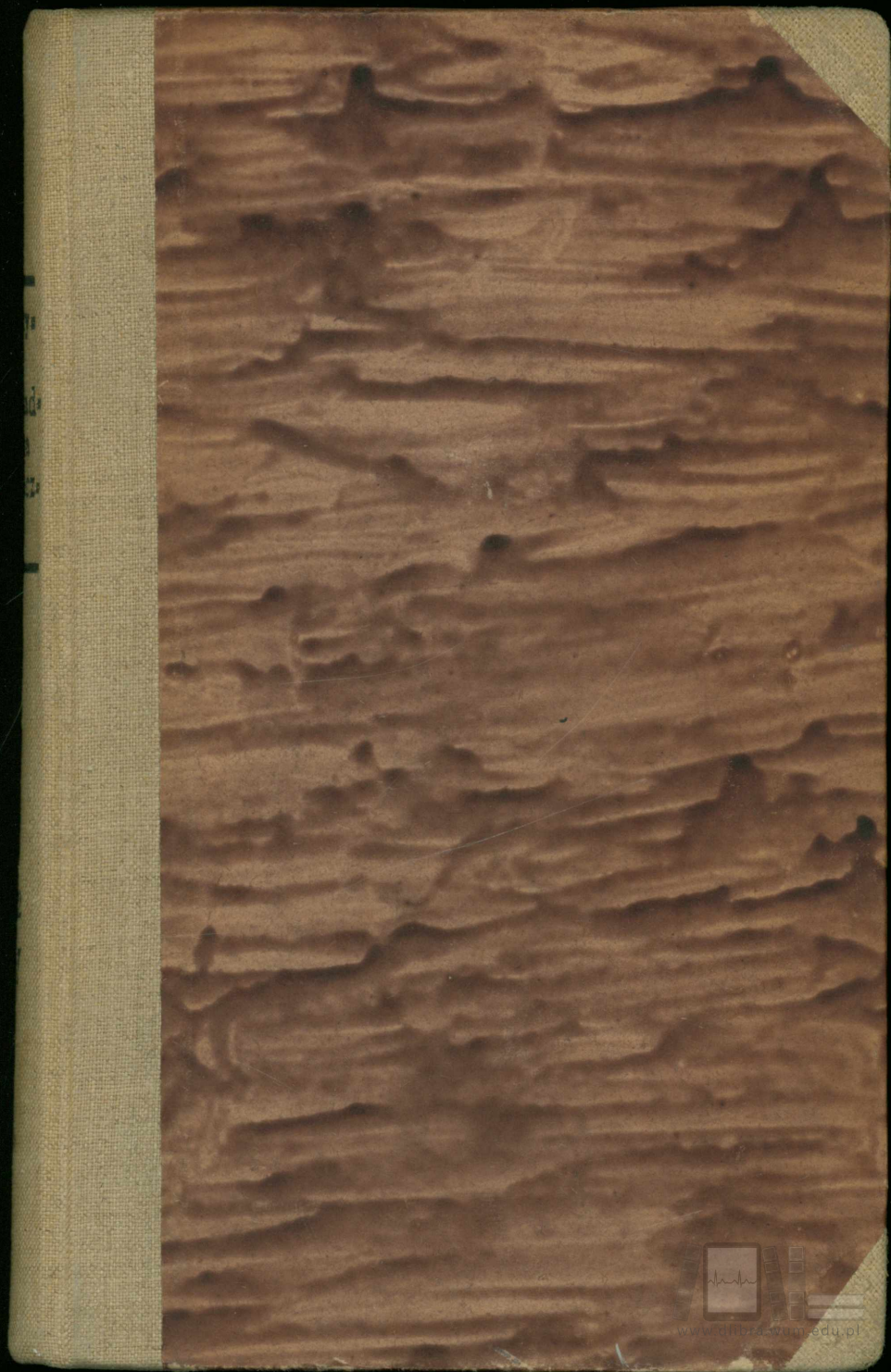




Medycyna Doświadczalna i Społeczna

TOM XXII

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. Hirsfeld** — 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** — Tunis, **G. Szulc** — Warszawa, **Z. Szymanowski** — Warszawa, **R. Weigl** — Lwów, **C. Wroczyński** — Warszawa, **Fr. Venulet** — Warszawa.



Cena podwójnego zeszytu 4 Zł.

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

WARSZAWA, Chocimska 24.

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



PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY

DZIAŁ SUROWIC I SZCZEPIONEK

WARSZAWA, ul. Chocimska 24.

Adres telegr.: „Centrepid - Warszawa“. Konto P. K. O. 