

Ogólna intensywność wzrostu i rozkładu błonnika.

|                                       | Posiew wyjściowy | Przesiew |
|---------------------------------------|------------------|----------|
| Ogółem prób ziemi . . .               | 60               | 50       |
| Wzrost intensywniejszy na gal. krzem. | 24               | 25       |
| „ „ „ agarze .                        | 20               | 13       |
| „ jednakowy na gal. krzem. i agarze   | 16               | 11       |

Wynik posiewów (wzrost drobnoustrojów).

|                       | Posiew wyjściowy |          | Przesiew   |             |
|-----------------------|------------------|----------|------------|-------------|
|                       | 60               |          | 49         |             |
| Rodzaj drobnoustrojów | gal. krzem       | agar     | gal. krzem | ag.         |
| Cytophaga . . .       | 47 (78,3%)       | 48 (80%) | 36 (73,4%) | 37 (75,5%)  |
| Cellvibrio . . .      | 45 (75 %)        | 48 (80%) | 33 (67,3%) | 37 (75,5 %) |
| Cellfalcicula . .     | 9 (15 %)         | 9 (15%)  | 7 (14,3%)  | 8 (16,3%)   |

Z powyższej tabeli, obejmującej 60 posiewów równoległych na podłożach z gal. krzem. i agaru wynika;

1) Wzrost drobnoustrojów fermentujących błonnik na podłożach z gal. krzem. i z agaru. W posiewie cytofagi wyrosły na płytkach z gal. krzem. w 78,3%, na agarze w 80%. W przesiewie na gal. krzem. w 73,4%, na agarze w 75,5%. *Cellvibrio* w posiewie na gal. krzem. 75%, na agarze w 80%. W przesiewie na gal. krzem. w 67,3%, na agarze w 75,5%. *Cellfalcicula* prawie jednakowo często w posiewie i przesiewie. W posiewie na gal. krzem. w 15%, na agarze w 15%.

*Cytophaga Hutchinsoni* i *Cellvibrio* prawie jednakowo często wyrastają na agarze z błonnikiem i na gal. krzemionkowej.

2) Ogólna intensywność wzrostu i fermentacji błonnika, notowana po upływie 2—3 tygodni od chwili ukazania się wzrostu, na obu podłożach jest jednakowa, w 26,7% lepsza na agarze.

W przesiewie intensywność wzrostu jest w 50% większa na podłożu z gal. krzem., w 22% jednakowa na obu podłożach, a w 26% lepsza na agarze.

3) Szybkość wzrostu drobnoustrojów na podłożach równoległych. Najpierw, po 2—3 dniach, pojawiają się żółte plamy *Cellvibrio* prawie równocześnie na obu podłożach. Wzrost *Cytophaga Hutchinsoni* występuje wcześniej i bujniej na podłożu z gal. krzemionkową. *Cellfalcicula* wyrasta prawie równocześnie i prawie jednakowo rośnie, może nawet cokolwiek lepiej na agarze.

4) Wszystkie barwy wspomniane już wyżej przy omawianiu morfologii kolonii, są jaskrawsze na podłożu z gal. krzemionkowej.

Ogólny wygląd płytek. W pierwszym okresie 2—3 tygodni od chwili ukazania się kolonii intensywniejszy rozkład błonnika i bujniejszy wzrost drobnoustrojów spostrzega się na podłożu z gal. krzemionkowej. Dodawanie podwójnej ilości soli mineral. wpływało hamująco na intensywność wzrostu.

W późniejszym okresie (4—8 tygodni po pojawieniu się kolonii) obraz się zmienia. Barwy na obu podłożach bledną i rozkład intensywniej zaznacza się na agarze, często aż do zupełnego rozpuszczenia błonnika.

W 27 przypadkach na 69, czyli w 39,1%, zauważyłam po upływie 3—4 tygodni rozrzedzenie agaru, przy użyciu większej

koncentracji soli mineral. już po upływie tygodnia. Jest to oczywiście cecha ujemna pożywki z agaru. Jednak czas, jaki upływa do całkowitego rozplynięcia się pożywki (2 — 3 miesiące) jest długi. Rozrzedzenie agaru w początkowym okresie jest nieznaczne i nie przeszkadza rozwojowi drobnoustrojów rozkładających błonnik.

Bakterje rozkładające agar omawiam w drugiej części swojej pracy.

## W N I O S K I.

1) Podłoże z agaru i soli miner. jest łatwe w przygotowaniu, przezroczyste, jałowe, wysycha powoli i w odróżnieniu od podłoża *Winogradskiego* pozbawione jest płynu na powierzchni.

2) Ogólna intensywność wzrostu drobnoustrojów rozkładających błonnik jest lepsza na podłożu z gal. krzem.

3) Cytofagi i *Cellvibrio* wyrastają na obu podłożach często prawie jednakowo.

4) W przesiewach ogólna intensywność wzrostu drobnoustrojów na agarze jest mniejsza. Drobnoustroje dają wzrost nie w każdym przesiewie jednak częściej wyrastają na pożywce z agarem. *Cellfalcicula* wyrasta na obu podłożach zarówno w posiewie jak i przesiewie jednakowo często.

5) *Cytophaga Hutchinsoni* wyrasta prawie z każdej próby ziemi (w 92,75%), wszystkie 6 prób gliny dały wynik dodatni.

6) Cytofagi mogą zachowywać żywotność na podłożu z agaru i soli miner. bez błonnika.

7) Podłoże z agaru w 39,1% ulega rozrzedzeniu przez działanie drobnoustrojów.

## P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Bermanowa P. rękopis. — 2) Bokor R. Archiv. f. Mikr., Bd. 1. s. 1930 r.—3) Clausen P. Centr. f. Bakt. Abt. II, Bd. 84, s. 20, 1931 r.—4) Hari P. Physiologische Chemie, 102, 1928 r.—5) Hutchinson i Clayton. The Journal of. Agric. Science Vol. IX. 1919 r. s. 173 (w/g Winogradskiego, Annales de l'Institut Pasteur). — 6) Judowiczówna Z. Med. Dośw. T. XV, s. 64 — 83, 1932 r.—7) Kellermann i Mc. Beth. Centr. f. Bakt. Abt. II, Bd. 34, s. 485—494, 1912 r. (w/g Winogradskiego). — 8) Krzemińska H. Acta Societatis

Botanicorum Poloniae, Vol. VII, Nr. 4, s. 507—520, 1930/31 r.—9) Omelianski, Centr. f. Bakt. Abt. II, Bd. 9, 1902 r. (w/g Clausena Centr. f. Bakt. Abt. II, Bd. 84, 1931 r.).—10) Winogradski. Annales de l'Institut Pasteur Nr. 4, 1925 r. i Nr. 5, 1929 r. s. 549—633.

## Cześć II. Rozkład agaru przez drobnoustroje.

Drobnoustroje, rozkładające agar, otrzymano z różnych środowisk: powietrza, gleby, wody morskiej i suszonych owoców (winogrona malaga). Pierwszy wyosobnił bakterje rozkładające agar Gran (1902 r.) z wody morskiej brzegów Holandji i Norwegji. Wyosobnione przez niego gatunki były to krótkie pałeczki tlenowe, szybko się poruszające, bardzo do siebie podobne. Gran ujął je we wspólny rodzaj *Bacillus gelaticus* i wyosobnił trzy odmiany: *genuina*, *energica* i *Bergensis*. Wszystkie te bakterje zmieniały spistość agaru, dzięki dyfundującemu enzymowi zwanemu gelazą, przyczem dwie ostatnie wydzielały również diastazę. Agar w miejscach, podlegających działaniu enzymów, nie barwił się roztworem Lugola na kolor czerwono-fioletowy.

Gran otrzymał czyste szczepy, stosując podłoża wybiórcze. Nie zawsze jednak stosowanie jednego i tego samego podłoża wybiórczego dla bakteryj rozkładających agar prowadzi do celu. W Delft, według *Lundestadta*, dla wzbogacenia hodowli w drobnoustroje stosowano następujące podłoże: 100,0 cm.<sup>3</sup> wody wodociągowej; 0,3 — NaCl, 0,1 — fosforanu potasu, 0,1 — chlorku amonowego, 0,1 — agaru i posiewano kilka kropli wody morskiej. Bakterje, w tej hodowli otrzymane, przesiewane rysami na agar, przygotowany na wyciągu z ryb, następnie izolowano je z zagłębionych w agarze kolonij. W pracowniach w Bergen i Aalesund (według *Lundestadta*) musiano zastosować inne podłoże gdyż poprzednie nie dało z wodą morską, tam pobraną, pożądaných rezultatów. Na wywar z glonów i roślin morskich po ostudzeniu, posiany był świeży materiał. Dalsze przesiewy wykonywano na agarze lub żelatynie z wywarem roślin morskich. O. Richter (1903) otrzymał czyste hodowle dwu okrzemek *Nitzschia palea* (Kütz W. Smith), i *Navicula minuscula* Grunow, które dawały zagłębienia w agarze. O polach enzymatycznych nie wspomina.

K. Panek (1905 r.), badając drobnoustroje kwaszące barszcz, wyosobnił drobną nieruchomą pałeczkę: *Bacterium betae viscosum*. Pałeczką ta nie wytwarza zarodników, jest względnym beztlenowcem, barwi się sposobem Grama i barwnikami anilinowymi. W preparatach otoczki nie zauważono, natomiast w kropli wiszącej spostrzeżono warstwę, silnie załamującą światło. Na pożywkach bez cukru pałeczka ma długość 0,8—1  $\mu$  i grubość 0,6  $\mu$ . Optimum wzrostu w  $t^{\circ}$  18—20°C. Na zwykłym agarze daje drobne kolonie, śluzu nie wytwarza. Na 1,5% agarze z wyciągiem buraczanym i z cukrem trzcinowym (10%) daje zagłębienia, wydziela obficie śluz i rozrzedza agar, nie czyniąc go jednak płynnym. Cukry zakwasza bez wydzielania gazów, mleko ścina, serwatkę lakmusową barwi na czerwono. Na żelatynie rośnie słabo, po dodaniu wyciągu z buraków wytwarza obficie śluz. Pałeczka ta dostaje się do barszczu z powietrza. Na 6 prób wykonanych z jałową nalewką buraczaną w otwartych kolbach 4 dały wynik dodatni. Nie jest wyłączone że pałeczki te dostają się do nalewki wraz z burakami.

W r. 1911 W. Biernacki, badając mikroflorę suszonych owoców, znalazł na winogronach hiszpańskich (malaga) pałeczkę przez niego nazwaną *Bacterium Nencki* i Biernacki. Kształt i długość tej pałeczki ulega zmianie w zależności od podłoża, na którym rośnie. Pałeczka jest względnym beztlenowcem, zarodników nie wytwarza. W preparatach układa się często w dwinki i krótsze łańcuszki barwi się barwnikami anilinowymi, sposobem Grama odbarwia się, w niebarwionych preparatach można zauważyć otoczkę śluzową. Dobrze rośnie na agarze i żelatynie z dodatkiem cukru trzcinowego (5%) lub gronowego (2 — 5%) w  $t^{\circ}$  35—38° C. Na zwykłym agarze w  $t^{\circ}$  pokojowej rośnie źle, w cieplarni—znacznie lepiej. Posiana przez wkłucie w agarze z cukrem wytwarza obfity gaz, rwie podłoże. Na płynnych pożywkach daje po kilku dniach zapach owocowy, mleko zakwasza, serwatkę lakmusową w  $t^{\circ}$  37° C. zabarwia na kolor czerwono-żółty. Pałeczka rozkłada glukozę, sacharozę, galaktozę, lewulozę, maltozę, rafinozę, mannit z wytwarzaniem gazu.

W r. 1913 wspomina F. Fuhrmann (według Lundestadta), o drobnoustroju rodzaju *Spirillum*, wyosobnionym z wody portu

w Tryjeście, mającym zdolność wytwarzania gelazy. Bliższych danych nie podaje.

K. Aoi (1924 r.) ogłosił badania swoje nad bakterją, której nazwy narazie nie podał. Bakterja ta była izolowana z obornika i z ziemi, występowała obok drobnoustrojów fermentujących błonnik. Aoi otrzymał czyste szczepy przez wysianie na płynne podłoże *Kellermanna* z błonnikiem i agarem (0,1 — 0,2%), jak również na podłożu wybiórczym *Grana* z dodatkiem 0,1% NaCl zamiast 3%. Na agarze mięsnym i na buljonie drobnoustroje nie wyrastały. Pałeczki te były lekko wygięte, ruchliwe, tlenowe, zarodników nie wytwarzały, t<sup>o</sup> 45<sup>o</sup> zabijała je w ciągu 10 minut. Z podłoży wybiórczych bakterje przesiane były na 1% agar z roztworem soli mineralnych *Kellermanna*. Pojedyncze kolonie dawały lejkowate zagłębienia, wysiane rysami dawały brózdy, w których po dłuższym czasie agar ulegał całkowitemu rozrzedzeniu. Płyn z bruzd redukował odczynnik Fehlinga, dokoła kolonij tworzyły się strefy redukujące. Reakcja barwna agaru z roztworem Lugola wypadła zgodnie z opisem *Grana*. Gray i Chalmers (1924 r.) opisali *Vibrio-Microspira agar-liquefaciens*, wyosobniony z ziemi ogrodowej. Hodowle otrzymali przez wzbogacenie szczepu na płynnej pożywce z błonnikiem i dalsze izolowanie jej na płytkach z agarem. (Szczegółów tej metody nie omawiają). W młodej hodowli z płynnego podłoża otrzymali typową pałeczkę wygiętą, w starszych hodowlach pałeczki były krótkie, przypominały ziarniaki. Przez przesianie starych szczepów otrzymywali znowu typowy kształt przecinkowców. Winogradski przypuszcza, że wyżej wspomniani autorzy nie otrzymali czystej hodowli. *Microspira agar liquefaciens* była również izolowana z gleby w Delft przez *Leeflanga*, szczepy jego zbadał i opisał *van der Lek*, który nazwał je *vibrio agar-liquefaciens* (w/g P. H. H. Graya).

Aoi i Orikura (1928) opisali symbiozę dwu bakteryj, rozkładających agar. Jedna z nich rozkładała również i ksylian. Autorzy przypisali tej bakterji duże znaczenie, gdyż biorąc udział w rozkładaniu błon komórkowych, ułatwia ona dostęp do nich innym drobnoustrojom fermentującym błonnik. Pałeczki przez autorów tych opisane są wygięte, wielkość ich waha się (zależnie od użytego do podłoża związku węgla) od 1,5—2,5  $\mu$ . długości

i 0,5 — 0,8  $\mu$  grubości. Są to tlenowce Gr., — posiadają ruch, zarodników nie tworzą. Optimum wzrostu leży między 25 a 28° C., w temp. 45—46° C. giną po 10 minutach. Optimum Ph=6,8—7,5. Pożywki sporządzali przez dodanie różnych związków węgla i azotu do roztworu soli mineralnych o składzie następującym: 100,0 cm.<sup>3</sup> wody destyl.; 0,05 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,05 — Mg SO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O; 0,5 — NaCl; 0,1 — Ca Cl<sub>2</sub> i ślady Fe Cl<sub>3</sub>. Pozatem stosowali jeszcze pożywki *Graya*, *Kellermanna* i inne.

*J. Lundestadt* (1928) wyosobnił z wody morskiej w Oslo pałeczki rozkładające agar. Odróżnił 8 odmian tych bakterij. Długość ich waha się od 1,2 — 4  $\mu$ , grubość 0,5 — 1,2  $\mu$ . Wszystkie należą do tlenowych, Gr—, barwią się barwnikami anilinowymi, wydzielają gelazę, tworząc pola enzymatyczne. Znoszą dobrze wyższą koncentrację soli, nawet podczas wysychania podłoża do  $\frac{1}{3}$  poprzedniej objętości, gdy koncentracja soli dochodzi do 10<sup>0</sup>/o.

*Lundestadt* otrzymał czyste szczepy, hodując po 50 cm.<sup>3</sup> wody morskiej z morskimi roślinami w kolbach (100 cm.<sup>3</sup>) przez 2—3 tygodnie w temp. około 10° C. Z tak wzbogaconej hodowli bakterje były przesiane na agar z wywarem z roślin morskich.

---

Spostrzeżenia moje obejmują: 35 posiewów ziemi na agarze z błonnikiem w kształcie krążków papieru do sączenia (ob. cz. I), 9 posiewów na agarze z podwójną dawką roztworu soli mineralnych i z błonnikiem i 25 równoległych posiewów porównawczych na agarze z błonnikiem i bez błonnika. Razem zbadano 69 próbek ziemi różnego pochodzenia. Agar używałam wodnego dodając soli mineralnych w składzie podanym przez *Winogradskiego* (szczegóły ob. cz. I pracy).

Z 35 prób ziemi posianych na agarze z błonnikiem trzymany w temp. 25—27° C, w 15 przypadkach otrzymałam po 2—4 tygodniach widoczny rozkład i częściowe rozrzedzenie agaru. Dookoła grudek posianej ziemi tworzyły się zagłębienia.

Z prób wysianych na agarze o podwójnej dawce roztworu soli mineralnych z błonnikiem w tej samej temperaturze rozkład agaru następował szybciej, niekiedy w 58 dniu po posiewie.

Z 25-ciu posiewów równoległych na agarze z błonnikiem i bez błonnika w 8 przypadkach wynik wypadł zgodny, 2 próby rozłożyły tylko agar z błonnikiem, a 6 tylko agar bez błonnika. Na agarze bez błonnika najslabszy nawet rozkład agaru występuje wyraźnie i łatwo daje się zauważyć. Przesiewy rysami na agarze bez błonnika dawały głębokie brzozy, w których płynął rozrzedzony agar. Zabarwienie hodowli na rysach było przeważnie żółte. Hodowle wydzielały zapach aromatyczny. Skala zapachów była dość rozmaita, najczęściej były to zapachy kwiatowe (czeremcha, jaśmin, lipa), rzadziej zapach świeżej ziemi leśnej, miodu, czosnku i przykry zapach kleju stolarskiego.

Hodowle pierwotne zawierały liczne drobnoustroje towarzyszące z gleby. Niektóre z nich dawały wzrost mgławicowy co w znacznym stopniu utrudniało, a niekiedy uniemożliwiało, wyosobnienie bakterij rozkładających agar. Próby zahamowania wzrostu mgławicowego zapomocą optochiny (*Goldberżanka*), spowodowały zahamowanie wzrostu na podłożach wogóle.

Ogrzewanie, stosowane w celu oddzielenia bakterij towarzyszących od rozkładających agar również zawiodło, gdyż wytrzymałość drobnoustrojów rozkładających agar na wyższą ciepłotę nie jest większa, niż innych bakterij. Zawiesiny bakterij w 2 cm.<sup>3</sup> jałowej wody wodociągowej ogrzewałam na łaźniach wodnych w t°: 65°, 60°, 55°, 50° i 48°C, przez 20 minut, a następnie posiewałam na agarze. W żadnym przypadku wzrostu nie otrzymałam.

Posiewając rozcieńczone zawiesiny na płytkach agarowych otrzymywałam kolonie poszczególne lecz żadna z nich nie dała wzrostu i rozrzedzenia po przesianiu na agar z solami mineralnemi.

Z 10 posiewów, które poddałam dłuższej systematycznej obserwacji, trzy szczepy, które mogłam uważać za czyste (wygląd hodowli i obraz mikroskopowy), okazały się tak nietrwałe, że przesiane nie wyrastały. Przesiewałam je z hodowli macierzystej kilkakrotnie z wynikiem ujemnym. Były to drobne pałeczki, tlenowe, Gr—, nieruchome, na agarze z solami miner. dawały drobne szare zagłębione kolonie. Z pozostałych 7 posiewów czystych szczepów nie otrzymałam. Wszystkie obserwowane przezemnie posiewy dawały po 24—48 godzinach w t° 26—29°C drobne szarawo- lub żółto-białe kolonie, zagłębione w agarze miseczkowato

albo lejkowato. Preparaty barwione z tych kolonij dawały wyłącznie pałeczki różnej wielkości, niekiedy lekko wygięte, przeważnie proste. Po 4—5 dniach pałeczki barwiły się niejednolicie, po 7 dniach barwiły się biegunowo lub wykazywały kilka (3—4) mocniej zabarwionych ziarenek. Niektóre szczepy wykazywały ruch, wszystkie były tlenowcami. Metodą Grama barwiły się ujemnie. Barwione jodem (metodą Omeliańskiego), po kilku godzinach barwienia dawały zaledwie kolor jasno-słomkowy. Dobrze barwiły się na fioletowo sposobem Winogradskiego (5'—erytrozyną kwaśną, 10'—wodnym roztworem fioletu goryczkowego po uprzednim utrwaleniu preparatu w płonącym alkoholu). Zarodników nie wytwarzały, t<sup>0</sup> 48°C zabijała je po 15 minutach. Posiewy trzymane w cieplarni przez 2 doby w t<sup>0</sup> 38°C, po przesianiu na świeże podłoże i przeniesieniu do t<sup>0</sup> 27—29°C rosły dobrze. Szczepy czyste były b. nietrwałe, natomiast hodowle mieszane po 4—5 miesiącach wykazywały jeszcze żywotność i przesiane dobrze rosły. Wszystkie moje szczepy nie dawały podanej przez Grana barwnej reakcji agarowej i zmieniały spistość agaru. Cztery posiewy dały barwik brunatny, dyfundujący do podłoża, i zapach świeżo pieczonego chleba, Nr. 22 miał zaś zapach kleju stolarskiego. W półpłynnej i w płynnej masie rozłożonego agaru nie wykryłam cukru (odczynniki Nylandera i Hejnesa).

Szczepy moje nie rozkładały błonnika, umieszczonego na agarze peptonowym lub agarze z solami mineralnymi. Natomiast posiane na gal. krzemionkowej z błonnikiem, po sześciomiesięcznych przesiewach na agarze, dały wzrost i obraz mikroskopowy identyczny z *Cytophaga Hutchinsoni*, zabarwienie kolonij różowe i energiczny rozkład błonnika.

Pojawienie się Cytofag w tych posiewach jest zjawiskiem ciekawym. Posiewy swoje obserwowałam przeszło pół roku. Przesiewy wykonywałam na początku co 2—3 tygodnie, a potem co 3—5 dni. Z każdego posiewu robiłam preparaty barwione i nigdy nie spostrzegłam kształtów przypominających Cytofagi. Nie mogę narazie określić w jakiej postaci Cytofaga przechowywała się w ciągu 6 ciu miesięcy w przesiewach na agarze z solami miner. bez błonnika. Te same szczepy z różnych posiewów nie zawsze dawały równie wyraźne rezultaty. Często występowały

żółte kolonie, wydzielające mało śluzu, nie rozkładające błonnika, a obok nich pojedyncze różowe kolonie Cytofagi. W pałeczkach, otrzymanych z tych żółtych kolonij, już na czwarty dzień widoczne były wyraźne ziarenka. Obok pałeczek mogłam też zauważyć w preparatach pojedyncze Cytofagi. Stosunkowo najlepiej zbadałam posiew Nr. 17. Stanowił on połączenie dwóch pałeczek tlenowych, Gr.—: jednej długiej cienkiej 0,3 — 0,5  $\mu$  grubości, 1,5—2,0  $\mu$  długości, nieruchomej, oraz drugiej, przypominającej owalne ziarniaki, posiadającej ruch. Próby oddzielnego otrzymania ich przez częste przesiewy nie udały się. Z początku po 24—48 godzinach w temp. 27—29°C wyrastały pałeczki nieruchome, dając drobne zagłębienia w agarze. Po 4—5 dniach preparaty wykazywały domieszkę krótkiej grubej pałeczki. Kolonie na agarze traciły swe regularne kontury, rozszerzały się i dawały żółty nieznaczny nalot śluzowy.

Wobec nieotrzymania czystych hodowli bakterij rozkładających agar nie mogę podać charakterystyki ich cech biochemicznych.

Szereg hodowli mieszanych bakterij rozkładających agar poddałam systematycznym spostrzeżeniom w ciągu 4—8 miesięcy.

Mimo nieotrzymania hodowli czystych spostrzeżenia te dają mi podstawę do wypowiedzenia się co do niektórych ich cech i własności.

Wyniki swoich spostrzeżeń przedstawić mogę w postaci wniosków następujących.

## W N I O S K I.

1. Z 69 badanych prób ziemi w 39,1% wyrosły drobnoustroje rozkładające agar. Na 6 prób gliny pałeczki wyrosły tylko z jednej.

2. Agar używałam wodnego z dodatkiem soli miner. o składzie podanym przez *Winogradskiego*.

3. Drobnoustroje rozkładające agar są to pałeczki tlenowe, Gr—, barwią się metodą *Winogradskiego* na fioletowo, zarodników nie wytwarzają, niektóre z nich posiadają ruch. Na agarze z solami miner. rosną, dając zagłębienia i zapachy aromatyczne.

4. Drobnoustroje rozkładające agar bardzo trudno dają się odosobnić od bakteryj towarzyszących. Szczepy czyste są nie trwałe i prędko giną.

5. Drobnoustroje te w różnym stopniu zmieniają agar: a) czynią go kruchym, łamliwym (Nr. 17), b) zamieniają go na masę przypominającą miękki wosk lub zcukrzony miód (18 i 19), c) doprowadzają do zupełnego rozpuszczenia i czynią agar płynnym (21, 22, 24, 32).

Laboratoire de Microbiologie de l'Université Libre de Pologne.  
(Direct. Prof. Dr. A. Ławrynowicz)

## OBSERVATIONS SUR LES MICROBES AÉROBIES DÉCOMPOSANTS LA CELLULOSE ET LA GÉLOSE.

par R. TURNER.

On a examiné 69 échantillons du sol a) en comparant la décomposition de la cellulose par les microbes sur le milieu de *Winogradsky* (silico-gel) et sur gélose, b) en observant la décomposition de la gélose et les propriétés des microbes décomposants.

Les résultats des nos observations sont suivants:

La gélose avec de sels minéraux est un milieu facile à préparer, transparent, et ne sèche que très lentement. L'intensité de développement des microbes décomposants la cellulose est plus grande sur le milieu de silico-gel. Les microorganismes décomposants la gélose sont de bacilles aérobies, Gram-négatifs, ne produisant pas de spores, parfois mobiles. Sur la gélose avec les sels minéraux ils poussent en formant des faussettes, causant, la liquéfaction et produisant des odeurs aromatiques. Il est difficile d'isoler les cultures pures des microorganismes décomposants la gélose. L'action de ces microorganismes sur gélose est très variée: la gélose devient fragile, elle change en une masse rappelant la cire ou bien le miel, elle devient liquide.

PIŚMIENNICTWO.

- 1) Aoi K., Centr. f. Bakt. Abt. II, Bd. 63 s. 30, 1924 r. (w/g Lundestadt'a) 2) Aoi K. and Orikura J., Centr. f. Bakt., Abt. II, Bd. 74, s. 1, 1928 r. 3) Biernacki W. Centr. f. Bakt., Abt. II, Bd. 29, 1911 r. 4) Fuhrmann F. Vorlesungen über technische Mykologie. Jena 1913 (w/g Lundestadt'a). 5) Goldberżanka J. Med. Dośw. T. VIII, s. 121, 1927 r. 6) Gran H. H. Bergens Museums Aarbog. 1901 r. II, Nr. 2, 1902 r. (w/g Lundestadt'a). 7) Gray and Chalmer Ann. Appl. Biol. Vol. II, p. 324, 1924 r. (w/g P. H. H. Gray'a, Annal de l'Institut Pasteur Nr. 5, s. 1058, 1929 r.). 8) Lundestadt J. Centr. f. Bakt. Abt. II, Bd. 75, s. 1, 1928 r. 9) Panek K. Roz. Ak. Um. (Mat-przyr.) tom, 5 B; s. 4-45, 1905 r. 10) Richter O. Berichte der Deutschen bot. Gesellsch. Bd. 21, Berlin 1903 r. (w/g Lundestadt'a). 11) Winogradski Annal. de l'Institut Pasteur Nr. 5 s. 549 i s. 1060 1929 r.
- 
-

Wpłynęło 18 I. 1953.

Z Instytutu Weterynaryjnego i Medycyny Doświadczalnej Uniwersytetu Jagiellońskiego  
(Dyr. Prof. Dr. J. Nowak).

Z Zakładu Bakteriologii Uniwersytetu Jagiellońskiego  
(Dyr. Prof. Dr. M. Gieszczykiewicz).

## KRZYWE ZMIAN PH NA WODZIE PEPTONOWEJ Z MANNITEM, MALTOZĄ, LAKTOZĄ I CUKREM GRONOWYM POD WPŁYWEM WZROSTU BAKTE- RYJ Z GRUPY OKRĘŻNICOWO-DUROWEJ.

P o d a ł a

ELŻBIETA WALKOWSKA-WOŹNIAKOWSKA.

**Z** pomiędzy zagadnień biologicznych bakteryj z grupy okrężnicowo-durowej na pierwszy plan wysuwają się zagadnienia fermentacji cukrów i związanej z tem produkcji kwasów. Zagadnienia te są nader interesujące, nie tylko z powodu wartości, jaką przedstawiają dla rozpoznawania i różnicowania chorób zakaźnych, ale także ze względów czysto teoretycznych. Fermentacja cukrów dzięki jaskrawemu uzewnętrznianiu się (produkcja kwasu — zmiana pożywek barwnych, produkcja gazu — rozsadzanie pożywek) pozwala nam bez większych trudności na gatunkową segregację bakteryj z grupy *bact. coli* — *bact. typhi*. Oprócz tego jednak umożliwia nam w sposób stosunkowo łatwy, wgląd w skomplikowane procesy przemiany materii wspomnianych drobnoustrojów.

W licznej piśmiennictwie tego przedmiotu, opracowano skrupulatnie i zdefiniowano chemicznie produkty powstające pod wpływem bakteryj z wszelkich znanych węglowodanów. Określono

zależność rozkładu węglowodanów od najrozmaitszych czynników chemicznych i biologicznych. Oznaczono stopień zakwaszania powstający pod wpływem fermentacji, zbadano wreszcie wpływ, jaki produkty fermentacji na bakterje wywierają.

W pracy niniejszej postawiłam sobie za zadanie prześledzić, o ile możności najdokładniej, proces rozkładu niektórych cukrów, (najczęściej używanych w praktyce laboratoryjnej) w rozmaitych ich stężeniach przez bakterje z grupy okrężnicowo-durowej, z punktu widzenia zakwaszania pożywki, a więc biorąc za wykładnik tych zmian, zmiany w stężeniu jonów wodorowych. Wychodziłam z założenia, iż nie tylko stężenie jonów końcowe winno być przedmiotem badania, lecz, że znajomość poszczególnych faz tego procesu dostarczyć może wiele ciekawych danych. Kwasota końcowa wielokrotnie nie wykazuje cech charakterystycznych dla danego gatunku bakteryj, lub dla danego cukru, ewentualnie pozwala tylko na grubszą orientację. Normalne pożywki używane w praktyce laboratoryjnej prawie zawsze zawierają ciała (białko, pepton) wpływające w działaniu swoim na obraz końcowego Ph, tak, iż nie zupełnie jesteśmy w możności zorientowania się co do przemiany cukrów. Te niejasności i niedociągnięcia znikają w znacznej mierze, jeśli bierze się pod uwagę nie Ph końcowe, lecz śledzi się przebieg zmian Ph na pożywkach z węglowodanami. Krzywe uzyskane w ten sposób mogą mieć znaczenie przy rozpoznawaniu i różnicowaniu bakteryj grupy okrężnicowo-durowej, przedewszystkiem zaś rzucają ciekawe światło na przemianę węglowodanów pod wpływem bakteryj, na ich powinowactwo do poszczególnych cukrów, wreszcie na zależność procesów tych od innych składników pożywki (pepton).

Celem uzyskania przejrzystych krzywych zmian Ph, przyjęłam w pracy mojej jako wartość stałą pożywkę, (1% wodę peptonową) zmieniałam zaś stężenie cukrów. Wyniki uzyskane w ten sposób mają wartość po uwzględnieniu tego momentu. Jak to niżej w pracy zaznaczam, zmieniając stężenie innych składników, można by uzyskać inne wyniki, czem tłumaczyć można pewną rozbieżność między wynikami mojej pracy, a wynikami podanymi w piśmiennictwie. Wyniki mojej pracy dają wartości bezwzględne

w odniesieniu do pozostałych poza cukrami czynników. (Temperatura, białko, pepton).

Badania przeprowadzałam metodą kolorymetryczną, według *Clarka*. W tym celu sporządziłam skalę do oznaczania jonów wodorowych Mac Illvaine'a podaną przez *Clarka* (The determination of hydrogen ions). Rozpiętość jej wynosi od Ph 2.2 do 8.0. Jako płynów buforowych użyłam fosforanu sodowego zasadowego i kwasu cytrynowego. Jako wskaźników zieleni bromokrezolowej, błękitu bromotymolowego i czerwieni fenolowej. Zmiana barw tych indykatorów leży w granicach:

|                                       |              |
|---------------------------------------|--------------|
| dla zieleni bromokrezolowej . . . . . | 4.2 — 5.6 Ph |
| „ błękitu bromotymolowego . . . . .   | 6.0 — 7.6 „  |
| „ czerwieni fenolowej . . . . .       | 6.8 — 8.4 „  |

Granice, w których obrębie następują zmiany barwików, zachodzą na siebie w ten sposób, że uzyskujemy ciągłość obrazu zmian Ph. Jedynie między zielenią bromokrezolową a błękitem bromotymolowym jest mała przerwa. Mianowicie zmiana barw u zieleni bromokrezolowej kończy się przy Ph 5.6, zmiana u błękitu bromotymolowego zaczyna się od Ph 6.0. Pozostaje więc luka wynosząca 0.4 różnicy. Ponieważ jednak cała skala tworzy łańcuch o interwałach 0.2, przy pewnej wprawie nie trudno jest zorientować się, czy PH badane jest bliżej Ph 5.6 czy też 6.0. Błąd zatem może wynosić nie wyżej 0.2 różnicy.

Tak fosforan, jak i kwas cytrynowy rozpuszczałam świeżo przegotowaną (celem usunięcia  $CO_2$ ) wodą destylowaną. Pipety i naczynia, w których miesza się płyny buforowe, muszą mieć odczyn zupełnie obojętny. Fosforan i kwas cytrynowy użyty do sporządzenia skali pochodził z fabryki Kahlbauma. Jest oznaczony: „Zu Enzymstudien, nach Sörensen.” Próbowałam zrobić skalę z preparatów innego pochodzenia, lecz stale dochodziłam do mylnych wyników. Ponieważ kwas cytrynowy łatwo zarasta, skala szybko się psuje. Aby temu zapobiec, naczynia i pipety, którymi się posługiwałam, były uprzednio wyjałowione. To postępowanie dało dobre wyniki, gdyż skala zamiast, jak podaje *Sierakowski*, przez 1 — 2 miesiące, trzymała się bez zmian blisko rok. Rurek używałam tylko ze szkła jenańskiego, chemicznie czystego.

Doświadczenie przeprowadzałam w następujący sposób:

Rozlewałam pożywkę po 10 cm<sup>3</sup> do jałowych probówek. Do jednej części probówek dodawałam po  $\frac{1}{2}$  cm<sup>3</sup> zieleni bromokreazolowej, do drugiej taką ilość błękitu bromotymolowego, do trzeciej czerwieni fenolowej, czwarta pozostawała bez barwika dla kontroli wzrostu. Celem uniknięcia rozkładu cukru w pożywce przy temperaturze powyżej 100°, sterylizowałam w aparacie Kocha w ciągu trzech dni po 20'. Jak podaje *Sierakowski*, a co sama stwierdziłam, sterylizacja barwika nie zmienia. Po sprawdzeniu w cieplarni jałowości, szczepiłam materiałem z hodowli stałych, starając się przenieść za każdym razem taką samą ilość materiału. Co 24<sup>h</sup> sprawdzałam zmiany Ph w komparatorze Walpole'a wyżej opisaną skalą. Jako pożywki użyłam wody peptonowej 1-procentowej, z odpowiednim cukrem w rozmaitych stężeniach od 0,01%—2%. Szczepy miałam przeważnie muzealne, kultury agarowe, które przeszczepiałam mniej więcej co dwa miesiące. Przepadałam po 14 szczepów bacterium coli, typhi, paratyphi A, B, C.

Do wyboru metody kolorymetrycznej skłoniły mnie okoliczności następujące: Chcąc badać zmiany Ph pożywki w przebiegu wzrostu kultur, musiałoby się dla zastosowania metody elektrometrycznej przygotować niesłychanie dużą liczbę rurek z pożywkami, albowiem przez badanie metodą elektrometryczną poszczególne kultury ulegałyby zanieczyszczeniu. Niewątpliwie metoda elektrometryczna jest znacznie ściślejsza. Pracując jednak stale tą samą metodą, otrzymywałam wyniki, w których błąd experimentalny jeśli był, to zawsze był ten sam. Skalę kontrolowałam potem potencjometrem, przyczem wyniki obu metod były zgodne. Pozatem wartości Ph, które znalazłam, stoją pośrodku między wartościami spotkanymi w piśmiennictwie. Ewentualne różnice są nieznaczne.

*Sierakowski i Milejowska* podają następujące minimalne i maksymalne stężenia jonów wodorowych:

|                     |                |
|---------------------|----------------|
| Bact. coli. . . . . | 3,8 — 10,02 Ph |
| „ typhi . . . . .   | 4,2 — 10,02 „  |
| „ paratyphi A . . . | 4,0 — 10,45 „  |
| „ „ B . . .         | 3,8 — 10,02 „  |
| „ „ C . . .         | 4,1 — 10,95 „  |

Wartości te zmieniają się zależnie od temperatury. W temperaturze 45° C coli ginie pod wpływem Ph 4,8, zamiast 3,8, b. typhi przy Ph 5,0 zamiast 4,2. Jak zaznaczyłam w dalszym ciągu pracy, doświadczenia moje przeprowadzałam stale w temperaturze 37° C.

*Cluzet, Rochaix, Kopman*, podają koncentracje jonów wodorowych korzystne dla wzrostu niektórych bakterij z grupy okrężnicowo-durowej.

|                    |               |
|--------------------|---------------|
| Bact. coli . . . . | Ph 5,2 — 8,42 |
| „ paratyphi B . .  | „ 3,9 — 7,9   |
| „ typhi. . . .     | „ 4,8 — 8,63  |

Wzrost b. coli ustawał poniżej Ph 4,67 i powyżej 9,53, podczas gdy b. typhi miał granicę wzrostu Ph 3,72 — 8,88.

Według *Michaelisa i Markory* b. coli może zakwaszać pożywkę zawierającą cukier do Ph 5,0.

*Scheer* przyjmuje, że Ph 4,6 jest zabójcze dla bact. coli, Ph 5,0 dla bact. typhi.

*Dernby* podaje następujące wartości optymalne dla:

|                   |              |
|-------------------|--------------|
| B. typhi . . . .  | Ph 6,8 — 7,2 |
| „ paratyphi A . . | „ 6,4 — 7,0  |
| „ „ B . .         | „ 6,4 — 7,2  |
| „ coli. . . .     | „ 6,0 — 7,2  |

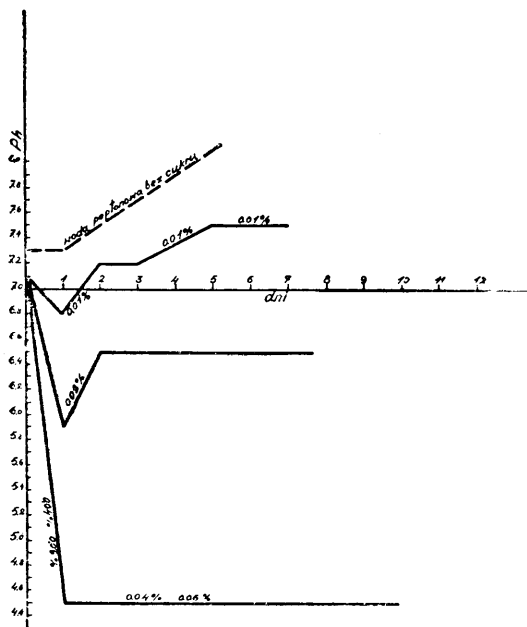
Granice możliwości wzrostu dla:

|                  |              |
|------------------|--------------|
| B. typhi . . . . | Ph 6,2 — 7,6 |
| „ paratyphi A. . | „ 4,5 — 7,8  |
| „ „ B. .         | „ 4,5 — 8,0  |
| „ coli. . . .    | „ 4,4 — 7,8  |

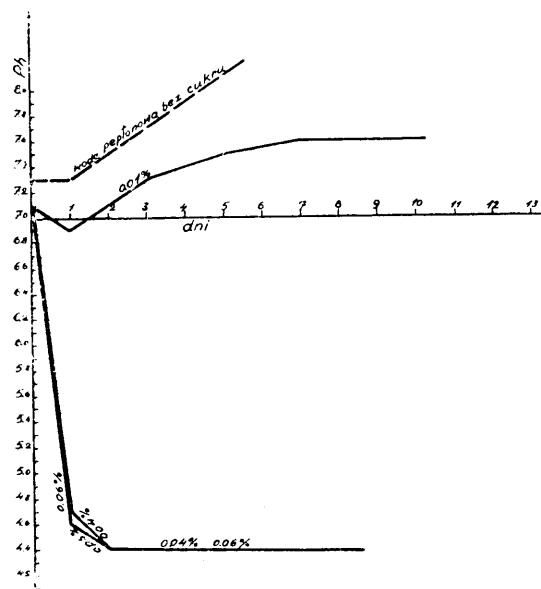
*Speyer* podaje dolną granicę wzrostu dla bact. coli Ph 4,5.

Szczegółowe wyniki pracy przedstawiają się jak następuje:

Zasadniczo przy dodatku 0,01% cukru, działanie cukru występuje najpierw jako opadanie Ph, wyżej, niż granica życiowa bakterij, następnie Ph idzie w górę, natomiast na wodzie peptonowej bez cukru, Ph idzie tylko w górę (vide którąkolwiek tablicę). Fakt, iż przy pewnych stężeniach cukru uzyskujemy Ph bardzo niskie (4,5) poczem podnosi się ono z powrotem do góry, przy wyższych



Rys. 1. B. typhi na wodzie peptonowej z mannitem.

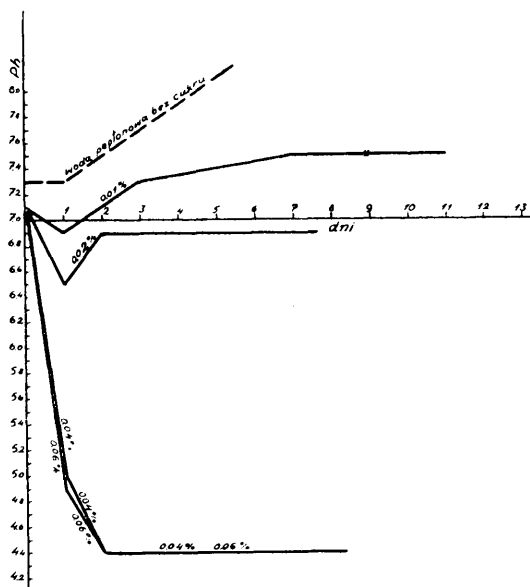


Rys. 2. B. paratyphi A na wodzie peptonowej z mannitem.

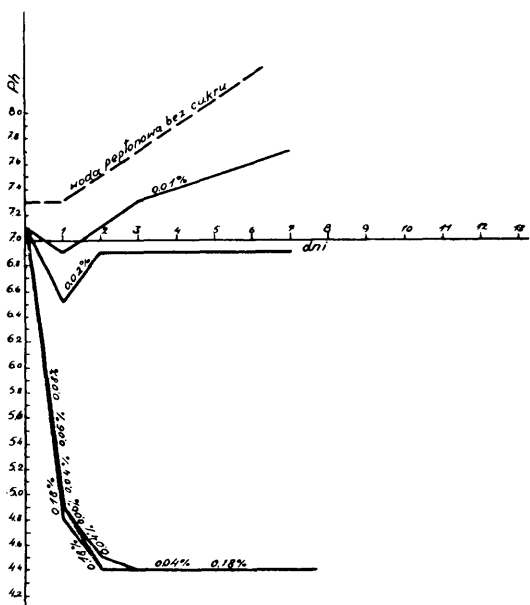
zaś stężeniach cukru to samo Ph osiągnięte już się nie podnosi, można tłumaczyć jak następuje:

Ilość cukru w pierwszym przypadku wystarcza do wytworzenia Ph 4,5, lecz bakterje żywe jeszcze zaczynają atakować ciała białkowe, co powoduje alkaliczację podłoża. W drugim przypadku zaś, po uzyskaniu niskiego Ph (4,5 — 5,0) pozostaje jeszcze pewna ilość cukru, umożliwiającą dalszą fermentację. Wynikiem tego jest utrzymywanie się kwaśnego odczynu przez tak długi czas, iż bakterje giną, albo przynajmniej stają się niezdolne do zaatakowania białka i podniesienia Ph. Przy większych dodatkach cukru nie widzimy zjawiska alkaliczacji końcowej. Ph spada bezpośrednio, zależnie od ilości dodanego cukru z różną szybkością, osiągając po mniejszej lub więk-

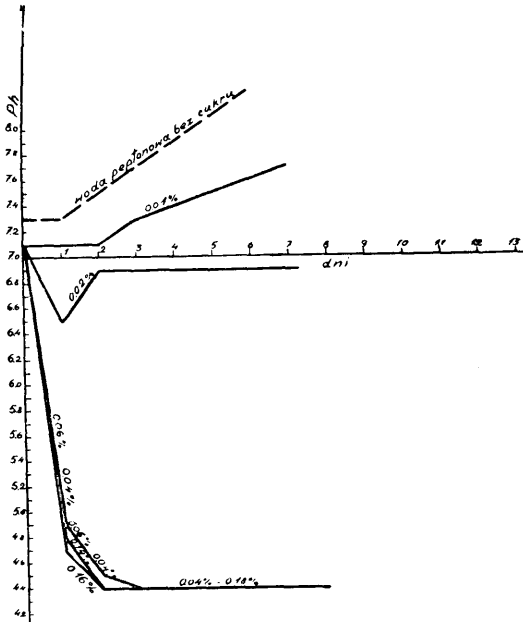
szej ilości dni końcowe Ph. To wszystko odnosi się do pożywek zawierających 1% peptonu. Istnieje możliwość uzyskania ramienia wstępującego krzywej przy koncentracji cukru powyżej 0,1%, zwiększając ilość peptonu. *Capaldi i Proskauer* podają, że w dwóch kulturach bakteryj, (*coli*, *typhi*) zawierających jedna 0,5%, druga 2% peptonu, a te same ilości cukru (0,1%) reakcje są różne. Np. reakcja jest kwaśna na mannicie przy 0,5% peptonu, a zasadowa przy tej samej ilości cukru, ale 2% peptonu. To samo zjawisko obserwował *Gosio* w odniesieniu do przecinkowca cholery azjatyckiej. Według niego w miarę zwiększania ilości cukru w pożywce, rozkład cukru przez przecinkowca cholery i tworzenie się kwasu wzmacnia się; w miarę dodawania pepto-



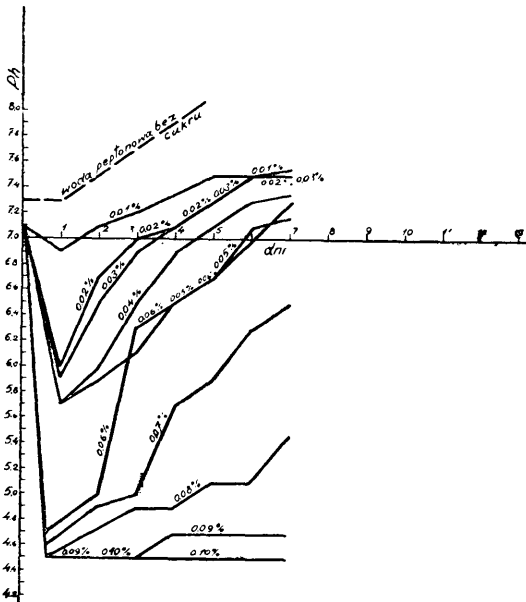
Rys. 3. B. paratyphi B. na wodzie peptonowej z mannitem.



Ras. 4. B. paratyphi B na wodzie peptonowej z mannitem.



Rys. 5. *B. coli* na wodzie peptonowej z mannitem.



Rys. 6. *B. typhi* na wodzie peptonowej z mannitem.

nu—obniża. Jako podstawę tego zjawiska należy przyjąć większe powinowactwo szczepów tych do węglowodanów, aniżeli do białka.

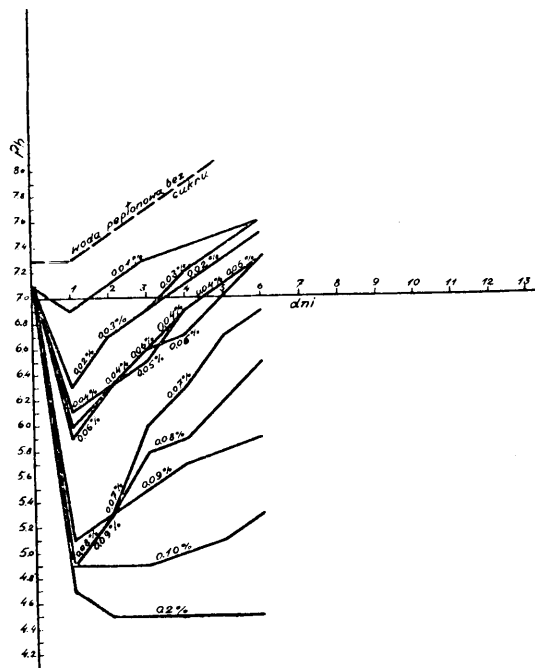
Dodając węglowodanów do wody peptonowej w ilościach wzrastających od 0,01 % do 0,1 % i wyżej, obserwujemy następujące zjawiska.

Proporcjonalnie do ilości dołanego cukru, uzyskujemy w pierwszym dniu mniejszy lub większy spadek Ph. Aż do pewnego stężenia cukru, właściwego dla poszczególnych szczepów i poszczególnych cukrów, (vide tablica) Ph po 48 godzinach zaczyna się podnosić. Przy wyższym stężeniu cukru i górna granica ramienia wstępującego zaczyna się obniżać. Przy jeszcze wyższym stężeniu ramię wstępujące krzywej zanika. Ramię wstępujące zachowuje się odwrotnie proporcjonalnie do

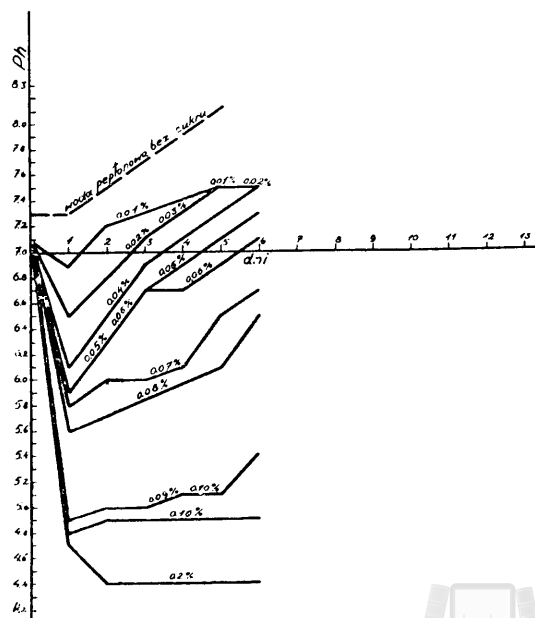
ilości dodanego cukru. Kąt między ramieniem zstępującym a wstępującym powiększa się, aby wreszcie stać się rozwartym. Mechanizm wyprostowywania się krzywej, przedstawia się jak następuje:

Najpierw ramię zstępujące staje się bardziej strome, później ramię wstępujące zaczyna zanikać, później przedłuża się czas, po którym podnosi się ramię wstępujące, wreszcie ramię to zupełnie zanika.

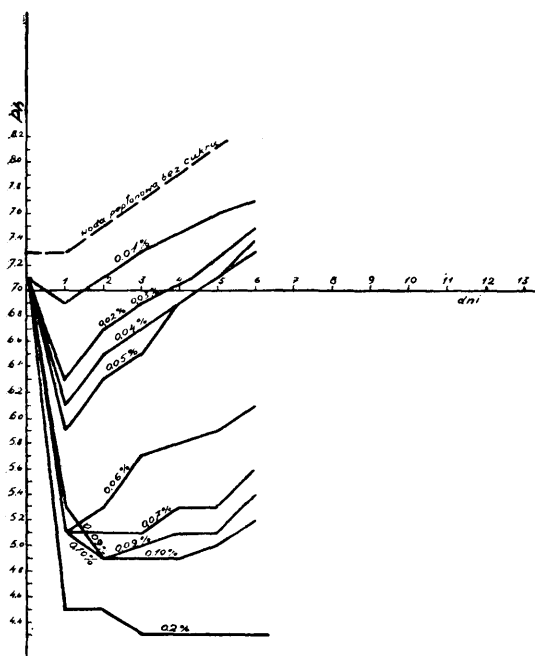
Osiągnąwszy granice stężenia cukru, powyżej którego ramię wstępujące krzywej znika, obserwujemy, że dalsze wzmaganie stężenia cukru, nie wpływa na zmianę końcowego Ph. Ph końcowe jest dla danego szczepu na danym cukrze wartością stałą, niezależną od wyjściowego Ph, oczywiście powyżej stężenia, przy którym znika ramię wstępujące. Z zastrzeżeniem, że:



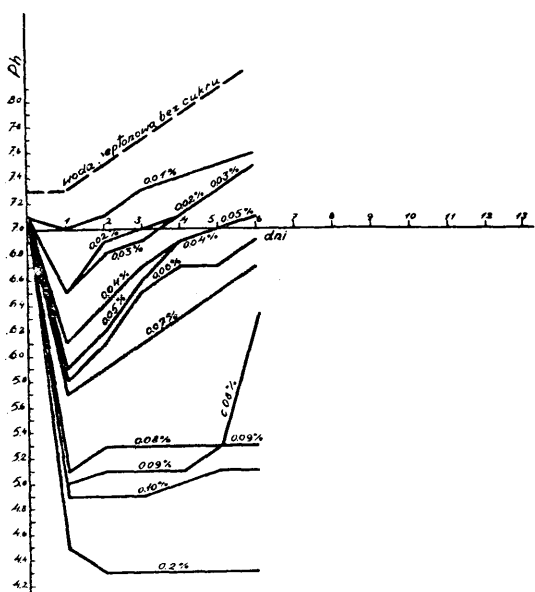
Rys. 7. B. paratyphi A na wodzie peptonowej z maltozą.



Rys. 8. B. paratyphi B na wodzie peptonowej z maltozą.



Rys. 9. *B. paratyphi C* na wodzie peptonowej z maltozą.



Rys. 10. *B. coli* na wodzie peptonowej z maltozą.

1. kultury trzymane w temperaturze 37° C.

2. do pożywki dodanego 1% peptonu.

Co nie wyklucza, że wartości Ph końcowego w innej temperaturze i przy dodaniu innej ilości peptonu mogą być odmienne. Od stężenia cukru zatem, zależy Ph tylko tak długo, póki ramię jest wstępujące. Jest pozorna rozbieżność między twierdzeniem wyżej wypowiedzianem, a wynikami pracy *Strenge* i *Rytl*, którzy twierdzą, że wartość końcowa  $P_{H_1}$  określająca bakterje nie istnieje, ponieważ w rozmaitych roztworach cukru (gronowego) osiąga się rozmaite wartości końcowe dla Ph, zależnie od różnorodności pożywek; nawet w obecności dostatecznych ilości cukru. Otrzymane wartości końcowe są charakterystyczne nie dla bakteryj, lecz dla pożywek i od różnorodności ich zależ-

ne. W badaniach mych przyjąłam pożywkę za wartość stałą i jak zaznaczyłam we wstępie, badania te mają wartość tylko po uwzględnieniu tego momentu.

W badaniach swych nad Ph końcowem dla *bact. coli*, *Clark* podaje, że różnice końcowgo Ph są tak małe, iż za *Michaelisem* i *Markorq*, można to Ph uważać za fizjologiczną stałą dla *bact. coli*.

Zestawiając procenty cukrów, przy których osiąga się najniższe Ph, oraz ilości tychże, przy których ramię wstępujące krzywej zanika, otrzymujemy następujące zestawienie:

### **Bacterium typhi.**

|                                 |              |       |                  |
|---------------------------------|--------------|-------|------------------|
| Najniższe uzyskane Ph           | 4,5 . . .    | 0,08% | maltozy rys. 6   |
| Ramię wstępujące krzywej zanika |              | 0,1 % | "                |
| Najn. uzysk.                    | Ph 4,4 . . . | 0,12% | c. gron. rys. 11 |
| R. wstęp. krz. zanika           | . . .        | 0,12% | " "              |
| Najn. uzysk.                    | Ph 4,5 . . . | 0,04% | mannitu rys. 1   |
| R. wstęp. krz. zanika           | . . .        | 0,04% | "                |

### **Bacterium paratyphi A**

|                       |              |       |                  |
|-----------------------|--------------|-------|------------------|
| Najniższe uzyskane Ph | 4,5 . . .    | 0,2 % | maltozy rys. 7   |
| R. wstęp. krz. zanika | . . .        | 0,2 % | "                |
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 . . . | 0,12% | c. gron. rys. 12 |
| R. wstęp. krz. zanika | . . .        | 0,12% | "                |
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 . . . | 0,04% | mannitu rys. 2   |
| R. wstęp. krz. zanika | . . .        | 0,04% | "                |

### **Bacterium paratyphi B**

|                       |              |       |                  |
|-----------------------|--------------|-------|------------------|
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 . . . | 0,2 % | maltozy rys. 8   |
| R. wstęp. krz. zanika | . . .        | 0,2 % | "                |
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 . . . | 0,12% | c. gron. rys. 13 |
| R. wstęp. krz. zanika | . . .        | 0,12% | "                |
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 . . . | 0,04% | mannitu rys. 3   |
| R. wstęp. krz. zanika | . . .        | 0,04% | "                |

### Bacterium paratyphi C

|                       |        |       |       |                  |
|-----------------------|--------|-------|-------|------------------|
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 | . . . | 0,2 % | maltozy rys. 9   |
| R. wstęp. krz. zanika |        | . . . | 0,2 % | "                |
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 | . . . | 0,12% | c. gron. rys. 14 |
| R. wstęp. krz. zanika |        | . . . | 0,12% | "                |
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 | . . . | 0,04% | mannitu rys. 4   |
| R. wstęp. krz. zanika |        | . . . | 0,04% | "                |

### Bacterium coli

|                       |        |       |       |                  |
|-----------------------|--------|-------|-------|------------------|
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 | . . . | 0,2 % | maltozy rys. 10  |
| R. wst. krz. zanika   |        | . . . | 0,2 % | "                |
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 | . . . | 0,12% | c. gron. rys. 15 |
| R. wstęp. krz. zanika |        | . . . | 0,12% | "                |
| Najn. uzysk.          | Ph 4,4 | . . . | 0,04% | mannitu rys. 5   |
| R. wstęp. krz. zanika |        | . . . | 0,04% | "                |
| Najn. uzysk.          | Ph 4,5 | . . . | 0,04% | laktozy rys. 16  |
| R. wstęp. krz. zanika |        | . . . | 0,02% | "                |

Zestawiając stężenia poszczególnych gatunków cukrów, przy których ramie wstępujące krzywej zanika, kolejność siły ich działania jest następująca:

T A B L I C A I.

| Dla bact. typhi |         | Dla b. paratyphi A. B. C. |         | Dla bact. coli  |         |
|-----------------|---------|---------------------------|---------|-----------------|---------|
| I. Mannit       | — 0,04% | I. Mannit                 | — 0,04% | I. Laktoza      | — 0,02% |
| II. Maltoza     | — 0,10% | II. C. gronowy            | — 0,12% | II. Mannit      | — 0,04% |
| III. C. gronowy | — 0,12% | III. Maltoza              | — 0,20% | III. C. gronowy | — 0,12% |
|                 |         |                           |         | IV. Maltoza     | — 0,20% |

Laktozę fermentuje tylko bact. coli.

Zestawiając minimalne ilości danego cukru, potrzebne różnym gatunkom do uzyskania najniższego Ph, otrzymujemy następującą tabelę:

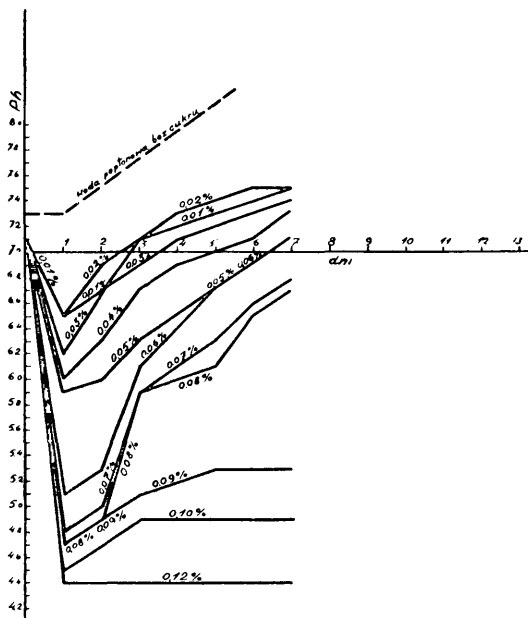
T A B L I C A II.

| Na mannicie        |       | Na c. gronowym | Na maltozie | Na laktozie |
|--------------------|-------|----------------|-------------|-------------|
| B. coli            | 0,04% | — 0,12 %       | — 0,20 %    | — 0,04 %    |
| B. parat. A. B. C. | 0,04% | — 0,12 %       | — 0,20 %    |             |
| B. typhi           | 0,04% | — 0,12 %       | — 0,10 %    |             |

Dla bact. coli, najsilniej działającym cukrem, jak to wynika z tabeli, jest laktoza. Następnym z kolei jest mannit, trzecim gronowy, czwartym maltoza.

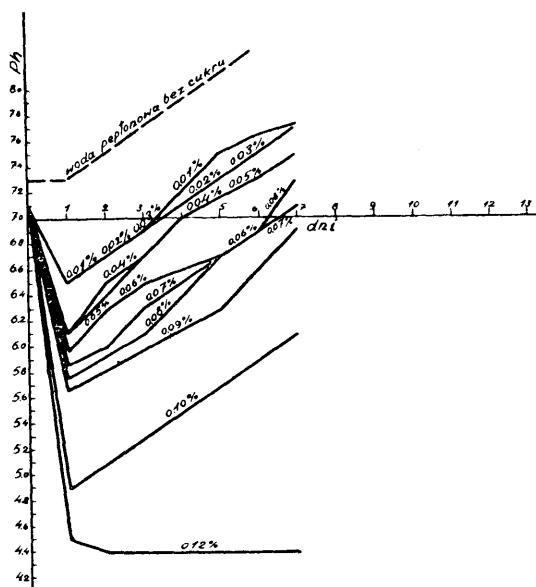
Dla bact. paratyphi A, B, C, które laktozy nie fermentują, kolejność jest taka sama.

Dla bact. typhi mannit działa najsilniej a gronowy najslabiej. Na mannicie pomiędzy bact. typhi, bact. paratyphi A, B, C, i bact. coli, nie ma różnic co do stężenia cukru, przy którym ramie wstępujące krzywej zanika. Podobnie i przy cukrze gronowym. Na maltozie natomiast zachodzi różnica pomiędzy bact. typhi a grupą obejmującą bact. paratyphi A B C i bact. coli. Mianowicie ramie wstępujące krzywej bact.

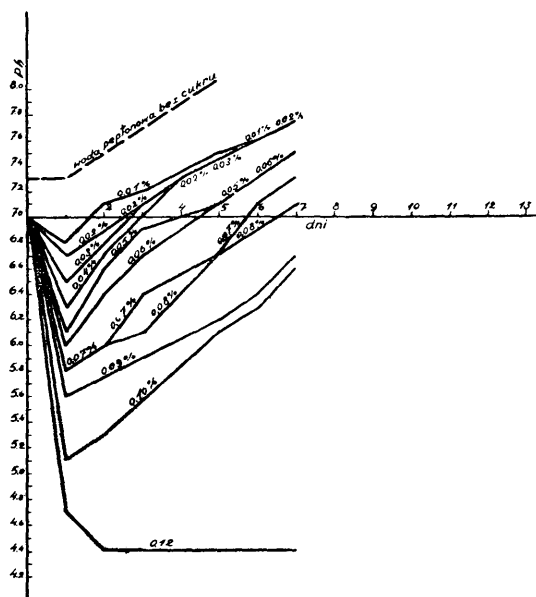


Rys. 11. B. typhi na wodzie peptonowej z cukrem gronowym.

typhi zanika już przy dodatku 0,1%, u bact. paratyphi A B C i bact. coli zaś przy 0,2% maltozy.



Rys. 12. B. paratyphi A na wodzie peptonowej z c. gron.



Rys. 13. B. paratyphi B na wodzie peptonowej z c. gron.

Naogół moment zanikania ramienia wstępującego pokrywa się z momentem najniższego Ph, z następującymi jednak wyjątkami:

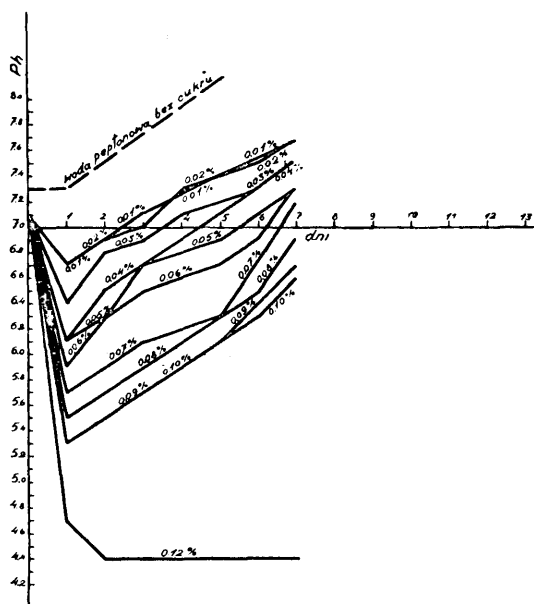
1. Bact. typhi na maltozie uzyskuje najniższe Ph przy dodatku 0.08% ramię wstępujące zanika przy 0.1%. Najniższe Ph uzyskujemy więc 0.02% wcześniej.

2. Drugim wyjątkiem jest bact. coli na laktocie. Najniższe Ph uzyskujemy przy 0.04% ramię zanika przy 0.02%. Najniższe więc Ph uzyskujemy o 0.02% później. W pierwszym wypadku (b. typhi na maltozie) dodatek 0.08% cukru wystarcza do uzyskania najniższego Ph, nie wystarcza jednakowoż jeszcze by zapobiec rozkładowi białka i alkalizacji. Czyni to jednakowoż dodatek 0.1% cukru. W drugim wy-

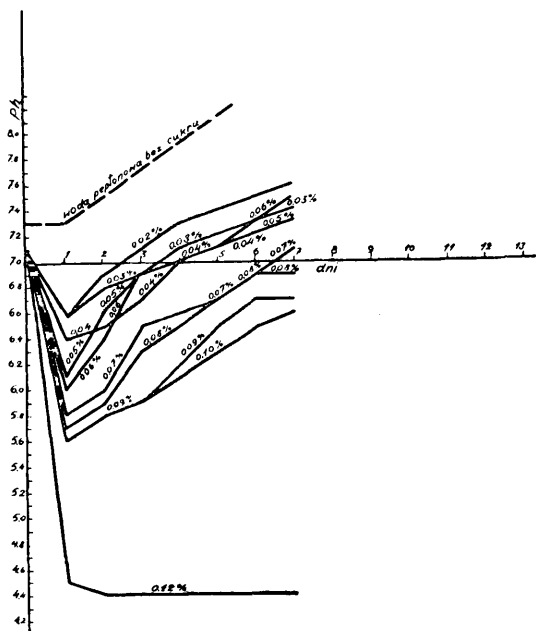
padku (b. coli na laktozie) możemy przyjąć jako tłumaczenie następujące okoliczności:

B. coli najsilniej fermentuje laktozę (vide tablice) dawka 0.02% laktozy wystarcza by uzyskać Ph 4.6 i stworzyć warunki uniemożliwiające alkalizację. Dawka 0.04% cukru doprowadza do Ph 4.5 poniżej którego nawet przy większych dawkach nie schodzimy. Minimalne dawki cukrów doprowadzające do uzyskania najniższego Ph (zawsze z uwzględnieniem danego gatunku i danego cukru) możemy nazwać równoważnikami cukrowym danego gatunku. Np. dla bact. typi 0.12% cukru grobowego, 0.04% manitu, 0.08% maltozy doprowadza do tego samego efektu t. j. do uzyskania najniższego możliwego na danym cukrze Ph.

Porównyując zaś ilości danego cukru

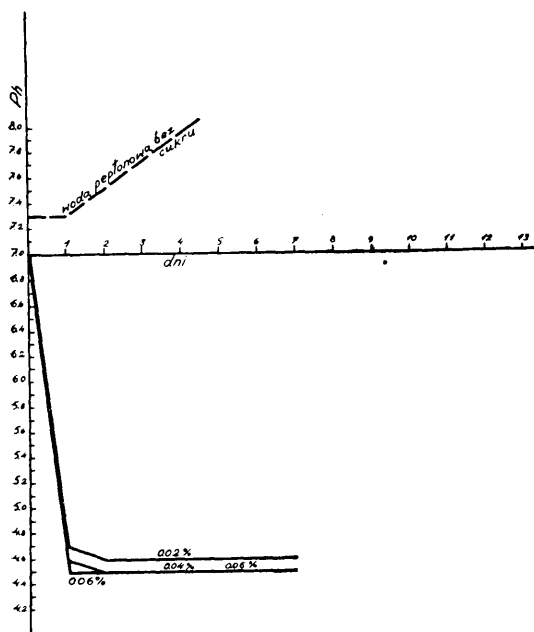


Rys. 14. B. paratyphi C na wodzie peptonowej z c. gron.



Rys. 15. B. coli na wodzie peptonowej z c. gronowym.

potrzebne różnym gatunkom do uzyskania najniższego Ph, dochodzimy do pojęcia równoważnika gatunkowego danego cukru. Np.



Rys. 16. *B. coli* na wodzie peptonowej z laktozą.

*b. typhi* na maltozie uzyskuje najniższe Ph przy 0,08 %, *b. coli* na tymże cukrze przy 0,2 %. Ilości 0,08 % i 0,2 % doprowadzają w obu wypadkach do najniższego Ph.

Jeżeli chodzi o czas, po upływie którego poszczególne gatunki na poszczególnych cukrach osiągną najniższe Ph, to wyniki przedstawiają się jak następuje:

*B. typhi* przy najniższych dawkach cukrów umożliwiającach osiągnię-

cie najniższego Ph, uzyskuje to Ph na wszystkich trzech cukrach po 24<sup>h</sup>.

*B. paratyphi A i B* po 48<sup>h</sup>. *Bact. paratyphi C* na gronowym po 48<sup>h</sup>, na mannicy i maltozie po 72<sup>h</sup>.

*Bact. coli* na gronowym, laktozie i maltozie po 48<sup>h</sup>, na mannicy po 72<sup>h</sup>.

T A B L I C A III.

|                              | Mannit          | Maltoza         | C. gronowy      | Laktoza         |
|------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <i>Bact. typhi</i>           | 24 <sup>h</sup> | 24 <sup>h</sup> | 24 <sup>h</sup> | —               |
| <i>Bact. paratyphi A. B.</i> | 48 <sup>h</sup> | 48 <sup>h</sup> | 48 <sup>h</sup> | —               |
| <i>Bact. paratyphi C.</i>    | 72 <sup>h</sup> | 72 <sup>h</sup> | 48 <sup>h</sup> | —               |
| <i>Bact. coli</i>            | 72 <sup>h</sup> | 48 <sup>h</sup> | 48 <sup>h</sup> | 48 <sup>h</sup> |

*Bact. typhi* na cukrze gronowym uzyskuje Ph 4,4 na mannicy i maltozie Ph 4,4.

*Bact. paratyphi A* na mannicy i gronowym uzyskuje Ph 4,4 na maltozie Ph 4,5.

*Bact. paratyphi B, C* na wszystkich trzech cukrach uzyskuje Ph 4,4.

*Bact. coli* na laktozie Ph 4,5, na mannicy, maltozie i gronowym Ph 4,4.

T A B L I C A IV.

|                             | Mannit | Maltoza | C. gronowy | Laktoza |
|-----------------------------|--------|---------|------------|---------|
| <i>Bact. typhi</i>          | Ph 4,5 | 4,5     | 4,4        | —       |
| <i>Bact. paratyphi A</i>    | Ph 4,4 | 4,5     | 4,4        | —       |
| <i>Bact. paratyphi B. C</i> | Ph 4,4 | 4,4     | 4,4        | —       |
| <i>Bact. coli</i>           | Ph 4,4 | 4,4     | 4,4        | 4,5     |

Zwiększając dawkę cukru w niektórych wypadkach (*bac. coli* na mannicy i laktozie, *bac. paratyphi* na mannicy) możemy skrócić czas po którym dochodzimy do najniższego Ph, przyczem możemy zauważyć różnice szczepowe. Abstrahując od tych różnic szczepowych, można stwierdzić, że minimum czasu potrzebnego do uzyskania minimum Ph przy minimalnej, koniecznej do tego dawce odpowiedniego cukru, nie jest cechą charakterystyczną dla danego gatunku, lecz z uwzględnieniem danego gatunku i danego cukru jest cechą stałą.

Porównywając czasy bezwzględnie najkrótsze po upływie których można uzyskać najniższe Ph, oraz dawki cukrów czasem tym odpowiadające, uzyskujemy następującą tabelę:

T A B L I C A V.

|                   | Mannit                   | Maltoza                  | C. gronowy               | Laktoza                  |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Bact. typhi       | 24 <sup>h</sup> — 0,04 % | 24 <sup>h</sup> — 0,08 % | 24 <sup>h</sup> — 0,12 % | —                        |
| Bact. paratyphi A | 48 <sup>h</sup> — 0,04 % | 48 <sup>h</sup> — 0,20 % | 48 <sup>h</sup> — 0,12 % | —                        |
| Bact. paratyphi B | 48 <sup>h</sup> — 0,04 % | 48 <sup>h</sup> — 0,20 % | 48 <sup>h</sup> — 0,12 % | —                        |
| Bact. paratyphi C | 48 <sup>h</sup> — 0,08 % | 72 <sup>h</sup> — 0,20 % | 48 <sup>h</sup> — 0,12 % | —                        |
| Bact. coli        | 48 <sup>h</sup> — 0,14 % | 72 <sup>h</sup> — 0,20 % | 48 <sup>h</sup> — 0,12 % | 24 <sup>h</sup> — 0,06 % |

W ten sposób uzyskaliśmy następujące dane charakteryzujące zachowanie się danego gatunku na danym cukrze:

1) Najniższe osiągalne Ph.

2) Minimalną dawkę cukru umożliwiającą osiągnięcie najniższego Ph (poza wspomnianymi wyjątkami, bact. typhi na maltozie i bac. coli na laktozie, pokrywa się to z momentem zanikania ramienia wstępującego krzywej).

3. Czas względny, po upływie którego uzyskujemy najniższe Ph, przy użyciu najmniejszej potrzebnej do tego dawki cukru.

4. Czas po upływie którego bezwzględnie możemy uzyskać najniższe Ph (czas który się już nie da bardziej skrócić).

5. Dawki cukrów odpowiadające bezwzględnym czasom uzyskania najniższego Ph,

Dane te jak sądzę, dostatecznie charakteryzują badane gatunki, oraz definiują kształt krzywych.

Patrząc na wyniki podane wyżej (tabl. I, II) mimowoli nasuwa się wniosek praktyczny, że ilości cukru używane zwykle do sporządzania pożywek, są niepotrzebnie za duże. Ilości podane w tabl. I i II wystarczają do zaniknięcia ramienia wstępującego krzywej, czyli są minimalną dawką, powyżej której najniższe raz osiągnięte Ph, już się nie zmienia. Spełniają zatem tę samą rolę co dużo większe dawki cukru powszechnie do pożywek używane.

Załączone krzywe ilustrują opisane powyżej fakty. Na osi rzędnych zaznaczone są stopnie stężenia jonów wodorowych, na

osi odciętych natomiast czas w którym badano Ph. Krzywe same są graficznym przedstawieniem zmian Ph na danem podłożu z uwzględnieniem ilości cukru i czasu.

Chcąc przedstawić wyczerpująco współczesny stan wiadomości w dziedzinach związanych z tematem tej pracy (bakterjologia, chemja, fizyka) musiałaby praca moja powiększyć swoją objętość conajmniej kilkunastokrotnie. Wyniki pracy są skromne. Zmieniając zasadnicze podłoże, oraz biorąc pod uwagę większą różnorodność węglowodanów, można będzie wyniki te znacznie pogłębić i rozszerzyć. Sądzę, że może zwrócenie uwagi na zjawiska związane ze wzrostem bakterji z grupy okrężnicowo-durowej na pożywkach z cukrami, z punktu widzenia zmian Ph w tych podłożach, oraz zastosowanie metody wykresów, dającej ciągły obraz zmian Ph, będzie zachętą do szerszych i bardziej wyczerpujących badań.

Institut vétérinaire et de médecine expérimentale de l'Université de Cracovie  
(Dir. Prof. Dr. J. Nowak).

Institut de bactériologie de l'Université de Cracovie  
(Dir. Prof. Dr. M. Gieszczykiewicz).

## COURBES DE CHANGEMENTS DE Ph DANS L'EAU PEPTONÉE ADDITIONNÉE DE MANNITE, MALTOSE, LACTOSE ET GLUCOSE SOUS L'INFLUENCE DE BACILLES DU GROUPE COLI-TYPHIQUE.

par

ELŻBIETA WALKOWSKA-WOŹNIAKOWSKA

### R É S U M É

L'auteur a examiné les changements de la concentration des ions d'hydrogène qui ont lieu dans l'eau peptonée à 1 p. c. additionnée de différentes quantités de mannite, de glucose, de maltose et de lactose, sous l'influence du développement des bactéries du groupe coli-typique. Comme résultats de ces recherches,

l'auteur a obtenu les données suivantes caractéristiques pour le comportement des bactéries données, sut le milieu sucré:

1) La concentration la plus basse de Ph qu'on ait réussi d'obtenir.

2) La dose minime du sucre nécessaire pour atteindre le Ph le plus bas.

3) Le temps relatif, au bout duquel on parvient d'obtenir le Ph le plus bas, en utilisant, la dose minime du sucre.

4) Le temps absolu, après l'écoulement duquel il est possible d'obtenir le Ph le plus bas (temps qu'on ne parvient plus à abréger).

5) Les doses des sucres avec lesquelles au bout de temps absolu on obtient le Ph le plus bas.

Ces résultats sont illustrés à l'aide de diagrammes insérés dans le texte.

#### P I Ś M I E N N I C T W O.

Aubel E. et Salabartan J. C. r. Acad. de Sciences 1925 180 p. 1183. Besson A. Ranque A. Sener Ch. C. r. Soc. de Biol. 1914, 82 p—76. Bjelaeff. Centrbl. f. Bakt. Ref. XXXIII 513. Clark M. Journal of biol. Chem. 1915 Vol. 21 p. 87. Cluzet Rochaix et Kopman. C. r. Acad. des Sciences 1924, 178 p. 1638. Dernby. Ann. de l'Inst. Pasteur 1921, 35 p. 277. Ditthorn J. Zeitsch. f. Imm. Ref. 1912, 41. Bericht über die Sitzung der Berliner Mikrobiol. Gesellschaft von 13/II 1912, Ditthorn Fritz. Centrbl. f. Bakt. Orig. 1913, 67 p. 497. Gosio. Archiv für Hygiene Bd. XXII, 1894 p. 1. Grey Eger-ton Ch. Biol. Science Nr. 13, 547 p. 472. Kolthoff I. M. Tijdschr. voor Vergelijkende geneesk. Deel XI Alf, 3/4 p. 268. Centralbl. f. Bakt. Ref. 84. p. 426. La Grutta L. Ann. de l'Institut Pasteur. T. VI, 1894. Nr. 7. Michaelis u. Marcora. Ztschrift. f. Immunitätsforsch. Bd. 14, 1912, H. 2. Péré, Ann. de l'Institut Pasteur. T. VI. 1892. Nr. 7. Penfold W. J. Brit. med. Journ. 1910 vd. II. p. 1672. Bamboousek J. Arch. Hyg. Bd. XXXVIII 1900 Heft. 4, p. 382. Rolly, Arch. f. Hyg. Bt. XLI 1902 p. 406. Rogentzoff D. C. r. Soc. Biol. T. 74, 1913 p. 1098. Scheer Kurt. Biochem. Ztschr. 1922, 130 p. 535. Scheer Kurt. Ztschr. 1922, 130 p. 545. Sera Uyshita. Zeitschr. f. Hyg. u Infektionskrank. Bd. 66. 1910 H I, p. 162—65. Sherman James M. Holm George E. J. of Bakt. 1922, 7, p. 465. Sierakowski S. Przegląd Epidemiologiczny 1922 I 549. Sierakowski S. Przegląd Epid. T. II, zeszyt II. 1922, p. 267. Sierakowski S. Przegląd Epid. T. II, Z. III. 1922, p. 357. Sierakowski S. Milejowska F. C. r. Soc. de Biol. 1924, 91 p. 714. Smith Theobald. Centrbl. f. Bakt. Orig. XVIII p. 1. Speyer E. Centrbl. f. Bakt.

Orig. 1924 93. Segin A. Centrbl. f. Bakt. Orig. 1903, 34. Springer. Centrbl. f. Bakt. Orig. 60 p. 2. Streng Osw. u. Ryti Elsa. Acta Soc. med. Fenicae „Duodecimi“ 1926. 8, Nr. 1. Centrbl. f. Bakt. Ref. 88, p. 389. Verzar Frotz, Bagel Josef, Bioch. Zeitschr. Bd. 108, 1920. p. 207. Winslów C. E. B. und Lochridge E. E. Journ. Inf. Dis. Vol. III, Nr. 4, p. 647. Wegenknecht H. Tierärztl. Arch. 1922 2. f. 49. A. Wolf. Centrbl. f. Bakt. Orig. XXXIII 1903. p. 645. Weiss, Emil. Journ. of. Bacteriology V. 21. Nr. 1. Wilhelm Benecke. Bau und Leben der Bakterien. Kolle-Hetsch. Die Experimentelle Bakteriologie. Kolle-Wassermann. Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen Auflage II. B. III. K. H. Kutscher XI. Abdominaltyphus. W. Fornet XII. Immunität bei Typhus. P. Uhlenhuth und Hübener XIV. Infektion mit Darmbakterien der Paratyphus und Gärtner Gruppe einschl. Immunität. B. IV. H. Conradi. W. Bierast XXI. Bac. coli commune als Krankheitserreger. Kraus-Uhlenhuth, B. I. Handbuch der mikrobiologischen Technik. E. Gildemeister. Nährböden. L. Michaelis. Die Wasserstoffionenkonzentration.

---

(Z Zakładu Fizjologii Uniwersytetu Jagiellońskiego).

## Z BADAŃ NAD OPORNOŚCIĄ KRWINEK WOBEĆ OSMOZY I SAPONINY.

P o d a ł

JERZY KAULBERSZ.

O d czasu, kiedy *Hamburger*<sup>(1)</sup> w końcu lat 80-tych z. st. opracował odpowiednią metodę oznaczania wytrzymałości krwinek, badania te przedstawiają doniosły środek pomocniczy w rozpoznawaniu zarówno rozmaitych stanów patologicznych, jak i reakcji fizjologicznych, powstających wskutek zmiany naturalnych warunków życiowych. Nie były one na większą skalę przeprowadzane w górach, gdzie, jak wiadomo, ilość krwinek powiększa się nie tylko w jednostce objętości krwi, ale też i bezwzględnie jednocześnie ze wzmożoną czynnością szpiku kostnego. Tymczasem wydawało się możliwem na tej drodze uzupełnienie wiadomości naszych w kierunku poznania istoty górskiej erytrocytozy. Ponieważ z przeglądu literatury okazało się, że rezultaty, dotyczące oporności krwinek człowieka a szczególnie zwierząt doświadczalnych, jak również i metody badań, przedstawiają się rozbieżnie, przeto dla badań porównawczych na równinie i w klimacie wysokogórskim trzeba było najpierw ściśle ustalić normy u człowieka i używanych dla tych badań zwierząt: królików i świnek morskich.

Chodziło nie tylko o rezystencję osmotyczną ale też o wytrzymałość przeciw innym bodźcom, szczególnie takim, których działanie w większym stopniu zależne jest od obecności ciał lipoidalnych, gdyż przesunięciami tych ostatnich w klimacie wy-

sokogórskim mam zamiar się bliżej zająć. Dlatego obok oporności przeciw roztworom soli kuchennej oznaczoną była też wytrzymałość względem znanego czynnika hemolitycznego — saponiny.

Jak wiadomo, stężenie soli, w którym najmniej odporne ciała czerwone tracić zaczynają hemoglobinę, nazwano według *Limbecka* <sup>(2)</sup> rezystencją minimalną. U poszczególnych autorów nawet jednej i tej samej szkoły pojęcie rezystencji minimalnej nie bywa identyczne. Tak np. *Snapper* <sup>(3)</sup> określa tem mianem stężenie soli, w którym stwierdzić można pierwsze dające się zauważyć wyjście barwika z krwinek, natomiast *Hamburger* — najniższą koncentrację, w której do hemolizy zupełnie jeszcze nie dochodzi. Opierając się na rozumowaniu, że najsłabszą wytrzymałość mają ciała, oddające barwik do najmniej hipotonicznego roztworu, uważałem za odpowiadające rezystencji minimalnej stężenie soli, w którym występowała pierwsza różnica zabarwienia w porównaniu z solą izotoniczną. Stosuje się tutaj też nazwę hemolizy minimalnej albo początkowej. Natomiast dla stężenia trochę silniejszego, w którym hemoliza zupełnie jeszcze nie była uwydatniona, używałyby można nazwy hemolizy subminimalnej — w roztworze takim wszystkie krwinki są jeszcze całkowicie wytrzymałe przeciw hipotonii, rezystencja ogólnej masy krwinek jest więc pełna. Według *Hambergera* rezystencję minimalną dla człowieka stanowi 0,48‰ NaCl, *Chauffard i Rendu* <sup>(4)</sup> podają ją w granicach 0,48—0,38‰ NaCl, *May* <sup>(5)</sup> = 0,46 — 0,48‰ NaCl.

Podobne rozbieżności istnieją też zarówno co do definicji, jak i ustalenia granic t. zw. rezystencji maksymalnej, terminu zastosowanego przez *Mosso* <sup>(6)</sup>. Jedni, jak *Hamburger*, *Snapper* i in. oznaczają tą nazwą stężenie soli, w którym wszystkie ciała czerwone już są pozbawione hemoglobiny, a ewentualny osad, pozostały po odwirowaniu, jest zupełnie bezbarwny i składa się tylko z cieni krwinek; inni, jak *Rywosch*, <sup>(7)</sup> stosują ją do roztworu, w którym jeszcze pewna ilość najbardziej wytrzymałych krwinek barwika nie oddała. Używając nazwy rezystencji minimalnej dla krwinek najmniej opornych, uważałem za logiczne przyjąć, że rezystencji maksymalnej odpowiadają roztwory, w których jeszcze najbardziej odporne z pośród wprowadzonych erytrocytów nie hemolizują. Dopiero bezpośrednio wyższa hipotonja powoduje już całkowitą hemolizę, żadne ciała czerwone nie są w stanie utrzymać hemoglobiny, rezystencja wszystkich krwinek jest wtenczas przekroczona. Maksymalnej rezystencji dla człowieka odpowiada według *Mosso* 0,36‰ NaCl, *May* znajduje ją w granicach 0,28 — 0,32‰ NaCl, *Chauffard i Rendo* 0,08 — 0,16‰ NaCl.

Biorąc pod uwagę te rozbieżności, trzeba było ustalić przede wszystkim w szeregu oznaczeń, przeprowadzanych zawsze w jednakowych warunkach, rezystencję minimalną i maksymalną względem osmozy i saponiny u człowieka, królika i świnki morskiej. Słusznie podnosi *Hamburger*, że jedynie przy ujednostajnieniu metod badania otrzymywać można wyniki, mające znaczenie porównawcze. Źródłem znacznych rozbieżności może być prze-

dewszystkiem to, że jedni badacze przemywają ciała czerwone, inni ich nie płuczą, i że do przemywania stosowane bywają różne płyny.

Izotoniczna sól kuchenna zmniejszać ma nieco oporność. *Snapper* stwierdził, że w 0,51% NaCl zniszczone zostaje 50% normalnych, a 90% przemytych krwinek królika. Nie uważa on jednak tego za następstwo usunięcia substancji hamujących hemolizę, które znajdują się w surowicy, ale za naruszenie równowagi osmotycznej ciałek czerwonych w kierunku utraty jonów Ca. Uwolnione jony wapniowe hamują potem dalszą hemolizę, czyli powiększają oporność pozostałych krwinek. Dlatego nieraz roztwór bardziej hipotoniczny prawie że nie różni się działaniem od mniej hipotonicznego. Dopiero gdy hemolityczny wpływ hipotonji przeważa nad hamującym działaniem jonów wapniowych, uwidacznia się większy wzrost hemolizy. Rozumowanie to opiera się jednak na niepotwierdzonym dotychczas poglądzie, według którego kationy mają również mieć zdolność przenikania przez otoczkę ciałek czerwonych.

Liotropowy wpływ soli kuchennej zostaje całkowicie zahamowany dopiero przez dodanie  $\text{CaCl}_2$  w ilości znacznie większej (0,1%), od zawartości tej soli w surowicy. *Brinkmann i Dam* <sup>(8)</sup> uważają za najbardziej zbliżone do stosunków normalnych przemywanie ciałek czerwonych w roztworach, zawierających stałe ilości  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$  i KCl, i posiadających stałe napięcie  $\text{CO}_2$  i stałe  $[\text{H}']$ . To ostatnie najlepiej utrzymywać na jednakowym poziomie przez dodanie drugorzędnych fosforanów sodowych i pierwszorzędnych potasowych. W roztworach takich o stałym stężeniu jonów wodorowych niezmienną pozostaje ilość jonów wapniowych. Jednakowoż następstwem przemywania takim „zrównoważonym z krwią” płynem jest wzmoczenie oporności, powstające według *Brinkmana* naskutek usunięcia z powierzchni krwinek lecytyny, która w normalnych warunkach obniżała ma rezystencję. Poza tem stałość jonów wapniowych w roztworach tych sprawia, że szerokość rezystencji, czyli różnica oporności minimalnej i maksymalnej, bywa znacznie mniejszą niż przy nieuwzględnieniu wapnia.

Według niektórych jednak autorów, jak *Strasser i Neumann* <sup>(9)</sup>, przemywanie tym czy innym płynem nie ma większego znaczenia, wszystkie roztwory uszkadzają bowiem ciała czerwone, nie są więc lepsze od soli kuchennej izotonicznej. Ostatnio zaś *Saslow* <sup>(10)</sup> nie mógł potwierdzić wogóle obserwacji *Brinkmana*, jakoby krwinki myte różnić się miały opornością od niemytych.

W swoich badaniach przemywałem krwinki według *Hamburgera* wyłącznie tylko izotonicznym roztworem (3,15%) kryształ. siarczanu sodowego, mającym przedewszystkiem tę dobrą stronę, że znacznie lepiej, aniżeli sól kuchenna, zapobiega krzepnięciu, jeśli stosuje się go w 40-krotnej ilości krwi. Poza tem  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  utrzymuje niezmienną konstytucję fizyko-chemiczną w przeciwieństwie do NaCl. Chlorek sodu zachowuje tylko formę krwinek, zmniejsza zaś według *Hamburgera* oporność, w następstwie zarówno, jak już wspomniano, utraty Ca, jak i wskutek powiększenia ciśnienia osmotycznego wewnątrz krwinek, co znów spowodowane jest tem, że na miejsce każdego uchodzącego  $\text{HPO}_4^-$  wchodzi 2 Cl<sup>-</sup>. Przy stosowaniu

$\text{Na}_2\text{SO}_4$  ciśnienie osmotyczne krwinek pozostaje niezmienione, gdyż jony  $\text{HPO}_4$  i  $\text{SO}_4$  wymieniają się w równych ilościach.

Dla rezystencji duże znaczenie ma ilość kwasu fosforowego w ciałkach czerwonych. *Port* <sup>(11)</sup> znajduje, że jednocześnie z  $\text{H}_3\text{PO}_4$  wzrasta się wytrzymałość krwinek na osmozę. *Höber* <sup>(12)</sup> tłumaczy zjawisko to w ten sposób, że im więcej  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , tem trwalszą jest konsystencja ciałek, tem mniejsza staje się skłonność ciała do pęcznienia. Podobnie jak kwas fosforowy, działać ma też potas: im mniej K wewnątrz krwinek, tem łatwiej podlegają one hemolizie. Natomiast K w płynie otaczającym zmniejsza rezystencję ciałek czerwonych, (u człowieka mniej jednak aniżeli Na.) Według *Höbera* ułożyć można cały rząd katjonów, zaczynający się od najmniej, a kończący się na najbardziej sprzyjających hemolizie.  $\text{Li} < \text{Na} < \text{Cs} < \text{Rb} < \text{K}$ .

Podobny szereg zestawiony został również dla anjonów w porządku  $\text{SO}_4 < \text{Cl} < \text{Br} < \text{J}$ .  $\text{SO}_4$  hamuje według *Monda* <sup>(17)</sup> hemolizę w punkcie izoelektrycznym, antagonistycznie działa tu Ca, natomiast przy zasadowej reakcji Ca również hamuje hemolizę. Prawdopodobnie w pobliżu punktu izoelektrycznego do strącającego wpływu jonów H dołącza się także działanie jonów Ca, przez co otoczka bardziej zostaje uszkodzona, przy reakcji zasadowej zaś pęcznieniu, wywołanemu przez jony OH, może przeciwstawiać się strącający wpływ jonów Ca i dlatego oporność krwinek wtenczas wzrasta się.

Potas i kwas fosforowy działają na oporność krwinek w sposób bardzo zbliżony. Pod wpływem obu tych czynników zmniejsza się skłonność do pęcznienia, a tem samem i do hemolizy.

Badania porównawcze rozmaitych zwierząt wskazują również, że tam, gdzie zawartość potasu i kwasu fosforowego w krwinkach jest duża, jak np. u konia, oporność osmotyczna jest większa, tam zaś, gdzie ilość tych składników jest znikoma, jak np. u barana, wołu — oporność bywa obniżona.

Fosforany zwiększają oporność krwinek szczególnie w wyższej temperaturze. Wpływ ten jest według *Jarisha* <sup>(13)</sup> następstwem nie tyle zahamowanego pęcznienia koloidów, ile utrzymania stałego stężenia jonów wodorowych w wyższej cieplotcie. Ponieważ stała dysocjacji ( $\text{H.OH}$ ) wzrasta się przy ogrzewaniu, przeto ilość jonów wodorotlenowych musi się powiększać. Działanie sprowadza się więc do wzmoczenia zasadowości. Zgodnie z tem znajduje *Haffner* <sup>(14 i 15)</sup>, że przesunięcie oddziaływania ku stronie zasadowej aż do  $\text{pH} = 9,5$  podnosi wytrzymałość krwinek na osmozę, zmniejszając jednocześnie ich objętość, natomiast reakcja słabo kwaśna sprzyja powiększeniu objętości a tem samem i hemolizie. Zjawisko to nie polega jednak według *Egego* <sup>(16)</sup> na pęcznieniu i odpęcznieniu otoczki, a na zmianie osmotycznie czynnych składników we wnętrzu krwinek, co stoi w łączności z własnościami hemoglobiny, jako amfolytu. Przy reakcji kwaśnej uwalniają się bowiem z hemoglobinianów katjony, które, łącząc się z anjonem kwasu, wzmagają ilość jonów wewnątrz ciała czerwonego i powodują tem samem znaczniejsze przyciąganie wody. Przy zasadowem oddziaływaniu katjony łączą się z hemoglobiną, ilość osmotycznie czynnych jonów w krwinkach zmniejsza się, przez co krwinki zatrzymują mniejszą ilość wody. Niektórzy autorowie, jak *Jarisch* <sup>(13)</sup> na

podstawie swych badań, odnoszących się do wpływu mydeł na oporność, sądzą, że oporność wobec wody zwiększają nie tyle jony OH, ile bezwzględna ilość wolnych zasad. Mydła same w bardzo rozcieńczonych roztworach utrudniają, w stężonych ułatwiają hemolizę osmotyczną.

Zrąb erytrocytów według badań Monda (<sup>17</sup>), reaguje zupełnie inaczej na zmiany reakcji: przy wzmożeniu zasadowości objętość powiększa się, przy wzmożeniu kwasoty — zmniejsza się. Minimalną staje się przy  $\text{pH} = 4$ , maksymalną między  $\text{pH}$  8,0 i 9,0. Ta różnica w oddziaływaniu zrębu i całych krwinek jest według Monda najlepszym dowodem, że hemoglobina, znajdująca się wewnątrz ciałek czerwonych, jest całkowicie cieniami ich otoczona. Ciała, które nie przenikają przez otoczkę, jak kationy, sprowadzać mogą hemolizę tylko przez naruszenie krwinek od zewnątrz, przenikające natomiast anjony działać mogą destrukcyjnie zarówno od wewnątrz, jak i od zewnątrz.

Podczas gdy względem osmozy krwinki są, jak wspomniano, najbardziej wytrzymałe przy  $\text{pH} = 9,5$ , to względem hemolitycznego działania ciepła są one przy tej reakcji najmniej odporne; następuje wówczas strącenie białka, rozpuszczającego się w gorącym alkoholu. Również przy  $\text{pH} = 3$  rezystencja względem ciepła jest bardzo małą lecz powstające wtenczas kłaczkki białka nie rozpuszczają się w alkoholu. Najwyższą okazuje się oporność względem ciepła w punkcie obojętnym. Stąd Jodlbauer Haffner (<sup>18</sup>) wnioskowali, że w zrębie krwinek znajdują się 2 substancje, mające różny punkt izoelektryczny. Przy reakcji odpowiadającej każdemu z nich ( $\text{PH} = 3$  i  $9,5$ ), związek między poszczególnymi cząsteczkami zrębu ulega naruszeniu i barwik uchodzi. W przeciwieństwie do tego zapatrywania podaje Mond, że nie jest składnikiem zrębu substancja, strącająca się przy  $\text{pH} = 9,5$ , lecz hemoglobiną, ponieważ w izolowanych cieniach krwinek poza jednym punktem izoelektrycznym między  $\text{pH}$  3 i 5 nie można stwierdzić drugiego przy reakcji zasadowej.

Oprócz soli, kwasów i zasad duże znaczenie dla oporności osmotycznej mają też lipidy: lecytyna i cholesterol. Od czasu badań Ransoma (<sup>18</sup>) w r. 1901 wiadomo że cholesterol surowicy działa antyhemolitycznie, powiększając oporność osmotyczną krwinek. Lecytyna natomiast ułatwia hemolizę. Stosunki nie są jednak, zdaje się tak proste, gdyż, jak później wykazał Jarisch (<sup>13</sup>), wynik zależy głównie od tego, czy lecytyna ulega adsorpcji na powierzchni ciała czerwonego, czy też wnika do wnętrza krwinek. Jeżeli następuje adsorpcja, to hemoliza zostaje zahamowana, gdyż wtenczas zmniejsza się zdolność zatrzymywania wody na powierzchni, jeżeli zaś lecytyna wnika do wnętrza, to hemolizę ułatwia. Zjawiska te badać można doświadczalnie, dodając hypotonicznej emulsji lipidowej do ciałek czerwonych, wytwarza się wtedy prąd płynący ku wnętrzu komórki, który, podobnie, jak przy ultrafiltracji, powoduje osadzenie rozproszonego koloidu na powierzchni i tem samem zahamowanie hemolizy. Lecytyna zaś, dodana do ciałek czerwonych w roztworze izotonicznym, ułatwia hemolizę osmotyczną wraz następującego bezpośrednio potem zadziaływania roztworu hypotonicznego. Prawdopodobnie zachodzi wtedy oddzielne łączenie się krwinek i lecytyny z wodą. Jeżeli jednak roztworem hipotonicznym zadziaływać dopiero w  $1/2$  godziny później, to jak

sądzi *Jarisch*, z powodu dłuższej styczności z ciałkami krwi następuje adsorpcja lecytyny i skłonność do hemolizy maleje. W stężeniach bardzo małych, poniżej 1:40.000, lecytyna zawsze powiększa ma oporność krwinek.

Hemolityczny wpływ lecytyny stwierdzali też *Brinkman* i *Dam*<sup>(8)</sup>; cholesteryna zaś działać ma według nich antyhemolitycznie. Uważają oni stosunek lecytyny do cholesteryny za wielkość stałą, od której zależy rezystencja, przenikanie jonów i zawartość wody. Przemycie płynem „zrównoważonym“ zwiększa rezystencję, wskutek wyciągnięcia lecytyny. Przemycie roztworem cukru zmniejsza oporność wskutek usunięcia cholesteryny. Ilość cholesteryny wewnątrz ciałek czerwonych jest według *Cordiera*<sup>(20)</sup> proporcjonalna do oporności, co uwydatnia się przy zmianach powstających podczas działania 30% glukozy, 2 — 1/2%  $Mg\ Cl_2$  i 20% *Natrium hyposulf.*

W ostatnim roku *Lumière* i *Grange*<sup>(40)</sup> badali wpływ podskórnych wstrzykiwań roztworów cholesteryny w oliwie. Rezystencja powiększała się, szczególnie jeśli przedtem naświetlano cholesterynę promieniami pozafioletkowymi. Surowica zwierząt naświetlanych też przeciwdziała hemolizie, wywołanej przez substancje czynne powierzchniowo, jak mydła. Antyhemolityczne działanie cholesteryny uwarunkowane jest według wspomnianych autorów prawdopodobnie trojakim mechanizmem: 1) strąceniem substancji hemolizującej i uniemożliwieniem jej działania, jak to się dzieje z saponiną, 2) nadaniem surowicy własności antyhemolitycznych i 3) bezpośrednim wzmożeniem oporności krwinek.

Również *Bechhold* jest zdania, że lipoidy są ważnym czynnikiem, pośredniczącym w hemolizie osmotycznej. Natomiast *Ponder*, *Saslow* i *Yeager*<sup>(39)</sup> nie znaleźli stałej zależności między opornością krwinek i współczynnikiem  $\frac{\text{chol.}}{\text{lecyt.}}$

Pewne znaczenie dla rezystancji krwinek ma też ilość zawartej w nich hemoglobiny (*Strasser* i *Neumann*<sup>9)</sup>). Wiadomo bowiem, że w młodych ciałkach czerwonych znajduje się zwykle mniej barwika i że są one oporniejsze od starszych — stąd pochodzi powiększona oporność podczas anemij, z wyjątkiem hemolitycznej. Wiek nie gra jednak roli wyłącznie decydującej, wskazują na to moje badania w górach opisane w drugiej pracy, z których wynika, że, pomimo nieznacznego tylko powiększenia ilości młodych ciałek czerwonych, t. zw. retikulocytów, oporność wzmagać się może bardzo znacznie. Retikulocyty te, uwidoczniane przez zabarwienie przyżyciowe brylantyną krezyłową znajdujące się w nich siateczki, t. zw. *Substantia reticulo filamentosa*, są według *Schillinga*<sup>(19)</sup> wyrazem regeneracji i mogą obok niektórych innych cech być dobrym wskaźnikiem wieku krwinek. Normalna ilość, retikulocytów u człowieka wynosi 0,4% według *Cohna*, 1 — 1,8%

według *Roessinga*, 0,1—0,5% według *Schillinga*, a 0,5 — 2% według *Rosina* i *Bibergeila*.

Mając zamiar przeprowadzić w górach badania nad związkiem między zmianami oporności i powstawaniem młodych krwinek, musiałem wobec tych rozbieżności ustalić też normalne granice ilości retikulocytów u człowieka, królika i świnki morskiej.

Z narządów wewnętrznych, mających bezpośredni wpływ na oporność krwinek, najważniejszą rolę gra śledziona. Po wycięciu jej krwinki stają się bardziej wytrzymałe, hemoliza zostaje utrudniona. Tylko bezpośrednio po splenektomji oporność może być przejściowo zmniejszona. U królika zmiany te są stosunkowo najmniej wybitne: powiększa się tylko rezystencja maksymalna, często nawet zupełnie niema zmian. Jeśli karmić zwierzęta po splenektomji tarczycą, to wytrzymałość według *Yway* <sup>(21)</sup> wzmagą się dalej, istnieje więc pewien antagonizm w działaniu śledziony i tarczycy na oporność krwinek. Przez doprowadzenie hormonu śledziony w stanach wzmoczonej oporności np. w żółtaczkę wytrzymałość ciałek czerwonych obniża się. *Frenchell* i *Nekleidow* <sup>(22)</sup> stwierdzają, że działanie śledziony na rezystencję krwinek wiąże się ściśle ze zmianami ilości cholesterolu; ze wzrostem oporności poziom cholesterolu podwyższa się.

Myślano też o niektórych czynnikach trawiennych, jako o przyczynach zmian oporności osmotycznej. *Acel* i *Gal* <sup>(23)</sup> np. znajdowali wzmoczenie oporności po jedzeniu przy silnej kwasocie żołądka, przy słabej zaś — obniżenie. Uależniają to od zmian prężności CO<sub>2</sub> w pęcherzykach płucnych. Zjawiskiem bardzo charakterystycznym i niezupełnie zrozumiałym jest to, że krwinki trochę uszkodzone np. przez steapsynę lub trypsynę mają powiększoną rezystencję (*Ashby* <sup>24</sup>), jak również, że ogrzanie do 52° podnosi oporność, i że krwinki stare, uszkodzone, bywają bardzo wytrzymałe. Wiąże się z tem być może fakt, obserwowany przez *Jarisch* <sup>(13)</sup>, że narkotyki, zwłaszcza eter, w małych ilościach wzmacniają rezystencję. W czasie snu zimowego według *Coletti* <sup>(25)</sup> oporność krwinek też bywa większą. Naświetlanie promieniami Röntgena w małych dawkach zwiększa oporność krwinek, w dużych zaś zmniejsza (*Bonin* i *Bleidorn* <sup>26</sup>).

W pracy niniejszej, jak już wspomniałem, chodziło o ustalenie granic normalnej oporności krwinek nie tylko wobec osmozy, ale też względem saponiny. Najsłabszy jej roztwór, w którym następuje hemoliza całkowita, czyli stężenie, bezpośrednio graniczące z opornością maksymalną, nazwali *Kofler* i *Wolfenberger* wskaźnikiem hemolitycznym saponiny. Waha się on między 1 : 1000 a 1 : 75.000 u różnych organizmów, u człowieka wynosi przeciętnie 1 : 23.000, u królika 1 : 33.000, u świnki morskiej 1 : 38.000. Najczęściej wyrażony zostaje pełną liczbą, oznaczającą stosunek rozpuszczalnika do ilości saponiny (patrz *Lindemann* <sup>27</sup>).

Podobnie, jak wobec osmozy, tak i tutaj oporność zależna jest w dużym stopniu od działania jonów.  $\text{CaCl}_2$  w roztworze zasadowym przeciwdziała hemolizie i prawdopodobnie z tem wiąże się obniżenie rezystencji po wycięciu gruczołów przytarczycznych. Sód powiększa u człowieka oporność wobec saponiny mniej niż potas, u innych zwierząt K bardziej przeciwdziała hemolizie, podczas gdy, jak wyżej wspominałem, wpływ osmozy bywa zawsze więcej zahamowany przez Na. Z anjonów Cl bardziej sprzyja hemolizie od J, natomiast względem osmozy działa bardziej hemolitycznie (*Höber* <sup>(12)</sup>). Jeszcze silniej od Cl wpływa hemolitycznie  $\text{SO}_4$  — wobec osmozy zaś  $\text{SO}_4$  wzmaga najbardziej oporność krwinek. Tak więc jony, zmniejszające rezystencję względem saponiny, powiększają ją względem osmozy i naodwrot. Przyczyny tego zjawiska dopatruje się *Höber* w tem, że koloidy ciałek czerwonych łączące się z saponiną, tworzą nowe zespoły o innym naboju elektrycznym i wskutek tego zmienia się wrażliwość na sole

Specjalnie ważne znaczenie dla oporności względem saponiny ma kwas fosforowy, *Port* <sup>(11)</sup>, opierając się na analizach *Abderhaldena*, odnoszących się do ilości kwasu fosforowego w ciałkach czerwonych różnych gatunków zwierząt, dochodzi do wniosku, że oporność względem saponiny bywa tem większą, im mniej w ciałk. czerw. znajduje się kwasu fosforowego — a więc znów istnieje tu antagonizm wobec rezystencji osmotycznej, która, jak wyżej wspomniano, przez wewnątrzkomórkowy kwas fosforowy zostaje powiększona.

Natomiast wpływ reakcji krwi na oporność wobec saponiny i osmozy jest dość zbliżony. Najwyższa wytrzymałość względem obu czynników hemolitycznych zachodzi przy reakcji słabo zasadowej, dla saponiny przy  $\text{pH} \approx 8,7 - 9,6$ , dla osmozy 9,5, niektórzy jednak autorowie, jak *Hara-Karno* <sup>(28)</sup> znajdują maximum rezystencji przy reakcji obojętnej. Im niższe pH, tem intensywniejsze staje się działanie saponiny. *Mond* tłumaczy to w ten sposób, że zarówno saponina, jak i  $[\text{H}^+]$  strącają część koloidów protoplazmy i że wpływ obu czynników destrukcyjnych sumuje się. *Bodansky* <sup>(29)</sup> stwierdza znaczne zwiększanie wrażliwości krwinek poniżej  $\text{pH} \approx 4,6$ , a największą oporność przy  $\text{pH} \approx 10$ .

Nietylko słabo zasadowa reakcja hamuje działanie saponiny, ale też, naodwrot, dodanie saponiny w małym stężeniu do roztworu zasadowego, z wyjątkiem  $\text{CaCl}_2$ , przeciwdziała, hemolizie jak stwierdził *Mond*.

W obecności mydeł saponina nie działa hemolitycznie, jedynie estry kwasu oleinowego zmniejszają oporność krwinek. Ten hamujący wpływ mydeł pochodzi — jak sądzi *Jarisch* — prawdopodobnie stąd, że mydła, jako ciała czynne powierzchniowo, gromadzą się na granicy krwinek, zatrzymują tam część saponiny i uniemożliwiają jej działanie hemolityczne.

Ogrzanie do  $55^{\circ}$  zwiększa oporność krwinek wobec saponiny. *Ryvosch* <sup>(1)</sup> przyjmuje równoległość rezystencji krwinek wobec saponiny i ciepła i znajduje, że erytrocyty, oporniejsze na działanie saponiny, są również wytrzymalsze względem ciepła.

Narkotyki początkowo zmniejszają, potem powiększają rezystencję względem saponiny, działają więc odwrotnie, niż na oporność względem osmozy.

Najważniejsza rola w działaniu hemolitycznym saponiny przypada lipidom, a szczególnie cholesterynie. Obecność jej w surowicy hamuje destrukcyjny wpływ saponiny, jest jakby odtrutką, dlatego też saponina, wprowadzona do krwi, nie działa hemolitycznie. Natomiast cholesteryna, zawarta w ciałkach czerwonych, według *Rausoma* (18) ułatwia hemolizę, a nawet obecność jej w krwinkach ma być koniecznym warunkiem działania saponiny. Jednakowoż *Rywosch* (7), żywiąc białe szczury cholesteryną i tłuszczem przez 4 tygodnie, stwierdza wzrost oporności względem saponiny, a obniżenie wobec osmozy, i stąd sądzi w przeciwieństwie do *Ransoma*, że krwinki najbardziej wytrzymałe na saponinę, zawierają w zrębie największą ilość cholesteryny.

Badania innych autorów wykazały jednak, że donioślejszą dla działania saponiny jest rola lecytyny w krwinkach, Jeśli według *Pascucciego* (30) badać doświadczalnie działanie saponiny poprzez jedwabną błonę, przesiąkniętą roztworem cholesteryny i lecytyny, to okazuje się, że błony te są tem mniej przepuszczalne, im więcej jest w nich cholesteryny, natomiast do ilości lecytyny działanie bywa wprost proporcjonalne. Stąd wnioskuje *Rywosch* (7), że lecytyna gra ważniejszą rolę przy hemolizie od cholesteryny. Pogląd ten odpowiada również wynikom *Jarisch*a (13), który stwierdzał, że krwinki zmieszane z lecytyną i przemyte potem solą izotoniczną, łatwiej podlegają hemolizie, prawdopodobnie nasutek naładowania lecytyną. Po pewnym jednak czasie prędszej od normalnych wzmagają swą oporność, co autor tłumaczy tem, że lipoidy wtenczas zgęszczają się na powierzchni i zatrzymują tam saponinę.

Lecytyna, dodana do roztworu saponiny, nie pozbawia jej według *Koberta* (31) własności hemolitycznych. *Jarisch* natomiast zgodnie z poglądami *Ransoma* zauważył wtenczas zahamowanie hemolizy. Nowsze badania *Bernarda* (32) wskazują, że rzeczywiście lecytyna dodana do bardzo słabych roztworów saponiny, hamuje hemolizę. *Luger*, *Weiss-Osborn* i *Ehrentheil* (33) znajdują, że lecytyna w dużych koncentracjach hamuje, w średnich sprzyja a w najniższych pozostaje bez wpływu na hemolityczne działanie saponiny. — Wreszcie *Hattoril* (34) na podstawie doświadczeń z wpływem saponiny na mieszaninę cholesteryny i lecytyny dochodzi do wniosku, że hemoliza powstaje na skutek łączenia się saponiny z lecytyną.

Między wrażliwością krwinek na działanie saponiny i osmozy istnieje według *Rywoscha* ścisły antagonizm; im krwinki zwierząt pewnego gatunku są oporniejsze na saponinę, tem łatwiej podlegają hemolizie osmotycznej. Do najbardziej opornych względem osmozy należy świnka morska, biały szczur, do najmniej wytrzymałych—baran; względem saponiny naodwrot: krwinki barana są najwięcej oporne. Można by oczekiwać, że zawsze ze wzrostem rezystencji osmotycznej maleje wytrzymałość względem saponiny. Tak jednak, zdaje się, nie jest. *Sattler* (35) znalazł np. że po transfuzji powiększa się oporność zarówno względem saponiny, jak i osmozy. *Handowsky* (36) stwierdził po upustach krwi najpierw zmniejszenie, po 8 dniach powiększenie oporności wobec saponiny, a więc to samo zjawisko, które spostrzegł najpierw *Snapper* na zwierzętach, a później *Bauer* i *Aschner* na człowieku w stosunku do osmozy. Ostatni autorowie tłumaczą początkowe obniżenie rezystencji nie przewagą starych krwinek, ale zwiększeniem ilości jonów *Cl* w krwin-

kach bezpośrednio po upustach krwi Antagonizmu niema też przy żółtaczce. w czasie której zwiększona jest oporność zarówno wobec osmozy jak i saponiny. To samo spotyka się w ciąży. Ostatnio w badaniach nad opornością krwinek w żółtaczce hemolitycznej znajdują Tempka i Braun (37) normalną oporność wobec saponiny przy zmniejszonej rezystencji osmotycznej, w niedokrwistości złośliwej wzmożoną wrażliwość względem saponiny przy normalnej rezystencji osmotycznej.

## M e t o d a .

W badaniach własnych posługiwałem się metodą *Hamburghera* z małemi tylko odchyleniami. Krew, brana człowiekowi z palca a zwierzętom z serca strzykawką, wpuszczoną była bezpośrednio do naczynia z 40-krotną ilością  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  kryst. 3,15%, a nie przez pośrednictwo parafinowanego bloczka, jak zaleca *Hamburgher*. gdyż w ten sposób jeszcze pewniej udawało się uniknąć skrzepnięcia. Po odwirowaniu w specjalnych probówkach, mających wąską część podstawową w celu dokładniejszego uwydatnienia wysokości słupa krwinek, osad rozcieńczałem dwukrotnie  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (jak wyżej). Następnie 0,05 cm<sup>3</sup> tej zawiesiny (a więc zawsze stałą ilość) dodawałem dla oznaczenia rezystencji osmotycznej do 2 cm<sup>3</sup> roztworów soli kuchennej hipotonicznej o różnem stężeniu od 0,08% do 0,58% oraz izotonicznej, albo do 2 cm<sup>3</sup> roztworów saponiny alb. pur. Merck w 0,85% NaCl w stosunku od 1 : 400.000 do 1 : 10.000. Dla określenia więc oporności względem osmozy, jak saponiny, stosowane były zarówno te same objętości krwinek, jak i płynu hemolizującego, zawiesina ciałek czerwonych zawsze więc była 40-krotnie rozcieńczana. Za naczynia dla tych roztworów służyły hematokryty, których górna część posiada formę lejkowatą, a dolna podstawowa o pojemności 0,05 cm<sup>3</sup> tworzy rurkę ze 100 podziałkami. *Hamburgher* zaleca stosować hematokryty o pojemności dolnej części 0,04 cm<sup>3</sup>, jednakowoż dla orjentowania się w zmianach wysokości osadu przy każdorazowem wpuszczaniu 0,05 cm<sup>3</sup> zawiesiny wygodniej jest używać hematokrytów, których część kalibrowana ma pojemność 0,05 cm<sup>3</sup>. Te t. zw. chonohematokryty zamykało się od góry ebonitowemi korkami w celu uniemożliwienia parowania. Po parokrotnem delikatnem wstrząsaniu w ciągu 10 — 30 minut, chonohematokryty wirowałem, dla tylko oznaczania rezystencji maksymalnej czekałem

około 3 godzin od chwili wprowadzenia krwinek do roztworów hipotonicznych. W roztworach saponiny ciała czerwone przebywały zawsze 3 godziny przed wirowaniem dla każdego stężenia, pośredniego między rezystencją minimalną i maksymalną, oznaczałem % hemolizy w stosunku do pełnego rozpuszczania zawiesiny krwinek w 40-krotnej ilości wody. W tym celu przygotowywałem każdorazowo 5%, 10%, 20% ... aż do 100% roztwory zawiesiny 0,05 cm<sup>3</sup> krwinek w 2 cm<sup>3</sup> wody. Wszystkie rurki posiadały jednakową średnicę i grubość szkła, co jest konieczne z tego względu, że rozpoznawanie koloru w dużym stopniu zależy od grubości warstwy płynu. Na podstawie tych oznaczeń kreślono potem krzywą rezystencji, wyrażającą ilość % shemolizowanych krwinek w różnych roztworach. Średnia z 12-u doświadczeń była wyrazem oporności krwinek danego gatunku.

Dla oznaczania rezystencji przeciw saponinie przygotowywałem każdorazowo świeże roztwory w NaCl 0,85% ze stężeniem saponiny 1 : 10.000 dla krwinek ludzkich, i 1 : 20.000 dla krwinek królika i świnki morskiej. Do wyżej opisanych chonohematokrytów nalewałem po 2 cm<sup>3</sup> 1) czystego NaCl 0,85%, 2) 1,9 cm<sup>3</sup> NaCl 0,85% + 0,1 cm<sup>3</sup> sapon. 1 : 10.000 lub 1 : 20.000, — 3) 1,8 cm<sup>3</sup> NaCl 0,85% + 0,2 cm<sup>3</sup> sapon. idem. .... 19) 0,2 cm<sup>3</sup> NaCl 0,85% + 1,8 cm<sup>3</sup> sapon. idem. 20) 0,1 cm<sup>3</sup> NaCl 0,85% + 1,9 cm<sup>3</sup> sapon. idem. 21) 2 cm<sup>3</sup> czystej sapon. idem., i do nich dodawałem 0,05 cm<sup>3</sup> zawiesiny krwinek. Podobnie jak w roztworach hipotonicznych, tak i tutaj określano % hemolizy.

Dla stwierdzenia rezystencji minimalnej oznaczyć trzeba było jaknajdokładniej pierwsze uwydatnienie się żółtawego odcieniu po odcentryfugowaniu w roztworach hipotonicznych w porównaniu z izotonicznym NaCl, w którym również krwinki zostały odwirowane. Nie można porównywać z zupełnie świeżymi roztworami soli, co, rzecz szczególna, nie bywa przez autorów podkreślane, roztwór świeży bowiem różni się zawsze odcieniem swym nawet od całkiem izotonicznego, pozostałego po odwirowaniu. Zabarwienie to nie jest wyłącznie następstwem liotropowego wpływu NaCl, gdyż po dodaniu CaCl<sub>2</sub> płyn izotoniczny po odcentryfugowaniu w nim krwinek też nie dorównywa bezbarwnością swoją całkiem świeżemu. Wstrząsanie przed wirowaniem również

nie gra większej roli, gdyż ograniczyć je można do minimum, a mimo to uwydatnia się różnica. Prawdopodobnie ta częściowa hemoliza jest następstwem mechanicznego uszkodzenia niektórych krwinek podczas wirowania. Porównywać więc zawsze należy między sobą tylko roztwory hipotoniczne i izotoniczne, pozostałe po odwirowaniu. Dla dokładniejszego odróżniania barwy trzeba je przelać z chonohematokrytów do rurek o tej samej średnicy i grubości szkła, co rurki z zabarwionymi roztworami porównawczymi, w chonohematokrytach utrudnia bowiem porównywanie odbicie światła od osadu krwinek.

Przy oznaczeniach rezystencji maksymalnej, czyli roztworu najbardziej hipotonicznego, w którym jeszcze ślad krwinek bywa zachowany, zachodzić mogą nieraz wątpliwości co do tego, czy widoczną resztkę osadu uważać należy za ciałka czerwone, czy też za inne elementy. Badanie mikroskopowe dna probówki, w której odbywało się wirowanie, wykazać może nawet w wypadkach braku wszelkiego osadu poszczególne krwinki. Dlatego też lepiej posługiwać się tu oceną makroskopową i uważać za oporność maksymalną roztwór, w którym zauważyć można ostatnią resztkę ciałek czerwonych.

W stężeniach większych od bezpośrednio poprzedzających znacznieszą hemolizę krwinki stają się najbardziej napęczniałe, to też objętość ich bywa tutaj największa. Wysokość osadu, mierzona w podziałkach chonohematokrytu, przewyższać może o 50% pozostały po odwirowaniu w soli izotonicznej. U człowieka poziomo najwyższy osad uwydatnia się zwykle w 0,42 — 0,38% NaCl, u królika w 0,48 — 0,46% NaCl, u świnki morskiej w 0,44 — 0,40% NaCl, chociaż hemolizie początkowej czyli oporności minimalnej odpowiadają roztwory o stężeniu soli większem. Zgodnie z tem znajdują *Ponder, Saslow* (38) największą objętość krwinek królika, mierzoną t. zw. dyfraktometrem, w 0,48 i 0,46% NaCl. Powiększenie objętości ciałek czerwonych jest jednak mniejsze niż należałoby się spodziewać, gdyby uważać krwinki za właściwy osmometr. *Ege* (16) objaśnia zjawisko to obecnością w ciałkach czerwonych wody nietylko wolnej, ale też i związanej, jedynie pierwsza bowiem bierze udział w wymianie osmotycznej, natomiast

*Ponder* i *Saslow* tłumaczą je wydostawaniem się osmotycznie substancji czynnych z krwinek w czasie pęcznienia.

Ilość procentowa retikulocytów oznaczana była przez przyżyciowe barwienie rozmazanych preparatów krwi brylantyną kryzylową.

## W y n i k i.

### Odporność względem osmozy.

Dla ustalenia granic oporności minimalnej i maksymalnej względem osmozy wykonałem ogółem 36 doświadczeń, po 12 z krwinkami człowieka, królika i świnki morskiej.

Jak wykazuje przytoczone krzywa, przedstawiająca średnią z 12 doświadczeń, U CZŁOWIEKA rezystencji minimalnej odpowiada NaCl 0,50%. W 5-iu oznaczaniach pierwszy odcień żółtawy zjawiał się jednak dopiero w 0,48% NaCl. Bardzo nieznaczna, zaledwie parę % wynosząca, hemoliza utrzymuje się aż do 0,40 — 0,38% NaCl, dopiero tutaj zaczyna się uwydatniać zabarwienie wyraźniejsze. Czasem różnica koloru w roztworach 0,50 — 0,40% NaCl bywa tak niewielka, że trudno się zdecydować, czy hemolizę tę uważać należy już za osmotyczną, czy też za powstałą na skutek mechanicznego uszkodzenia krwinek podczas wirowania. Prawdopodobnie mamy tu do czynienia z zsumowaniem obu rodzajów destrukcyjnych bodźców. U niektórych osób hemoliza bardzo nieznaczna może się jeszcze dalej utrzymywać. Tak np. u mechanika Zakładu Fizjologii U. J. pierwsza zauważyć się dająca różnica, odpowiadająca minimalnej rezystencji, powstała również w 0,48% NaCl natomiast pierwsza wyraźniejsza hemoliza dopiero w 0,34% NaCl. Różnice indywidualne są więc dość znaczne. To też nic dziwnego, że wyniki różnych autorów są rozbieżne, że jedni podają, jak już wspomniane 0,50, inni 0,48 — 0,46, wreszcie inni 0,42 — 0,38% NaCl. Lecz przy dokładnem obserwowaniu porównawczem odcieni przeciw białemu tłu można zwykle spostrzec u człowieka między 0,52 i 0,48% NaCl pierwszy ślad wzmożenia hemolizy, której  $\frac{1}{2}$  — 1% powstaje już mechanicznie podczas wirowania i uwydatnia się w 0,85% NaCl.

Główny przyrost hemolizy następuje zwykle między 0,36 i 0,34% NaCl. Na krzywej Nr. 1 w tem miejscu linja ma najbardziej stromy przebieg, chociaż i w 2-ch poprzednich roztworach o mniejszej hypotonji różnice hemolizy osiągają już stopień znaczny. W roztworze 0,32% NaCl hemoliza zbliża się do pełnej, w osadzie po odwirowaniu pozostaje jednak pewna nieznaczną ilość krwinek nierozpuszczonych. Osad ten utrzymuje się bardzo uporczywie, znika czasem dopiero, jak np. w mam dośw. VIII. całkowicie w 0,10% NaCl.

Za odpowiadające rezystencji maksymalnej przyjąć więc można stężenie NaCl 0,12%, w którym jeszcze mała ilość najbardziej opornych ciałek czerwonych, wynosząca  $\frac{1}{4}$  —  $\frac{1}{2}$  jednej podziałki chonohematokrytu, utrzymuje się, chociaż wahania od 0,18 — 0,10% NaCl należą do reguły. Ta ogromna rozpiętość rezystencji krwi ludzkiej świadczy o wielkiej różnorodności krwinek, o szybkim starzeniu się, można ją wreszcie uważać za wyraz różnic chemicznych pomiędzy poszczególnymi ciałkami.

Ilość retikulocytów, wynosiła 0,3—0,5% przy średnio 4,8 milj. c. czerw. w 1 mm<sub>3</sub>.

Zupełnie inny wygląd ma krzywa rezystencji osmotycznej krwinek KRÓLIKÓW. Chociaż oporność minimalna przypada tak samo, jak u człowieka na 0,52 lub 0,50% NaCl, to jednak główny skok hemolizy następuje w mniej hypotonicznych roztworach, aniżeli u człowieka. W stężeniu 0,38% NaCl, w którym na większą skalę zaczyna się dopiero hemoliza krwinek ludzkich, ciałka czerwone królika są już prawie całkowicie shemolizowane. Główny przyrost hemolizy uwydatnia się między 0,50 i 0,40% NaCl. Hemoliza pełna, oznaczona kalorymetrycznie, następuje między 0,40 i 0,36% NaCl, a w stężeniu 0,32 — 0,26% NaCl znika już zazwyczaj osad czerwony i pozostaje tylko na dnie masa, złożona z ciałek białych i cieni ciałek czerwonych.

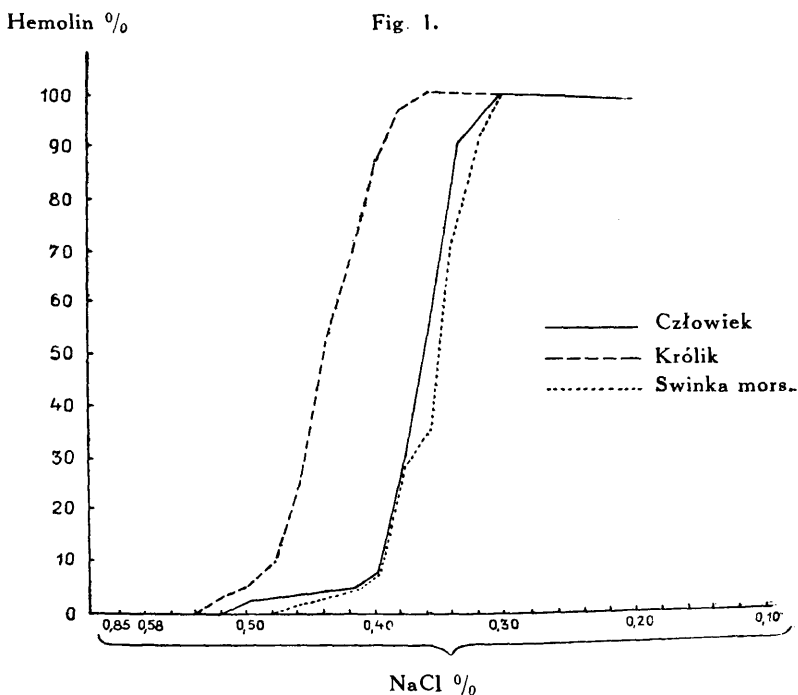
Rezystencja krwinek królików jest więc znacznie mniejszą od ludzkich; w stężeniach, które dla królika są już wyrazem oporności maksymalnej, u człowieka dopiero ślady hemolizy bywają uwydatnione.

Szerokość rezystencji również jest mniejsza, rozciąga się ona między 0,52 i 0,30% NaCl, podczas gdy u człowieka granice jej wynoszą 0,52 i 0,12% NaCl.

Porównawcze badania oporności krwi, pobranej z ucha i serca, różnicy żadnej nie wykazywały.

Wysokość słupa krwinek osiągała w chonohematokrytach najwyższy poziom w 0,48 — 0,46% NaCl, czasem tylko, jak np. w dośw. XVI, w 0,52 — 0,50% NaCl.

Linia przerywana (fig. 1) przedstawia średnią z 12 oznaczeń, a doświadczenie XVI daje obraz nie tylko % hemolizy, ale też i stopnia napęczenia krwinek w podziałkach chonohematokrytu.



Króliki, używane dla tych doświadczeń, maści szaro białej, odżywiaae były owsem i pszenicą.

Ilość retikulocytów we krwi ustalona została na podstawie średniej z 10 oznaczeń na 1,2 — 1,5% przy ilości ciałek czerwonych w 1 mm<sup>3</sup> 4.400.000 — 5.100.000.

Oporność osmotyczna c. czerw. ŚWINEK MORSKICH okazuje się znacznie większą, aniżeli u królików, naogół zbliżona jest

bardzo do rezystencji krwinek ludzkich, jednak nieco ją przewyższa. Szczególnie odnosi się do rezystencji minimalnej. Tylko w 2-ch przypadkach (na 12) odpowiadała ona 0,50% NaCl, w 2—0,48% NaCl, w 6 doświadcz. — 0,46% NaCl, a w 2 — 0,44% NaCl. Wahania odbywają się więc między 0,52 i 0,44% NaCl. Pierwszy raptowniejszy przyrost hemolizy następuje, podobnie jak u człowieka, w jednych przypadkach między 0,40% NaCl i 0,38% NaCl w innych 0,38 i 0,34% NaCl. W roztworze 0,30% NaCl zawsze hemoliza mierzona kolorymetrycznie, dochodziła już do 100%. Ślad osadu krwinek widoczny bywał jeszcze w stężeniu 0,28% NaCl, a znikał zupełnie w 0,26% NaCl. Za rezystencję maksymalną uważać więc można dla świnki morskiej 0,28% NaCl, czyli nieznacznie tylko przewyższa ona takąż samą wytrzymałość krwinek królika i jest o wiele mniejszą od oporności krwinek ludzkich.

Szerokość rezystencji (0,48 — 0,28% NaCl) jest trochę mniejszą aniżeli u królika i znacznie mniejszą od ludzkiej.

Wysokość słupa krwinek w chonohematokrytach osiągała po odwirowaniu najwyższy poziom 0,42 — 0,40% NaCl, a więc bezpośrednio przed pierwszym znaczniejszym skokiem, i w porównaniu z ciałkami czerwonymi królika i człowieka była nieco większą.

Krew brałem stale strzykawką ze serca w ilości 1 — 2 cm<sup>3</sup>. Zwierzęta maści szaro — białej lub żółto-czarno-białej żywione były podobnie, jak króliki, owsem, pszenicą i marchwią.

Linia kropkowana (Fig. 1) daje obraz rezystencji ciałek czerwonych świnki morskiej wobec osmozy.

Ilość retikulocytów wynosiła 0,6 — 1,2% przy 3.800.000 — 5.000.000 krwinek w 1 mm<sup>3</sup>.

### Oporność krwinek wobec saponiny.

Dla badania oporności wobec saponiny postępowiałem, jak już wspomniano, zupełnie w analogiczny sposób, jak dla oznaczania oporności osmotycznej.

Wytrzymałość krwinek CZŁOWIEKA wobec saponiny wyrażona jest na krzywej Nr. 2 (linia ciągła). Rezystencji minimalnej odpowiada roztwór soli izotonicznej, zawierający na 2 cm<sup>3</sup> — 0,4 cm.<sup>3</sup> saponiny 1 : 10.000, czyli stężenie sapon. 1:50.000. Tylko

w 3 z pośród 12 oznaczeń już w  $0,3 \text{ cm}^3$  sap. 1:10.000 można było rozpoznać ślad wzmożonej hemolizy. Pierwsze wyraźniejsze zabarwienie odwirowanego roztworu uwydatnia się dopiero w  $0,5 \text{ cm}^3$  sap. czyli w stężeniu 1:40.000. Przyrost hemolizy wynosi tutaj 30—40%. Taki sam skok uwydatnia się zwykle między  $0,5$  i  $0,6 \text{ cm}^3$  sap., poczem stopniowo dochodzi w roztworze 1:20.000 czyli w  $1 \text{ cm}^3$  sap. +  $1 \text{ cm}^3$  NaCl 0,85%, do kolorymetrycznie mierzonej 100% hemolizy. Nieznaczny osad krwinek utrzymuje się jeszcze w kilku bardziej stężonych roztworach i dopiero w  $1,6 \text{ cm}^2$  sap. (1:12.500) znika całkowicie.

W wysokości słupa krwinek, pozostającego po odwirowaniu, uwydatniają się pod wpływem wzrastającego stężenia saponiny te same zmiany, co i w następstwie działania osmozy. Krwinki pęcznieją również przed hemolizą, lecz w znacznie mniejszym stopniu, niż w hipotonicznych roztworach. Największa wysokość osadu osiągniętą zostaje w  $0,3$  i  $0,4 \text{ cm}$ . sap. nieznacznie jednak przekracza tylko poziom, pozostający po odcentryfugowaniu w soli izotonicznej.

Krwinki KRÓLIKA wrażliwsze są na działanie saponiny od ludzkich, Stosując roztwór saponiny 2-krotnie rozcieńczony w porównaniu z używanym dla badania oporności krwinek ludzkich, czyli 1:20.000, otrzymywało się początkową hemolizę w soli zawierającej  $0,3$  lub  $0,4 \text{ cm}^3$  sapon., najczęściej, w ostatniej, czyli w saponinie 1:100.000,

Główny przyrost hemolizy następuje zwykle między  $0,6$  ( $1:66.666$ ) i  $0,7 \text{ cm}^3$  sap. oraz między  $0,7$  i  $0,8$  ( $1:50.000$ )—jednakowoż u niektórych królików powstaje już między  $0,4$  i  $0,5 \text{ cm}^3$ . Hemoliza pełna, mierzona kolorymetrycznie, osiągnięta zostaje w  $0,8$  —  $1,1 \text{ cm}^3$  sap. Osad, nie przekraczający jednej podziałki, utrzymywać się może aż do stężenia  $1,5$ — $2,0 \text{ cm}^3$  sap. Szerokość oporności względem saponiny jest więc u królika bardzo rozległa.

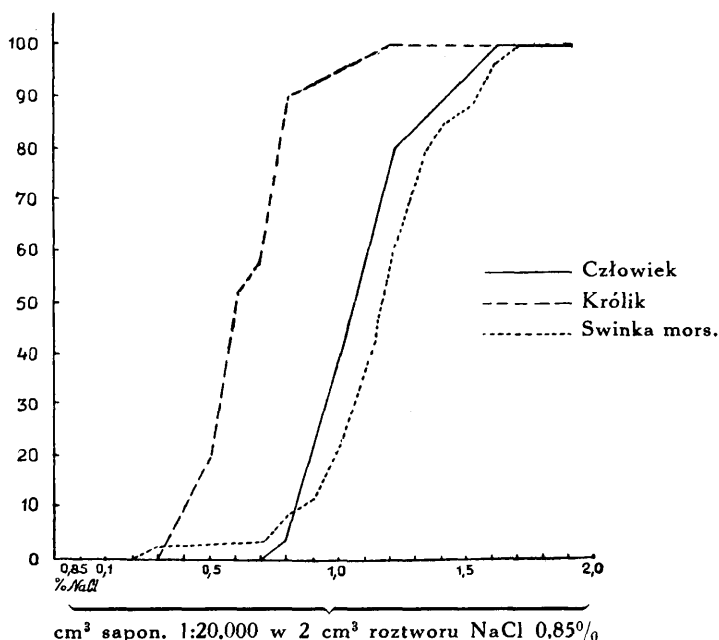
Wysokość słupa krwinek w chonohematokrytach osiągała najwyższy poziom w  $0,3$  —  $0,4 \text{ cm}^3$  sap., lecz stan napęcznienia był tu o wiele mniej znaczny, niż przy działaniu osmozy.

Ciałka czerwone ŚWINEK MORSKICH mają jeszcze trochę mniejszą oporność minimalną na saponinę, niż królicze. Początkowo hemoliza powstawała już zawsze w  $0,3 \text{ cm}^3$  sap. czyli w stężeniu

1:133.333. Natomiast najsilniejsza zmiana barwy następowała dopiero w większych stężeniach, aniżeli u królika. powyżej 0,7 cm<sup>3</sup> sap. zaś w tym roztworze ilość shemolizowanych krwinek nie przekraczała jeszcze 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Pełna hemoliza uwydatniała się w 1,6 — 1,7 cm<sup>3</sup> sapon. Wszelki ślad osadu znikał dopiero w 1,9 — 2 cm<sup>3</sup>;

Hemolin %

Fig. 2.



rezystencji maksymalnej odpowiada więc stężenie 1:20.000 sapon. (Fig. Nr. 2, linia kropkowana).

Wysokość słupa krwinek osiągała największy poziom przeciętnie w 0,6 cm<sup>3</sup> sap. czyli w roztworze 1:33.333.

### Streszczenie i wnioski.

Z przytoczonych wyżej badań wynika, że oporność minimalna krwinek człowieka wobec osmozy odpowiada 0,52—0,48<sup>0</sup>/<sub>0</sub> NaCl. Większy przyrost hemolizy powstaje dopiero w 0,38 —

0,34% NaCl. Wahania w tych granicach uważać trzeba za fizjologiczne.

Względem saponiny rezystencja minimalna wyraża się stężeniem 1:50.000 sap. alb. pur. Merck w 0,85% NaCl, maksymalna 1:12,500. Główny skok zaznacza się zwykle między roztworami 1:50,000 i 1:40,000 oraz 1:40.000 i 1:33.333.

Dla krwinek KRÓLIKA rezystencji minimalnej wobec hipotonji odpowiada 0,52—0,50% NaCl, maksymalnej 0,32—0,26% NaCl. Największy przyrost hemolizy uwydatnia się najczęściej między 0,48 — i 0,46 lub 0,46 i 0,44% NaCl.

Początkowa hemoliza pod wpływem saponiny zjawia się w 1:100000, główny przyrost między 1:66 333 a 1:50.000, hemoliza całkowita w 1:26.666 i 1:20,000.

ŚWINKI MORSKIE mają rezystencję osmotyczną krwinek, zbliżoną do ludzkiej. Oporność minimalną wyraża 0,52—0,44% NaCl. Znaczniejszy przyrost hemolizy powstaje, podobnie jak u człowieka, między 0,40 i 0,34% NaCl. Oporność maksymalnej odpowiada 0,28% NaCl.

Względem saponiny rezystencję minimalną stanowi 1:33.333, maksymalną 1:21,052 — 1:20.000; największy przyrost hemolizy powstaje około stężenia 1:~0.000.

Jeżeli porównywać wyniki, uzyskiwane u człowieka, królików i świnek morskich, to okazuje się, że krwinki świnek morskich mają największą oporność minimalną względem osmozy, królicze najmniejszą. Ciałka czerwone ludzkie posiadają największą rezystencję maksymalną — główne przyrosty hemolizy powstają jednak w tych samych prawie stężeniach, co u świnek morskich, a przy znacznie większej hipotonji, niż u królików. Względem saponiny rezystencja minimalna świnek morskich jest trochę mniejsza, niż królików, główne przyrosty hemolizy uwydatniają się dopiero w roztworach saponiny bardziej stężonych. Ciałka człowieka są najmniej wrażliwe na saponinę w słabych roztworach, w silniejszych łatwiej podlegają hemolizie, niż krwinki świnek morskich.

Wyniki, odnoszące się do zwierząt laboratoryjnych, o tyle zgodne są z rezultatami, otrzymanymi przez *Rywoscha*, że krwinki świnek morskich oporniejsze są na osmozę od króliczych, nato-

miast bezwzględego antagonizmu w stosunku do saponiny nie można tu było stwierdzić. Tylko właściwa rezystencja minimalna względem saponiny była u świnek morskich niższą — większość zaś krwinek miała oporność wyższą, gdyż główny przyrost hemolizy powstawał u nich roztworach saponiny bardziej stężonych, niż u królików.

De l'Institut physiologique de l'Université de Cracovie.

## RECHERCHES SUR LA RÉSISTANCE DES ÉRYTHROCYTES à L'OSMOMOSE ET à LA SAPONINE.

P a r

J. KAULBERSZ

### R É S U M É.

Pour entreprendre les recherches sur la résistance des érythrocytes dans les montagnes et dans les boîtes pneumatiques, il fallait d'abord à cause des grandes divergeances de la définition de la résistance maximale et minimale chez l'homme et chez les animaux de laboratoire, établir, en employant toujours la même méthode, les limites des variations dans la plaine.

Il résultait de ces recherches que chez l'homme la résistance minimale à l'osmose correspond à 0,52 — 0,48% NaCl, tandis que la résistance maximale equivaut à 0,20 — 0,12 NaCl. % L'augmentation la plus sensible de l'hémolyse se produit entre 0,18 et 0,34% NaCl. La résistance minimale à la saponine s'exprime par une concentration de 1:50.000 (sapon. alb. par. Merck dans 0,85% NaCl) et la résistance maximale par. 1:12.500. Des solutions de NaCl à 0,52 — 0,50% correspondent à la résistance osmotique minimale des érythrocytes du lapin, tandis que des solutions de 0,32 — 0,25% équivalent à la résistance maximale. L'augmentation la plus sensible se manifeste le plus souvent entre 0,48 et 0,46 ou bien entre 0,46 et 0,44% NaCl. L'hémolyse

initiale des érythrocytes du lapin sous l'action de la saponine a lieu dans 1:100.000, tandis que l'hémolyse complète correspond à 1:33.333 — 1:20.000. La résistance osmotique des cobayes se rapproche de celle de l'homme. La résistance minimale s'exprime par 0,50 — 0,44% NaCl. L'augmentation plus forte de l'hémolyse se produit, comme chez l'homme, entre 0,40 et 34% NaCl. Une solution de NaCl à 0,28% correspond à la résistance maximale. La résistance minimale à la saponine se traduit par 1:133.333, la résistance maximale par 1:20.000.

Si l'on compare les résultats, obtenus pour l'homme, le lapin, et le cobaye, on voit, que les érythrocytes des cobayes disposent de la plus forte résistance minimale à l'osmose, tandis que ceux des lapins sont les moins résistants. Les globules rouges de l'homme sont doués de la plus grande résistance maximale; les accroissements principaux de l'hémolyse se produisent toutefois dans presque les mêmes solutions, que chez les cobayes et en présence d'une hypotonie beaucoup plus prononcée, que chez les lapins.

La résistance minimale à la saponine est un peu plus faible chez le cobaye, que chez les lapins; les augmentations principales de l'hémolyse ne se produisent que dans les solutions de saponine beaucoup plus concentrées. Les érythrocytes humains sont les moins sensibles à la saponine dans des solutions faibles, mais dans des solutions plus fortes ils sont un peu plus facilement hémolysés que ceux des cobayes.

#### P I Ś M I E N N I C T W O.

- 1) Hamburger H. J. Osmotischer Druck und Ionenlehre. 2) Limbeck. Prager med. Wschr. 1890. Nr. 28 i 29. 3) Snapper J. Biochem. Ztschr. 43. 1912. s. 256. 4) Chauffard et Rendu. Presse médic. 1907. Nr. 45. 5) May. Thèse. Paris. 1914. 6) Mosso A. Arch. ital. de biol. 8. 1887. 257. 7) Rywosch. Pflüg Arch. 116. 229. 1907. 196. 643. 1922. 8) Brinkmann u. Damm. Biochem. Ztschr. 108. 1920. 9) Strasser u. Neumann. Mediz. Klinik 1909 34. 10) Saslow G. Journ. of Physiol. 74. 1932. 11) Port. Deut. Arch. J. Klinische Medizin. 99. 259. 1910. 12) Höber. Physikal. Chemie. 1924. 13) Jarisch. Pfl. Arch. 186. 1920. 299 i 192. 1921. 255. 14) Haffner F. Pflüg. Arch. 179. 1920. 140 i 144. 15) Jodloauer i Haffner. Pflüg. Arch.

179. 1920. 121 i 134. 16) Ege. Biochem. Ztschr. 130. 1922. s. 336 i 115 s. 88.  
17) Mond. Pflüg. Arch. 209, 499 i 208, 574. 1924. 18) Ransom. D. Med. Wschr. 1901. 194. 19. Schilling V. Anleitung zur Diagnose im dicken Blut-tropfen Jena. 1923. 20) Cordier. Comptes rend. Soc. de Biol. 105. 1930. 165 i 168. 21) Iway J. Folia endocrin. (po japońsku) 4. 1928. 216. (Wg. Berichte f. d. ges. Physiol. T. 46). 22) Frenckell G. u. Neklaidow P. N. Pflüg. Arch. 220. 1928. s. 356. 23) Acel D. i Gal E. Deutsche Mediz. Wschr. 51. 1925. 1990 (Wg. Berichte f. d. Ges. Physiol. T. 34). 24) Ashby. Amer. Journ. of. Physiol. 68. 1924. s. 132. 25) Coletti. Riv. di biol. Vol. 7. 1925. s. 429. 26) Bonin und Bleidorn. Strahlentherapie. 12. 1921. 549. 27) Lindemann. Biol. Lek. I. 9. zeszyt. 3. 28) Hara Karno. Journ. of. Biol. chem. 82. 1929. 567. 30) Pascucci. Beitr. z chem. Path. u Phys. 6. (wg. Rywoscha). 31. Kobert. Arch. f. exper. Pathol. Tom 23. 32) Bernard. Comptes rend. Soc. de biol. 89. 1923. s. 225. 33) Lugera, Weiss Osborn W. i Ehrenteil O. Ztschr. f. Immunitätsforschung und exper. Therapie. 36. 1923. 17. 34) Hattori, Renzi; Bioch. Ztschr. 119. 1921. 35) Sattler. Fol. haemat. 9. 1910. 216. 36) Handovsky. Arch. f. exp. Pathol. 69. 1912. s. 412. 37) Tempka i Braun. P. Gaz. Lek. 1932. 38) Ponder. E. und G. Saslow G. Journ. of Physiol. 73. 1931. 267. i 70. 1930. 169. 39) Ponder, Saslow and Yeager. Biochem. Journ. 24. 805. 1930. 40) Lumiere et Grange. Comptes rend. Soc. de Biol. 107. 1931. s. 159 i 685.
-

Wpłynęło 10 IX 1932.

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

## WPŁYW BAKTERYJ BANGA NA SZCZURY BIAŁE.

P o d a ł

ARTUR BER.

**W**e wrześniu roku ubiegłego przystąpiłem wraz z kol. Flaksem do zbadania wpływu bakteryj ronienia zakaźnego krów Banga na szczury białe szczepione mięsakiem Jensena. Chodziło z jednej strony o stwierdzenie czy pałeczki Banga wykazują specjalne powinowactwo do tkanek intensywnie rosnących i rozmnażających się jak np. macica w ciąży, gruczoł mleczny w okresie laktacji, jądra w okresie rui, nowotwór i t. p. z drugiej zaś o zbadanie wpływu bakteryj na sam nowotwór. Wstępne badania przeprowadzone na kilku zwierzętach wykazały, że szczepy użyte do doświadczenia nie wywołują u szczurów zejścia śmiertelnego, co pozostawało w niezgodzie z danymi znajdującymi się w piśmiennictwie. Próby dokonywane na myszkach stwierdziły ponad wszelką wątpliwość, że dawki zaledwie dwa razy mniejsze od stosowanych u szczurów, myszy nie zabijają. Dalsze jednak doświadczenia na szczurach wykazały, że założenie o niezjadliwości pałeczek Banga w stosunku do tych zwierząt nie jest słuszne. Okazało się, że szczury są znacznie wrażliwsze od myszy. Nasunęło się pytanie czy nie nadawałyby się one do badania mleka rynkowego na obecność pałeczek ronienia zakaźnego.

W tym kierunku zostały przeprowadzone systematyczne badania. Wyniki tych badań zostały zebrane w niniejszej pracy.

---

Dotychczasowe badania autorów, którzy się zajmowali zagadnieniem zjadliwości pałeczki Banga w stosunku do szczurów, chociaż bardzo nieliczne, stwierdzają zgodnie znaczną wrażliwość tych zwierząt w sensie często występującego zejścia śmiertelnego.

*Holth* (1911) szczepił 4 szczurom wagi około 50 gramów dootrzewnowo po 0,5 wzgl. 1,0 ccm. hodowli buljonowej pałeczek Banga szczepów I wzgl. V. Trzy szczury padły po upływie 24 godzin, jeden zaś po 48 godzinach. U wszystkich znaleziono bakterje we krwi. Dwa szczury szczepione surowicą odpornościową, a następnie zawiesiną bakteryj szczepu V nie wykazywały przez cztery miesiące żadnych objawów chorobowych. Zmienne rezultaty uzyskał autor przy szczepieniu dootrzewnowem bakteryj, które czas pewien pozostawały w zetknięciu z surowicą odpornościową. Szczury bądź padały po upływie kilku dni, bądź też znosiły szczepienie bez szkody dla zdrowia. Z dwu szczurów szczepionych przesączem starej hodowli buljonowej pałeczek Banga, a następnie zawiesiną bakteryj ronienia zakaźnego, jeden padł po 5 dniach, drugi zaś pozostał przy życiu.

Jak widzimy, wyniki prac autora nie są dość przejrzyste. W tych samych warunkach jedne szczury ginęły, inne natomiast pozostawały przy życiu. Odporność indywidualna zdaje się tu odgrywać znaczną rolę. Jedyną pewną rzeczą było stwierdzenie, iż po dootrzewnowem wprowadzeniu dużych dawek pałeczek Banga szczury mogą ginąć w krótkim czasie z objawami posocznicy.

*Fabyan* (1912) stwierdził, że u szczurów, które nie giną po zakażeniu pałeczką Banga, udaje się wykazać obecność bakteryj w śledzionie do 9 tygodni po szczepieniu.

*Hagan* (1922) karmił szczury narządami świnki morskiej zakażonej pałeczkami Banga cztery tygodnie wcześniej. Tylko u dwu szczurów udało się wykazać obecność zarazków w śledzionie. Surowice ich nie zawierały specyficznych zlepników w stosunku do pałeczek Banga. Autor szczepił też szczurom zewiesiną bakteryj

ronienia zakaźnego i stwierdził, że zakażają się tylko te zwierzęta, którym wprowadzono bardzo duże dawki zarazka.

*Kamada Keiho* (1932) zakażał dla celów porównawczych świnki morskie, szczury i myszy. Z zawiesiny uzyskanej przez splókanie agaru skośnego pięcioma centymetrami sześciennymi płynu fizjologicznego, szczepił świnkom morskim po 0,1 ccm. Po 7 dniach zabijał szczepione świnki. Na sekcji stwierdzał u nich lekki obrzęk śledziony. Posiewy z wątroby, nerki, śledziony i krwi z serca wypadły stale pozytywnie. U świnek zabijanych w dwa tygodnie po szczepieniu występowały stale w wątrobie i nerce ogniska zapalne, podobne do opisanych przez *Smitha*. Śledziona i gruczoły chłonne były znacznie powiększone. Przy dawkach 100 razy mniejszych wyniki badania narządów były jeszcze pozytywne, przy 1000 razy mniejszych już niepewne.

U szczurów autor nie stwierdzał za życia żadnych zmian, więcej jednak niż połowa szczepionych zwierząt ginęła w 3 do 7 dni po zakażeniu. U szczurów padłych autor znajdował na sekcji chroniczny stan zapalny otrzewny, szczególnie na wątrobie. U szczurów zabitych w dwa, trzy tygodnie po zakażeniu występowały zmiany podobne jak u świnek morskich.

Wyniki uzyskane przez autora pozostają w niezgodzie z badaniami innych uczonych. *Friess* stwierdził na przykład swego czasu (1929), że bakterje znikają ze krwi świnki morskiej najpóźniej w trzy dni po zastrzyku. Być może, że *Kamada* operował szczepem szczególnie zjadliwym, za czym przemawiałby i fakt stałego występowania ognisk zapalnych w wątrobie i nerce już po upływie 2 tygodni od chwili szczepienia, choć wg. klasycznej pracy *Theobalda Smitha*, której wyniki wielokrotnie potwierdzano, mają się one pojawiać dopiero w kilka miesięcy po zakażeniu. Gdyby szczep *Kamady* był rzeczywiście bardzo zjadliwy, to tem ciekawszy staje się fakt, że wyniki badań narządów świnek morskich szczepionych zawiesiną tysiąckrotnie rzadszą są już niepewne. Autor nie podaje wprowadzone gęstości stosowanej zawiesiny, sądząc jednak z techniki przygotowania, przypuszczam, iż w pierwszej grupie otrzymała każda świnka ok. 800 milionów bakteryj, w trzeciej więc około 800 tysięcy. Badania wielu autorów (*Hedström*, *Wall* i inni) stwierdzają, że bakterje *Banga* wywołują u świnek

morskich zakażeń już po wprowadzeniu do organizmu około 10 pałeczek. Nie sądzę, aby wykazane tu różnice dały się wyjaśnić jedynie cechami indywidualnymi użytych szczepów bakteryjnych.

Jeśli chodzi o szczury, to muszę stwierdzić, iż nie obserwowałem ani razu zmian opisanych przez autora, mimo zbadania przeszło 100 zwierząt.

### Część ogólna.

Zwierzęta doświadczalne pochodziły z różnych hodowli. Przeważna część doświadczeń została wykonana na szczurach sześciomiesięcznych wagi około 125 gramów, kilkakrotnie zakażane były oseski szczurze w wieku około 20 dni. Niektóre zwierzęta szczepione były równocześnie zarazkami Banga i mięsakiem Jensena, którego fragmenty wprowadzano domięśniowo lub podskórnie<sup>1)</sup>. Szczury karmione były owsem, chlebem i mlekiem.

Materiał do szczepień. Szczury szczepione były dotrzewnowo przeważnie zawiesiną pałeczek Banga szczepów laboratoryjnych „B” i „M”. Niektóre zwierzęta szczepiono zawiesiną pałeczek wyizolowanych z wnętrza guza nowotworowego lub ze śledziony szczurów uprzednio zakażonych szczepami laboratoryjnymi. Szczep wyizolowany z nowotworu szczura Nr. 1 oznaczono nazwą „Guz”, szczep wyizolowany ze śledziony szczura Nr. 27 literami „BM”. Kilka szczurów szczepiono zawiesiną pałeczek świeżo wyizolowanych z treści przewodu pokarmowego cieląt porzuconych. Niektóre doświadczenia polegały na równoczesnym wprowadzeniu do organizmu zarazków ronienia zakaźnego i przesączów starej hodowli buljonowej tych bakterij. Hodowle przesączało przez świecę Chamberlanda L 3. Przed szczepieniem przesącze było stale badane na jałowość.

Badanie zwierząt szczepionych. Za życia nie obserwowano prawie nigdy żadnych zmian w zachowaniu się zakażonych szczurów. Niekiedy zauważyć się dało przyspieszenie oddechów, czasem kaszel. Apetyt był stale zachowany. Przeważna ilość zwierząt ginęła w krótkim czasie po szczepieniu, część je-

---

<sup>1)</sup> Koledze Dr. Flakowski składam serdeczne podziękowanie za łaskawe dostarczenie szczurów nowotworowych.

dnak pozostała przy życiu w ciągu kilku miesięcy. Kilka z nich zginęło samorzutnie, reszta była zabijana w różnych okresach czasu. Szczury te usypiano eterem, a następnie przy pomocy strzykawki wydobywano całą krew z serca. Śmierć następowała wskutek skrwawienia. Surowica szczurów zabitych badana była na obecność specyficznych zlepników w stosunku do pałeczek. Banga

Na sekcji znajdowano często u takich pozornie zdrowych szczurów, podobnie jak i u padłych, daleko idące zmiany anatomicopatologiczne. Najczęściej była zmieniona śledziona. Przeważnie była ona powiększona, koloru brunatnoczerwonego, konsystencji twardej. Niekiedy w mięszu śledzionowym rozrzucone były liczne, drobne ogniska ropne. W jamie brzusznej znajdowałem często ropnie np. w wątrobie, w nasieniowodzie, w macicy, w ścianie żołądka, w śledzionie, pod torebką śledzionową, pod otrzewną w okolicy nerki i t. p. W takich przypadkach obserwowałem też zrosty narządów ze sobą lub ze ścianą jamy brzusznej. Bardzo często zmienione były u szczurów płuca, szczególnie płaty górny i sercowy płuca prawego. U niektórych zwierząt zmiany w płucach były tak rozległe, że zdrowa tkanka płucna była niemal niewidoczna. Przeważnie występowało krupowe zapalenie płuc ze zwątrobieniem całych płatów, niekiedy jednak zmiany były inne, a mianowicie o charakterze śluzoworopnego stanu zapalnego oskrzeli i oskrzelików w poszczególnych płatach lub w całych płucach.

Na sekcji dokonywane były stałe posiewy z różnych narządów, a szczególnie ze śledziony, z krwi z serca, z płuc, z zawartości ropni i t. p. Mocz do posiewów pobierano wprost z pęcherza. Uzyskane hodowle poddawano stale aglutynacji djagostycznej z wysokowartościową surowicą zlepiającą pałeczki Banga.

### Część szczegółowa.

#### Doświadczenie I.

W doświadczeniu tem chodziło o stwierdzenie wpływu zarazka Banga na oseski szczurze. Do badań użyte zostały trzy rodziny szczurze złożone z matek i małych. W dwu rodzinach

wszystkie oeski w 16-yim dniu życia zaszczepiono mięsakiem Jensena w mięśnie uda lewego. Po dwa szczurki z każdej rodziny otrzymały 4 dni później po 0,2 ccm. zawiesiny pałeczek szczepów B i M domięśniowo w udo prawe, a po upływie dalszych 10 dni jeszcze raz po 0,2 ccm. takież zawiesiny dootrzewnowo. Gęstość zawiesin wynosiła około 8 miliardów bakterij w 1 ccm. Pozostałe oeski służyły jako kontrola. W rodzinie trzeciej dwa szczurki otrzymały w 20-yim i 30-yim dniu życia po 0,2 ccm. zawiesiny tej samej co oeski poprzednie, domięśniowo i dootrzewnowo. Pozostałe oeski tej rodziny służyły jako kontrola. Każda rodzina przebywała w oddzielnej klatce. Wyniki doświadczenia uwidocznione są w tablicy Nr. 1.

Szczur Nr. 1. W 9 dni po pierwszym szczepieniu posiew ze krwi pobranej z ogona wypadł negatywnie, posiew z guza natomiast pozytywnie. Śmierć nastąpiła w 16 dni po pierwszym szczepieniu. Na sekcji stwierdzono obecność w udzie lewym dużego guza nowotworowego o znekrotyzowanym wnętrzu oraz przerzutu do gruczołu łędźwiowego. Śledziona znacznie powiększona. Posiewy ze krwi i z obwodowej części nowotworu negatywne. Z części znekrotyzowanej guza bardzo obfity wzrost kolonij pałeczek Banga. Pozatem wykazano obecność pałeczek Banga we wszystkich prawie narządach. Miano zlepne surowicy wynosiło 320.

Szczur Nr. 2. W 9 dni po pierwszym szczepieniu posiew ze krwi negatywny, z guza pozytywny. Śmierć nastąpiła w 19 dni po pierwszym szczepieniu. Obraz sekcyjny jak u szczura poprzedniego. Posiewy wypadły pozytywnie ze krwi, z części obwodowej i znekrotyzowanej guza, ze śledziony, mięśni i przerzutu nowotworowego. Miano zlepne surowicy — 320

Szczury Nr. Nr. 3 i 4, kontrolne, szczepione samym nowotworem, padły po tym samym czasie od chwili szczepienia nowotworu co szczury Nr. Nr. 1 i 2.

Szczur Nr. 5 padł w 16 dni po pierwszym szczepieniu. Obraz sekcyjny jak u szczura Nr. 1. Posiewy z części znekrotyzowanej guza bardzo obfite, z części obwodowej negatywne. W posiewach ze krwi, śledziony i mięśni słaby wzrost kolonij pałeczek Banga.

Szczur Nr. 6 padł w 21 dni po pierwszym szczepieniu. Obraz sekcyjny jak u szczura Nr. 1. Posiewy z części obwodowej guza i z przerzutu negatywne, z części znekrotyzowanej pozytywne. Ze krwi, śledziony, nerki wzrost słaby.

Szczury Nr. Nr. 7, 8 i 9 kontrolne, szczepione samym nowotworem, padły w tym samym mniejwięcej czasie co szczury Nr. Nr. 5 i 6.

Szczur Nr. 10 padł w 14 dni po pierwszym szczepieniu. Na sekcji stwierdzono znaczne powiększenie śledziony. Posiewy wypadły pozytywnie ze śledziony krwi, wątroby i mięśni,

Szczur Nr. 11 padł w 14 dni po szczepieniu. Obraz sekcyjny i wynik posiewów jak u szczura poprzedniego.

# T A B L I C A I.

| Szczur Nr. | Ilość szczepio-<br>nej zawiesiny | Śmierć po<br>dniach | Zmiany<br>anatomopatologiczne                                                                                                                                       | P o s i e w y |                |       |          |              |              |         |       |                    |       | U W A G I |                                                                                                                                                        |
|------------|----------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------|-------|----------|--------------|--------------|---------|-------|--------------------|-------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |                                  |                     |                                                                                                                                                                     | Krew          | Śle-<br>dziona | Obwód | Nowotwór | Wnę-<br>trze | Pre-<br>rzut | Wątroba | Jądra | Płyn<br>z otrzewny | Nerki |           | Mięśnie                                                                                                                                                |
| 1          | 0,4                              | 16                  | W lewym udzie duży guz no-<br>wotworowy o zniekrótkowa-<br>nem wnętrzu. W lewym gru-<br>czole chłonnym łędźwiowym<br>przerzut. Znaczne powiększe-<br>nie śledziony. | —             | ++             | —     | ++++     | ++           | ++           | ++      | +     | +                  | 0     | ++        | Miano surowicy 320 Śmierć<br>wywołana przez nowotwór.<br>W 9 dni po pierwszym<br>szczepieniu zarażka posiew<br>z guza pozytywny, ze krwi<br>negatywny. |
| 2          | 0,4                              | 19                  | Jak u Nr. 1                                                                                                                                                         | ++            | ++++           | ++    | ++       | +            | 0            | 0       | 0     | 0                  | ++    | 0         | Jak u Nr. 1                                                                                                                                            |
| 5          | 0,4                              | 16                  | Jak u Nr. 1                                                                                                                                                         | ++            | ++             | —     | ++++     | 0            | 0            | 0       | 0     | 0                  | ++    | 0         | Śmierć wywołana przez<br>nowotwór                                                                                                                      |
| 6          | 0,4                              | 21                  | Jak u Nr. 1                                                                                                                                                         | ++            | ++             | —     | +++      | +            | —            | 0       | 0     | +                  | 0     | 0         | Jak u Nr. 5                                                                                                                                            |
| 10         | 0,4                              | 14                  | Znaczne powiększenie śl.                                                                                                                                            | +++           | +++            | 0     | 0        | 0            | ++           | 0       | 0     | 0                  | +     | 0         |                                                                                                                                                        |
| 11         | 0,4                              | 14                  | Jak u Nr. 10                                                                                                                                                        | +++           | +++            | 0     | 0        | 0            | +            | 0       | 0     | 0                  | ++    | 0         |                                                                                                                                                        |
| 12         | —                                | ?                   | Jak u Nr. 10                                                                                                                                                        | +             | +              | 0     | 0        | 0            | 0            | 0       | 0     | 0                  | 0     | 0         |                                                                                                                                                        |

Oeski szczepione dwukrotnie w odstępie dziesięciodniowym zawiesiną pałeczek Banga szczepów „B” i „M”  
o gęstości około 8 miliardów w 1 ccm, w ilości 0,2 ccm, dootrzewnowo.

Oznaczenia: 0 — nie badano  
 — — posiew negatywny  
 +++ — więcej niż 10 kolonij na płycie  
 — — wzrost obfity  
 + — mniej niż 10 kolonij na płycie  
 +++ — wzrost bardzo obfity.

Szczur Nr. 12 kontrolny, niczem nie szczepiony, padł w 8 dni po poprzednich. Na sekcji stwierdzono obrzęk śledziony. W posiewach ze krwi i śledziony znaleziono pojedyncze kolonie pałeczek Banga.

Oseki Nr. Nr. 13 i 14 kontrolne, zabite w 3 i 6 dni po szczurze Nr. 12 nie wykazały obecności specyficznych zlepek we krwi. Posiewy z poszczególnych narządów negatywne.

Szczur Nr. 15, matka osesków Nr. Nr. 10 — 14, zabita w 20 dni po szczurze Nr. 14 nie wykazała na sekcji żadnych zmian. Posiewy z narządów negatywne. Miano zlepek surowicy niższe od 20.

*Wnioski:* Z przeprowadzonego doświadczenia nie można wyciągnąć żadnych danych o zjadliwości bakterij Banga dla osesków szczurzych. Wprawdzie szczury Nr. Nr. 10 i 11 padły w 14 dni po zakażeniu, ale za to szczury Nr. Nr. 1, 2, 5 i 6 szczepione jednocześnie i nowotworem i zarazkami żyły od 16 do 21 dni po zaszczepieniu i padły w tym samym czasie co oseski kontrolne szczepione samym nowotworem. Ciekawą rzeczą jest gromadzenie się zarazków w części znekrotyzowanej nowotworów, podczas gdy część obwodowa jest od nich przeważnie wolna. Być może, iż produkty rozpadu białka stanowią dla nich szczególnie dobre podłoże, umożliwiające ich mocniejszy rozwój.

Na szczególną uwagę zasługuje szczur Nr. 12. Osesek ten niczem nieuszczepiony, przebywał wraz ze szczurami Nr. Nr. 10, 11, 13 i 14 w jednej klatce i karmił się mlekiem tej samej matki. Matka i oba pozostałe kontrolne oseski okazały się zupełnie jałowe, szczurek ten musiał się zatem zakazić bezpośrednio od osesków Nr. Nr. 10 i 11. Dalsze moje badania wykazały, że szczury zakażone wydalają z moczem zarazki Banga. Osesek Nr. 12 mógł się zakazić zatem przez zlizywanie moczu szczurów chorych. Wynik badania tego szczura stwierdza przedewszystkiem możliwość zakażenia się szczurów per os, a następnie fakt, że do zakażenia wystarczają już małe ilości zarazka. W związku z tem nasuwa się pytanie, czy szczury nie odgrywają poważnej roli w przenoszeniu się zarazy bangowskiej z obór zakażonych do zdrowych. Jedynie masowe, na szeroką skalę przeprowadzane badania szczurów w oborach zakażonych mogłyby dać definitywną odpowiedź na to pytanie.

## Doświadczenie II.

W doświadczeniu tem chodziło o stwierdzenie wpływu dużych ilości bakteryj Banga szczepów B i M na szczury dorosłe, w wieku około 6 miesięcy. Sześciu szczurom z pośród badanych zwierząt zaszczepiono na miesiąc przed zakażeniem fragmenty nowotworu do mięśni uda lewego, a sześciu zawiesinę komórek nowotworowych podskórnie w okolicy brzucha. Wyniki badania zebrano w tablicy Nr. II.

Szczur Nr. 16 otrzymał dootrzewnowo 0,5 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Na miesiąc przed zakażeniem szczepiono mu domięśniowo nowotwór. Śmierć nastąpiła po trzech dniach. Na sekcji stwierdzono obecność nowotworu w udzie lewym oraz powiększenie śledziony. Posiewy wypadły pozytywnie ze krwi i wszystkich narządów.

Szczur Nr. 17 szczepiony jak poprzedni padł po 6 dniach. Obraz sekcyjny i wynik posiewów jak u szczura Nr. 16.

Szczury Nr. Nr. 18 i 19 szczepione nowotworem równocześnie ze szczurami Nr. Nr. 16 i 17 pozostały przy życiu jeszcze miesiąc czasu.

Szczury Nr. Nr. 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 i 27 otrzymały równocześnie podskórnie zawiesinę komórek nowotworowych. Szczury Nr. Nr. 20, 21, 22 i 23 zakażone zostały jednocześnie zawiesiną pałeczek Banga wprowadzoną dootrzewnowo w ilości 0,3 ccm na sztukę. Wszystkie one padły po 2 dniach. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony. Posiewy wypadły pozytywnie szczególnie ze śledziony i krwi. Po upływie 5 dni wprowadzono szczurom Nr. Nr. 24 i 25 po 0,5 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Szczury te padły po 5 dniach od chwili zakażenia. Obraz sekcyjny i wynik posiewów jak u szczurów poprzednich. Szczury Nr. Nr. 26 i 27 kontrolne, szczepione samym nowotworem pozostały przy życiu przez 3 miesiące.

Szczur Nr. 28 otrzymał dootrzewnowo 0,5 ccm. zawiesiny bakteryj Banga. Śmierć nastąpiła po 10 dniach. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony oraz surowicze wysiękowe zapalenie opłucny. Posiewy ze krwi i śledziony wypadły dodatnio.

Szczur Nr. 29 otrzymał dootrzewnowo 0,5 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Po 7 dniach wysiano krew z ogona. W posiewie nie wykazano obecności kolonii pałeczek Banga. W 15 dni po zakażeniu pierwszym wprowadzono szczurowi dootrzewnowo 0,6 ccm. podobnej zawiesiny jak za pierwszym razem. W 5 dni później szczur padł. Na sekcji stwierdzono znaczne powiększenie śledziony. W posiewach ze krwi, wątroby i płynu z otrzewny wyrosły pojedyncze kolonie pałeczek Banga. Nieco obfitszy wzrost dał się zaobserwować na płytce wysianej materiałem ze śledziony.

Szczury Nr. Nr. 30 i 31 zakażono dwukrotnie w odstępie 10 dni pałeczkami Banga wprowadzonymi dootrzewnowo w ilości 0,5 ccm. Na 34 dni przed pierwszym

# T A B L I C A II.

— 71 —

| Szczur Nr. | Ilość zawieszonych szczepień | Zmiany anatomiczne | Śledzona | Guz | Wątroba | Jądro | Płyn otrzewny | Nerka | Mięśnię | Płuca | UWAGI                                                                                                                                                                                                                  |
|------------|------------------------------|--------------------|----------|-----|---------|-------|---------------|-------|---------|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |                              |                    |          |     |         |       |               |       |         |       |                                                                                                                                                                                                                        |
| 16         | 0,5                          | 3                  | +++      | +++ | +++     | +++   | +++           | +++   | ++      | +++   | Podskórnie szczepiono równocześnie zawieszając komórek nowotworów. Jak u Nr. 20<br>Jak u Nr. 20<br>Jak u Nr. 20<br>Na tydzień przed zakończeniem szczepiono podskórnie zawieszając komórek nowotworowych. Jak u Nr. 24 |
| 17         | 0,5                          | 6                  | +++      | +++ | +++     | +++   | 0             | 0     | ++      | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 20         | 0,3                          | 2                  | +        | +++ | 0       | +++   | 0             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 21         | 0,3                          | 2                  | +++      | +++ | 0       | 0     | 0             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 22         | 0,3                          | 2                  | +++      | +++ | 0       | +++   | 0             | +++   | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 23         | 0,3                          | 2                  | ++       | +++ | 0       | 0     | 0             | 0     | 0       | 0     | W 7 dni po pierwszym zakończeniu posiew ze krwi z ognia negatywny. Śmierć wywołana przez nowotwór szczepiony na 34 dni przed zakończeniem do mięśni uda lewego. Jak u Nr. 30<br>Jak u Nr. 30<br>Jak u Nr. 30           |
| 24         | 0,5                          | 5                  | ++       | +++ | 0       | 0     | 0             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 25         | 0,5                          | 5                  | +        | +++ | 0       | 0     | 0             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 28         | 0,5                          | 10                 | +++      | +++ | 0       | 0     | 0             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 29         | 0,5 po 15 dni 0,6 2 razy     | 20                 | +        | ++  | 0       | +     | +             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 30         | po 0,5 w odstępie 10 dni     | 26                 | ++       | +++ | ++      | 0     | +             | 0     | 0       | 0     | Śmierć wywołana przez nowotwór szczepiony na 34 dni przed zakończeniem do mięśni uda lewego. Jak u Nr. 30<br>Jak u Nr. 30<br>Jak u Nr. 30                                                                              |
| 31         | Jak u 30                     | 26                 | +        | +++ | ++      | 0     | ++            | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 32         | po 0,2 w odst. 2 dni         | 28                 | +++      | +++ | +++     | 0     | 0             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 33         | Jak u 32                     | 28                 | ++       | +++ | ++      | 0     | +++           | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 34         | 0,5                          | 2                  | +++      | +++ | +++     | 0     | +++           | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 35         | 0,5                          | 9                  | +++      | +++ | 0       | +++   | 0             | 0     | 0       | 0     | Śledzona zmniejszona z przewężeniami, twarda, koloru gliniastego<br>Jak u Nr. 29<br>Liczne drobne ogniska ropne rozsiane w mięszu śledziony                                                                            |
| 36         | 1,0                          | 2                  | +++      | +++ | 0       | +++   | 0             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 37         | 0,5                          | 5                  | +++      | +++ | 0       | 0     | ++            | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 38         | 0,7                          | 3                  | +++      | +++ | 0       | 0     | 0             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 39         | 0,5                          | 8                  | +++      | +++ | 0       | 0     | +++           | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |
| 40         | 0,5                          | 23                 | +++      | +++ | 0       | 0     | —             | 0     | 0       | 0     |                                                                                                                                                                                                                        |

Szczury szczepione dootrzewnowo zawieszając pałeczek ronienia zakaźnego szczepów „B” i „M” o gęstości około 8 miliardów bakterii w 1 cm.

szczepieniem szczurom tym wprowadzono do mięśni uda fragmenty mięsaka Jensena. Śmierć nastąpiła w 26 dni po szczepieniu pierwszym. Na sekcji stwierdzono u obydwu obecność dużego guza nowotworowego w udzie lewym oraz znaczne powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi, śledziony, guza i innych narządów wypadły pozytywnie. Szczury kontrolne szczepione nowotworem równocześnie ze szczurami Nr. Nr. 30 i 31 padły w tym samym czasie.

Szczury Nr. Nr. 32 i 33 zakażano sześciokrotnie w odstępach dwudniowych, wprowadzając za każdym razem dootrzewnowo po 0,2 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Na 34 dni przed pierwszym szczepieniem obu szczurom wprowadzono do mięśni uda lewego fragmenty mięsaka Jensena. Śmierć nastąpiła w 28 dni po pierwszym szczepieniu. Obraz sekcyjny oraz wyniki posiewów jak u szczurów Nr. Nr. 30 i 31. Szczury kontrolne szczepione samym nowotworem padły równocześnie ze szczurami Nr. Nr. 32 i 33.

Szczury Nr. Nr. 34 i 35 szczepiono dootrzewnowo 0,5 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Śmierć nastąpiła po 2 wzgl. po 9 dniach. Na sekcji stwierdzono u obydwu znaczne powiększenie śledziony i wszystkich gruczołów chłonnych. Posiewy ze krwi, śledziony, wątroby i płynu z otrzewny wypadły pozytywnie.

Szczur Nr. 36 otrzymał dootrzewnowo 1,0 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Śmierć nastąpiła po 2 dniach. Na sekcji stwierdzono znaczny obrzęk śledziony i gruczołów chłonnych. Posiewy ze krwi, śledziony i innych narządów wypadły pozytywnie.

Szczur Nr. 37 padł w 5 dni po dootrzewnowym wprowadzeniu 0,5 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Na sekcji stwierdzono zmniejszenie i zniekształcenie śledziony, która jest twarda, koloru gliniastego, z dwoma przewężeniami. Posiew ze krwi, śledziony i płynu z otrzewny pozytywny.

Szczur Nr. 38 padł w 3 dni po dootrzewnowym zastrzyku z 0,7 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi i śledziony pozytywne.

Szczur Nr. 39 padł w 8 dni po zastrzyku dootrzewnowym z 0,5 ccm. zawiesiny pałeczek ronienia zakaźnego. Obraz sekcyjny i wyniki posiewów jak u szczura poprzedniego.

Szczur Nr. 40 padł w 23 dni po zastrzyku z 0,5 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Na sekcji stwierdzono liczne drobne ogniska ropne rozrzucone w mięszu śledziony. Posiewy ze krwi i śledziony pozytywne, z płynu z otrzewny negatywne.

*Wnioski:* Doświadczenie powyższe stwierdza z jednej strony znaczną wrażliwość szczurów na dootrzewnowe wprowadzenie dużych ilości pałeczek Banga, z drugiej strony jednak wykazuje, że nie wszystkie szczury są jednakowo wrażliwe. Tak np. szczury Nr. Nr. 30, 31, 32 i 33 pozostały przy życiu 26 wzgl. 28 dni, a śmierć wywołały u nich szczepione im nowotwory. Wyjątki nie są zbyt liczne, być zresztą może, że gdyby szczury te nie padły wskutek działania nowotworu, to zabiłyby je po pewnym czasie

zarazek Banga. Szczur Nr. 40, który padł dopiero w 23 dni po zakażeniu zdaje się potwierdzać to przypuszczenie.

Jak widać z tablicy zawiesina pałeczek Banga wprowadzona w ilości 0,3 ccm. dotrzewnowo spowodzić może zejście śmiertelne w ciągu 2 dni. Wraz ze wzrostem dawki nie wzrasta jednak zjadliwość zarazka. I tak np. po wprowadzeniu 0,5 ccm. zawiesiny śmierć następuje w 2, 3, 5, 8, 9, 10 lub 23 dni po zakażeniu. Odporność indywidualna odgrywa zatem u szczurów bardzo znaczną rolę.

Jeśli chodzi o zmiany anatomopatologiczne, to na plan pierwszy wysuwa się widoczne prawie u wszystkich zwierząt znaczne powiększenie śledziony. Objaw ten występuje równie wyraźnie jak u myszy. W jednym przypadku stwierdzono wysiękowe zapalenie opłucny oraz w jednym obecność drobnych ognisk ropnych rozsianych w miększu śledziony. Ogniska te wystąpiły u szczura padłego po 23 dniach; u pozostałych szczurów, być może, nie zdążyły się one wytworzyć, gdyż zwierzęta te padły wcześniej.

Wyniki posiewów wskazują, że u szczurów padłych występuje posocznica. Czy utrzymuje się ona bez przerwy od chwili szczepienia, jak u myszy zakażonych dużemi dawkami zarazka, czy też występuje dopiero tuż przed śmiercią, nie udało się stwierdzić na zasadzie przeprowadzonego doświadczenia.

### Doświadczenie III.

W doświadczeniu tem chodziło o zbadanie zachowania się szczurów szczepionych dootrzewnowo dużemi ilościami pałeczek Banga wyizolowanych z wnętrza nowotworu szczura Nr. I zakażonego swego czasu bakterjami ronienia zakażnego szczepów B i M. Szczep wyizolowany z nowotworu oznaczono nazwą „Guz”. Gęstość stosowanej zawiesiny wynosiła około 8 miliardów bakteryj w 1 ccm. Każdy szczur otrzymał 0,5 ccm, zawiesiny. Z tablicy Nr. III widoczny jest przebieg doświadczenia.

Szczury Nr. 41 i 46 padły w 3 dni po zakażeniu. Na sekcji stwierdzono, jedynie powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi i śledziony oraz z innych narządów pozytywne.

T A B L I C A III.

| Szczur Nr. | Śmierć po dniach | Zmiany anatomopatologiczne                                                   | P o s i e w y |           |         |       |       |       |         |      |
|------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------|---------|-------|-------|-------|---------|------|
|            |                  |                                                                              | Krew          | Śledziona | Wątroba | Nerki | Jądra | Płuca | Mięśnie | Ropa |
| 41         | 3                | Powiększenie śledziony                                                       | +++           | ++        | 0       | 0     | 0     | 0     | 0       | 0    |
| 42         | 4                | Powiększenie śledziony. W jej miąższu rozrzucone liczne drobne ogniska ropne | +++           | +++       | +++     | +++   | +++   | +++   | +++     | 0    |
| 43         | 5                | Ropień o średnicy około 2 mm w okolicy nerki prawej                          | +++           | +++       | +++     | 0     | 0     | 0     | 0       | +++  |
| 44         | 32               | Powiększenie śledziony. Ropień wątroby o średnicy około 5mm                  | —             | ++        | 0       | 0     | 0     | 0     | 0       | +++  |
| 45         | 18               | Jak u Nr. 41                                                                 | ++            | ++        | 0       | 0     | 0     | 0     | 0       | 0    |
| 46         | 3                | Jak u Nr. 41                                                                 | +++           | +++       | +++     | +++   | ++    | 0     | 0       | 0    |

Szczury szczepione dootrzewnowo zawieszoną pałeczką Banga szczepu „Guz” wyizolowanego z wnętrza nowotworu szczura Nr. I. w ilości 0,5 ccm na sztukę. Gęstość zawiesiny około 8 miliardów bakterij w 1 ccm.

Szczur Nr. 42 padł po upływie 4 dni. Na sekcji widoczny był obrzęk śledziony oraz liczne drobne ogniska ropne rozrzucone w jej mięszu. W posiewach ze krwi i wszystkich narządów wyrosły obficie kolonie pałeczek Banga.

Szczur Nr. 43 padł w 5 dni po szczepieniu. Na sekcji znaleziono w okolicy prawej nerki pod otrzewną ropień o średnicy około 2 mm. W posiewach ze krwi, śledziony, wątroby i treści ropnia wyrosły bardzo obficie kolonie bakterij Banga.

Szczur Nr. 44 padł w 32 dni po zakażeniu. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony oraz ropień w wątrobie o średnicy około 5 mm. Posiew ze krwi negatywny. W posiewie ze śledziony wyrosły nieliczne kolonie pałeczek Banga. Jedynie w posiewie z ropy wzrost kolonij bakterij Banga jest bardzo obfity.

Szczur Nr. 45 padł w 18 dni po szczepieniu. Na sekcji stwierdzono jedynie powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi i śledziony pozytywne.

*Wnioski:* Nie udało się się stwierdzić czy pasaż przez szczura nowotworowego zwiększa zjadliwość pałeczek Banga w sensie częściej lub szybciej występującego zejścia śmiertelnego u szczurów zakażonych. Śmierć u szczurów szczepionych zawiesiną pałeczek szczepu „Guz” występowała mniej więcej w tym samym czasie co u szczurów szczepionych pałeczkami szczepów „B” i „M”. I tu widzimy, że odporność indywidualna odgrywa bardzo znaczną rolę, niektóre bowiem szczury padały już po upływie 3 dni, inne natomiast dopiero po 18 lub 32 dniach.

Na szczególną uwagę zasługują obserwowane zmiany anatomiczne. Zaznacza się tu większa niż w doświadczeniu poprzednim tendencja zarazków do skupienia się i osiedlania w jednym miejscu. U dwu z pośród sześciu szczepionych szczurów wystąpiły otorbione ropnie, a u jednego drobne ogniska ropne rozsiane w mięszu śledziony. W preparacie mazanym z ropy stwierdzono obecność licznych komórek ropnych, najczęściej w stanie rozpadu. Bakterje występowały pojedynczo między komórkami.

Jeśli chodzi o wynik posiewów z poszczególnych narządów, to stwierdzić należy, że z wyjątkiem szczura Nr. 44 u wszystkich szczepionych zwierząt wynik posiewów ze krwi był pozytywny. Potwierdza to wyniki doświadczenia II i zdaje się przemawiać za tem, że śmierć następuje wskutek posocznicy.

#### Doświadczenie IV

4 szczurom zaszczepiono dootrzewnowo po 0,5 ccm. zawiesiny szczepu „BM” wyizolowanego ze śledziony szczura Nr. 27,

szczepionego uprzednio zawiesiną pałeczek szczepów „B” i „M”. Gęstość użytej zawiesiny wynosiła ok. 8 miliardów pałeczek w 1 ccm. W doświadczeniu tem chodziło o stwierdzenie ewentualnych zmian zjadliwości pałeczek Banga w stosunku do szczurów białych po pasażu przez szczura. Wyniki zebrano w tablicy Nr. IV.

T A B L I C A IV.

| Szczur Nr. | Śmierć po dniach | Zmiany anatomopatologiczne                                       | P o s i e w y |           |         |                 |       |
|------------|------------------|------------------------------------------------------------------|---------------|-----------|---------|-----------------|-------|
|            |                  |                                                                  | Krew          | Śledzioną | Wątroba | Płyn z otrzewny | Płuca |
| 47         | 7                | Znaczne powiększenie śledziony. Płatowe, krupowe zapalenia płuc. | ++            | +++       | ++      | 0               | ++    |
| 48         | 11               | Powiększenie śledziony.                                          | ++            | ++        | —       | 0               | 0     |
| 49         | 3                | Znaczne powiększenie śledziony.                                  | ++            | ++        | 0       | ++              | 0     |
| 50         | 5                | Jak u Nr. 49                                                     | +++           | +++       | 0       | 0               | 0     |

Szczury szczepione dootrzewnowo 0,5 ccm. zawiesiny pałeczek Banga szczepu „BM” wyizolowanego ze śledziony szczura Nr. 27. Gęstość zawiesiny około 8 miliardów bakterij w 1 ccm.

Szczury Nr. Nr. 48, 49 i 50 padły w 11, 3 wzgl. 5 dni po zakażeniu. Na sekcji stwierdzono u nich znaczne powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi i śledziony wypadły pozytywnie.

Szczur Nr. 47 padł w 7 dni po zakażeniu. Na sekcji stwierdzono znaczne powiększenie śledziony oraz krupowe zapalenie płuc ze zwątrobieniem górnego i sercowego płata płuca prawego. Posiewy ze krwi, śledziony, wątroby i płuc wykazały obecność pałeczek Banga w tych narządach.

*Wnioski:* Zmiany anatomopatologiczne podobne są do opisanych w doświadczeniach poprzednich. Poraz pierwszy jednak spotykamy się tu z krupowym, płatowym zapaleniem płuc, przy czem w płatach zwątrobiałych wykazano jedynie obecność pałeczek Banga. Wyniki posiewów z poszczególnych narządów są zgodne z wynikami poprzednich doświadczeń. Śmierć występuje u szczurów szczepionych przeciętnie po  $6\frac{1}{2}$  dniach, a więc znacz-

nie prędzej aniżeli w doświadczeniach II i III, gdzie zejście śmiertelne następowało przeciętnie po 10 i 11 dniach. Doświadczenie IV było jednak przeprowadzone na zbyt małej ilości zwierząt, to też dla uzyskania ostatecznej odpowiedzi na kwestję wpływu pasażu przez szczury na zjadliwość pałeczki Banga nastawiono doświadczenie V.

### Doświadczenie V.

9 szczurom zastrzyknięto dootrzewnowo po 0,3 ccm. zawiesiny pałeczek Banga szczepu „BM”, a 9 po 0,3 ccm zawiesiny pałeczek szczepu „Guz”. Gęstość zawiesin wynosiła około 8 miliardów bakterij w 1 ccm. Do doświadczenia użyto specjalnie dawki nieco mniejszej niż w doświadczeniach poprzednich, gdyż chodziło z jednej strony o stwierdzenie już małych różnic w zjadliwości szczepów, co dałoby się oczywiście skonstatować tylko przy dawkach mniejszych oraz o zbadanie zmian anatomopatologicznych jakie wystąpią u szczurów, które po mniejszej dawce być może pozostaną przy życiu. Wyniki doświadczenia ilustrują tablice Nr. Nr. V i VI.

Szczur Nr. 51 padł po 3 dniach, szczur Nr. 52 po 4, a szczur Nr. 53 po 6. U wszystkich trzech stwierdzono na sekcji znaczne powiększenie i stwardnienie śledziony, u szczura Nr. 51 poza tem cme zwyrodnienie wątroby. Posiewy ze krwi, śledziony i płynu z otrzewny wypadły pozytywnie. U szczura Nr. 51 wykazano też obecność zarazka w płucach i wątrobie.



Fot 1.

Szczur Nr. 55. Płuca częściowo zwątrobiałe. Śluzoworopne zapalenie oskrzeli.

Szczur Nr. 54 padł w 9 dni po zakażeniu. W śledzionie stwierdzono obecność licznych drobnych ognisk ropnych. Posiewy ze krwi i śledziony wypadły pozytywnie.

Szczur Nr. 55 padł w 90 dni po szczepieniu. Na sekcji stwierdzono znaczne powiększenie śledziony. W całym lewym płucu oskrzela wypełnione są śluzoworopną cieczą. Płat środkowy płuca prawego zwątrobiały. Płat górny i dolny rozdęte. Posiewy ze

T A B L I C A V.

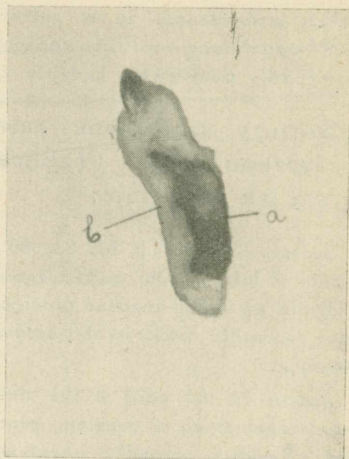
| Szczur Nr.     |  | Zmiany<br>anatomopatologiczne |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | P<br>o<br>s<br>i<br>e<br>c<br>w<br>y |  |  |  |  |  |  |  |  |  | Miano zlepne<br>surowicy |  |         |  |       |  |                    |  |                      |  |               |  |       |  |                   |  |                     |  |         |  |        |  |       |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|----------------|--|-------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--------------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--------------------------|--|---------|--|-------|--|--------------------|--|----------------------|--|---------------|--|-------|--|-------------------|--|---------------------|--|---------|--|--------|--|-------|--|------|--|------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Padł po dniach |  | Zabity po dniach              |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | Krew                                 |  |  |  |  |  |  |  |  |  | Śledziona                |  | Wątroba |  | Nerki |  | Płyn<br>z otrzewny |  | Gruczoły<br>krezkowe |  | Grudki Peyera |  | Jądra |  | Guczoł<br>krokový |  | Wreczek<br>nasienny |  | Jajniki |  | Macica |  | Płuca |  | Ropa |  | Mocz |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|                |  |                               |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |                                      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |                          |  |         |  |       |  |                    |  |                      |  |               |  |       |  |                   |  |                     |  |         |  |        |  |       |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

krwi i wątroby negatywne. W posiewach z ropy z płuc bardzo obfity wzrost kolonij pałeczek Banga, w posiewach ze śledziony i jąder wzrost słaby. Wzrost obfity wystąpił na płytkach wysianych moczem z pęcherza.



Fot. 2.

Szczur Nr. 56. a — Ropień  
b — Miąższ śledziony.



Fot. 3.

Szczur Nr. 56. Miąższ śledziony  
b — Ropień.

Szczur Nr. 56 zabity w 107 dni po szczepieniu wykazał miano aglutynacyjne w wysokości 640. Na sekcji stwierdzono, że śledziona w górnej  $\frac{1}{3}$  zmieniona jest w ropień, który przechodzi następnie na przyśrodkową powierzchnię śledziony i z nią się zasta. Ropień osiąga wymiary  $35 \times 10 \times 8$  mm. Ropień śledziony zrośnięty jest z żołądkiem i lewym nadnerczem. W jednym płacie wątroby znajdują się 2 ropnie, jeden o średnicy ok. 2 mm., drugi o wymiarach  $5 \times 2 \times 3$  mm. Ten ostatni zrośnięty jest ze ścianą brzucha. Szczyt lewego płuca jest zwątlobiały. Posiewy wypadły dodatnio jedynie z treści ropni i z moczu pobranego z pęcherza.

Szczur Nr. 57 został zabity w 171 dni po zakażeniu. Surowica jego zlepiła pałeczki Banga w rozcieńczeniu 1:640. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony, gruczołów chłonnych krezkowych oraz grudek Peyera. W płacie sercowym płuca prawego oskrzela wypełnione są śluzoworopną cieczą. Przy lewym jądrze znajdują się w nasieniowodzie dwa komunikujące się ze sobą ropnie, każdy o średnicy około 10 mm. Posiewy wypadły pozytywnie jedynie z treści ropni.

Szczur Nr. 58 zabity został w 173 dni po szczepieniu. Miano lepne surowicy w stosunku do pałeczek Banga wynosiło 320. Na sekcji stwierdzono, że pod torebką śledziony wytworzył się ropień znacznych wymiarów. W miąższu śledziony, która jest, wskutek ucisku wywieranego przez ropę, zmniejszona, rozsiane są liczne

drobne ogniska ropne. Posiewy wypadły pozytywnie jedynie z treści ropnia pod-torebkowego oraz z mięszu śledziony.

Szczur Nr. 59 zabity został w 176 dni po szczepieniu. Miano zlepne jego surowicy wynosiło 1200. Na sekcji stwierdzono, że w całym prawym płucu oskrzela wypełnione są śluzoworopnym płynem. Posiewy wypadły pozytywnie jedynie z ropy z oskrzeli.

Szczury szczepione zawiesiną pałeczek szczepu „Guz” (Tablica VI) zachowały się jak następuje:

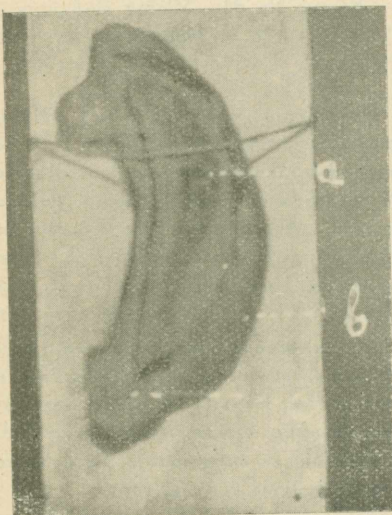
Szczury Nr. 60, 61, 62, 63 i 64 padły w 4 względnie 7 lub 13 dni pozakażeniu. U wszystkich stwierdzono na sekcji znaczne powiększenie śledziony. Posiewy wypadły pozytywnie zarówno ze krwi, jak i ze śledziony.

Szczur Nr. 65 padł w 102 dni po szczepieniu. Na sekcji znaleziono w prawym płucu małe ognisko zapalne. Posiewy wypadły negatywnie, gdyż płytki zostały przerośnięte przez bact. proteus.



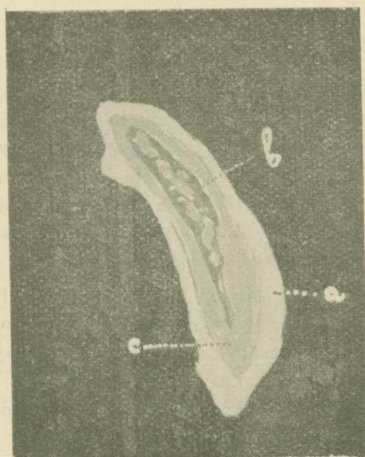
Fot. 4.

Szczur Nr. 58 a—Mięsz śledziony z ogniskami ropnymi b — Zgrubiała torebka c—Ropień pod-torebkowy.



Fot. 5.

Szczur Nr. 58. a — Mięsz śledziony z ogniskami ropnymi b — Zgrubiała torebka c — Ropień pod-torebkowy



Fot. 6.

Szczur Nr. 58. a — Zgrubiała torebka śledziony b — Mięsz śledziony z ogniskami ropnymi c — Ropień pod-torebkowy

# T A B L I C A VI.

| Nr. Szczur | Ślad po<br>dniach | Zabity po<br>dniach | Zmiany anatomopatologiczne                                                                                                                                                                 | P o s i e w y |               |         |                      |                  |       |                     |                      |       |      |      | UWAGI |                                                   |
|------------|-------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|---------|----------------------|------------------|-------|---------------------|----------------------|-------|------|------|-------|---------------------------------------------------|
|            |                   |                     |                                                                                                                                                                                            | Krew          | Śledzi-<br>na | Wątroba | Gruczoły<br>krezkowe | Grudki<br>Peyera | Jądra | Gruczoł<br>krochowy | Woreczek<br>nastenny | Płuca | Ropa | Mocz |       |                                                   |
| 60         | 4                 | —                   | Znaczne powiększenie śledziony                                                                                                                                                             | +++           | +++           | 0       | 0                    | 0                | 0     | 0                   | 0                    | 0     | 0    | 0    | 0     | Ze wszystkich na-<br>rzędów wyrósł<br>bac proteus |
| 61         | 4                 | —                   | Jak u Nr. 60                                                                                                                                                                               | +++           | +++           | 0       | 0                    | 0                | 0     | 0                   | 0                    | 0     | 0    | 0    | 0     |                                                   |
| 62         | 4                 | —                   | Jak u Nr. 60                                                                                                                                                                               | +++           | +++           | 0       | 0                    | 0                | 0     | 0                   | 0                    | 0     | 0    | 0    | 0     |                                                   |
| 63         | 7                 | —                   | Jak u Nr. 60                                                                                                                                                                               | +++           | +++           | 0       | 0                    | 0                | 0     | 0                   | 0                    | 0     | 0    | 0    | 0     |                                                   |
| 64         | 13                | —                   | Jak u Nr. 60                                                                                                                                                                               | +++           | +++           | 0       | 0                    | 0                | 0     | 0                   | 0                    | 0     | 0    | 0    | 0     |                                                   |
| 65         | 102               | —                   | Ognisko zapalne w prawem płucu                                                                                                                                                             | —             | —             | 0       | 0                    | 0                | 0     | 0                   | 0                    | —     | 0    | 0    | 0     |                                                   |
| 66         | —                 | 107                 | Śledziona, grudki Peyera i gruczoły<br>chłonne krezkowe powiększone.<br>W wątrobie ropień o wymiarach<br>15 X 8 X 5 mm.                                                                    | —             | —             | —       | —                    | —                | 0     | 0                   | 0                    | 0     | +++  | —    | 640   |                                                   |
| 67         | —                 | 171                 | W płucach ogniska zwątrobieńia,<br>Śluzoworopne zapalenie oskrzeli. Przy<br>lewem jądrze w nasieniowodzie ro-<br>pień o średnicy ok. 12 mm. Ściana<br>unaczyniona ropnia grubości ok. 2 mm | —             | —             | —       | —                    | 0                | —     | 0                   | 0                    | —     | +++  | —    | 1280  |                                                   |
| 68         | —                 | 173                 | Śledziona i gruczoły chłonne mniemie<br>powiększone. Ogniska zapalne w płu-<br>cach. Śluzoworopne zapalenie oskrzeli.                                                                      | —             | —             | —       | —                    | —                | —     | —                   | —                    | —     | 0    | +++  | ++    | 80                                                |

Ze wszystkich na-  
rzędów wyrósł  
bac proteus

Szczury szczepione dootrzewnowo 0,3 ccm zawiesiny pałeczek Banga szczegu „Guz” wyizolowanego z wnętrza nowotworu szczura Nr. 1. Gęstość zawiesiny około 8 miliardów bakterij w 1 ccm.

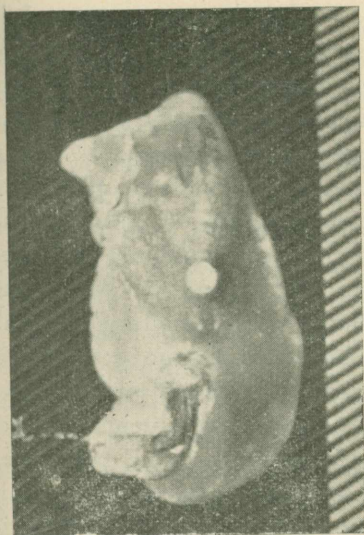
Szczur Nr. 66 został zabity w 107 dni po zakażeniu. Miano zlepne surowicy wynosiło 640. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony, gruczołów chłonnych krezkowych oraz grudek Peyera. W wątrobie znajdował się ropień o wymiarach ok.  $15 \times 8 \times 5$  mm. Posiewy wypadły pozytywnie jedynie z treści ropnia.

Szczur Nr. 67 został zabity w 171 dni po zakażeniu. Miano zlepne surowicy wynosiło 1280. Na sekcji stwierdzono, że w całym prawym płucu oskrzela wypełnione były śluzoworopnym płynem. Szczyt płuca lewego był zwatrobiały. Przy lewym jądrze znajdował się w nasieniowodzie ropień o średnicy około 12 mm., o ścianie grubej, obficie unaczynionej. Ucisk ropnia spowodował powstanie żyłaków w prąciu, które za życia było stale wysunięte z napletka i skrzywione. Posiewy wypadły pozytywnie jedynie z treści ropnia.

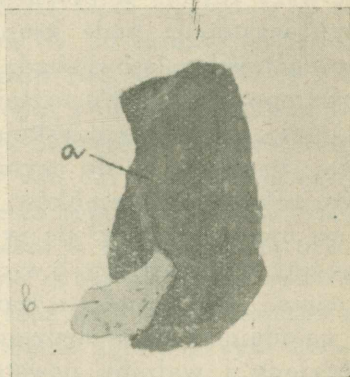
Szczur Nr. 68 został zabity w 173 dni po szczepieniu. Przed śmiercią zaobserwowano u niego często występujące ataki kaszlu. Miano zlepne jego surowicy wynosiło 80. Na sekcji stwierdzono zwatrobienie górnego płata płuca prawego. W pozostałej części płuca prawego oskrzela wypełnione były śluzoworopnym płynem. Śledziona i gruczoły chłonne były miernie powiększone. W wątrobie znaleziono larwę tasienica *Taenia taeniaeformis*. Posiewy wypadły pozytywnie jedynie z ropy z oskrzeli i z moczu zebranego z pęcherza.

*Wnioski:* Przedewszystkiem zaznaczyć należy, że nie stwierdzono różnic w zachowaniu się szczepów „BM” i „Guz”. Z pośród 9 szczurów zakażonych szczepem „BM” padło 5, z pośród 9 zakażonych szczepem „Guz” padło 6. U pozostałych przy życiu szczurów zmiany anatomopatologiczne były niemal identyczne. Jak widzimy prawie dwie trzecie szczepionych szczurów padło samorzutnie. Połowa zakażonych zwierząt padła w okresie od 3 do 13 dni, a więc stosunkowo bardzo szybko. Parę szczurów padło znacznie później, po upływie 90 względnie 102 dni, reszta została zabita. Być może, że i te padłyby samorzutnie, gdyż niektóre ich narządy były bardzo znacznie zmienione. Jakkolwiek dawka 0,3 ccm zawiesiny okazała się nie dla wszystkich szczurów śmiertelną, to jednak poważne schorzenia wywołała u wszystkich. Żadne z pośród zwierząt pozostałych przy życiu nie było zupełnie zdrowe.

Na specjalną uwagę zasługują obserwowane zmiany anatomopatologiczne. U zwierząt padłych w krótkim czasie po szczepieniu zaznacza się jedynie powiększenie śledziony, która jest przytem nieraz znacznie twardsza niż normalnie. Niekiedy widzimy liczne drobne ogniska ropne rozsiane w miększu śledziony. Być może, że są to bardzo znacznie powiększone grudki Malpighi'ego, jak-



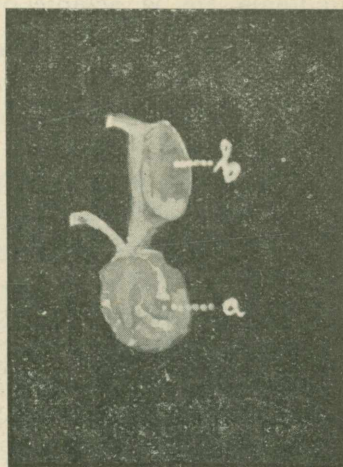
Fot. 7.  
Szczur Nr. 66. a — Ropień w wą-  
trobie



Fot. 8.  
Szczur Nr. 66. a — Płat wą-  
troby b — Ropień



Fot. 9.  
Szczur Nr. 67. a — Jądro b —  
Ropień w nasieniowodzie



Fot. 10.  
Szczur Nr. 67. a — Ropień w na-  
sieniowodzie b — Jądro

kolwiek zaznaczyć muszę, iż w preparacie mazanym widoczne były zawsze bardzo liczne komórki wielojądrzaste, przeważnie rozpadające się, limfocyty natomiast występowały tylko pojedynczo. Bakterje widoczne były gdzieś między komórkami. U szczurów, które pozostają przy życiu wysuwają się na plan pierwszy zmiany w płucach oraz ropnie w jamie brzusznej. W płucach występuje bądź krupowe zapalenie ze zwątrobieniem poszczególnych płatów, bądź też widzimy oskrzela wypełnione śluzoworopną cieczą. Po uciśnięciu płuc ciecz ta wydostaje się przez oskrzela, płuca zaś uzyskują wygląd prawie normalny. Sądzić należy, że mamy tu do czynienia ze śluzoworopnym stanem zapalnym oskrzeli i oskrzelików, który z kolei wywołać może zapalenie płuc uwidaczniające się w zwątrobieniu poszczególnych płatów. Zmiany te u niektórych szczurów występowały w płucach równocześnie. Jeśli chodzi o ropnie umiejscowione w jamie brzusznej, to znajdujemy je w śledzionie, wątrobie i nasieniowodzie. Ropnie śledziony i wątroby powstają prawdopodobnie w ten sposób, że drobne ogniska ropne, jakie widziałem kilkakrotnie w śledzionie, a jakie być może występują i w wątrobie, otaczają się torebką łącznotkankową i rozrastają wskutek ciągłej infiltracji komórkami ropnymi. W nasieniowodzie ropnie powstają możliwe wskutek osiedlania się w ścianie przewodu bakteryj, które dostają się tu wraz z plemnikami. Ciągła wędrówka leukocytów doprowadza do rozrostu ropni.

Wysokie miano aglutynacyjne obserwowane u zabitych szczurów świadczy o tem, że w ustroju ich znajdują się liczne wrażliwe komórki, które pod wpływem drażniącego je zarazka produkują znaczne ilości ciał odpornościowych. Możliwe, że obecność tych ciał doprowadza z biegiem czasu do zlokalizowania zarazka w kilku tylko miejscach w ustroju. Wyniki posiewów zdają się potwierdzać to przypuszczenie. Widzimy, że u szczurów padłych w krótkim czasie po szczepieniu występowała stale posocznica, natomiast u szczura Nr. 55 padłego w 90 dni po zakażeniu krew zarazków już nie zawiera. Występują one w śledzionie i jądrach, w ropie z oskrzeli i w moczu. Jest to wyraźnie zaznaczona tendencja do umiejscawiania zarazka w kilku najbardziej czułych narządach i do usuwania go drogą moczu z pozostałych organów. Krew, która w tem

usuwaniu odgrywać musi rolę pośredniczenia, zawiera prawdopodobnie tylko nieliczne bakterje, które nie dają się wykazać w posiewie. Jeszcze wyraźniej zarysowuje się tendencja do umiejscawiania zarazków u szczurów Nr. Nr. 56 i 68, u których stwierdzono obecność pałeczek Banga jedynie w treści ropni względnie w ropie z oskrzeli i w moczu. U szczura Nr. 58 zarazki występują w treści ropnia i w śledzionie, u szczurów Nr. Nr. 57, 59, 66 i 67 już tylko w treści ropni względnie w ropie z oskrzeli. Uderza nas tu znaczne podobieństwo do przebiegu schorzenia bangowskiego u koni. Jak wykazali *Boyd, Delez, Fitch van der Hoeden, Makkawej-ski* i inni, występują u koni bardzo często ropnie wywołane przez *Brucella abortus bovis*. *Van der Hoeden* w ostatniej swej pracy wyraźnie staje na stanowisku, że ropnie te powstają nie wskutek miejscowego uszkodzenia i zakażenia, lecz jako wyraz przebytego ogólnego zakażenia ustroju. Wysokie miano aglutynacyjne obserwowane u koni chorych oraz tworzenie się ropni w następstwie przebytego zakażenia ogólnego wykazują, że proces chorobowy przebiega u koni i szczurów niemal, że identycznie. Być może, że i u koni szczepionych bardzo dużymi ilościami zarazka bangowskiego dootrzewnowo występowałoby zejście śmiertelne poprzedzone posocznicą. Zresztą już *van der Hoeden* podaje, że u konia wielokrotnie zakażanego per os udało mu się dwukrotnie wykazać obecność nielicznych pałeczek Banga we krwi. Kwestja ta do chwili przeprowadzenia badań w tym kierunku pozostaje otwarta.

Jeśli zwrócimy uwagę na wyniki posiewów z narządów szczurów chorych, to zauważymy, że jeszcze po 6 miesiącach udało się wykazać obecność dużych ilości pałeczek Banga w ustroju zakażonym. Jak podałem we wstępie, *Fabyan* sądził, iż najdłuższy okres w ciągu którego można je jeszcze wykryć w ustroju szczurów zakażonych wynosi 9 tygodni. Być może, że szczepił on znacznie mniejsze ilości zarazków i że ze wzrostem ilości wprowadzonego materiału zakaźnego wzrasta czas przebywania zarazków w ustroju chorym. W każdym razie sądzić należy, że okres 6 miesięcy nie stanowi jeszcze ostatecznej granicy czasu, w ciągu którego bakterje Banga przebywają u szczurów zakażonych. Jestem przekonany, że okres ten jest jeszcze znacznie dłuższy.

Jedna rzecz jeszcze zasługuje w doświadczeniu V na szczególną uwagę, gdyż jest kwestją pierwszorzędnej wagi. Chodzi mianowicie o stwierdzenie obecności pałeczek Banga w moczu szczurów zakażonych. Do niedawna podawano między innymi jako zasadniczą różnicę między *Brucella melitensis* a *Brucella abortus bovis* fakt, że pierwsza wydala się stale z moczem zwierząt i ludzi chorych, podczas gdy druga w moczu się nie zjawia. Wprawdzie niedawno *Horst Habs* wygłosił przypuszczenie, że wydalanie zarazków z moczem zależy od gatunku zwierzęcia, u którego występuje brucelloza, a nie od odmiany tych bakteryj. Przypuszczenia tego nie poparł jednak żadnymi doświadczeniami. Udowodnił jedynie, że mocz krwi nie jest odpowiednim podłożem dla rozwoju bakteryj Banga i że giną one w nim w temperaturze 37° już po upływie 24 godzin, podczas gdy w moczu ludzkim utrzymują się przy życiu znacznie dłużej, a mianowicie w temperaturze 37° 5—7 dni, a w temperaturze 0° kilka tygodni. Autor wskazuje na konieczność przeprowadzenia ścisłych badań moczu ludzi zakażonych pałeczką Banga. Doświadczenie autora przeprowadzone *in vitro* nie rozwiązały jeszcze zagadnienia. Obecnie, z chwilą stwierdzenia, że bakterje Banga występują w znacznych ilościach w moczu szczurów zakażonych, zyskaliśmy dowód, że występowanie lub brak ziarniaka maltańskiego i pałeczek ronienia zakaźnego krów w moczu uzależnione jest nie od własności biologicznych zarazka, lecz od gatunku zwierzęcia, u którego zarazki te parazytują.

### Doświadczenie VI.

W doświadczeniu tem chodziło o sprawdzenie zjadliwości szczepów świeżo wyizolowanych z treści przewodu pokarmowego cieląt porzuconych. Szczepy te rosły jedynie w warunkach względnie beztlenowych. Do doświadczenia użyto szczepów „Podłodów” i „K”. Gęstość użytych zawiesin wynosiła około 8 miliardów bakteryj w 1 ccm. Każdą zawiesiną szczepiono dootrzewnowo 3 szczury, dwa z nich otrzymywały po 0,3 jeden zaś 0,5 ccm. zawiesiny. Wyniki zebrano w tablicy Nr. VII.

Szczur Nr. 69, który otrzymał 0,5 ccm. zawiesiny padł w 10 dni po zakażeniu. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony. W prawym rogu macicznym znaj-

T A B L I C A VII.

| Użyty szczep | Szczer Nr. | Ilość szczepionej zawiesziny | Śmierć po dniach | Zmianv<br>anatomopatologiczne                                                                     | P o s i e w y |           |                     |       |         |       |      | U w a g i |                                                     |
|--------------|------------|------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------|---------------------|-------|---------|-------|------|-----------|-----------------------------------------------------|
|              |            |                              |                  |                                                                                                   | Krew          | Śledziona | Gruczoł<br>krezkowy | Jądra | Jajniki | Płuca | Ropa |           | Mocz                                                |
| „Podłódów”   | 69         | 0.5                          | 10               | Powiększenie śledziony<br>7 ropni w prawym rogu<br>macicznym o średnicy około<br>1 — 2 mm. każdy. | ++++          | ++++      | 0                   | 0     | 0       | —     | ++++ | 0         |                                                     |
|              | 70         | 0.3                          | 4                | Powiększenie śledziony.                                                                           | ++++          | ++++      | ++++                | ++++  | 0       | 0     | 0    | 0         |                                                     |
|              | 71         | 0.3                          | 10               | Powiększenie śledziony.<br>Szczyt prawego płuca zwa-<br>trobiały.                                 | ++++          | ++++      | 0                   | ++    | 0       | ++    | 0    | 0         |                                                     |
|              | 72         | 0.5                          | 1                | Powiększenie śledziony.<br>W płucach ropnie i ogni-<br>ska zapalne.                               | ++++          | ++++      | 0                   | 0     | 0       | +++   | +++  | 0         |                                                     |
| „K”          | 73         | 0.3                          | 2                | Jak u Nr. 72.                                                                                     | ++++          | ++++      | 0                   | 0     | ++      | ++    | +++  | 0         |                                                     |
|              | 74         | 0.3                          | 68               | Nieznaczone<br>powiększenie śledziony.                                                            | —             | —         | —                   | —     | 0       | —     | 0    | —         | Zabity. Miano zlepane<br>surowicy wynosiło<br>2560. |

Szczury szczepione dootrzewnowo zawieszoną pałeczką Bąga szczepów świeżo wyizolowanych z treści przewodu pokarmowego ciał porzuconych. Gęstość zawiesin wynosiła około 8 miliardów bakterij w 1 ccm.

dowało się 7 małych ropni o średnicy około 1—2 mm. Posiewy wypadły pozytywnie ze krwi, śledziony i ropy.

Szczur Nr. 70 padł w 4 dni po szczepieniu. Na sekcji stwierdzono jedynie powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi, śledziony i innych narządów pozytywne.

Szczur Nr. 71 padł w 10 dni po zakażeniu. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony oraz zwłóknienie szczytu prawego płuca. Posiewy wypadły pozytywnie ze krwi, śledziony, płuc i jąder.

Szczur Nr. 72, który otrzymał 0,5 ccm. zawiesiny padł w 1 dzień po szczepieniu. Na sekcji stwierdzono znaczny obrzęk śledziony. W płucu lewym znaleziono dwa ropnie o średnicy około 2 mm. każdy. Między ropniami znajdowała się zwłókniała tkanka płucna. W szczycie i podstawie płuco lewe było znacznie rozdęte. W płacie sercowym płuca prawego nagromadzona była w oskrzelach śluzoworopna ciecz. Posiewy wypadły pozytywnie ze krwi, śledziony, ropy oraz z części zwłókniałej płuc.

Szczur Nr. 73 padł w 2 dni po szczepieniu. Na sekcji stwierdzono obrzęk śledziony. W płacie środkowym płuca prawego znajdowało się ognisko zapalne o średnicy około 2 mm. W środku płuca lewego widoczny był ropień o bardzo cienkich ścianach, o średnicy około 5 mm. Posiewy ze krwi, śledziony, ropy, jajników oraz ze zdrowej tkanki płucnej pozytywne.

Szczur Nr. 74 pozostał przy życiu. W 68 dni po zakażeniu został zabity. Miano zlepane surowicy wynosiły 2560. Na sekcji stwierdzono jedynie nieznaczny obrzęk śledziony. Posiewy wypadły negatywnie ze wszystkich narządów.

*Wnioski:* Szczepy świeżo wyizolowane z cieląt porzuconych nie zdają się być dla szczurów zjadliwsze niż szczepy stare, laboratoryjne. Odporność indywidualna odgrywa i tu bardzo znaczną rolę. Tak np. Nr. 70 padł w 4 dni po zakażeniu, a szczur Nr. 71 szczepiony tą samą dawką w 6 dni później. Szczur Nr. 69 szczepiony dawką prawie dwa razy większą niż szczury Nr. Nr 70 i 71 padł również dopiero w 6 dni po szczurze Nr. 70. Szczur Nr. 73 padł w dwa dni po zakażeniu, a szczur Nr. 74 szczepiony tą samą dawką pozostał przy życiu i ani za życia, ani po śmierci, z wyjątkiem nieznacznego obrzęku śledziony i wysokiego miana aglutynacyjnego surowicy, nie wykazywał żadnych objawów chorobowych.

Ciekawe są zmiany anatomopatologiczne obserwowane na sekcji. U szczurów szczepionych szczepem „Podlodów” wystąpiły po upływie 10 dni od chwili szczepienia liczne ropnie w macicy względnie zwłóknienie szczytu prawego płuca. Znacznie wyraźniejsze są zmiany u szczurów zakażonych szczepem „K”. Już po upływie jednego wzgl. dwu dni widoczne są w płucach ogniska

zwątrobień oraz ropnie, wprowadzie o ścianie bardzo cienkiej, ale otorbione. Ścianka tych ropni wytworzona była z włókniaka, a nie z tkanki łącznej, ale zmiany te były tak znacznego stopnia i tak daleko posunięte, iż zmuszony byłem przyjąć, że płuca u szczurów Nr. Nr. 72 i 73 były już przed doświadczeniem zmienione. Zaznaczyć jednak muszę, że ani u szczura Nr. 74, ani u innych szczurów z tej samej hodowli nie obserwowałem tego rodzaju zmian w płucach bez uprzedniego zakażenia pałeczką Banga. U żadnego ze zwierząt użytych do doświadczenia nie słyszałem kaszlu. Dziwnemby było, gdyby wśród trzech szczurów wybranych do jednego doświadczenia z dużej ilości zwierząt, znalazły się dwa, jedyne w całej hodowli chore na płuca szczury. Zwrócić należy także uwagę na fakt, że z ropni i z tkanki zwątrobiałej wyrosły w posiewach wyłącznie kolonie pałeczek Banga. Jedynie dalsze doświadczenia przeprowadzone na dużym materiale zwierzęcym będą mogły definitywnie rozwiązać to zagadnienie.

### Doświadczenie VII.

W doświadczeniu tem chodziło o stwierdzenie jakie ilości pałeczek Banga są jeszcze dla szczurów zjadliwe. W tym celu użyto zawiesiny pałeczek szczepu „Guz” o gęstości około 8 miliardów w 1 ccm. Szczur Nr. 75 otrzymał 0,5 ccm. tej zawiesiny dootrzewnowo, każdy następny zaś szczur zawiesinę dziesięciokrotnie rzadszą niż poprzedni. Gęstość zawiesiny u szczura Nr. 82 wynosiła 800 bakterij w 1 ccm. Dla kontroli zaszczepiono szczurowi Nr. 83 0,5 ccm. czystego buljonu dootrzewnowo. Szczur ten nie wykazał żadnych objawów chorobowych w ciągu 6 miesięcznej obserwacji. Wyniki doświadczenia VII uwidacznia tablica Nr. VIII.

Szczur Nr. 75 padł po 2 dniach. Na sekcji stwierdzono, że śledziona jest powiększona, koloru ciemowiśniowego, o spoistości bardzo znacznej. Pod błonami surowiczemi widoczne były liczne wybroczyny. Posiewy ze krwi i śledziony były pozytywne.

Szczury Nr. Nr. 76 i 77 padły w 65 dni, a szczur Nr. 78 w 120 dni po zakażeniu. U wszystkich stwierdzono na sekcji jedynie nieznaczne powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi i śledziony wypadły u wszystkich negatywnie.

Szczur Nr. 79 padł w 11 dni po zakażeniu. Na sekcji stwierdzono obecność licznych wybroczyn pod błonami surowiczemi. Posiewy ze krwi, śledziony, wątroby i nerki wypadły pozytywnie.

T A B L I C A VIII.

| Szczur Nr | Śmierć po dniach | Zmiany anatomopatologiczne                                          | Posiewy |           |         |       |
|-----------|------------------|---------------------------------------------------------------------|---------|-----------|---------|-------|
|           |                  |                                                                     | Krew    | Śledziona | Wątroba | Nerki |
| 72        | 2                | Znaczne powiększenie śledziony. Wybroczyny pod błonami surowiczymi. | ++++    | ++++      | 0       | 0     |
| 76        | 65               | Śledziona nieco powiększona                                         | —       | —         | 0       | 0     |
| 77        | 65               | Jak u Nr. 76                                                        | —       | —         | 0       | 0     |
| 78        | 120              | Jak u Nr. 76                                                        | —       | —         | 0       | 0     |
| 79        | 11               | Wybroczyny pod błonami surowiczymi,                                 | ++++    | ++++      | ++++    | ++++  |
| 80        | 35               | —                                                                   | —       | —         | 0       | 0     |
| 81        | 31               | Powiększenie śledziony                                              | +++     | +         | ++      | 0     |
| 82        | 43               | —                                                                   | —       | —         | 0       | 0     |

Szczury szczepione dootrzewnowo 0,5 ccm. zawiesiny pałeczek Banga szczepu „Guz”. Gęstość zawiesiny wynosiła u szczura Nr. 75 ok. 8 miliardów w 1 ccm. Każdy następny szczur otrzymał zawiesinę dziesięciokrotnie rzadszą niż poprzedni.

Szczur Nr. 80 padł w 35 dni po szczepieniu. Na sekcji nie znaleziono żadnych zmian. Posiewy ze krwi i śledziony negatywne.

Szczur Nr. 81 padł w 31 dni po zakażeniu. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi, śledziony i wątroby pozytywne.

Szczur Nr. 82 padł w 43 dni po zakażeniu. Na sekcji nie stwierdzono żadnych odchyłań od normy. Posiewy ze krwi i śledziony negatywne.

**Wnioski:** Wyniki doświadczenia nie są zupełnie przejrzyste. Odporność indywidualna odgrywająca u szczurów, jak to wykazałem w doświadczeniach poprzednich, bardzo znaczną rolę, wpłynęła bezsprzecznie na przebieg doświadczenia. Tak na przykład szczur Nr. 81 padł po 31 dniach. Na sekcji stwierdzono u niego powiększenie śledziony, a posiewy ze śledziony, wątroby i krwi wypadły pozytywnie. Natomiast szczur Nr. 80 szczepiony dziesięciokrotnie gęstszą zawiesiną padł wprawdzie po 35 dniach, ale nie wykazał na sekcji żadnych zmian anatomopatologicznych,

a posiewy ze krwi i śledziony wypadły negatywnie. To samo dotyczy się i szczurów Nr. 76, 77 i 78, które padły w 65 wzgl. 120 dni po szczepieniu. Na sekcji stwierdzono u nich jedynie nieznaczne powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi i śledziony wypadły negatywnie. Jakkolwiek u 5 z pośród 8 szczepionych szczurów nie zauważono prawie żadnych zmian anatomopatologicznych oraz nie udało się u nich stwierdzić obecności pałeczek Banga w ustroju, to jednak zaznaczyć należy, iż szczury te padły samorzutnie po upływie 35 do 120 dni po zakażeniu. Szczur Nr. 83, kontrolny, szczepiony czystym buljonem pozostał przy życiu w ciągu sześciomiesięcznego okresu obserwacji. Sądzę, iż chociaż organizm szczurów zakażonych zniszczył całkowicie lub wydalil wprowadzone doń zarazki, to jednak w walce tej uległ pewnemu osłabieniu, co ujawniło się w zmniejszonej sile życiowej i we wczesnie występującem zejściu śmiertelnem.

Reasumując wyniki doświadczenia stwierdzić należy, że ilość 4000 pałeczek jest już w stanie wywołać zakażenie u szczepionego szczura, że jednak w grę wchodzić tu musi jeszcze pewna predyspozycja ustroju, o czem świadczy fakt, że nawet 100000 razy większa dawka nie jest niekiedy w stanie szczura zakażić. Szczury osłabione walką z zarazkiem, nawet po zupełnem zniszczeniu lub wydaleniu bakterij giną znacznie wcześniej niż ich nieszczepione rodzeństwo. Ze względu na znaczne wahania indywidualnej wrażliwości szczurów na zakażenie pałeczką ronienia zakaźnego, nie mogą się one nadawać do badania mleka rynkowego na obecność w niem tych bakterij.

#### Doświadczenie VIII.

W klatce po szczurach szczepionych pałeczkami Banga przebywała ciężarna samica szczurza (Nr. 84). Po upływie 2 dni szczur ten padł. Na sekcji znaleziono ropne zapalenie macicy. W posiewie z ropy stwierdzono jedynie obecność bac. pyocyaneus, natomiast na płytkach, na których wysiano krew z serca i materiał ze śledziony wyrosły pojedyncze kolonje pałeczek Banga.

Chcąc sprawdzić czy zakażenie per os następuje u szczurów zawsze równie łatwo i prędko, tylko przez kontakt ze szczurami

zakażonemi, umieszczono trzy szczury (Nr. Nr. 85, 86 i 87) w klatce ze szczurami szczepionemi bakterjami Banga. Szczury te zabito po upływie 2, 3 i 4 dni. Na sekcji nie stwierdzono u nich żadnych zmian. Posiewy ze krwi i ze wszystkich narządów wypadły negatywnie.

*Wnioski:* Chociaż nie udało się wykazać zakażenia u szczurów po kilkudniowym kontakcie ze zwierzętami zakażonemi, to jednak fakt samorzutnego zakażenia się choćby jednego szczura już zasługuje na baczną uwagę. Być może, że odgrywa tu pewną rolę osłabienie uprzednie ustroju, spowodowane np. w danym przypadku ropnem zapaleniem macicy wywołanem przez bac. pyocyaneus. Przypomnieć jednak należy, że samorzutnie zakaził się także osesek Nr. 12, zresztą zupełnie zdrów. Widocznie w pewnych okolicznościach szczury są szczególnie wrażliwe na zakażenie drogą przewodu pokarmowego. Fakt ten stawia w ciekawem świetle kwestję roli jaką mogą odgrywać szczury w przenoszeniu się zarazy bangowskiej w oborach, a szczególnie w chlewniach. Wiadomą jest rzeczą, że świnie pożerają często trupy szczurów. Możliwe, że tą drogą przenosi się infekcja z chlewni zakażonych do chlewni zdrowych.

### Doświadczenie IX.

W doświadczeniu tem chodziło o stwierdzenie wpływu przesączów starych hodowli buljonowych bakteryj Banga na szczury białe. Trzymiesięczna hodowla buljonowa przesączona przez świece Chamberlanda L 3, wprowadzana była szczurom dootrzewnowo równocześnie z zawiesiną pałeczek Banga szczepów „B” i „M”, o gęstości około 8 miliardów bakteryj w 1 ccm. Przesącze były przed szczepieniem stale badane na jałowość. Kilka szczurów szczepionych było tylko samemi przesączami. Wyniki doświadczenia zebrano w tablicy Nr. IX.

Szczur Nr. 88 otrzymał 2,0 ccm przesączu. Zabity po 76 dniach nie wykazał na sekcji żadnych zmian. Posiewy ze wszystkich narządów negatywne.

Szczur Nr. 89 otrzymał 1,5 ccm. przesączu i 1,0 ccm. zawiesiny. Zabity po 56 dniach wykazał na sekcji nieznaczne powiększenie śledziony. Posiewy wypadły pozytywnie jedynie ze śledziony i gruczołów chłonnych krezkowych. Miano zlepne surowicy wynosiło 2560.

T A B L I C A IX.

| Szczur Nr. | Ilość wpro-<br>wadzonego |                     | Padł po<br>dniach | Zabity po<br>dniach | Zmiany anatomopatologiczne                                                                                                                                            | P o s i e w y |                |         |       |                                          |                      |        |      |      | Miano zlep-<br>ne surowicy                                                                                                                              | U W A G I |
|------------|--------------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------|---------|-------|------------------------------------------|----------------------|--------|------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
|            | Prze-<br>sączu           | Za-<br>wiesi-<br>ny |                   |                     |                                                                                                                                                                       | Krew          | Śledzio-<br>na | Wątroba | Płuca | Gruzoły<br>chłonne<br>śródpier-<br>siowe | Nerki                | Wysięk | Ropa |      |                                                                                                                                                         |           |
| 88         | 2,0                      | —                   | —                 | 76                  | —                                                                                                                                                                     | —             | —              | —       | 0     | 0                                        | 0                    | 0      | 0    | —    | Gruczoł krezkowy +<br>Grudki Peyera, śluz<br>z krtani —                                                                                                 |           |
| 89         | 1,5                      | 1,0                 | —                 | 56                  | Śledzioną nieco powiększoną.                                                                                                                                          | —             | +              | —       | —     | 0                                        | —                    | 0      | 0    | 2560 |                                                                                                                                                         |           |
| 90         | 1,5                      | 0,5                 | 1                 | —                   | Wysięk surowiczy w jamie otrzewno-<br>wej. We wszystkich oskrzelach gęsta<br>śluzoworopna ciecz.                                                                      | +++           | +++            | +++     | 0     | 0                                        | 0                    | +++    | ++++ | 0    |                                                                                                                                                         |           |
| 91         | 1,5                      | 0,5                 | 1                 | —                   | Wysięk surowiczy w jamach otrzewno-<br>wej i opłucnowej. Znaczne powiększe-<br>nie śledziony.                                                                         | +++           | +++            | ++++    | 0     | 0                                        | 0                    | +++    | 0    | 0    | Jądra, gruczoły chłonne<br>okołotrzustkowe, Peyera<br>i krezkowe —                                                                                      |           |
| 92         | 1,5                      | 0,0005              | 107               | —                   | Powiększenie śledziony.                                                                                                                                               | —             | —              | —       | —     | 0                                        | 0                    | 0      | 0    | 0    |                                                                                                                                                         |           |
| 93         | 1,5                      | —                   | —                 | 115                 | —                                                                                                                                                                     | —             | —              | —       | —     | 0                                        | 0                    | 0      | 0    | —    |                                                                                                                                                         |           |
| 94         | 1,2                      | 1,0                 | —                 | 62                  | —                                                                                                                                                                     | —             | +              | —       | 0     | —                                        | +++                  | 0      | 0    | 1280 | Jądra, gruczoł krokowy,<br>woreczek nasienny, gru-<br>czoł krezkowy i mocz —<br>Macica +. Trzustka,<br>grudki Peyera —<br>Mocz —                        |           |
| 95         | 1,2                      | 1,0                 | —                 | 65                  | Powiększenie śledziony i gruczołów<br>chłonnych. Na dużej krzyżźnie żołądka<br>ropień o średnicy ok. 5 mm.                                                            | —             | —              | —       | —     | —                                        | —                    | 0      | ++++ | 80   |                                                                                                                                                         |           |
| 96         | 1,0                      | 1,0                 | —                 | 67                  | —                                                                                                                                                                     | +             | +              | —       | —     | 0                                        | ++++                 | 0      | 0    | 640  |                                                                                                                                                         |           |
| 97         | 1,0                      | 1,0                 | —                 | 69                  | —                                                                                                                                                                     | —             | —              | —       | —     | 0                                        | $N_2$<br>$N_1$ +++++ | 0      | 0    | 1280 |                                                                                                                                                         |           |
| 98         | 1,0                      | 0,5                 | 3                 | —                   | Śledzioną nieco powiększoną. Gruzoły<br>chłonne śródpiersiowe powiększone<br>i rozpuszcznione. W płacie sercowym<br>płuca prawego śluzoworopne zapalenie<br>oskrzeli. | +++           | +++            | 0       | ++    | ++++                                     | 0                    | 0      | ++++ | 0    | Nadnercza, trzustka, gru-<br>czoły chłonne lędźwiowe<br>i podszczękowe +, gru-<br>czoły pachowe i pachwi-<br>nowe, woreczek nasienny<br>i śluz z nosa — |           |
| 99         | 1,0                      | 0,5                 | 6                 | —                   | Bardzo znaczne powiększenie śledziony<br>W miąższu rozsiane liczne drobne ogni-<br>ska ropne. Wszystkie gruczoły chłonne<br>powiększone.                              | ++++          | ++++           | 0       | +     | ++                                       | 0                    | 0      | 0    | 0    |                                                                                                                                                         |           |
| 100        | 1,0                      | 0,3                 | 2                 | —                   | W płucach ogniska zwątrobiaenia i ślu-<br>zoworopne zapalenie oskrzeli.                                                                                               | +++           | +++            | 0       | 0     | 0                                        | 0                    | 0      | ++++ | 0    |                                                                                                                                                         |           |
| 101        | 1,0                      | 0,3                 | 3                 | —                   | Śledzioną powiększoną. Szczyt lewego<br>płuca zwątrobiały. Gruzoły chłonne<br>śródpiersiowe powiększone i rozpuszcz-<br>nione.                                        | +++           | ++++           | 0       | ++    | ++++                                     | 0                    | 0      | 0    | 0    | Mocz —<br>Jądra, gruczoł krokowy,<br>woreczek nasienny, grudki<br>Peyera i mocz —                                                                       |           |
| 102        | 1,0                      | 0,3                 | —                 | 71                  | Powiększenie śledziony i grudek Peyera.                                                                                                                               | —             | —              | 0       | 0     | 0                                        | 0                    | 0      | 0    | 640  |                                                                                                                                                         |           |
| 103        | 1,0                      | 0,2                 | —                 | 74                  | Jak u Nr. 102.                                                                                                                                                        | —             | —              | —       | —     | 0                                        | —                    | 0      | 0    | 80   |                                                                                                                                                         |           |
| 104        | 0,5                      | 0,3                 | 2                 | —                   | Śledzioną znacznie powiększoną. Płat<br>sercowy płuca prawego zwątrobiały.<br>Gruzoły chłonne śródpiersiowe po-<br>większone i rozpuszcznione.                        | +++           | +++            | 0       | ++++  | +++                                      | 0                    | 0      | 0    | 0    | Mocz —                                                                                                                                                  |           |
| 105        | 0,5                      | 0,2                 | 7                 | —                   | Powiększenie śledziony.                                                                                                                                               | —             | ++             | —       | —     | 0                                        | 0                    | 0      | 0    | 0    |                                                                                                                                                         |           |
| 106        | 0,5                      | 0,2                 | 9                 | —                   | W płucu lewym śluzoworopne zapale-<br>nie oskrzeli.                                                                                                                   | ++++          | ++++           | +++     | +     | 0                                        | 0                    | 0      | ++++ | 0    |                                                                                                                                                         |           |
| 107        | 0,3                      | 0,2                 | 11                | —                   | Znaczne powiększenie śledziony. Prze-<br>krwienie płuc.                                                                                                               | —             | —              | 0       | ++++  | 0                                        | 0                    | 0      | 0    | 0    | Mocz —<br>Szczur otrzymał równo-<br>cześnie z zawiesiną<br>0,5 ccm. czystego buljonu<br>dootrzewnowo.                                                   |           |
| 108        | 0,2                      | 0,2                 | 69                | —                   | Przekrwienie płuc. Zawężenie i wzdę-<br>cie jelit.                                                                                                                    | —             | —              | —       | —     | 0                                        | 0                    | 0      | 0    | 0    |                                                                                                                                                         |           |
| 109        | —                        | 0,3                 | 7                 | —                   | Znaczne powiększenie śledziony.                                                                                                                                       | ++++          | ++++           | 0       | 0     | 0                                        | 0                    | 0      | 0    | 0    |                                                                                                                                                         |           |

Szczury szczepione dootrzewnowo przesączem trzymiesięcznej hodowli buljonowej pałeczek Banga szczepów „B” i „M” oraz zawiesiną tychże pałeczek o gęstości około 8 miliardów bakterij w 1 ccm.

Szczur Nr. 90 otrzymał 1,5 ccm przesączu i 0,5 ccm. zawiesiny. Śmierć nastąpiła po upływie jednego dnia. Na sekcji stwierdzono obfity wysięk surowiczy w jamie otrzewnowej oraz zacopowanie wszystkich oskrzeli gęstą śluzoworopną cieczą. Posiewy ze krwi, ropy, wysięku, śledziony i wątroby pozytywne.

Szczur Nr. 91 otrzymał 1,5 ccm. przesączu i 0,5 ccm. zawiesiny. Śmierć nastąpiła po upływie jednego dnia. Na sekcji znaleziono obfity surowiczy wysięk w jamach opłucnowej i otrzewnowej. Śledziona znacznie powiększona. Posiewy ze krwi, wysięków, śledziony i wątroby pozytywne i bardzo obfite.

Szczur Nr. 92 otrzymał 1,5 ccm. przesączu i 0,0005 ccm. zawiesiny pałeczek Banga. Padł po 107 dniach. Na sekcji stwierdzono jedynie powiększenie śledziony. Posiewy z poszczególnych narządów negatywne.

Szczur Nr. 93 otrzymał 1,5 ccm. przesączu. Zabity po 115 dniach nie wykazał żadnych zmian anatomopatologicznych. Posiewy z poszczególnych narządów negatywne. W surowicy nie wykazano obecności specyficznych zlepek w stosunku do pałeczek Banga.

Szczur Nr. 94 otrzymał 1,2 ccm. przesączu oraz 1,0 ccm. zawiesiny. Szczur pozostał przy życiu. Zabity po 62 dniach nie wykazał na sekcji żadnych zmian. Posiewy wypadły pozytywnie tylko ze śledziony i nerki. Miano zlepek surowicy wynosiło 1280.

Szczur Nr. 95 otrzymał 1,2 ccm. przesączu oraz 1,0 ccm. zawiesiny. Zabity po 65 dniach wykazał na sekcji znaczne powiększenie śledziony i gruczołów chłonnych. Na dużej krzywiznie żołądka znajdował się ropień o średnicy około 5 mm. Posiewy wypadły pozytywnie jedynie z ropy. Miano zlepek surowicy wynosiło 80.

Szczur Nr. 96 otrzymał 1,0 ccm. przesączu i 1,0 ccm. zawiesiny. Zabity po 67 dniach nie wykazał na sekcji żadnych zmian. Posiewy wypadły pozytywnie ze krwi, śledziony, macicy i nerki. Miano zlepek surowicy wynosiło 640.

Szczur Nr. 97 otrzymał 1,0 ccm. przesączu i 1,0 ccm. zawiesiny. Zabity po 69 dniach nie wykazał na sekcji żadnych zmian. Posiewy wypadły pozytywnie tylko z jednej nerki. Miano zlepek surowicy wynosiło 1280.

Szczur Nr. 98 otrzymał 1,0 ccm. przesączu i 0,5 ccm. zawiesiny. Śmierć nastąpiła po 3 dniach. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony. W płacie sercowym płuca prawego oskrzela wypełnione są śluzoworopną cieczą. Gruczoły chłonne śródpiersiowe powiększone i rozpulchnione. Posiewy wypadły pozytywnie ze krwi, ropy z oskrzeli, ze śledziony, z płuc i z gruczołów chłonnych śródpiersiowych.

Szczur Nr. 99 otrzymał 1,0 ccm. przesączu oraz 0,5 ccm. zawiesiny. Śmierć nastąpiła w 6 dni po zakażeniu. Na sekcji stwierdzono prawie trzykrotne powiększenie śledziony. W miąższu jej znajdują się liczne drobne ogniska ropne. Wszystkie gruczoły chłonne powiększone i rozpulchnione. Posiewy ze krwi, śledziony, płuc, trzustki, nadnerczy, gruczołów chłonnych śródpiersiowych, lędźwiowych i podszczękowych pozytywne, z gruczołów chłonnych pachowych i pachwinowych, z wołeczka nasiennego i ze śluzu z nosa negatywne.

Szczur Nr. 100 otrzymał 1,0 ccm. przesączu i 0,3 ccm. zawiesiny. Śmierć nastąpiła po 2 dniach. Na sekcji stwierdzono w płacie sercowym płuca prawego

zwątrobień, w płacie zaś dolnym wypełnienie oskrzeli śluzoworopną cieczą. Posiewy ze krwi, ropy z oskrzeli i ze śledziony pozytywne.

Szczur Nr. 101 otrzymał 1,0 ccm, przesączu i 0,3 ccm, zawiesiny. Śmierć nastąpiła po 3 dniach. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony oraz zwątrobień szczytu lewego płuca. Gruczoły chłonne śródpiersiowe były powiększone i rozpulchnione. Posiewy wypadły dodatnio ze krwi, śledziony, płuc oraz z gruczołów chłonnych śródpiersiowych.

Szczur Nr. 102 otrzymał 1,0 ccm, przesączu i 0,3 ccm, zawiesiny. Szczur pozostał przy życiu. Zabity po 71 dniach wykazał na sekcji powiększenie śledziony i grudek Peyera. Miano zlepane surowicy wynosiło 640, Posiewy ze krwi, śledziony i moczu negatywne.

Szczur Nr. 103 otrzymał 1,0 ccm, przesączu i 0,2 ccm, zawiesiny. Szczur pozostał przy życiu. Zabity został po 74 dniach. Obraz sekcyjny jak u szczura poprzedniego. Miano zlepane surowicy wynosiło 80, Posiewy ze krwi i wielu narządów pozostały negatywne.

Szczur Nr. 104 otrzymał 0,5 ccm, przesączu i 0,3 ccm, zawiesiny. Śmierć nastąpiła po 2 dniach. Na sekcji stwierdzono przekrwienie ścian jamy brzusznej. Śledziona znacznie powiększona. Płuca rozdęte. Płat sercowy płuca prawego zwątrobiały. Gruczoły chłonne śródpiersiowe powiększone i rozpulchnione. Wynik posiewów jak u szczura Nr. 101.

Szczur Nr. 105 otrzymał 0,5 ccm, przesączu i 0,2 ccm, zawiesiny. Śmierć nastąpiła po 7 dniach. Na sekcji stwierdzono powiększenie śledziony. Posiewy wypadły pozytywnie jedynie ze śledziony.

Szczur Nr. 106. otrzymał 0,5 ccm. przesączu i 0,2 ccm. zawiesiny. Śmierć nastąpiła po 9 dniach. Na sekcji stwierdzono, że oskrzela w całym lewym płucu wypełnione są śluzoworopną cieczą. Posiewy wypadły pozytywnie ze krwi, ropy z oskrzeli, śledziony, wątroby i płuc

Szczur Nr. 107 otrzymał 0,3 ccm. przesączu i 0,2 ccm. zawiesiny. Śmierć nastąpiła po 11 dniach. Na sekcji stwierdzono znaczne powiększenie śledziony oraz przekrwienie płuc. Posiewy ze krwi i śledziony negatywne, jedynie na płytkach, na których wysiano materiał z płuc wyrosły bardzo obficie kolonie pałeczek Banga.

Szczur Nr. 108 otrzymał 0,2 ccm. przesączu i 0,2 ccm. zawiesiny. Śmierć nastąpiła po 69 dniach. Na sekcji stwierdzono przekrwienie płuc oraz zawężenie i wzdęcie jelit. Posiewy wypadły negatywnie.

Szczur Nr. 109 otrzymał 0,5 ccm. czystego buljonu oraz 0,3 ccm. zawiesiny. Śmierć nastąpiła po 7 dniach. Na sekcji stwierdzono znaczne powiększenie śledziony. Posiewy ze krwi i śledziony pozytywne.

*Wnioski:* Wprowadzenie dootrzewnowe nawet znacznych ilości samego przesączu starej hodowli buljonowej pałeczek Banga pozostaje bez wpływu na szczepione szczury (Nr. Nr. 88 i 93), natomiast równoczesne zakażenie dużymi ilościami zarazka ronienia zakaźnego wywołuje u szczurów daleko idące zmiany anatomopa-

tologiczne. Zejście śmiertelne zdaje się występować u szczurów szczepionych zawiesiną bakterij Banga i przesączem ich hodowli buljonowej przeciętnie w krótszym czasie i częściej niż u szczurów szczepionych samą zawiesiną. I tu zwrócić należy uwagę na znaczne różnice indywidualne zachodzące u szczepionych szczurów. Tak np. szczur Nr. 107, który otrzymał 0,3 ccm. przesączu i 0,2 ccm. zawiesiny padł po 11 dniach, szczur Nr. 104, który otrzymał 0,5 ccm. przesączu i 0,3 ccm. zawiesiny padł po 2 dniach, a szczury Nr. Nr. 89 lub 95, które otrzymały dawki 3 do 5 razy większe niż poprzednie, pozostały przy życiu.

Zmiany anatomopatologiczne obserwowane na sekcji są podobne zupełnie do opisanych w poprzednich doświadczeniach. U szczura Nr. 99 stwierdzono obecność licznych drobnych ognisk ropnych w śledzionie, u szczura zaś Nr. 95 ropień o średnicy około 5 mm. na dużej krzywiznie żołądka. Posiewy z ropy wypadły pozytywnie. U bardzo znacznej ilości zwierząt obserwowano na sekcji zmiany w płucach. Są to już opisane w doświadczeniach poprzednich śluzoworopne zapalenie oskrzeli i krupowe zapalenie płuc oraz wysięki w jamie opłucnowej. Na uwagę zasługuje znaczny stopień zmian występujących po bardzo krótkim czasie jak np. u szczura Nr. 90 lub Nr. 100.

Wyniki posiewów z poszczególnych narządów są o tyle ciekawe, że u szczura Nr. 108 nie udało się wcale wykazać obecności bakterij Banga w ustroju, co pozostawałoby w zgodzie ze spostrzeżeniem *Fabyana*, któremu po 63 dniach nie udało się wykazać pałeczek Banga w narządach u szczurów zakażonych. Wniosek ten potwierdzałoby badanie szczurów Nr. Nr. 92, 102 i 103. Wysokie miano aglutynacyjne u niektórych z pośród tych szczurów świadczyłoby tylko o przebyciu schorzenia. Z drugiej strony jednak badanie szczurów Nr. Nr. 95, 96 i 97 wykazuje, że po upływie 69 dni udaje się jednak wykazać obecność pałeczek Banga w niektórych narządach, a nawet we krwi (Szczur Nr. 96). Zwrócić należy uwagę na fakt, że u szczurów tych szczególnie obfity jest wzrost kolonij pałeczek Banga na płytkach, na których wysiano materiał z obu (szczur Nr. 96), lub też tylko z jednej nerki (szczur Nr. 97). Świadczy to raz jeszcze o tem, że szczury wydają pałeczki Banga drogą moczu.

### Zestawienie.

1. Po wprowadzeniu znacznych ilości pałeczek Banga do otrzewnowo szczury giną przeważnie w kilka dni po zakażeniu z objawami posocznicy. Niekiedy śmierć następuje znacznie później, część jednak szczurów pozostaje przy życiu. Odporność indywidualna odgrywa tu zacząłną rolę, ogółem jednak biorąc zjadliwość pałeczek Banga w stosunku do szczurów jest znacznie większa niż w stosunku do myszy.

2. Ze względu na duże wahania wrażliwości osobniczej szczury nie nadają się jako zwierzęta doświadczalne do badania mleka rynkowego na obecność w niem pałeczek ronienia zakaźnego krów.

3. Pasaż przez szczury zwykłe lub szczepione mięsakiem Jensena nie zwiększa zjadliwości pałeczek Banga w stosunku do szczurów.

4. Szczepy świeżo wyizolowane z treści przewodu pokarmowego cieląt porzuconych nie są w stosunku do szczurów zjadliwsze od starych szczepów laboratoryjnych.

5. Na sekcji stwierdza się zarówno u szczurów padłych, jak i u pozostałych przy życiu, a następnie zabitych, znaczne powiększenie śledziony. Niekiedy spotyka się liczne drobne ogniska ropne w mięszu śledziony. Bardzo często, szczególnie u szczurów, którym prócz zawiesiny pałeczek Banga szczepiono i przesącz starej hodowli buljonowej tych bakterij, obserwuje się śluzoworopny stan zapalny oskrzeli oraz krupowe zapalenie płuc. Zmiany te dotyczyć mogą całych płuc. U szczurów padłych lub zabitych w kilka miesięcy po zakażeniu występują prawie zawsze otorbione ropnie np. w śledzionie, wątrobie, żołądku, macicy, nasieniowodzie lub w okolicy nerek. Niekiedy obserwuje się surowicze wysiękowe zapalenie opłucny i otrzewny.

6. Posiewy ze krwi wypadają pozytywnie jeszcze po 67 dniach, ze śledziony po 173 dniach. a z treści ropni po 176 dniach.

7. W posiewach z moczu pobranego z pęcherza szczurów zakażonych wyrastają często liczne bardzo kolonie pałeczek Banga.

8. U szczurów zakażanych mniejszymi dawkami zarazka nie udaje się po upływie około 9 tygodni wykazać obecności bakterij

Banga w ustroju. W takim przypadku jedynie wysokie miano zlepne surowicy jest dowodem przebytego zakażenia.

9. U szczurów, które pozostały przy życiu po zakażeniu dużymi dawkami pałeczek Banga, zaznacza się tendencja do usuwania zarazków z organizmu drogą moczu i do gromadzenia ich jedynie w otorbionych ropniach.

10. Miano zlepne surowicy dochodzić może u szczurów zakażonych do 2560.

11. Szczury mogą ulec samorzutnemu zakażeniu od szczurów chorych, z którymi przebywają razem w ciągu nawet bardzo krótkiego czasu (2 dni).

De l'Institut Bactériologique de la Faculté Vétérinaire de l'Université de Varsovie.  
(Directeur Prof. Dr. Z. Szymanowski).

## INFLUENCE DE BACILLES DE BANG SUR LES RATS BLANCS.

par

A. BER.

### R É S U M É.

1. Les rats inoculés avec une quantité massive de bacilles de Bang succombent au bout de quelques jours à une septicémie. Parfois la mort survient plus tard et une partie des animaux reste vivant. L'immunité individuelle joue un rôle prépondérant, mais en somme la virulence des bacilles est plus grande envers les rats qu'envers les souris.

2. A cause des différences individuelles de susceptibilité les rats se prêtent mal à l'examen du lait de marché au point de vue de la présence des bacilles de Bang.

3. Les passages par des rats normaux ou porteurs du sarcome de Jensen n'augmentent pas la virulence des bacilles de Bang pour les rats.

4. Les souches fraîchement isolées du contenu de l'estomac de veaux avortés ne sont plus virulentes pour les rats que les anciennes souches de laboratoire.

5. Chez les rats succombés à l'infection on tués ou trouve une tumefaction importante de la rate, parfois aussi de petits foyers purulents du même organe, très souvent aussi une bronchite mucopurulente et une pneumonie croupeuse. On les trouve surtout chez les animaux inoculés avec des bacilles additionnés de filtrat de vieille culture en bouillon. Ces changements peuvent occuper un poumon entier. Les animaux succombés ou tués au bout de quelques mois après l'inoculation démontrent presque toujours des abcès encapsulés de la rate, du foie, de l'estomac, de l'utérus ou des reins. Quelquefois on trouve une péritonite ou une pleurite avec un exsudat séreux.

6. L'hémoculture peut être positive encore après 67 jours, l'ensemencement de la rate et du contenu des abcès après 173 — 176 jours.

7. L'urine contient des bacilles en grande quantité.

8. Chez les rats inoculés avec des petites doses on ne trouve plus de bacilles après 9 semaines. L'augmentation du taux des agglutinines dans le sérum est la seule preuve de l'infection subie.

9. Chez les rats qui ont survécu l'infection massive on constate la tendance à éliminer les bacilles de l'organisme par voie urinaire ou de les encapsuler dans des abcès fermés.

10. Le taux d'agglutination peut monter jusqu'à 1:2560.

11. On observe chez les rats une infection spontanée déjà après un court séjour (48 heures) avec des rats infectés.

#### PIŚMIENNICTWO.

Ber. Med. Dośw. i Społ. 1932 z. 5. Boyd, Delez i Fitch. J. amer. vet. med. Assoc. 1930 s. 17. Boyd, Delez i Fitch. Cornell Veter. 1930 s. 263. Fabyan. J. of med. res. 1913 t. 28. s. 81. Friess. Münch. Diss. 1929 s. 36. Hagan J. of exp. med. 1922 t. 36 s. 727. Hedström. Skand. Vet. Tidskr. 1930 s. 103. Hoeden van der. Z. f. Infekkrank. der Haust. 1932 t. 22. Z. 1—2. Holt. Z. f. Infekkrank. der Haust. 1911. t. 10 s. 207 i 342. Habs. I Międzynar. Kongres Mikrob. Paryż 1930. Kamada Keiho. Zentralbl. f. Bakt. Orig. 1931 t. 120 z. 1—2. Makkawejski, Karkadinowska, Michejew, Gawriłow i Dawidowski, D. Tierärztl. W. 1931 s. 86. Wall. XI Międzynar. Kongres Wet. Londyn 1930.

---

Wpłynęło 10.1.1933.

## PROJEKT UJEDNOSTAJNIONYCH METOD FIZYCZNEGO I CHEMICZNEGO BADANIA WODY.

(Z PAŃSTWOWEJ SZKOŁY HIGJENY).<sup>1)</sup>

### P r z e d m o w a.

Pierwszym krajem, który zrozumiał potrzebę ujednostajnienia metod badania wody, były Stany Zjednoczone Ameryki, gdzie inicjatywa w tym kierunku powstała już w roku 1895, a pierwsze wydanie ujednostajnionych metod ukazało się w r. 1905.

Metody te w latach następujących ulegały uzupełnianiu i ulepszaniu i do roku 1925 doczekały się VI wydania.

O celowości ich oraz potrzebie może świadczyć fakt, że bez najmniejszego przymusu ze strony władz, metody te zostały przyjęte i zastosowane we wszystkich pracowniach powołanych do kontroli i sanitarnej oceny wody.

Ujednostajnione metody ułatwiły w znacznym stopniu pracę w prowincjonalnych małych pracowniach, nie posiadających wykwalifikowanych chemików, przyczyniły się we wszystkich Stanach do uporządkowania kontroli wód i zakładów wodnych, umożliwiły zebranie jednolitego materiału statystycznego i naukowego z dziedziny badania wód i zaopatrywania w wodę.

U nas w Polsce od szeregu lat zaczęto wskazywać w fachowej literaturze i na zebraniach, poświęconych zagadnieniu zaopa-

---

<sup>1)</sup> Wydano z zapomogi Ministerstwa Opieki Społecznej (Dep. Sł. Zdrowia).

trzenia ludności w wodę, na potrzebę ujednostajnienia metod badania wody, obowiązujących w Polsce.

Jednym z pierwszych wysunął to zagadnienie na VII Zjeździe Gazowników i Wodociąg. w swoim obszernym referacie Dr. J. Babecki.

Myśl opracowania i wydania ujednostajnionych metod została ponowiona na Zjeździe Kierowników Filij Państwowego Zakładu Higieny w r. 1927 w Warszawie.

Komisja powołana na Zjeździe opracowała i wydała w r. 1930 „Ujednostajnione Metody Bakterjologicznego Badania Wody”. Równocześnie Oddział Inżynierji Sanitarnej Państwowej Szkoły Higieny rozpoczął prace przygotowawcze nad ujednostajnieniem metod fizycznego i chemicznego badania wody do picia.

W tym celu został przetłumaczony na język polski Amerykański Zbiór Ujednostajnionych Metod (Standard Methods of Water Analysis, Sixth Edition, 1925), który miał posłużyć jako podkład do prac nad metodyką, przystosowaną do naszych warunków.

W celu uzyskania zasadniczych uwag i wytycznych wskazówek do zestawienia metod ujednostajnionych, zwrócono się w styczniu 1930 r. do szeregu instytucyj i zakładów naukowych, z prośbą o nadesłanie opinii o metodach zalecanych w Ameryce oraz podanie innych metod, stosowanych w pracowniach polskich i godnych zalecenia.

Niestety, nie wszyscy jednakowo przyjęli projekt ujednostajnienia metod badania wody w Polsce. Większość zrozumiała, że Państwowy Zakład Higieny proponuje przyjąć „Metody Amerykańskie” *en bloc*, przeciw czemu zupełnie słusznie wyrażono sprzeciw. Inni zaś zasadniczo byli przeciwni wydawaniu ujednostajnionych metod, uważając to za ograniczenie i krępowanie osób powołanych do badania wody. Natomiast szereg Zakładów i Urzędów, jak np. Min. Spraw Wojsk., (Depart. Zdrowia), Dyrekcja Wodociągów i Kanalizacji m. Warszawy, Instytut Higieniczny w Warszawie i inne gorąco poparły projekt Państw. Szkoły Higieny.

Tak np. Depart. Zdrowia Ministerstwa Spraw Wojskowych motywuje potrzebę wydania ujednolajnionych metod w sposób następujący;

„Inicjatywę Państwowej Szkoły Higieny w sprawie ujednolajnienia metod badania wody usilnie popieram“.

„Wzorcowe metody mają tę dobrą stronę, że:

- 1) ułatwiają ocenę sanitarną,
- 2) umożliwiają szkolenie personelu laboratoryjnego,
- 3) powodują obniżenie cen na przyrządy i odczynniki produkowane masowo do ujednolajnionej pracy w licznych laboratorjach,
- 4) pozwalają na opracowanie statystyczne materiałów, pochodzących z rozmaitych pracowni“.

Jednocześnie zwolennicy ujednolajnienia metod nadesłali bardzo cenne fachowe uwagi i wskazówki, które przy opracowywaniu niniejszego projektu były wykorzystane.

Praca przy układaniu projektu ujednolajnionych metod polegała na:

- 1) zebraniu literatury fachowej o badaniu wody (amerykańska, angielska, francuska, niemiecka, polska, rosyjska), przestudjowaniu teoretycznem metod podanych lub zalecanych dla poszczególnych oznaczeń i wyborze kilku najbardziej zasługujących na uwagę metod dla tego samego oznaczenia;
- 2) praktycznem, równoległym wypróbowaniu wybranych metod przez badanie różnych wód i porównanie uzyskanych wyników oraz procedury dokonywania oznaczeń.

Ze względu na to, że Ujednolajnione Metody przeznaczone są głównie dla zwykłych bieżących badań sanitarnych w celu kontroli wody do picia i urządzeń wodnych, przy wyborze metod dla poszczególnych oznaczeń zwracano specjalnie uwagę na prostotę, szybkość i łatwość wykonywania oznaczenia, na dokładność poszczególnych oznaczeń, wystarczającą do celów sanitarnej oceny wody, na dostępność i koszt stosowanych odczynników i aparatury.

Podając niniejszy projekt ujednoliconych metod badania wody, mamy nadzieję, że posłuży on za podstawę do prac specjalnie powołanej Komisji fachowej, która po rozpatrzeniu i wprowadzeniu ewentualnych uzupełnień i poprawek, wyda oficjalne polskie ujednoliconie metody badania wody.

---

Praca niniejsza, która wymagała dłuższego czasu i środków materialnych, mogła być ukończona dzięki finansowemu poparciu Sekcji Higieny Ligi Narodów.

Praca została wykonana w Oddziale Inżynierji Sanitarnej przez inż. A. Szniolisa i inż. J. Justa. Część pracy doświadczalnej wykonała inż. Z. Markuze.

*Warszawa, grudzień 1932 r.*

*Państwowa Szkoła Higieny.*

# PROJEKT UJEDNOSTAJNIONYCH METOD BADANIA WODY.

Podali

A. SZNIOLIS i J. JUST.

## WSTĘP.

### I. Pobieranie i przesyłanie prób wody do badania fizycznego i chemicznego.

Prawidłowe pobranie próby wody ma zasadnicze znaczenie dla całości badania i powinno być należycie dokonane. Dla uniknięcia wszelkich błędów, wynikających z wadliwego pobrania próby, wskazanem jest, aby próby do analizy pobierały osoby odpowiednio przygotowane.

#### *a) Ilość wody potrzebna do analizy.*

1. Dla wykonania całkowitej sanitarnej analizy wody, potrzeba co najmniej 2 l wody. Dla skróconego badania sanitarnego zwykle wystarcza 1 l wody.

2. Do oznaczenia dwutlenku węgla i tlenu rozpuszczonego pobiera się po 250 do 300 ml<sup>1)</sup> dla każdego oznaczenia.

3. Do badań specjalnych, jeśli zachodzi potrzeba oznaczenia w wodzie niektórych metali, jak np. ołów, miedź, cynk, należy pobrać co najmniej 5 l wody.

4. Przy badaniu wody do celów technicznych (zasilanie kotłów parowych, pralni i t. p.) pobrać co najmniej 2 l wody.

---

<sup>1)</sup> ml = cm<sup>3</sup>.

*b) Naczynia do pobierania i przesyłania prób.*

Do pobierania i przesyłania prób wody należy używać butelek z dobrze dopasowanymi korkami szklanymi. Zamiast korków szklanych można używać zwykłych, wygotowanych w parafinie, lub obłożonych cynfolją.

Najwygodniej jest używać flaszki o pojemności 1 — 2 l.

Do prób na tlen rozpuszczony i dwutlenek węgla używa się butelek specjalnych o pojemności 250 do 300 ml z bardzo dobrze doszlifowanymi korkami szklanymi, skośnie ściętymi u dołu.

Naczynia do pobierania prób powinny być dokładnie wmyte mieszaniną chromową lub alkalicznym roztworem nadmanganianu potasu, poczem kilka razy starannie wypłukane wodą zwykłą przez całkowite wypełnienie, wreszcie przemyte dwa lub trzy razy wodą destylowaną i wysuszone. Na miejscu pobierania próby, przed ostatecznym pobraniem próby, należy flaszkę 3-krotnie przepłukać wodą pobieraną do analizy.

*c) Sposoby pobierania prób wody.*

1. Z urządzeń wodnych o stałym wypływie (źródło naturalne, studnie artezyjskie samobijące i t. p.) wodę pobiera się wprost do flaszki. Przy pobieraniu prób wody do zwykłego badania flaszki nie wypełnia się całkowicie.

2. Z kurka wodociągowego lub ze studni z pompą, przed pobraniem próby obmyć wylot i spuszczać wodę około 10 minut, poczem pobrać próbę wprost do flaszki przepłukanej.

3. Ze studni bez pompy oraz zbiorników otwartych próbę pobiera się przez opuszczenie na sznurku odpowiednio obciążonej flaszki wprost do zbiornika.

Ze studni otwartej można pobrać próbę, przez zaczerpnięcie czystym kubłem. Z kubła nalewa się wody wprost do butelki.

4. Pobieranie prób wody ze studni i zbiorników otwartych na określonej głębokości pod powierzchnią wody skutecznia się przy pomocy specjalnych przyrządów, które obok próby do badania fizyczno-chemicznego pozwalają na jednoczesne pobranie próby bakteriologicznej, oraz prób do oznaczenia tlenu rozpuszczonego i dwutlenku węgla. Do tego celu używane są przyrządy Spitta, Imhoffa i t. p.

*d) Pobieranie prób wody do oznaczenia tlenu rozpuszczonego ( $O_2$ ) i dwutlenku węgla ( $CO_2$ ).*

Pobieranie prób wody do oznaczenia rozpuszczonych w wodzie gazów (jak również do oznaczania żelaza dwuwartościowego) powinno być dokonywane z zachowaniem specjalnej ostrożności, aby uniemożliwić zetknięcie się próby wody z powietrzem tak w czasie pobierania, jak i przy badaniu. Próby pobiera się do specjalnych butelek pojemności 250—300 ml z dobrze przytartymi korkami szklanymi u dołu ściętymi skośnie; ukośne ścięcie korka pozwala zamknąć wypełnioną po brzegi flaszkę bez pęcherzyka powietrza. Na korek i szyjkę nakłada się specjalny zacisk.

Próbę przeznaczoną do oznaczenia tlenu rozpuszczonego należy bezpośrednio po pobraniu utrwalić w sposób podany p. XX, A, 2.

Oznaczenia ilości dwutlenku węgla i żelaza dwuwartościowego dokonywa się bezpośrednio po pobraniu próby.

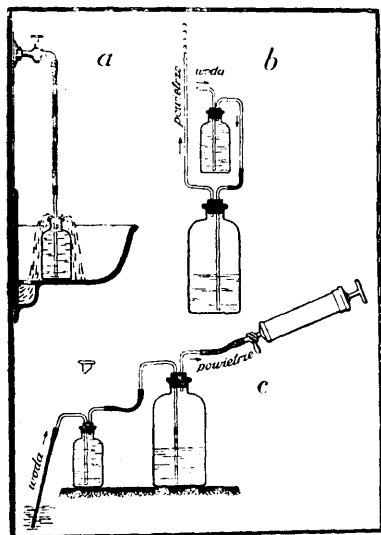
1. Sposoby pobierania prób. Z kurka wodociągowego próbę pobiera się w sposób następujący: na wylot kurka (rys. 1, a) nakłada się rurkę gumową odpowiedniej średnicy oraz długości i spuszcza wodę w ciągu 10 minut, poczem nie przerywając strumienia, wsadzić drugi koniec rurki prawie do dna flaszki i przepuszczać wodę przez 3 — 5 minut, poczem należy wyjąć ostrożnie rurkę, nie przerywając strumienia i wypełnioną po brzegi flaszkę zatkać ostrożnie korkiem u dołu skośnie ściętym.

2. Ze studni artezyjskiej lub innego urządzenia o stałym wypływie, próbę pobiera się w sposób podobny jak z kurka, z tą tylko różnicą, że koniec rurki gumowej wsadza się w wylot, czyli w strumień wody nie stykający się z powietrzem. Drugi koniec rurki wsadza się prawie do dna butelki umieszczonej niżej i przepuszcza wodę przez flaszkę w ciągu 5 minut. Poczem, jak wyżej, wyjąć ostrożnie rurkę z butelki i zatkać korkiem.

3. Jeżeli wodę pobiera się ze studni z pompą, należy uprzednio pompować wodę w ciągu 10 minut, poczem, ciągle pompując postępować jak w p. 2.

4. Ze zbiornika otwartego próbę z głębokości 1 m można pobrać przy pomocy pompki powietrznej ssącej. W tym celu do szyjki flaszki, do której ma być pobrana próba, dopasować korek

gumowy z dwoma otworami. W jednym otworze obsadzić rurkę szklaną  $\varnothing$  około 5 mm, której jeden koniec sięga prawie do dna flaszki, zaś drugi krótki jest wygięty łukowato ku dołowi i zaopatrzony w rurkę gumową odpowiedniej średnicy i długości do  $1\frac{1}{2}$  m.



Rys. 1.

Drugi otwór korka zaopatrzyć w krótką rurkę szklaną (patrz rys. 1, c) wewnątrz równą z korkiem, nazewną zgiętą pod kątem prostym. Koniec zewnętrzny tej rurki szklanej zaopatrzony jest w rurkę gumową, za pomocą której łączy się z drugą flaszka o pojemności  $1\frac{1}{2}$  — 2 l, zaopatrzoną w podobne rurki szklane i korek. Koniec krótszy rurki większej flaszki łączy się z powietrzną pompką ssącą. Dzięki powstającemu rozrzedzeniu powietrza wewnątrz flaszek, woda wchodzi do flaszki małej, a po wypełnieniu jej, przelewa się do flaszki dużej. W ten sposób, zanim większa flaszka się wypełni, w małej woda wy-

mieni się 5 — 6 razy. Po wypełnieniu dużej butelki, wyjąć ostrożnie korki z rurkami i zatkać, jak wyżej, nie pozostawiając powietrza w małej flaszce.

5. Ze studni otwartych i z większych głębokości zbiorników (jezior, rzek) próby pobiera się przy pomocy specjalnych przyborów, jak aparat Spitta, Imhoffa i t. p. (rys. 1, b).

#### e) Cechowanie i opakowanie prób.

Na butelce z próbą wody nalepia się kartkę białego papieru i wypisuje atramentem lub kolorowym ołówkiem:

1. cechę próby — znak, lub numer.
2. z jakiego urządzenia wodnego pobrano próbę, oraz nazwę miejscowości, nazwisko właściciela, lub zakładu.
3. dzień i godzinę pobrania próby.

Do każdej próby należy dołączyć odpowiedni protokół z bliższymi danymi o urządzeniu wodnym oraz danymi zanotowanymi w czasie pobierania próby, jak temperatura wody i powietrza, oraz mętność, barwa i zapach wody w próbce (opisowo).

Przy pobieraniu próby na gazy rozpuszczone, pożądanym jest zanotować ciśnienie barometryczne.

Do przewożenia i przesyłania prób wody służą skrzynki lub walizki z odpowiednimi przegrodami na pojedyncze butelki. Fiaszki powinny być szczelnie zakorkowane, na korki nałożone kapturki z papieru i obwiązane sznurkiem. Każdą fiaszkę należy szczelnie zawinąć w papier i obłożyć w przegrodzie sianem, wórkami lub innym odpowiednim materiałem. Przy przesyłaniu prób urzędowych końce sznurków mogą być zalakowane i opieczętowane.

*f) Dopuszczalny okres czasu  
między pobraniem próby i dostarczeniem do pracowni.*

Aby zapobiec zniekształceniu składu wody w próbce w czasie przesyłania, należy starać się próbę po pobraniu jaknajszybciej dostarczyć do pracowni. Czas przesyłania próby powinien wynosić od chwili pobrania nie więcej jak:

72 godziny dla wód b. czystych (ze źródeł naturalnych właściwie ujętych, studni artezyjskich i t. p.).

48 godzin dla wód podejrzanых o zanieczyszczenie,

12 godzin dla wód wyraźnie zanieczyszczonych.

O ile próba wody nie może być dostarczona w wymaganym okresie czasu, próbę należy:

- 1) przesyłać w stanie oziębionym do 4 — 10°C, w tym celu stosują się t. zw. lodówki (izolowane skrzynki z hermetycznym zbiornikiem do lodu), lub
- 2) zabezpieczyć (utrwalić); w tym celu próbę pobiera się do 2 jednakowych fiaszek i do jednej z nich dodaje się 1 ml stężonego kwasu siarkowego („do analizy“, wolnego od związków azotowych) na 1 litr wody. Na etykiecie należy oznaczyć, że próba jest zabezpieczona i podać ilość kwasu dodanego.

Przed wysłaniem większej ilości prób wody do badania należy uprzednio porozumieć się z odpowiednią pracownią, do której woda ma być przesłana.

## II. Schemat badania wody w pracowni.

Po otrzymaniu próby w pracowni należy niezwłocznie przystąpić do badania, o ile to jest niemożliwe, wstawić próbę do lodówki o temperaturze około  $+4^{\circ}\text{C}$ .

### *a) Skrócona i pełna analiza sanitarna.*

Zależnie od celu badania, charakteru i przeznaczenia wody, wykonywa się chemiczną analizę t. zw. skróconą lub pełną.

Przy analizie skróconej najczęściej oznacza się:

1. temperaturę wody (przy pobieraniu próby), 2. barwę, 3. mętność, 4. zapach, 5. utlenialność, 6. amonjak, 7. azotyny, 8. azotany i 9. chlorki.

W zakres pełnej sanitarnej analizy wody, obok oznaczeń powyższych, wchodzi jeszcze następujące oznaczenia:

10. azot albuminowy, 11. azot organiczny, 12. żelazo, 13. siarczany, 14. sucha pozostałość, 15. zawiesina, 16. substancje rozpuszczone w wodzie, 17. pozostałość po prażeniu, strata przy prażeniu, 18. zawiesiny mineralne i lotne, 19. odczyn  $pH$ , 20. twardość ogólna, 21. zasadowość.

Inne oznaczenia wykonywa się w wypadkach specjalnych, zależnie od celu badań, przeznaczenia wody, ewentualnie na wyraźne zlecenie przysyłającego próbę wody.

### *b) Kolejność wykonania oznaczeń.*

W pierwszej kolejności należy wykonać oznaczenia od 1 do 8 włącznie i od 10 do 12 włącznie oraz 19.

W razie niemożliwości wykonania tych wszystkich oznaczeń w ciągu jednego dnia, można niektóre z nich wykonać częściowo, a mianowicie:

1) odparować próbę na azotany.

2) z próby do oznaczenia azotu organicznego, oddestylować amonjak.

Pożądanem jest również pierwszego dnia poodmierzać do oddzielnych naczyń niezbędne ilości wody do poszczególnych oznaczeń, jak np. sucha pozostałość, zawiesina, żelazo ogólne itp.

Uwaga: O ile próby wody były na miejscu pobrania utrwalone zapomocą kwasu siarkowego, to w próbie utrwalonej oznacza się: amonjak, azotyny, azotany, azot organiczny, azot albuminowy i utlenialność; w próbie nieutrwalonej—inne pozostałe oznaczenia.

### III. Odczynniki i naczynia.

Odczynniki chemiczne, używane do poszczególnych oznaczeń, powinny być zupełnie czyste, niezwietrzałe i odpowiadać ściśle warunkom podanym przy każdym oznaczeniu.

Najlepiej używać odczynników, podawanych w handlu pod nazwą „do analiz“.

Pozatem w wielu wypadkach odczynniki należy sprawdzać na poszczególne zanieczyszczenia, względnie robić t. zw. „ślepe próby“, jak np. przy oznaczaniu azotu organicznego.

Odczynniki używane do przygotowania wzorców winny ściśle odpowiadać podanej formule chemicznej. Ważnem to jest głównie przy związkach zawierających wodę krystalizacyjną, zawartość której należy oznaczyć i jeśli trzeba, wprowadzić odpowiednią poprawkę.

Za podstawę do wyprowadzenia niektórych współczynników oraz do przyrządzania roztworów mianowanych przyjęto ciężary atomowe, ustalone przez Komisję Ciężarów Atomowych Międzynarodowej Unji Chemicznej w 1931 r.

Naczynia i przyrządy używane przy oznaczeniach powinny być dokładne i bezwzględnie czyste.

### IV. Odbarwianie prób wody do oznaczeń.

Przy niektórych oznaczeniach kolorymetrycznych przeszkadza zbyt wysoka (powyżej 15) barwa wody, i dlatego należy uprzednio próbę wody odbarwić.

Do tego celu używa się świeżo strąconego wodorotlenku glinu lub węgla aktywnego.

#### A. ODBARWIANIE ZAPOMOCĄ WODOROTLENKU GLINU.

Odmierzyć do suchego i czystego naczynia tyle wody badanej zabarwionej ile trzeba do tych oznaczeń, przy których barwa przeszkadza, dodać po 3 krople nasyconego roztworu czystego siarczanu glinu oraz po 1 kropli 50% roztworu KOH na każde 100 ml wody, dobrze skłócić, pozostawić w spokoju na 10—15 minut, poczem przesączyć przez ilościowy sączek do czystego suchego naczynia, z którego odmierza się próby do poszczególnych oznaczeń.

Objętość dodawanych odczynników może nie być brana pod uwagę, nawet przy użyciu w razie potrzeby podwójnej ilości tych odczynników.

Roztwory siarczanu glinu i wodorotlenku potasu, nie powinny zawierać składników, które mają być oznaczane w wodzie odbarwionej.

#### B. ODBARWIANIE ZAPOMOCĄ WĘGLA AKTYWNEGO.

Węgiel aktywny stosowany do odbarwiania prób wody do oznaczania azotanów, azotynów i t. d., nie powinien zawierać tych składników.

Ponieważ jednak handlowy węgiel aktywny zawiera dość znaczne ilości powyższych domieszek, przeto przed użyciem węgla do odbarwienia wody, należy z niego usunąć te domieszki.

##### 1. Oczyszczanie węgla.

100 g handlowego węgla aktywnego w proszku (Noryt lub Carboraffina) w kolbie kulistej o pojemności około 1 l, zalać rozcieńczonym kwasem solnym (1:3) w ilości około 750 ml, zatkać korkiem gumowym z osadzoną chłodnicą pionową i gotować na siatce w ciągu jednej godziny, poczem odstawić, aż osad opadnie. Po zupełnem sklarowaniu cieczy nad osadem, zlać ostrożnie ciecz z nad węgla, przemyć kilkakrotnie przez dekantację gorącą wodą destylowaną, zalać znowu wodą destylowaną i gotować w ciągu godziny jak wyżej. Poczem, gdy osad opadnie, zlać ciecz, przemyć osad kilkakrotnie przez dekantację, wreszcie odsączyć węgiel

na lejku Büchnera przy pomocy pompki wodnej i przemywać gorącą wodą destylowaną, aż do zaniku reakcji na  $Cl'$  w przesączu.

Przemyty dokładnie węgiel, wysuszyć w suszarce elektrycznej w temperaturze  $110^{\circ}C$  lub w świeżo wypełnionym chlorkiem wapnia eksikatorze. Nigdy nie należy suszyć w suszarce ogrzewanej płomieniem.

Wysuszony węgiel aktywny przechowywać w słoiku szczelnie zamkniętym.

## 2. Odbarwianie.

Do wody w oddzielnym naczyniu (patrz A) dodać węgla aktywnego w ilości około  $1'g$  na każde  $100\ ml$  wody, dobrze wyklócić i przesączyć przez sączek ilościowy do czystego suchego naczynia.

Z tego odmierzać próby do poszczególnych oznaczeń.

# FIZYCZNE BADANIE WODY.

## I. Temperatura.

Temperaturę wody należy oznaczać przy każdorazowym pobieraniu próby wody i wynik notować w protokole lub wykazie.

Upřednio należy zmierzyć temperaturę powietrza.

Określanie temperatury wody, wypływającej z urządzenia wodnego (kurek wodociągowy, studnia z pompą i t. p.), dokonywa się po dłuższem spuszczeniu lub odpompowaniu wody, aż do ustalenia się słupka rtęci termometru.

Pomiar wykonuje się przy pomocy sprawdzonego termometru z podziałką do  $0,5^{\circ}C$ , wstawionego do naczynia (np. szklanki), przez które przelewa się woda wypływająca z urządzenia. Termometr przez cały czas pomiaru musi być zanurzony w ten sposób, aby kulka z rtęcią znajdowała się mniejwięcej w środku masy wody w naczyniu. Nie należy wyjmować termometru z wody przy odczytywaniu.

Oznaczenie temperatury wody w studni nie zaopatrzonej w pompę, można skutecznie przez mierzenie temperatury wody zaczerpniętej ze studni wiadrem, zanurzając termometr bezpośrednio do pełnego kubła wody.

Do oznaczania temperatury wody bezpośrednio w zbiorniku, np. w studni lub na pewnej głębokości naturalnego zbiornika wody (jeziora, rzeki i t. p.), można używać termometru czerpakowego. Termometr ten składa się ze zwykłego termometru umieszczonego w specjalnej oprawce metalowej, zakończonej u dołu zbiorniczkiem, otaczającym kulkę z rtęcią; na dnie zbiorniczka znajduje się obciążenie z ołowiu. Po opuszczeniu powyższego termometru do żądanej głębokości, należy poczekać conajmniej 5 minut do wyrównania się temperatury, poczem szybko wyciągnąć i niezwłocznie odczytać wskazanie termometru. Do tego celu używa się również termometrów innych systemów, jak np.: Negretti Zambra, termofon, termometr Thuma i inne.

## II. Mętność.

Mętność wody wywołują najrozmaitsze substancje, znajdujące się w wodzie w stanie zawiesiny, jak to glina, muł, drobne cząsteczki ciał organicznych, wyższe drobnoustroje, nierozpuszczalne związki żelaza, manganu i t. p.

Stopień mętności oznacza się przez porównanie wody badanej ze wzorcami sztucznie przygotowanymi lub przez badanie widzialności ustalonego przedmiotu zanurzonego w badanej wodzie.

### A. OZNACZANIE MĘTNOŚCI PRZY POMOCY WZORCÓW.

Oznaczanie mętności przy pomocy wzorców jest najbardziej właściwym sposobem, ponieważ wodę badaną porównywa się z wzorcami w jednakowych warunkach, przez co usuwa się w znacznym stopniu wpływ czynników zewnętrznych, np. światło, wzrok badającego i t. p.

Z pośród wielu jednostek mętności proponowanych przez różnych autorów, najpraktyczniejszą jest jednostka mętności, ustalona przez Służbę Geologiczną Stanów Zjednoczonych.

Za jednostkę mętności przyjęto mętność wody, zawierającej 1 mg/l dwutlenku krzemu ( $\text{SiO}_2$ ) w postaci zawiesiny o ustalonym rozdrobnieniu.

Do przygotowania wzorców służy ziemia okrzemkowa, drobno zmielona i przesiana przez sito Nr. 200 (200 otworów na 1 cal

bieżący). W tym celu najlepiej używać proszku firmy Pearsa (Pears precipitated fullers earth).

Jeden gram tak przygotowanego proszku Pearsa wzięty na 1 l wody destylowanej daje ciecz podstawową o mętności 1000.

### 1. Przygotowanie wzorców.

Wzorce przygotowuje się z zawiesiny zasadniczej przez odpowiednie rozcieńczenie wodą destylowaną.

Do flaszek bezbarwnych z czystego szkła o jednakowych średnicach i pojemności 750 ml, wlewa się kolejno do naczynia I — 0; II — 2,5; do III — 5; IV — 7,5; V — 10 ml podstawowej cieczy i dopełnia wodę destylowaną do 500 ml. W ten sposób przygotowane wzorce posiadają w 1 l: I — 0, II — 5, III — 10, IV — 15, V — 20 mg  $\text{SiO}_2$ , co odpowiada mętności 0, 5, 10, 15 i 20.

Zamiast flaszek na 750 ml można użyć mniejszych, dając odpowiednio mniej cieczy podstawowej.

Wzorce zabezpiecza się przed psuciem odrobiną chlorku rtęciowego i przechowuje we flaszkach zamkniętych.

### 2. Wykonanie oznaczenia.

Próbkę wody badanej należy dokładnie zmieszać i nalać do takiej samej flaszki jak wzorce, w ilości około 500 ml. Następnie wzorzec ująć w jedną, a próbkę w drugą rękę, dobrze skłócić i niezwłocznie porównać. O ile woda badana nie odpowiada wzorcowi, powtórzyć to samo z następnym wzorcem i t. d., aż do ustalenia wartości mętności wody badanej. W przypadku gdy mętność wody badanej leży w granicach między sąsiednimi wzorcami, liczbową wartość mętności oznacza się na oko. Jeżeli mętność wody badanej wynosi więcej niż 20, to należy wodę badaną odpowiednio rozcieńczyć, porównać z wzorcami, a otrzymany wynik pomnożyć przez stopień rozcieńczenia.

#### B. OZNACZANIE STOPNIA PRZEZROCZYSTOŚCI.

(przy badaniach na terenie).

Do pomiarów stopnia przezroczystości służą białe płyty lub krążki, zawieszane na łańcuszku albo sznurze.

Pogrąża się w wodzie biały dysk o średnicy 20 cm, i odczytuje się głębokość, na której krążek staje się niewidoczny, następnie podnosi się krążek powoli i notuje się głębokość, na której krążek znowu stanie się widoczny i bierze się średni wynik z obu pomiarów. Wynik podaje się w cm głębokości zanurzenia płytki.

Dla zabezpieczenia się od wpływu światła z boku, dobrze jest posługiwać się specjalną tubą, wewnątrz czarną, dostawianą do powierzchni wody zbiornika w czasie obserwacji.

### III. Zapach.

Zapach wody może być wywołany obecnością w niej pewnych gazów, lotnych związków, produktów rozkładu ciał organicznych lub innych związków rozpuszczonych w wodzie, posiadających swoisty zapach.

Wobec różnorodności substancyj, które mogą w wodzie się znajdować i powodować jej zapach oraz subiektywności w ich rozpoznawaniu i oznaczaniu, wskazany jest podział rodzajów zapachu wody na kilka zasadniczych grup.

### GRUPY ZAPACHÓW.

a) Zapach wody wywołany obecnością ciał organicznych nie znajdujących się w stanie rozkładu gnilnego, t. zn. nie nadający wodzie cech odrażających i przykrych odnosimy do grupy zapachów roślinnych i oznaczamy literą *R.* Do tej grupy zalicza się zapachy jak np.: ziemi, trawy, siana, mchu, torfu i t. p.

b) Zapach wody spowodowany obecnością ciał organicznych w stanie rozkładu gnilnego, nadający wodzie cechy mniej lub więcej przykre, jak np. zapach stęchły, zbutwiały, pleśni, wyraźnie gnilny i t. p., odnosi się do grupy zapachów gnilnych i oznacza się literą *G.*

c) Zapach wody spowodowany obecnością olejków eterycznych, wydzielanych przez wyższe drobnoustroje (plankton) (wody z jezior, stawów i rzek), jak np. zapach fiołków, pelargonji, kwaszonych ogórków, geranium, rybi i t. p., zalicza się do grupy zapachów planktonowych i oznacza się literą *P.*

d) Wreszcie zapach wywołamy obecnością związków specyficznych, jak np. chlor, siarkowodór, fenol, nafta, oraz zapach innych ciał nie spotykanych normalnie w wodach naturalnych, odnosimy do grupy zapachów specyficznych i grupę tę oznaczamy literą *S*, podając w nawiasach bliższe określenia zapachów.

## OKREŚLANIE ZAPACHU.

Zapach wody zwykle określa się na zimno, t. j. w temperaturze pokojowej, oraz na gorąco w temperaturze około 90 — 60°C. Próbę wykonaną na zimno oznacza się literą *z*, a na gorąco literą *g*.

### 1. Określanie zapachu na zimno.

Próbkę wody w ilości wypełniającej połowę flaszki wstrząsać energicznie, poczem wyjąć korek i powąchać przy samej szyjce.

### 2. Określanie zapachu na gorąco.

Do kolbki Erlenmeyera poj. około 500 *ml* nalać około 150 *ml* badanej wody, przykryć dobrze dopasowanym szkiełkiem zegarkowym, i ogrzewać na siatce nad palnikiem prawie do wrzenia, poczem usunąć palnik i po kilku (3—5) minutach, zamieszać wodę ruchem obrotowym, usunąć szkiełko i wąchać przy wylocie szyjki.

### 3. Sposób podawania wyników.

Przy określaniu zapachu tak na zimno jak i na gorąco, należy zawsze zwracać uwagę także na intensywność danego zapachu. Do wyrażania intensywności zapachów służy następująca skala:

- 0 — oznacza brak zapachu,
- 1 — zapach bardzo słaby, trudno wyczuwalny,
- 2 — zapach słaby, łatwo wyczuwalny,
- 3 — zapach wyraźny, dyskwalifikujący wodę do picia,
- 4 — zapach silny, czyniący wodę całkowicie niezdatną do użytku,
- 5 — zapach bardzo silny, spotykany jedynie w ściekach.

Wyniki badania podaje się w sposób skrócony, np. próba wykonana na zimno, zapach wyraźnie roślinny, oznacza się — z 3 R; próba na gorąco, zapach słaby gnilny — g 2 G; próba na zimno, zapach wyraźny roślinny i b. słaby gnilny — z (3 R + 1 G).

#### IV. Barwa.

Zabarwienie wody może być wywołane bądź przez barwne związki chemiczne (przeważnie w wodach zanieczyszczonych ściekami fabrycznymi), bądź przez ciała organiczne, wylugowane z gleby, roślin, lub odpadków zwierzęcych i znajdujące się stanie koloidalnym. Zabarwienie drugiego rodzaju jest najbardziej pospolite w wodach użytkowych i często nazywa się zabarwieniem naturalnem wody.

Barwę wody oznacza się w próbie wody pozbawionej całkowicie zawiesin, których obecność utrudnia określenie barwy lub nawet całkowicie zniekształca wynik, o ile zawiesina posiada własne zabarwienie, (pozorna barwa wody). W celu dokładnego usunięcia zawiesiny, należy próbę wody przesączyć przez sącze z bibuły. Przy bardzo drobnej zawieszynie, można użyć filtra Berkefelda. Filtra Pasteura w danym przypadku nie należy stosować, gdyż zatrzymuje on ciała koloidalne, powodujące rzeczywistą barwę wody.

Wody naturalne posiadają przeważnie zabarwienie żółte o różnych odcieniach i natężeniu barwy.

#### OKREŚLANIE BARWY.

Określanie barwy wód naturalnych dokonywa się zwykle przez porównanie próby wody z wzorcami sztucznie przygotowanymi.

Barwę wód sztucznie zanieczyszczonych (np. ścieki przemysłowe) określa się opisowo, lub zapomocą kolorymetru Lovibonda.

Do oznaczania intensywności zabarwienia naturalnego ustalono w Stanach Zjednoczonych wzorce przygotowane z roztworu soli platyny ( $K_2PtCl_6$ ) oraz soli kobaltu ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ), przyczem

za jednostkę barwy przyjęto 1 mg *Pt* w litrze wody w postaci powyższych związków.

Ponieważ odcień zabarwienia wód amerykańskich w przeważającej liczbie wypadków różni się znacznie od odcienia barwy wód polskich, przeto wzorzec ten zmodyfikowano (P. S. H.). A mianowicie przygotowano wzorce z roztworu dwuchromianu potasu i siarczanu kobaltu, biorąc te sole w takich stosunkach, aby wzorce z nich przygotowane odpowiadały intensywnością zabarwienia wzorcom amerykańskim, lecz odcieniem były zbliżone do odcienia barwy wód polskich.

### 1. Przygotowanie wzorców platynowych.

a) Rozpuścić w niewielkiej ilości wody 1.245 g czystego suchego chloroplatynianu potasu  $K_2PtCl_6$  i 1 g czystego krystalicznego chlorku kobaltu  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ , dodać 100 ml kwasu solnego stężonego o c. wł. 1,19 i dopełnić do 1000 ml wodą destylowaną.

Roztwór taki posiada barwę 500.

Z roztworu o barwie 500 przygotować wzorce o barwie 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 i 70, odpowiednio rozcieńczając wodą destylowaną odmierzone ilości tego roztworu.

### 2. Przygotowanie wzorców P. S. H. chromowo-kobaltowych.

a) Rozpuścić 0,1 g suchego dwuchromianu potasu  $K_2Cr_2O_7$  w około 200 ml wody destylowanej i dodać 10 ml stężonego kwasu siarkowego o c. wł. 1,84. Do roztworu tego wlać roztwór przyrządzony przez rozpuszczenie 1,725 g siarczanu kobaltu  $CoSO_4 \cdot 7H_2O$  w 200 ml wody destylowanej z dodatkiem 10 ml stężonego kwasu siarkowego i mieszaninę dopełnić do 1000 ml wodą destylowaną.

Tak przyrządzony roztwór odpowiada barwie 500.

Z tego roztworu przygotować wzorce w sposób następujący:

Do 12 cylindrów Nesslera poj. 100 ml i o  $\varnothing$  25 mm odmierzyć kolejno:

| Nr. cyl. | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X  | XI | XII |
|----------|---|----|-----|----|---|----|-----|------|----|----|----|-----|
| Ilość ml | 0 | 1  | 2   | 3  | 4 | 5  | 6   | 7    | 8  | 10 | 12 | 14  |

roztworu dwuchromianu potasu z siarczanem kobaltu o barwie 500 i zawartość każdego cylindra rozcieńczyć do kreski wodą destylowaną. W ten sposób przygotowane wzorce posiadają barwę:

0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70.

Liczby odpowiadające barwie danego wzorca napisać na cylindrze, nad kreską białą farbą i zamknąwszy cylindry korkami z jasnej gumy, przechowywać w ciemnym miejscu.

### 3. Wykonanie oznaczenia.

Do cylindra Nesslera o takich samych wymiarach jak cylindry wzorcowe nalać do kreski wody badanej zupełnie klarownej i porównywać z wzorcami, patrząc z góry i trzymając cylindry nad białą płytką.

Wynik podaje się w liczbach, odpowiadających ilości  $mg/l$  platyny.

O ile zabarwienie wody badanej nie mieści się w posiadanej skali wzorców, próbę wody należy odpowiednio rozcieńczyć.

## CHEMICZNE BADANIE WODY.

### I. Stężenie jonów wodorowych.

Odczyn każdego roztworu zarówno kwaśnego jak i alkalicznego można wyrażać liczbowo przez stężenie jonów wodorowych.

Stężenie jonów wodorowych zależy od ilości i rodzaju obecnych w roztworze kwasów lub zasad, oraz stopnia ich dysocjacji w danych warunkach, na co wpływają również obecne sole i ciała organiczne.

Stężenie jonów wodorowych wyraża się w gramach na  $l$  roztworu. Ponieważ liczba ta jest bardzo małym ułamkiem dla uproszczenia przyjęto wyrażać stężenie jonów wodorowych  $[H^+]$  w postaci t. zw. wykładnika wodorowego:

$$pH = -\log [H^+], \text{ czyli } [H^+] = 10^{-pH}$$

Jeżeli  $1\text{ g}$  jonów wodorowych zawarty jest w  $100000\text{ l}$  roztworu, to stężenie wynosi:

$$[H^+] = \frac{1}{100\,000} = \frac{1}{10^5} = 10^{-5}$$

zaś

$$pH = -\log 10^{-5} = 5.$$

Roztwory obojętne posiadają  $pH = 7$ .

Roztwory kwaśne posiadają  $pH = 0$  do  $7$ .

Roztwory alkaliczne (zasad)  $pH = 7$  do  $14$ .

Do oznaczania stężenia jonów wodorowych stosowane są metody elektrometryczne i kolorymetryczne.

Niżej podana jest jedna z metod kolorymetrycznych najczęściej stosowana w pracowniach.

#### KOLORYMETRYCZNA METODA KROPELKOWA OZNACZANIA $pH$ .

##### 1. Przygotowanie odczynników.

a) *Macierzyste roztwory wskaźników.* Odważyć dokładnie  $0,1$  g wskaźnika i rozetrzeć (najlepiej w moździerzu agatowym) z podaną w tablicy (I) ilością  $\frac{n}{20}$  roztworu wodorotlenku sodu. Gdy barwnik się rozpuści, otrzymany roztwór rozcieńczyć do  $25$  ml wodą destylowaną, świeżo przygotowaną i ostudzoną.

T A B L I C A I.

Wskaźniki oraz ilość  $\frac{n}{20}$  roztworu wodorotlenku sodowego, potrzebna do rozpuszczenia  $0,1$  g odpowiedniego barwnika.

| Nazwa handlowa               | Nazwa chemiczna                        | Skala<br>$pH$ | B a r w a |        | $\frac{20}{n}$ NaOH<br>ml |
|------------------------------|----------------------------------------|---------------|-----------|--------|---------------------------|
|                              |                                        |               | kwas      | zas.   |                           |
| Czerwień bromo-<br>krezolowa | Dwubromo-orto-<br>krezol-sulfoftaleina | 5,2—6,8       | żółt.     | purp.  | 3,7                       |
| Błękit bromo-<br>tymolowy    | Dwubromotymol<br>sulfoftaleina         | 6,2—7,8       | żółt.     | nieb.  | 3,2                       |
| Czerwień<br>fenolowa         | Fenolsulfoftaleina                     | 6,8—8,4       | żółt.     | czerw. | 5,7                       |
| Czerwień<br>krezolowa        | Orto-krezolo-<br>sulfoftaleina         | 7,2—8,8       | żółt.     | czerw. | 5,3                       |

b) *Rozcieńczone roztwory wskaźników.* Poodmierzać do oddzielnych kolb miarowych na 100 ml następujące ilości macierzystych roztworów wskaźników (a):

do kolby I — 5 ml czerwieni fenolowej,  
„ „ II — 5 „ „ krezolowej,  
„ „ III — 10 „ błękitu bromo-tymolowego,  
„ „ IV — 10 „ czerwieni bromo-krezolowej, i zawartość każdej kolby dopełnić do kreski wodą destylowaną świeżo przegotowaną i ostudzoną. W ten sposób przyrządzone roztwory przelać do flaszeczek ze szkła ciemnego, zaopatrzonych w szczelnie dopasowane korki z pipetkami.

c) *Wodorotlenek sodu, roztwór  $\frac{n}{20}$ ,*

d) *Kwas solny, roztwór  $\frac{n}{20}$ .*

## 2. Przygotowanie wzorców.

Dobrać 22 lub więcej jednakowych probówek o  $\varnothing$  15—16 mm z obojętnego szkła bezbarwnego.

Na każdej probówce oznaczyć kreską objętość 10 ml i ustawić 18 probówek we dwa rzędy parami. Do każdej z 9 probówek I rzędu dodać po 1 kropli  $\frac{n}{20}$  wodorotlenku sodowego i następnie kolejno po 1, 2, 3 i t. d. aż do 9 kropli wskaźnika wybranego. Do każdej probówki II rzędu dodać po 1 kropli  $\frac{n}{20}$  kwasu solnego i następnie kolejno 9, 8, 7 itd. kropli tego samego wskaźnika, którego dodawano do szeregu alkalicznego.

Następnie wszystkie probówki dopełnić do 10 ml wodą destylowaną wolną od  $\text{CO}_2$ . Probówki ustawić w podstawce parami po 1 „zasadowej“ i jednej „kwaśnej“ tak, by każda para zawierała łącznie 10 kropli tego samego wskaźnika. Na każdej probówce takiej pary nalepić kartkę z Nr. kolejnym oraz liczbę  $pH$  jakiemu dana para odpowiada. Probówki należy szczelnie zatkać korkami wygotowanymi w parafinie (na gorąco)<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Na powierzchnię cieczy w probówce wlać 1 ml oleju parafinowego, poczem zakorkować, jak podano wyżej.

W sposób powyższy przygotować wzorce z następujących wskaźników, podanych w tab. II.

T A B L I C A II.

| Ilość kropli wskaźnika                 |                                       | Wartość $pH$ odpowiadająca parom probówek zawierającym: |                               |                      |                       |
|----------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------------------|-------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Probówki<br>z<br>$\frac{n}{20}$ $NaOH$ | Probówki<br>z<br>$\frac{n}{20}$ $HCl$ | Czerwień<br>bromo-kre-<br>zolową                        | Błękit<br>bromo-tymo-<br>lowy | Czerwień<br>fenolową | Czerwień<br>krezolową |
| 1                                      | 9                                     | 5,3                                                     | 6,1                           | 6,75                 | 7,15                  |
| 2                                      | 8                                     | 5,7                                                     | 6,5                           | 7,1                  | 7,5                   |
| 3                                      | 7                                     | 5,9                                                     | 6,7                           | 7,3                  | 7,7                   |
| 4                                      | 6                                     | 6,1                                                     | 6,9                           | 7,5                  | 7,9                   |
| 5                                      | 5                                     | 6,3                                                     | 7,1                           | 7,7                  | 8,1                   |
| 6                                      | 4                                     | 6,5                                                     | 7,3                           | 7,9                  | 8,3                   |
| 7                                      | 3                                     | 6,7                                                     | 7,5                           | 8,1                  | 8,5                   |
| 8                                      | 2                                     | 6,9                                                     | 7,7                           | 8,3                  | 8,7                   |
| 9                                      | 1                                     | 7,2                                                     | 8,05                          | 8,65                 | 9,05                  |

### 3. Wykonanie oznaczenia.

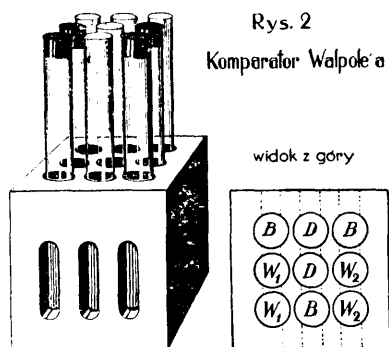
Ponieważ  $pH$  wód naturalnych najczęściej zawarte jest w granicach 6,5 do 8,5 przeto do określania  $pH$  przeważnie używana jest skala wzorców przygotowanych z błękitu bromo-tymolowego.

W celu oznaczenia  $pH$  należy odmierzyć do probówki (o średnicy około 16 mm), 10 ml badanej wody i dodać 10 kropli wskaźnika.

Następnie w komparatorze Walpole'a, jak podano na rys. 2, ustawić w otworze oznaczonym  $Bx^1)$ , probówkę z wodą badaną z dodatkiem 10 kropli wskaźnika, w  $B$  po 1 probówce z wodą badaną bez wskaźnika i w  $D$  po 1 probówce z wodą destylowaną.

<sup>1)</sup> W pierwszym szeregu, pomiędzy  $W_1$  —  $W_2$ .

Do otworów  $W_1 - W_1$  oraz  $W_2 - W_2$  wstawiać parami wzorce przygotowane ze wskaźnika użytego do badania i porównywać zabarwienie, patrząc przez boczne otwory komparatora.



Przez dobór odpowiednich wzorców, ustalić  $pH$  wody badanej. O ile probówka z wodą badaną posiada zabarwienie pośrednie pomiędzy dwiema sąsiednimi parami wzorców tej samej skali należy wziąć wynik średni.

W przypadku zaś, gdy zabarwienie w probówce z wodą badaną po dodaniu wskaźnika nie odpowiada (odcieniem) żadnej parze wzorców skali przygotowanej z tegoż barwnika, należy użyć innej skali, zmieniając jednocześnie próbkę wody.

## II. Sucha pozostałość, ciała rozpuszczone i zawieszone w wodzie.

Ciała stałe mogą znajdować się w wodzie w postaci zawieszonej i rozpuszczonej.

Ogólną ilość ciał stałych w wodzie oznacza się przez odparowanie wody badanej i wysuszenie pozostałości w temperaturze  $+ 110^{\circ} C$ . Wynik przelicza się w  $mg$  na  $l$  wody i podaje jako suchą pozostałość.

Pozostałość po odparowaniu wody przesączonej, wysuszona w  $110^{\circ} C$  przeliczona w  $mg$  na  $l$  wody badanej podaje się jako ciała rozpuszczone; różnicę pomiędzy suchą pozostałością a ciałami rozpuszczonymi oznacza się jako zawiesinę. Po wyprażeniu suchej pozostałości w temperaturze ciemno-czerwonego żaru (ok.  $550^{\circ} C$ ) otrzymuje się t. zw. pozostałość po prażeniu, po wyprażeniu ciał rozpuszczonych — ciała rozpuszczone mineralne, zawiesin — zawiesiny mineralne<sup>1)</sup>.

Stratę wynikłą wskutek prażenia suchej pozostałości nazwano stratą przy prażeniu, ciał rozpuszczonych — ciałami roz-

<sup>1)</sup> Pozostałość po prażeniu wykazuje ilość mineralnych ciał nielotnych.

puszczonemi lotnemi i wreszcie stratę w zawiesinie — z a-  
wiesinami lotnemi<sup>1)</sup>).

Jak wynika z poprzedniego, dla oznaczenia poszczególnych  
rodzajów substancyj stałych, wystarczy wykonać tylko 4 oznacze-  
nia, inne zaś wyliczyć według załączonego schematu:

|                            |   |                                 |   |                        |
|----------------------------|---|---------------------------------|---|------------------------|
| Sucha pozostałość          | = | Ciała rozpuszczone              | + | Zawiesiny              |
|                            |   |                                 |   |                        |
| Pozostałość<br>po prażeniu | = | Ciała rozpuszczone<br>mineralne | + | Zawiesiny<br>mineralne |
| +                          |   | +                               |   | +                      |
| Strata przy<br>prażeniu    | = | Ciała rozpuszczone<br>lotne     | + | Zawiesiny<br>lotne     |

#### 1. Oznaczenie suchej pozostałości.

Parowniczkę porcelanową lub kwarcową (najlepiej platynową)  
pojemności około 100 ml wyprażyć w temperaturze ciemno-czer-  
wonego żaru i po ostudzeniu w eksykatorze (około 30 minut),  
zważyć na wadze analitycznej. W celu sprawdzenia wagi par-  
owniczkę, prażenie należy powtórzyć i zważyć powtórnie. Po osią-  
gnięciu stałej wagi, parowniczkę ustawić na wrzącej łaźni wodnej.  
Odmierzyć w kolbie lub cylindrze miarowym 100 lub 200 ml wody  
badanej, uprzednio dobrze skłóconej i odparować stopniowo na  
parownicy. (Wody należy dolewać tyle, aby od krawędzi do po-  
wierzchni cieczy w parownicy pozostawało około 2 cm).

Naczynie w którym odmierzone próbę należy po opróżnieniu  
popłókać kilkakrotnie wodą destylowaną i dołączyć do cieczy  
w parownicze.

Po odparowaniu do sucha, wytrzeć zewnętrzną stronę pa-  
rowniczki bibułą zwilżoną rozcieńczonym kwasem solnym (około

<sup>1)</sup> Strata przy prażeniu wykazuje zawartość związków organicznych i mine-  
ralnych lotnych.

1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>), następnie bibułą zwilżoną wodą destylowaną i wreszcie suchą czystą ściereczką, poczem parowniczkę wstawić do suszarki, suszyć przez trzy godziny w temperaturze 110° C i po ostudzeniu w eksykatorze, zważyć na wadze analitycznej.

Ze względu na dużą hygroskopijność suchej pozostałości, pierwsze ważenie, trwające z reguły dłużej, jest niedokładne, dlatego suszenie należy powtórzyć i po godzinie suszenia oraz ostudzeniu w eksykatorze, zważyć powtórnie szybko.

Waga osadu wyrażona w *mg* po przeliczeniu na 1 l wody badanej, podaje się jako *sucha pozostałość*

## 2. Pozostałość po prażeniu.

Parowniczkę z suchą pozostałością umieścić na trójkącie kwarcowym (lub w piecu elektrycznym) i lekko prażyć w temperaturze ciemno - czerwonego żaru (około 550° C), posługując się palnikiem Bunzena z nasadzonym grzybkim.

Po zupełnem usunięciu substancyj organicznych i lotnych ostudzić i zwilżyć zawartość parowniczkę wodą nasyconą dwutlenkiem węgla. Wodę ostrożnie odparować, parowniczkę umieścić w suszarce i suszyć przez 3 godziny w temperaturze 110° C. Poczem wstawić do eksykatora i po ostudzeniu zważyć w sposób podany wyżej.

Wagę pozostałości przeliczyć w *mg* na 1 l wody i podać jako *pozostałość po prażeniu*.

## 3. Ciała rozpuszczone.

Substancje rozpuszczone w wodzie mogą być oznaczone bezpośrednio przez odparowanie wody pozbawionej zawieszin lub też obliczone pośrednio z różnicy między suchą pozostałością i zawiesiną.

## 4. Oznaczenie zawiesiny zapomocą tygla Goocha.

### a) Przygotowanie tygla Goocha.

Włókna azbestowe uprzednio dobrze rozdzielone i wyprażone zalać czystym stężonym kwasem solnym i pozostawić na 12 godzin. Następnie zlać kwas z nad osadu, przemyć osad kilkakrotnie,

przez dekantację wodą destylowaną i wreszcie przemywać na sączku wodą destylowaną, aż do zaniku reakcji na *Cl* w przesączu. W ten sposób można przygotować większą ilość papki azbestowej na dłuższy okres czasu.

Z papki takiej na dnie tygla Gooch'a przygotować warstwę filtracyjną grubości conajmniej 3 mm, odsączając pewną ilość zawieszoną w wodzie papki przez tygiel osadzony w kolbie ssawkowej połączonej z pompą wodną. Poczem przemyć tygiel kilkakrotnie wodą destylowaną, dobrze odciągnąć wodę, tygiel dobrze wytrzeć zewnątrz, wysuszyć w suszarce, potem lekko wyprażyć w ciemno-czerwonym żarze i po ostudzeniu w eksykatorze zważyć.

b) Wykonanie oznaczenia.

Przez zważony tygiel Goocha przesączyć zapomocą pompy wodnej (próżniowej) 250 lub 500 ml wody badanej. Po dokładnem odsączeniu cieczy, przemyć osad dwa—trzy razy wodą destylowaną, wytrzeć tygiel z zewnątrz czystą ściereczką i suszyć w suszarce w temperaturze 110° C w ciągu trzech godzin. Wysuszoną zawiesinę zważyć wraz z tygłem na wadze analitycznej. Przyrost na wadze przeliczony w mg/l wody badanej podać jako *zawiesinę*.

### 5. Zawiesina mineralna.

Zważony tygiel Goocha wraz z zawiesiną prażyć łagodnie w temperaturze ciemno-czerwonego żaru, w celu usunięcia części lotnych zawiesiny i po ostudzeniu w eksykatorze zważyć na wadze analitycznej. Ze względu na wielką hygroskopijność osadu, prażenie i ważenie należy powtórzyć, przyczem ostatnie ważenie nie powinno trwać dłużej niż  $\frac{1}{2}$  minuty.

Pozostałość przeliczona w mg na l wody badanej, oznacza *zawiesinę mineralną*.

### III. Azotany.

Azotany spotykane w wodzie pochodzą głównie z rozkładu azotowych ciał organicznych, jako końcowy produkt mineralizacji. W pewnych wypadkach azotany w wodzie mogą być pochodzenia mineralnego, np. z gleby nawożonej nawozami sztucznymi, z naturalnych pokładów soli azotowych i t. p.

Przy ocenie sanitarnej wody należy brać pod uwagę pochodzenie azotanów.

Azotany należy oznaczać w próbie wody świeżo pobranej, lub odpowiednio zabezpieczonej.

## OZNACZANIE AZOTANÓW.

(Modyfikacja metody Grandwala-Lajoux).

### 1. Przygotowanie odczynników.

#### a) *Kwas fenolo-dwusulfonowy.*

Rozpuścić w kolbie Kjeldahla pojemności około 300 ml 25 g czystego białego fenolu  $C_6H_5OH$  w 150 ml czystego stężonego kwasu siarkowego (c. wł. 1.84), dodać 75 ml kwasu siarkowego dymiącego o zawartości 15%  $SO_3$ , dobrze wymieszać i zamknąć korkiem, przez który przechodzi rurka szklana długości 40 cm wyciągnięta na zewnętrznym końcu kapilarnie. Późem ustawić na łaźni wodnej i ogrzewać w ciągu 2 godzin, mieszając od czasu do czasu zawartość kolby.

Po ostudzeniu odczynnik przelać do czystej flaszki ze szkła ciemnego, szczelnie zamknąć korkiem szklanym.

W ten sposób przygotowany odczynnik chroniony od wilgoci i światła powinien być prawie bezbarwny.

#### b) *Roztwór wodorotlenku potasu.*

Rozpuścić 170 g czystego wodorotlenku potasu  $KOH$  w wodzie destylowanej i rozcieńczyć do 250 ml wodą destylowaną.

Około 6 ml tego roztworu zobojętnia 2 ml kwasu fenolo-dwusulfonowego (a).

#### c) *Mianowany roztwór azotanu potasu.*

Rozpuścić w wodzie destylowanej 0.7216g czystego azotanu potasu  $KNO_3$  i w miarowej kolbie litrowej dopełnić do kreski wodą destylowaną.

Odmierzyć pipetą 50 ml tego roztworu do parownicy i odparować do sucha na łaźni wodnej. Otrzymaną pozostałość na parownicze szybko i dokładnie zwilżyć zapomocą 2 ml kwasu fenolo-

dwusulfonowego (a), poczem ostrożnie rozcieńczyć wodą destylowaną do objętości około 70 ml wymieszać i zlać do kolby miarowej na 500 ml, spłukując parowniczkę kilka razy wodą destylowaną. Zawartość kolby rozcieńczyć do kreski wodą destylowaną. 1 ml powyższego roztworu zawiera 0,01 mg  $N_{NO_3}$  lub 0,04427 mg  $NO_3$ .

Roztwór należy przechowywać w naczyniu szczelnie zamkniętem i chronić od światła słonecznego.

d) *Mianowany roztwór siarczanu srebra.*

Rozpuścić w wodzie destylowanej 4,397 g czystego siarczanu srebra  $Ag_2SO_4$  i rozcieńczyć do 1000 ml w miarowej kolbie litrowej

1 ml tego roztworu odpowiada 1 mg Cl, co należy sprawdzić zapomocą NaCl sposobem podanym przy oznaczaniu chlorków zapomocą  $AgNO_3$  (patrz IX,1).

2. Wykonanie oznaczenia.

Przed przystąpieniem do oznaczenia azotanów, należy uprzednio oznaczyć chlorki, zasadowość i barwę. O ile woda badana posiada barwę wyżej 15, należy ją odbarwić zapomocą węgla aktywnego lub wodorotlenku glinu; jeżeli zawartość chlorków przekracza 30 mg/l Cl', należy je usunąć zapomocą  $Ag_2SO_4$ .

Do 100 ml odbarwionej wody dodać tyle mianowanego roztworu siarczanu srebra, aby strącić chlorki uprzednio oznaczone. Zawartość kolby dobrze wymieszać i pozostawić na kilka minut. Poczem przesączyć przez podwójny ilościowy sączeek z gęstej bibuły do parowniczk i osad kilkakrotnie przemyć wodą destylowaną. Do przesączu w parowniczkce dodać tyle ml kwasu siarkowego ile zużyto tegoż kwasu na 100 ml tej wody przy oznaczaniu zasadowości i zawartość parowniczkki odparować do sucha. O ile woda badana jest bezbarwna oraz nie zawiera dużo chlorków, należy wprost odmierzyć do parowniczkki 100 ml lub mniejszą ilość wody i po zobojętnieniu zasadowości odparować do sucha.

Pozostałość po odparowaniu zadać 2 ml kwasu fenolo-dwusulfonowego (a), dobrze zwilżyć osad pocierając bagietką i ostrożnie rozcieńczyć wodą destylowaną do objętości około 70 ml. Poczem dodać tyle ługu (b), aż wystąpi maksymalne żółte zabarwienie. Zwykle używa się około 6 ml 12 n KOH (b).

Zawartość parowniczkę dobrze wymieszać, zlać bez strat do cylindra Nesslera  $\varnothing$  około 30 mm na 100 ml i dopełnić do kreski wodą destylowaną.

Jednocześnie do szeregu takich samych cylindrów, odmierzyć kolejno:

0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0; 3,0; 5,0; 10 i 20 ml

mianowanego roztworu azotanu (c). Zawartość każdego cylindra rozcieńczyć wodą destylowaną mniej więcej do połowy, dodać po 2 ml roztworu KOH (b) i dopełnić do kreski wodą destylowaną.

W ten sposób przygotowane wzorce zawierają kolejno:

0,001; 0,003; 0,005; 0,007; 0,01; 0,03; 0,05; 0,1 i 0,2 mg  $N_{NO}$  w próbce i służą do porównywania z próbą wody badanej.

Wzorce te mogą być używane w ciągu 2 tygodni.

### 3. Obliczenie wyników oznaczenia.

Przez porównanie zabarwienia w cylindrze z próbą wody badanej z wzorcem o takim samym zabarwieniu, ze znaną ilością  $N_{NO}$ , otrzymuje się ilość mg  $N_{NO}$  w próbce. Wynik ten należy przeliczyć na 1 l wody badanej, mnożąc przez 10, jeżeli użyto 100 ml wody do odparowania i podać jako  $N_{NO}$ , mg/l.

## IV. Azotyny.

Azotyny w wodzie mogą być pochodzenia organicznego lub mineralnego.

Przeważnie powstają na skutek procesów biologicznych z amoniaku, rzadziej przez redukcję azotanów.

Mogą pochodzić z opadów atmosferycznych oraz zanieczyszczeń przemysłowych.

Ze względu na szybki proces dalszej przemiany azotynów w wodzie, należy oznaczać azotyny w próbce świeżo pobranej lub odpowiednio utrwalonej.

## OZNACZANIE AZOTYNÓW.

Ponieważ oznaczenie azotynów ma duże znaczenie dla oceny wody zaleca się stosowanie metody, pozwalającej wykryć bardzo

małe ilości azotynów. W tym celu najlepiej stosować metodę Griessa.

## 1. Przygotowanie odczynników.

### a) *Mianowany roztwór azotynu sodu.*

Rozpuścić w miarowej kolbie litrowej 1,1 g czystego przekryształowanego azotynu srebra  $AgNO_2$  w 250 ml gorącej wody destylowanej. Strącić srebro, dodając roztworu chlorku sodu  $NaCl$ , po ostudzeniu dopełnić do kreski wodą destylowaną, wymieszać i pozostawić aż osad opadnie.

Odmierzyć 100 ml klarownego roztworu do miarowej kolby litrowej i dopełnić wodą destylowaną do kreski. Z tego znowu odmierzyć 50 ml do miarowej kolby litrowej i rozcieńczyć do 1 l.

1 ml roztworu w ten sposób przygotowanego zawiera 0,0005 mg azotu w postaci azotynu ( $N_{NO_2}$ ).

Roztwór należy przechowywać w ciemnym naczyniu, szczelnie zamkniętem. Wskazaniem jest dodać 1 ml chloroformu.

### b) *Roztwór kwasu sulfanilowego.*

Rozpuścić 8 g najczystsze go kwasu sulfanilowego w 1 l kwasu octowego o c. wł. 1,041.

Roztwór porozlewać do flaszek po 250 ml, zamknąć i zalać parafiną.

### c) *Roztwór $\alpha$ -naftyłaminy.*

Rozpuścić 0,5 g stałej bezbarwnej  $\alpha$ -naftyłaminy w 100 ml kwasu octowego j. w. i przesączyć przez czystą bibułę.

Roztwór przelać do ciemnej flaszeczki i przechowywać szczelnie zamknięty.

Roztwór  $\alpha$ -naftyłaminy jest nietrwały i należy go często zmieniać. Nie powinien być wyraźnie różowy.

## 2. Wykonanie oznaczenia.

Do cylindra Nesslera na 100 ml wlać 100 ml wody badanej, lub mniejszą ilość rozcieńczoną do 100 ml wodą destylowaną. Jeśli woda posiada barwę wyżej 20, należy ją odbarwić zapomocą wodorotlenku glinu lub węgla aktywnego.

Równocześnie należy przygotować w takich samych cylindrach Nesslera szereg wzorców.

W tym celu odmierzyć kolejno do cylindrów:

0,0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,4; 2,0; 2,8; 3,4 *ml*,

mianowanego roztworu azotynu i dopełnić do kreski wodą destylowaną.

Wzorce odpowiadają kolejno niżej podanym ilościom azotu azotynów, w przeliczeniu na 1 *l*.

0,000; 0,001; 0,002; 0,004; 0,007; 0,010; 0,014 i 0,017 *mg*

Następnie do cylindra z wodą badaną i do cylindrów z wzorcami dodać po 1 *ml* roztworu kwasu sulfanilowego (*b*) i bezpośrednio po tem po 1 *ml* roztworu  $\alpha$ -naftylaminy (*c*). Zawartość cylindrów należy dobrze wymieszać i po 10 minutach porównać zabarwienie powstałe w cylindrze z wodą badaną z zabarwieniem powstałym w cylindrach wzorcowych w sposób podany wyżej.

Jeśli zabarwienie próby wody jest silniejsze od wzorca najwyższego, należy wziąć mniejszą ilość wody, rozcieńczyć do 100 *ml* i powtórzyć oznaczenie. Wynik otrzymany pomnożony przez stopień rozcieńczenia wyraża *mg/l*  $N_{NO_2}$ .

Jeśli do oznaczenia użyto 100 *ml* wody badanej, wynik uzyskany z porównania wyraża wprost ilość *mg* azotu azotynowego na 1 *l* wody badanej (*mg/l*  $N_{NO_2}$ ).

### 3. Przygotowanie wzorców stałych.

Zamiast każdorazowo przygotowujących wzorców z mianowanego azotynu, można przygotować wzorce, które są trwałe w ciągu kilku miesięcy.

#### a) Roztwór chlorku kobaltu.

Rozpuścić 24 *g* czystego chlorku kobaltu  $CoCl_2$ . 6  $H_2O$  w niewielkiej ilości wody, dodać 100 *ml* kwasu solnego o c. wł. 1,19 i dopełnić w miarowej kolbie litrowej do kreski.

#### b) Roztwór chlorku miedzi.

Rozpuścić 12 *g* chlorku miedzi  $CuCl_2$ . 2  $H_2O$  w małej ilości wody, dodać 100 *ml* kwasu solnego o c. wł. 1,19 i rozcieńczyć w kolbie miarowej do 1 *l* wodą destylowaną.

Do siedmiu cylindrów Nesslera na 100 ml odmierzyć według podanej tablicy III następujące ilości roztworów  $a$  i  $b$  i dopełnić do 100 ml wodą destylowaną.

T A B L I C A III.

| n.<br>l. | Ilość ml<br>roztworu<br>$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | Ilość ml<br>roztworu<br>$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | Odpowiada zabar-<br>wieniu po rozcień.<br>wodą dest. do<br>kreski mg/l |
|----------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
|          | $a$                                                               | $b$                                                               | $N_{\text{NO}_2}$                                                      |
| 1        | 0                                                                 | 0                                                                 | 0,000                                                                  |
| 2        | 0,6                                                               | 1,1                                                               | 0,001                                                                  |
| 3        | 1,7                                                               | 3,0                                                               | 0,003                                                                  |
| 4        | 2,6                                                               | 5,0                                                               | 0,005                                                                  |
| 5        | 3,5                                                               | 6,8                                                               | 0,007                                                                  |
| 6        | 4,3                                                               | 7,5                                                               | 0,010                                                                  |
| 7        | 6,0                                                               | 7,5                                                               | 0,015                                                                  |

Wzorce w ten sposób przygotowane należy ochronić od kurzu i światła. Należy sprawdzać je co pewien czas przy pomocy świeżo przygotowanych wzorców niestálych.

### V. Amonjak.

Amonjak w wodzie naturalnej może być pochodzenia organicznego, jako produkt rozkładu ciał białkowych (roślin lub zwierzęcych odpadków), lub też pochodzenia mineralnego, czasami spotykany w wodach wglębnych.

Amonjak w wodach naturalnych występuje przeważnie w postaci soli amonowych.

### OZNACZANIE AMONIAKU W WODZIE.

Metody wykrywania oraz ilościowego oznaczania amonjaku w wodzie są oparte na jego lotności w temperaturze wrzenia wody, oraz na reakcji barwnej, jaką daje amonjak z odczynnikami Nesslera

## 1. Przygotowanie odczynników.

### a) Woda wolna od amonjaku.

Wodę wolną od amonjaku otrzymuje się przez destylację wody destylowanej z dodatkiem sody.

Do naczynia destylacyjnego połączonego z chłodnicą, nalać wody destylowanej i dodać 1 ml nasyconego roztworu sody  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  na każdy litr wody. Pierwsze porcje destylatu odrzucić, jak zawierające amonjak. Dopiero po oddestylowaniu około  $\frac{1}{5}$  całej objętości, zbierać destylat do oddzielnego czystego naczynia. Destylację należy przerwać po oddestylowaniu  $\frac{3}{4}$  pierwotnej objętości cieczy. Woda w ten sposób przygotowana nie powinna dawać zabarwienia z odczynnikiem Nesslera.

### b) Odczynnik Nesslera.

W miarowej kolbie litrowej rozpuścić 50 g czystego jodku potasowego  $\text{KI}$  w około 50 ml wody destylowanej i wolnej od amonjaku. Do tego roztworu dodawać stopniowo nasyconego roztworu chlorku rtęci  $\text{HgCl}_2$ , pod wpływem którego powstaje żółto-czerwony osad, szybko się rozpuszczający. W miarę dalszego dodawania chlorku rtęci, osad rozpuszcza się coraz wolniej. Dla uniknięcia większego nadmiaru  $\text{HgCl}_2$  roztwór chlorku rtęci dodawać przy końcu kroplami, do chwili wytworzenia się małej ilości osadu, nierozpuszczającego się nawet po dłuższym mieszaniu. Późem dodać 400 ml 50% roztworu wodorotlenku potasu  $\text{KOH}$  (w wodzie destylowanej wolnej od amonjaku), dopełnić kolbę do kreski wodą wolną od amonjaku i pozostawić w ciemnym miejscu na 2—3 dni, aż do zupełnego opadnięcia osadu. Następnie ciecz z nad osadu ściągnąć ostrożnie lewarkiem lub wprost pipetą do ciemnej flaszki i przechowywać w naczyniu zamkniętem.

### c) Mianowany roztwór chlorku amonu.

Rozpuścić 3,819 g wysuszonego w temp.  $100^\circ\text{C}$  czystego chlorku amonu  $\text{NH}_4\text{Cl}$  w wodzie wolnej od amonjaku i dopełnić do 1000 ml wodą destylowaną wolną od amonjaku. Odmierzyć

10 ml tego roztworu do miarowej kolby litrowej i dopełnić do kreski wodą wolną od  $NH_3$ . 1 ml tego roztworu zawiera 0,01 mg azotu amonowego ( $N_{NH_4}$ ) lub 0,01215 mg  $NH_3$ .

d) *Roztwór fosforanów potasu.*

Rozpuścić 14,3 g jednozasadowego fosforanu potasu  $KH_2PO_4$  i 90,15 g dwuzasadowego fosforanu potasu  $K_2HPO_4 \cdot 3 H_2O$  w wodzie destylowanej wolnej od amonjaku i w miarowej kolbie litrowej dopełnić do kreski.

2. Wykonanie oznaczenia.

Do oznaczenia bierze się normalnie 500 ml wody badanej, lub w razie większej zawartości amonjaku w wodzie, ilość odpowiednio mniejszą np. 250, 100, 50, 25, 10 ml i dopełnia w kolbie destylacyjnej do 500 ml wodą destylowaną wolną od amonjaku.

Próbę wody wlać do kolby, połączonej z chłodnicą Liebiga lub aparatu destylacyjnego Kjeldahla. Przedtem jednak należy z aparatu destylacyjnego usunąć ślady amonjaku.

Wtedy do kolby opróżnionej z pozostałości, wlać 500 ml wody badanej, jeśli trzeba odpowiednio rozcieńczonej dodać 10 ml roztworu fosforanów potasu i destylować równomiernie, zbierając destylat do 5 cylindrów Nesslera na 50 ml. W wypadku gdy woda badana zawiera znaczne ilości amonjaku, wskazanem jest zbierać destylat do kolby miarowej na 250 ml.

Jednocześnie w czasie destylacji należy przygotować wzorce z mianowanego roztworu chlorku amonu.

W tym celu do 16 cylindrów Nesslera na 50 ml odmierzyć kolejno następujące ilości ml roztworu chlorku amonu (c):

0,0; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0; 1,4; 1,7; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 6,0.  
i rozcieńczyć do kreski wodą destylowaną wolną od amonjaku.

Przygotowane w ten sposób wzorce zawierają kolejno następujące ilości mg azotu amonowego ( $N_{NH_4}$ ):

0,000, 0,001, 0,003, 0,005, 0,007, 0,01, 0,014, 0,017, 0,020, 0,025,  
0,030, 0,035, 0,040, 0,045, 0,050, 0,060.

Do wzorców oraz destylatu zebranego do takich samych cylindrów jak wzorce, dodać po 1 ml odczynnika Nesslera i po upływie 10 minut porównać zabarwienie prób z zabarwieniem wzorców.

O ile destylat był zbierany do kolby miarowej, należy z niego odmierzyć właściwą ilość, zależnie od przypuszczalnej ilości ( $N_{NH_4}$ ) do cylindra Nesslera na 50 ml, rozcieńczyć do kreski wodą wolną od amonjaku, dodać 1 ml odczynnika Nesslera i po 10 minutach porównać z wzorcami. Otrzymany wynik pomnożyć przez stopień rozcieńczenia.

Sumaryczną ilość amonjaku ( $N_{NH_4}$ ) oznaczoną we wszystkich pięciu cylindrach Nesslera, lub obliczoną w przypadku, gdy destylat zbierano do kolby miarowej, przeliczyć na 1 l wody badanej i podać jako  $N_{NH_4}$ , mg/l.

### 3. Przygotowanie wzorców stałych.

Zamiast przygotowywać wzorce w chlorku amonu przy każdorazowym oznaczeniu można przygotować wzorce, które są trwałe w ciągu kilku miesięcy. Do przygotowania wzorców stałych należy użyć roztworu dwuchromianu potasu, oraz roztworu siarczanu kobaltu.

#### a) *Roztwór dwuchromianu potasu.*

Rozpuścić 1 g czystego wysuszonego w 130°C. dwuchromianu potasu  $K_2Cr_2O_7$  w niewielkiej ilości wody destylowanej, dodać 20 ml stężonego kwasu siarkowego (c. wł. 1,84) i w miarowej kolbie litrowej dopełnić do kreski wodą destylowaną.

#### b) *Roztwór siarczanu kobaltu.*

Rozpuścić 28,34 g czystego krystalicznego siarczanu kobaltu  $CoSO_4 + 7H_2O$  w niewielkiej ilości wody destylowanej, dodać 20 ml stężonego kwasu siarkowego (c. wł. 1,84) i w miarowej kolbie litrowej dopełnić do kreski wodą destylowaną.

Z roztworu *a* i *b* przygotować wzorce w 50 ml cylindrach Nesslera, w/g Tablicy IV.

T A B L I C A IV.

| №<br>Lp. | Ilość ml<br>$K_2Cr_2O_7$<br>w 50 ml cyl. | Ilość ml<br>$CoSO_4$<br>w 50 ml cyl. | Odpowiada<br>mg $N_{NH_4}$ |
|----------|------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| 1        | 2                                        | 3                                    |                            |
| 1        | 0,05                                     | —                                    | 0,000                      |
| 2        | 0,20                                     | —                                    | 0,001                      |
| 3        | 0,3                                      | 0,1                                  | 002                        |
| 4        | 0,5                                      | 0,25                                 | 004                        |
| 5        | 0,7                                      | 0,4                                  | 006                        |
| 6        | 0,9                                      | 0,5                                  | 008                        |
| 7        | 1,05                                     | 0,75                                 | 010                        |
| 8        | 1,6                                      | 1,1                                  | 015                        |
| 9        | 1,7                                      | 1,2                                  | 017                        |
| 10       | 2,05                                     | 1,5                                  | 020                        |
| 11       | 2,1                                      | 2,1                                  | 025                        |
| 12       | 3,5                                      | 2,9                                  | 030                        |
| 13       | 3,2                                      | 3,75                                 | 035                        |
| 14       | 3,08                                     | 4,2                                  | 040                        |
| 15       | 3,8                                      | 4,3                                  | 045                        |
| 16       | 3,8                                      | 4,8                                  | 050                        |

U w a g a: Po każdorazowym przygotowaniu odczynnika Nesslera należy przygotować wzorce niestałe i porównać z nimi wzorce stałe. W razie potrzeby, doprowadzić zabarwienie wzorców stałych do zabarwienia wzorców z chlorku amonu, zmieniając ilości roztworów *a* i *b*.

Do oznaczania należy używać tego samego odczynnika Nesslera którego używano do sprawdzania wzorców stałych.

## VI. Azot albuminowy.

Azotem albuminowym w wodzie przyjęto nazywać tę część azotu organicznego, która się wydziela w postaci amonjaku z substancyj organicznych pod działaniem alkalicznego roztworu nadmanganianu potasu, w temperaturze wrzenia roztworu.

Stosunek azotu albuminowego do azotu organicznego (Kjeldahla) jest zmienny i zależny od stopnia i rodzaju zanieczyszczenia wody.

### OZNACZANIE AZOTU ALBUMINOWEGO.

#### 1. Przygotowanie odczynników.

##### a) *Alkaliczny roztwór nadmanganianu potasu.*

W parownicy porcelanowej o pojemności około 3 l gotować w ciągu 10 minut 1200 ml wody destylowanej, ażeby uwolnić od amonjaku. Następnie do tej wody dodać 16 g czystego nadmanganianu potasu  $KMnO_4$  i mieszać, aż nadmanganian się rozpuści, poczem dodać 800 ml około 9 n klarownego roztworu wodorotlenku potasowego (400 g  $KOH$  w 800 ml  $H_2O$ ). Zawartość parownicy rozcieńczyć wodą destylowaną do objętości około 2500 ml i następnie stężyć przez ogrzewanie do 2 l.

Po ostygnięciu płyn zlać do ciemnego czystego naczynia i zamknąć suchym czystym korkiem gumowym.

W 50 ml tak przygotowanego odczynnika oznaczyć amonjak metodą destylacji i nessleryzacji. Otrzymaną z tego oznaczenia ilość azotu amonowego należy zawsze uwzględnić przy obliczaniu rezultatów otrzymywanych zapomocą tego odczynnika.

#### 2. Wykonanie oznaczenia.

Do kolby destylacyjnej z pozostałością po odpędzeniu amonjaku (V, 2) dodać 50 ml alkalicznego roztworu nadmanganianu potasu i destylować, zbierając destylat kolejno do 5 cylindrów Nesslera, lub do kolby miarowej na 250 ml.

Dalsze postępowanie z destylatem i sposób obliczania jest taki sam, jak przy oznaczaniu amonjaku.

### 3. Obliczenie wyników oznaczenia.

Po obliczeniu ilości azotu amonowego w całkowitej próbce wody, odjąć ilość azotu amonowego zawartego w dodanej ilości alkalicznego nadmanganianu i resztę przeliczyć na 1 l wody badanej.

Wynik podać w  $\text{mg/l } N_{alb}$ .

## VII. Azot organiczny.

Azot w związkach organicznych zawartych w wodzie oznacza się metodą Kjeldahla, powodującą całkowity rozkład ciał organicznych, przy którym azot zawarty w tych związkach, ilościowo przechodzi w sole amonowe.

### 1. Przygotowanie odczynników.

#### a) *Stężony roztwór wodorotlenku sodu.*

Rozpuścić 500 g czystego wodorotlenku sodowego  $\text{NaOH}$  w małej ilości wody destylowanej, wolnej od amonjaku i dopełnić do 1000 ml wodą wolną od amonjaku.

b) *Stężony kwas siarkowy* o c.wł. 1,84, wolny od kwasu azotowego.

c) *Siarczan miedzi*  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  w kryształkach.

d) *Nasycony roztwór węglanu sodu.*

### 2. Wykonanie oznaczenia.

Przed przystąpieniem do oznaczania azotu organicznego należy uprzednio oznaczyć azotyny i azotany. Przy zawartości azotanów powyżej 1  $\text{mg/l } N$ , wynik oznaczenia azotu organicznego nie jest ściśły i mniejszy od rzeczywistej zawartości.

Do 500 ml wody badanej w kolbie Kjeldahla o poj. około 800 ml dodać 1 ml nasyconego roztworu sody <sup>1)</sup>, (d) oraz kilku kawałeczków palonego pumeksu i destylować, odpędzając amonjak. Zawartość kolby stęży się w ten sposób do połowy. W destylacie odpowiednio zebrany można oznaczyć amonjak.

---

<sup>1)</sup> Lepiej 10 ml roztworu fosforanów potasu (V, 1, d).

Po ostygnięciu, do kolby dodać ostrożnie 5 *ml* stężonego kwasu siarkowego (b) i kryształek siarczanu miedzi (c). Jeżeli woda jest mocno zanieczyszczona należy wziąć 10 *ml* kwasu.

Następnie kolbę z płynem ustawić pochyło na statywie pod kapą, wstawić do szyjki kolby korek Kjeldahla, lub połączyć z pomką wodną i kolbę łagodnie ogrzewać. Najpierw oddestylowuje reszta wody, poczem zawartość kolby brunatnieje i zaczynają się wydzielać białe dymy kwasu siarkowego. Gdy zawartość kolby stanie się znowu klarowana, i lekko zielonkawa, wytrawianie jest ukończone.

Po ostygnięciu do kolby wlać ostrożnie około 350 *ml* wody destylowanej wolnej od amonjaku i dodać 20 *ml* ługu (a) i szybko połączyć z aparatem destylacyjnym (chłodnicą) i destylować, zbierając destylat do cylindrów Nesslera na 50 *ml* lub do kolby miarowej na 250 *ml*.

W zebranym destylacie oznaczyć amonjak i otrzymany wynik, po wprowadzeniu odpowiedniej poprawki<sup>1)</sup> podać na 1 l, jako azot organiczny ( $N_{org.}$ )

### VIII. Utlenialność.

Utlenialnością wody nazywamy zdolność wody do redukcji nadmanganianu potasu, co zachodzi na skutek utleniania się obecnych w wodzie związków organicznych, głównie węglowodanów, oraz niektórych mineralnych (azotyny, sole żelazawe, siarczyny i t. p.).

Przebieg procesu, a zatem wyniki oznaczenia, zależne są głównie od temperatury i czasu trwania procesu, wobec czego badanie przeprowadza się w ściśle ustalonych warunkach.

Wynik oznaczenia podają się w *mg* tlenu na 1 l wody badanej.

---

<sup>1)</sup> Do kolby Kjeldahla wlać 500 *ml* wody destylowanej, wolnej od amonjaku, dodać 1 *ml* roztworu sody oraz kawałeczek pumeksu i destylować stężąc do połowy. Po ostygnięciu dodać 5 *ml* stęż. kwasu (b) siarkowego oraz kryształek siarczanu miedzi (c) i postępować dalej w sposób opisany powyżej. Oznaczoną ilość azotu w „ślepej próbie“ odejmować od ilości azotu oznaczonego w wodzie badanej.

Wystarczy dla danego kompletu odczynników wykonać jeden raz „ślepa próbę“.

Utlenialność wody uważa się za orientacyjną próbę, która daje jedynie charakterystykę stopnia zanieczyszczenia wody związkami organicznymi.

Pojęcia „utlenialność” nie należy mieszać z „biochemicznym zapotrzebowaniem tlenu”, lub z „tlenem rozpuszczonym” w wodzie.

## OZNACZANIE UTLENIALNOŚCI.

### 1. Przygotowanie odczynników.

#### a) *Kwas siarkowy rozcieńczony.*

Na trzy objętościowe części wody destylowanej wziąć jedną część objęt. kwasu siarkowego o c. wł. 1,84. Do gorącego roztworu dodawać kroplami nadmanganianu potasu mieszając. Wytworzone różowe zabarwienie powinno być trwałe w ciągu kilku godzin.

#### b) *Szczawian amonu.*

Rozpuścić 0,8881 g czystego szczawianu amonu  $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  w kolbie miarowej i dopełnić do 1000 ml wodą destylowaną.

1 ml tego roztworu zużywa na utlenienie 0,1 mg  $\text{O}_2$ .

Zamiast szczawianu amonu można użyć kwasu szczawiowego. W tym celu należy rozpuścić w wodzie destylowanej 0,7879 g kwasu szczawiowego  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , dodać 50 ml 25% kwasu siarkowego i rozcieńczyć wodą destylowaną do 1000 ml w miarowej kolbie litrowej.

Roztwór szczawianu lub kwasu szczawiowego należy przechowywać w ciemnych naczyniach.

#### c) *Mianowany roztwór nadmanganianu potasu.*

Rozpuścić 0,4 g czystego krystalicznego nadmanganianu potasu  $\text{KMnO}_4$  w wodzie destylowanej i w miarowej kolbie litrowej dopełnić do kreski wodą destylowaną.

Do 100 ml wody destylowanej w kolbie Erlenmayera na 250 ml dodać 10 ml kwasu siarkowego (a) i z biurety 10 ml roztworu nadmanganianu. Poczem kolbę wstawić do wrzącej łaźni wodnej i ogrzewać w ciągu 30 minut.

Następnie dodać z biurety 10 *ml* roztworu szczawianu (*b*) (lub kwasu szczawiowego) i bezpośrednio po tem znów z biurety nadmanganianu potasu, aż do powstania różowego zabarwienia trwałego w ciągu 1—2 minut. Do wywołania tego zabarwienia w tych warunkach trzeba od 0,3 do 0,5 *ml* roztworu  $KMnO_4$ .

Do kolbki z cieczą o słabem różowym zabarwieniu odmierzyć ponownie 10 *ml* roztworu szczawianu z biurety i następnie znowu tyle roztworu  $KMnO_4$ , aż powstanie trwałe (1 — 2 *min.*) słabe różowe zabarwienie.

Roztwór  $KMnO_4$  musi być tak przyrządzony, aby w ostatnim przypadku na 10 *ml* szczawianu zużył 10 *ml*  $KMnO_4$ .

Roztwór należy przechowywać w naczyniu z ciemnego szkła i używać biurety z kranem. Co pewien czas np. co 2 tygodnie roztwór należy sprawdzać.

## 2. Wykonanie oznaczenia.

Do bezwzględnie czystej kolby Erlenmeyera poj. 200—250 *ml* odmierzyć 100 *ml* wody badanej; jeżeli woda zawiera większą ilość substancji organicznych (wys. barwa lub  $N_{alb}$ ) należy wziąć mniejszą ilość wody i rozcieńczyć do 100 *ml* wodą destylowaną.

Do próby wody dodać 10 *ml* kwasu siarkowego (*a*) i 10 *ml* roztworu  $KMnO_4$  (*c*) z biurety. Poczem umieścić kolbkę we wrzącej łaźni w ten sposób, aby powierzchnia wody w łaźni była nieco wyżej od powierzchni płynu w kolbie i ogrzewać w ciągu 30 minut. Kolbkę należy umieścić tak, aby wrząca woda nie mogła dostawać się do wnętrza kolbki. Po 30 minutach wyjąć kolbkę z łaźni i dodać 10 *ml* szczawianu (*b*), a następnie z biurety ostrożnie tyle roztworu, aż powstanie trwałe różowe zabarwienie, jak przy nastawianiu nadmanganianu (*A*).

## 3. Obliczenie wyników oznaczenia.

Sumaryczna ilość *ml* nadmanganianu użytego w tych warunkach minus ilość *ml* szczawianu daje liczbę wyrażającą utlenialność w *mg*  $O_2$  na litr, przy użyciu 100 *ml* badanej wody. Jeżeli do badania użyto 50 *ml*, należy otrzymaną różnicę pomnożyć przez 2.

Jeśli po dodaniu szczawianu trzeba użyć więcej niż 6 *ml* nadmanganianu potasu, oznaczenie należy powtórzyć, dodając do

takiej samej próby wody badanej nie 10, lecz 15 *ml* roztworu nadmanganianu. Wynik oblicza się jak poprzednio.

Sposób obliczania można nieco zmodyfikować. W tym celu do próby ostatecznie zmiareczkowanej (*A*) dodać 10 *ml* roztworu szczawianu i bezpośrednio po tem tyle nadmanganianu, ile potrzeba do wywołania słabo-różowego zabarwienia. Wtedy utlenialność *X* oblicza się w sposób następujący:

$$\frac{T}{10} = \frac{(G - T)}{X}$$

przyczem *G* oznacza sumaryczną ilość *ml* roztworu nadmanganianu potasu, dodanego do próby *A*, zaś *T* ilość nadmanganianu potasu zużytego do miareczkowania 10 *ml* roztworu szczawianu amonu.

Uwaga: Do przygotowania roztworów nadmanganianu potasu i szczawianu amonu, oraz do rozcieńczania wody badanej, należy używać wody destylowanej wolnej od substancyj organicznych i nieredukującej nadmanganianu. Wodę taką można otrzymywać przez powtórnią destylację wody destylowanej z dodatkiem kilkudziesięciu *ml* stężonego ługu sodowego lub potasowego, oraz łyżeczki krystalicznego nadmanganianu potasu na każdy litr wody.

## IX. Chlorki.

Chlorki zawarte w wodzie naturalnej mogą pochodzić z gruntu, z pokładów naturalnych soli oraz z zanieczyszczeń (odpadki i wody kuchenne, wydaliny, ścieki domowe i przemysłowe).

Chlorki pochodzenia naturalnego nazywamy chlorkami normalnemi, dla danej miejscowości; wyraźna nadwyżka ponad zawartość chlorków normalnych może świadczyć o zanieczyszczeniu wody.

Chlorki w wodzie znajdują się głównie w postaci soli kuchennej *NaCl*, chlorku potasu *KCl*, oraz soli wapnia i magnezu.

## OZNACZANIE CHLORKÓW.

### 1. Przygotowanie odczynników.

#### a) *Mianowany roztwór chlorku sodu.*

Rozpuścić 16,4858 g czystego stopionego chlorku sodu  $\text{NaCl}$  w wodzie destylowanej i dopełnić do 1000 ml w miarowej kolbie litrowej.

Odmierzyć dokładnie 100 ml tego roztworu do miarowej kolby litrowej i dopełnić do kreski wodą podwójnie destylowaną.

1 ml tego roztworu zawiera 1 mg  $\text{Cl}'$ .

#### b) *Mianowany roztwór azotanu srebra.*

Rozpuścić 2,4 g czystego krystalicznego azotanu srebra  $\text{AgNO}_3$  w wodzie destylowanej i dopełnić w kolbie miarowej do 1000 ml

1 ml tego roztworu odpowiada 0,5 mg  $\text{Cl}'$ , co należy sprawdzić przez miareczkowanie danym roztworem mianowanego roztworu chlorku sodu (a), w sposób jak podano niżej przy oznaczaniu chlorków.

Przy mianowaniu azotanu srebra należy wprowadzić poprawkę t. zn. odjąć od zużytej ilości ml azotanu srebra tę ilość ml ( $X$ ) roztworu azotanu, jaka się zużywa do utworzenia chromianu srebra.

Ilość tę oblicza się  $X = 0,003 V + 0,02$  ml, gdzie  $V$  oznacza całkowitą objętość cieczy po ukończeniu miareczkowania. Roztwór azotanu powinien być tak nastawiony, ażeby po wprowadzeniu powyższej poprawki 1 ml tego roztworu odpowiadał 0,5 mg  $\text{Cl}'$ .

#### c) *Chromian potasu.*

Rozpuścić 50 g obojętnego czystego chromianu potasu  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  w niewielkiej ilości destylowanej wody, poczem dodać roztworu azotanu srebra, aż do otrzymania nieznaczного czerwonego osadu. Po upływie dwóch dni roztwór przesączyć do miarowej kolby litrowej i dopełnić do kreski wodą destylowaną.

### 2. Wykonanie oznaczenia.

Jeżeli woda badana jest kwaśna ( $\text{pH} < 7$ ), należy do odmierzonej próby wody dodać szczyptę dwuwęglanu sodu wolnego od chlorków.

W przypadku, gdy woda badana zawiera siarkowodór, należy go usunąć.

W celu usunięcia siarkowodoru do około 150 *ml* wody badanej dodać łyżeczkę węgla aktywnego, dobrze wyklócić i przesączyć przez suchy sącze do czystego i suchego naczynia.

Do dwóch jednakowych białych porcelanowych parownic, ① około 100 *mm* odmierzyć po 50 *ml* wody badanej (lub mniejszą ilość rozcieńczyć do 50 *ml* wodą destylowaną) i dodać po 1 *ml* roztworu chromianu potasu (*c*). Następnie do jednej z prób dodać z biurety roztworu azotanu srebra (*b*) i mieszać bagietką. Zmiana barwy cieczy z zielono-żółtej na żółto-brunatną wskazuje koniec miareczkowania. Ponieważ ten moment zmiany barwy trudno jest uchwycić, dla ułatwienia oznaczania końca miareczkowania należy użyć pierwszą przemiareczkowaną próbę jako wzorzec. W tym celu wrzucić kryształek chlorku sodu do pierwszej próby, przyczem zabarwienie żółto-brunatne przechodzi w żółto-zielone o wyglądzie takim, jaki, posiada dana woda tuż przed końcem miareczkowania.

W ten sposób przygotowaną ciecz porównawczą, ustawić obok drugiej parowniczką z próbą wody badanej (ta sama ilość *ml*). Znając w przybliżeniu ilość *ml* azotanu srebra, który trzeba dodać, odmierzyć z biurety tę ilość do drugiej próby wody. Dopiero przy końcu, gdy obie ciecze staną się prawie jednakowe, dodawać kroplami azotanu srebra obserwując barwę. Z chwilą gdy jedna kropla wywoła zmianę zabarwienia miareczkowanie jest ukończone.

### 3. Obliczenie wyników oznaczenia.

Od ilości dodanego przy drugim miareczkowaniu azotanu srebra należy odjąć poprawkę; następnie liczbę tę mnoży się przez 10, jeżeli do oznaczenia użyto 50 *ml*. W przypadku, gdy użyto mniejszą ilość wody, należy jeszcze pomnożyć przez stopień rozcieńczenia.

Wynik podać w *mg/l Cl'*.

## X. Siarczany.

Siarczany spotykane w wodach naturalnych, są przeważnie pochodzenia mineralnego z gleby i pokładów geologicznych (gips).

Pozatem siarczany mogą pochodzić z zanieczyszczeń ściekami fabrycznymi.

Określanie siarczanów w wodzie do picia dla sanitarnej oceny wody posiada znaczenie drugorzędne; natomiast bardzo ważne znaczenie posiada dla celów technicznych, gdyż siarczany, a głównie siarczan wapnia, tworzą twardy kamień kotłowy.

### 1. Wykonanie oznaczenia.

Odparować prawie do sucha 250 — 1000 ml wody badanej. Pozostałość zakwasić rozcieńczonym kwasem solnym i usunąć krzem. (patrz XIX, A). Następnie przesącz po oddzieleniu krzemu zagotować w zlewce i do wrzącego roztworu dolać kroplami gorącego roztworu chlorku baru w małym nadmiarze. Późem przykryć zlewkę szkiełkiem zegarkowym i łagodnie ogrzewać w ciągu 15 minut, aż osad zupełnie opadnie. Wtedy do klarownej cieczy nad osadem dodać 1 kroplę roztworu chlorku baru, aby się przekonać, czy siarczany wytrącono całkowicie. O ile ciecz pozostanie nadal klarowna, należy odstawić na kilka godzin. Po kilku godzinach przesączyć przez sączek ilościowy, uprzednio zwilżony gorącą wodą destylowaną oraz 95% alkoholem. Osad przemyć kilkakrotnie w zlewce przez dekantację, następnie przenieść na sączek i przemywać gorącą wodą destylowaną, aż do zaniku reakcji na chlorki w przesączu.

Przesącz A, po oddzieleniu siarczanu baru wraz z wodą od przemywania zachować do oznaczenia potasu i sodu.

Osad dokładnie przemyty wysuszyć w suszarce w temperaturze 110°C, poczem przenieść wraz z sączkiem do zważonego tygla, spalić sączek i wyprażyć do stałej wagi. Osad siarczanu baru można zebrać w tyglu Goocha i po przemyciu i wysuszeniu zważyć. Zamiast tygla Goocha, wygodnie jest stosować tygiel Schotta Nr. 3.

### 2. Obliczenie wyników oznaczenia.

Wagę siarczanu baru, otrzymaną z różnicy wagi tygla z osadem i bez osadu, pomnożyć przez 0,4114, wynik przeliczyć na 1 l wody i podać jako  $SO_4$  w mg/l.

## XI. Żelazo.

Związki żelaza zawarte w wodzie mogą pochodzić z gruntu z zanieczyszczeń (głównie ściekami przemysłowymi), oraz z nagryzania przez wodę żelaznych rur, zbiorników i t. p.

Związki żelaza w wodzie mogą znajdować się w stanie rozpuszczonym, koloidalnym i zawieszonym.

W stanie rozpuszczonym związki żelaza występują w wodach naturalnych, przeważnie w postaci dwuwęglanów żelaza dwuwartościowego. Dwuwęglały te utrzymują się w roztworze, dzięki obecności nadmiaru dwutlenku węgla.

W stanie koloidalnym żelazo występuje w wodzie w postaci wodorotlenków, lub soli zasadowych żelaza dwu oraz trójwartościowego, ewentualnie w połączeniu ze związkami organicznymi.

W stanie zawiesiny żelazo występuje głównie jako wodorotlenki żelaza trójwartościowego w wodach powierzchniowych lub dłużej przechowywanych wodach gruntowych.

W wypadkach specjalnych kiedy chodzi o ustalenie ilości żelaza, znajdującego się w wodzie w postaci żelaza dwuwartościowego, oznaczenie należy wykonać na miejscu, bezpośrednio po pobraniu próby wody, lub pobrać próbę do osobnej flaszki w sposób podany przy pobieraniu prób do oznaczenia tlenu i wolnego  $\text{CO}_2$ . Przy pobieraniu ogólnej próby wody, należy zwrócić uwagę i odnotować, czy woda świeżo pobrana jest przezroczysta czy mętna.

### A. KOLORYMETRYCZNE OZNACZENIE ŻELAZA DWUWARTOŚCIOWEGO.

#### 1. Przygotowanie odczynników.

##### a) *Mianowany roztwór soli żelazawej.*

Rozpuścić 0,7022 g czystej, świeżo przekrystalizowanej i wysuszonej w temperaturze pokojowej soli Mohra  $(\text{NH}_4)_2 \text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  w wodzie destylowanej, świeżo przygotowanej i ostudzonej, dodać 10 ml kwasu siarkowego 1:5 i dopełnić do kreski wodą destylowaną w miarowej kolbie litrowej.

1 ml tego roztworu zawiera 0,1 mg Fe.

Jeżeli 50 ml tego roztworu po zakwaszeniu kwasem solnym i po dodaniu rodanku amonu zabarwi się np różowo, należy przygotować świeży roztwór.

*b) Rozcieńczony kwas siarkowy.*

Do 4 części objętościowych wody destylowanej, dodać ostrożnie 1 część objętościową kwasu siarkowego o c. wł. 1,84, wolnego od żelaza.

*c) Żelazicyjanek potasu.*

Rozpuścić w wodzie destylowanej 0,5 g świeżo przekrystalizowanej soli  $K_3Fe(CN)_6$  i dopełnić wodą destylowaną do 100 ml w kolbie miarowej.

2. Wykonanie oznaczenia.

Do cylindra Nesslera o  $\varnothing$  30 mm na 100 ml odmierzyć 50 ml wody badanej dodać 10 ml kwasu siarkowego (b) (jeśli woda mętna przesączyć przez sącdek z bibuły), i dodać 15 ml roztworu żelazicyjanku (c), poczem dopełnić do 100 ml wodą destylowaną świeżo przygotowaną i ostudzoną.

Do drugiego takiego samego cylindra wlać jednocześnie około 50 ml wody destylowanej, świeżo przygotowanej i ostudzonej, dodać 10 ml kwasu siarkowego (b) oraz 15 ml roztworu żelazicyjanku, (c), dopełnić do kreski wodą destylowaną i wymieszać. Następnie zapomocą pipety (lub mikrobiurety) z podziałką co 0,01 ml dodawać do wzorcowego cylindra mianowanego roztworu soli żelazawej zanim powstające zabarwienie nie wyrówna się z zabarwieniem w cylindrze z wodą badaną.

3. Obliczenie wyników oznaczenia.

Ilość żelaza w próbie wody oblicza się z ilości ml dodanego roztworu mianowanego żelaza. O ile dla otrzymania takiego samego zabarwienia, do cylindra wzorcowego dodano np. 0,5 ml roztworu żelazawego, to ilość Fe w próbie wynosi  $0,1 \times 0,5 = 0,05$  mg; czyli w litrze wody badanej przy użyciu do oznaczenia 50 ml wody jest  $0,05 \times 20 = 1$  mg Fe.

Wynik należy podawać w mg/l Fe.

## B. KOLORYMETRYCZNE OZNACZENIE OGÓLNEJ IŁOŚCI ŻELAZA.

### 1. Przygotowanie odczynników.

#### a) *Mianowany roztwór żelazowy.*

Rozpuścić 0,7022 g czystej, świeżo przekrystalizowanej i wysuszonej w temperaturze pokojowej soli Mohra  $(\text{NH}_4)_2 \text{Fe} (\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  w 50 ml wody destylowanej w miarowej kolbie litrowej, dodać 20 ml rozcieńczonego 1:5 kwasu siarkowego i ogrzać na wrzącej łaźni wodnej.

Do gorącego roztworu dodawać kroplami roztworu nadmanganianu potasu, aż do powstania trwałego zabarwienia różowego. Później roztwór ostudzić i dopełnić do 1000 ml wodą destylowaną.

1 ml tego roztworu zawiera 0,1 mg Fe.

#### b) *Rodanek amonu.*

Rozpuścić w wodzie destylowanej 5 g czystego niezwiędniętego rodanku amonu  $\text{NH}_4\text{CNS}$  i dopełnić do 100 ml wodą destylowaną.

#### c) *Kwas solny, wolny od żelaza.*

Łmieszać 1 objętość wody destylowanej z 1 objętością kwasu solnego o c. w. 1,19.

#### d) *Nadmanganian potasu.*

Rozpuścić 6,3 g czystego nadmanganianu potasu  $\text{KMnO}_4$  w wodzie destylowanej i dopełnić do 1000 ml.

### 2. Wykonanie oznaczenia.

Odmierzyć 100 ml wody badanej do czystej parowniczkii porcelanowej lub kwarcowej, umieścić na wrzącej łaźni wodnej i odparować do sucha. Jeśli woda badana jest znacznie zanieczyszczona substancjami organicznymi, zawartość parowniczkii po odparowaniu należy łagodnie wyprażyć, w celu zniszczenia związków organicznych. (Do oznaczenia żelaza ogólnego, można użyć pozostałości po prażeniu, II, 2). Po ostudzeniu osad zwilżyć kilku kroplami wody destylowanej, dodać 10 ml kwasu solnego (c) dobrze mieszać bagietką i łagodnie ogrzać.

Następnie do roztworu tego dodać 15 — 20 *ml* wody destylowanej, ogrzać do wrzenia i gorący jeszcze roztwór zlać do cylindra Nesslera o  $\varnothing$  30 *mm* na 100 *ml*. Jeżeli roztwór jest mętny, należy go przesączyć do cylindra przez ilościowy sączek z bibuły. Zawartość rozcieńczyć do objętości  $\frac{3}{4}$  cylindra wodą destylowaną i dodawać kroplami roztworu nadmanganianu potasu (d), aż do stałego (w ciągu 5 minut) różowego zabarwienia. Po zupełnem ostygnięciu, roztwór różowy od nadmanganianu, rozcieńczyć do kreski wodą destylowaną i dobrze wymieszać.

Jednocześnie (do szeregu takich samych cylindrów Nesslera o  $\varnothing$  30 *mm* na 100 *ml*, odmierzyć kolejno następujące ilości mianowanego roztworu żelaza:

|              | I   | II   | III  | IV   | V    | VI  | VII                   |
|--------------|-----|------|------|------|------|-----|-----------------------|
|              | 0,0 | 0,1  | 0,3  | 0,5  | 0,7  | 1,0 | 1,5 <i>ml</i>         |
| co odpowiada | 0,0 | 0,01 | 0,03 | 0,05 | 0,07 | 0,1 | i 0,15 <i>mg Fe</i> . |

Następnie zawartość każdego cylindra rozcieńczyć mniej więcej do  $\frac{3}{4}$  objętości, dodać do każdego po 10 *ml* kwasu solnego (c) i po dwie krople roztworu nadmanganianu, wreszcie dopełnić do kreski wodą destylowaną i wymieszać.

Do przygotowanych w ten sposób wzorców i do cylindra z wodą badaną dodać po 5 *ml* roztworu rodanku (b), wymieszać i porównać zabarwienie wytworzone w cylindrze z wodą badaną z zabarwieniem wzorców, dobierając odpowiedni wzorec o takim samym zabarwieniu.

Porównania należy dokonać bezpośrednio po dodaniu rodanku, gdyż wzorce nie są trwałe.

### 3. Obliczenie wyników oznaczenia.

W przypadku gdy do oznaczenia żelaza użyto 100 *ml* wody badanej, to ilość żelaza określoną w próbie wody należy pomnożyć przez 10.

Jeżeli do badania użyto mniej niż 100 *ml* wody, wynik oznaczenia należy pomnożyć przez odpowiednią liczbę (np. 20 jeśli użyto 50 *ml*). Wynik podaje się w *mg/l Fe*.

W przypadku, gdy woda badana jest bezbarwna i zupełnie klarowna, oznaczenia żelaza można dokonać bezpośrednio w próbie wody, pomijając parowanie.

W tym celu do cylindra Nesslera na 100 ml nalać do kreski wody badanej, dodać 10 kropli 3% wody utlenionej i 10 ml kwasu solnego 1:1 i dobrze wymieszać. Później dodać 5 ml roztworu rodanku amonu.

Wzorce należy przygotować w sposób analogiczny, rozcieńczając do kreski i dodając 10 ml  $HCl$  (1:1), 10 kropli wody utlenionej i 5 ml rodanku.

#### 4. Przygotowanie wzorców stałych.

Wzorce stałe można przygotować z roztworu chlorku kobaltu i chloroplatynianu potasu lub siarczanu kobaltu i dwuchromianu potasu.

##### a) *Roztwór chlorku kobaltu.*

Rozpuścić 24 g czystego krystalicznego chlorku kobaltu  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  w niewielkiej ilości wody destylowanej, dodać 100 ml kwasu solnego o c. wł. 1,19 i otrzymany roztwór rozcieńczyć do 1000 ml w miarowej kolbie litrowej.

##### b) *Roztwór siarczanu kobaltu.*

Rozpuścić w niewielkiej ilości wody destylowanej 28,34 g czystego, krystalicznego siarczanu kobaltu  $CoSO_4 \cdot 7H_2O$ , dodać 10 ml stęż. kwasu siarkowego i dopełnić do 1000 ml wodą destylowaną w miarowej kolbie litrowej.

##### c) *Roztwór chloroplatynianu potasu.*

Rozpuścić 0,5 g czystego, suchego chloroplatynianu potasu  $K_2PtCl_6$  w wodzie destylowanej, dodać 25 ml stęż. kwasu solnego i rozcieńczyć w kolbie miarowej do 250 ml.

##### d) *Roztwór dwuchromianu potasu.*

Rozpuścić 1 g czystego suchego dwuchromianu potasu  $K_2Cr_2O_7$  w małej ilości wody destylowanej, dodać ostrożnie 10 ml stężonego kwasu siarkowego i dopełnić do kreski w miarowej kolbie litrowej.

Do szeregu jednakowych bezbarwnych cylindrów Nesslera o  $\varnothing$  30 mm i poj. 100 ml, odmierzyć niżej podane ilości roztworu *a* i *c* lub *b* i *d* dopełnić do kreski wodą destylowaną.

T A B L I C A V.

| Wzorce platyno-<br>kobaltowe |                        | Wzorce chromo-<br>wo-kobaltowe |                        | Odpowiada<br><i>mg Fe</i> |
|------------------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|---------------------------|
| <i>a.</i><br><i>ml</i>       | <i>c.</i><br><i>ml</i> | <i>b.</i><br><i>ml</i>         | <i>d.</i><br><i>ml</i> |                           |
| 0                            | 0                      | 0                              | 0                      | 0,00                      |
| 1,0                          | 2,0                    | 1,2                            | 0,35                   | 0,01                      |
| 3,0                          | 6,0                    | 3,2                            | 0,95                   | 0,03                      |
| 5,0                          | 10,0                   | 5,6                            | 1,45                   | 0,05                      |
| 7,5                          | 14,0                   | 7,6                            | 2,0                    | 0,07                      |
| 11,0                         | 20,0                   | 11,5                           | 2,9                    | 0,10                      |
| 17,0                         | 28,0                   | 19,0                           | 4,4                    | 0,15                      |

Wzorce należy chronić od światła słonecznego i kurzu.

Wzorce platynowe są trwałe dłużej niż jeden rok. Wzorce kobaltowo-chromowe należy sprawdzać co pół roku przy pomocy wzorców niestałych.

## XII. Mangan.

Mangan, spotykany w wodach naturalnych zwykle w towarzystwie większych ilości żelaza, pochodzi z gleby lub innych warstw skorupy ziemi.

Występuje w wodzie przeważnie w postaci rozpuszczonych dwuwęglanów, siarczanów, oraz dość często w związkach z kwasami humusowymi.

Podobnie jak żelazo mangan po dłuższym staniu wody na powietrzu wypada w postaci związków nierozpuszczalnych w wodzie.

Związki manganu najczęściej spotyka się w wodach o charakterze kwaśnym.

Mangan oznacza się tylko w wypadkach specjalnych. Do oznaczania małych ilości stosuje się metody kolorymetryczne.

przy większych ilościach manganu należy posługiwać się metodami miareczkowemi lub wagowemi.

## OZNACZANIE MANGANU.

Do oznaczenia manganu służy modyfikacja metody M. Marshalla i H. E. Waltersa, opartej na utlenieniu związków manganu do kwasu nadmanganowego zapomocą nadsiarczanu potasu lub amonu.

Chlorki w badanej wodzie należy uprzednio oznaczyć.

### 1. Przygotowanie odczynników.

#### a) *Kwas azotowy.*

Zmieszać 1 objętość kwasu azotowego stężonego o c. wł. 1,4 z 1 objętością wody destylowanej.

#### b) *Azotan srebra.*

Rozpuścić 20 g azotanu srebra  $AgNO_3$  w wodzie destylowanej i dopełnić do 1 l wodą destylowaną.

#### c) *Nadsiarczan amonu.*

Przygotować suchy, krystaliczny nadsiarczan amonu  $(NH_4)_2S_2O_8$  wolny od chlorków.

#### d) *Mianowany roztwór manganu.*

Rozpuścić 0,2873 g najczystszej  $KMnO_4$  w około 100 ml wody destylowanej. Otrzymany roztwór zakwasić kwasem siarkowym i ogrzać do wrzenia. Następnie dodawać stopniowo rozcieńczonego roztworu kwasu szczawiowego, aż do zupełnego odbarwienia roztworu manganu, poczem roztwór ostudzić i rozcieńczyć wodą destylowaną do 1000 ml w miarowej kolbie litrowej.

1 ml tego roztworu zawiera 0,1 mg Mn.

### 2. Wykonanie oznaczenia.

Odmierzyć 100 ml wody badanej do kolbki Erlenmeyera pojemności około 200 ml, dodać 2 ml kwasu azotowego (a) i stężyć mniej więcej do połowy, ogrzewając na siatce azbestowej

Następnie dodać tyle roztworu azotanu srebra (*b*), ażeby strącić chlorki uprzednio w wodzie oznaczone. Wskazaniem jest dać mały nadmiar  $AgNO_3$ . Poczem roztwór łagodnie ogrzewać w ciągu 15 minut i, gdy osad chlorku srebra zbije się w grudki, przesączyć przez podwójny sączeł ilościowy z gęstej bibuły. Osad przemyć gorącą wodą destylowaną, lekko zakwaszoną kwasem azotowym. Klarowny i bezbarwny przesącz wraz z wodą od prze-mycia osadu zebrany do erlenmeyerki ponownie ogrzać do wrze-nia, dodać około 0,5 g nadsiarczanu amonu i ogrzewać w dalszym ciągu przez kilka minut.

Jeżeli woda badana jest silnie zanieczyszczona substancjami organicznemi, należy przesącz próbę wody odparować na paro-wnicze z dodatkiem  $H_2SO_4$ , a pozostałość po wyparowaniu łagod-nie wyprażyć. Po ostudzeniu osad rozpuścić w rozcieńczonym kwasie azotowym (*a*), rozcieńczyć nieco wodą destylowaną i postę-pować jak wyżej.

W razie obecności manganu, wystąpi fioletowe zabarwienie.

Ostudzoną ciecz przelać do cylindra Nesslera na 100 *ml* i  $\varnothing$  30 *mm*, uprzednio dobrze wymytego mieszaniną chromową i dopełnić do kreski wodą destylowaną, świeżo przygotowaną z kilkoma kroplami kwasu azotowego.

Jednocześnie należy przygotować szereg wzorców z miano-wanego roztworu manganu.

W tym celu do kolb Erlenmeyera poj. około 200 *ml*, pood-mierzać różne ilości mianowanego roztworu manganu (*d*), np. 0,02, 0,03, 0,05, *ml* i t. d., zależnie od przypuszczalnej ilości *Mn* w wodzie badanej, rozcieńczyć zawartość każdej kolbki wodą destylowaną do objętości około 50 *ml* i postępować tak samo jak z próbą wody badanej (sączenie można pominąć).

Roztwory wzorcowe należy poprzlewać do oddzielnych jed-nakowych cylindrów Nesslera, takich samych jak próbę wody, rozcieńczyć do kreski świeżą wodą destylowaną i porównać zabar-wienie w cylindrze z próbą wody badanej z odpowiednim wzorcem.

U w a g a: Jeżeli specjalna dokładność nie jest wymagana, można pominąć dość kłopotliwe przyrządzanie wzorców w spo-sób podany, a użyć wprost nadmanganianu potasu do przygotowania wzorców.

Do tego celu rozpuścić 0,2873 g najczystszej nadmanganianu potasu w świeżej wodzie destylowanej i dopełnić 1000 ml w miarowej kolbie litrowej.

1 ml tego roztworu zawiera 0,1 mg Mn.

Do cylindra Nesslera takiego samego, jak z próbą wody badanej nalać 100 ml wody destylowanej zakwaszonej 2 ml kwasu azotowego (a) i, umieściwszy nad białą płytką cylinder z wodą badaną obok cylindra wzorcowego, dodawać z mikrobiuretki lub pipetki z podziałką co  $\frac{1}{100}$  ml tyle roztworu  $KMnO_4$ , aż zabarwienie w obu cylindrach będzie jednakowe.

Mianowany roztwór nadmanganianu przechowywany w czystej, ciemnej, szczelnie zamkniętej flaszcze może być używany do tego celu w ciągu 1 miesiąca.

### 3. Obliczenie wyników oznaczenia.

Ponieważ 1 ml mianowanego roztworu manganu zawiera 0,1 mg Mn, więc, mnożąc ilość użytych ml tego roztworu przez 0,1 i przez 10, otrzyma się ilość mg Mn w litrze wody badanej w przypadku, gdy do oznaczenia użyto 100 ml wody.

Wynik należy podać w mg/l Mn. Próba wody wzięta do oznaczenia nie powinna zawierać więcej niż 0,4 gm Mn.

(Dokończenie nastąpi).

## Treść zeszytu 1-2. Sommaire.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>R. Turnerówna.</i> Spostrzeżenia nad drobnoustrojami tlenowymi rozkładającymi błonnik i agar. — Observations sur les microbes aérobies décomposants la cellulose et la gélose . . . . .                                                                                                                                                         |    |
| <i>Elżbieta Wałkowska-Woźniakowska.</i> Krzywe zmian Ph na wodzie peptonowej z mannitem, maltozą, laktozą i cukrem gronowym pod wpływem wzrostu bakterij z grupy okrężnicowo-durowej. — Courbes de changements de Ph dans l'eau peptonée additionnée de mannite, maltose, lactose et glucose sous l'influence de bacilles du groupe coli-typhique. | 19 |
| <i>Jerzy Kaulbersz.</i> Z badań nad opornością krwinek wobec osmozy i saponiny — Recherches sur la résistance des érythrocytes à l'osmose et à la saponine.                                                                                                                                                                                        | 40 |
| <i>Artur Ber.</i> Wpływ bakterij Banga na szczury białe. — Influence de bacilles de Bang sur les rats blancs . . . . .                                                                                                                                                                                                                             | 61 |
| <i>A. Szniolis i J. Just.</i> Projekt ujednolajnionych metod badania wody. (Dokończenie nastąpi). — Projet de l'uniformisation de méthodes d'examen de l'eau (à suivre) . . . . .                                                                                                                                                                  | 99 |

---

---

Redaktorzy i wydawcy: **L. Hirszfeld, M. Kacprzak i Z. Szymanowski.**

---

---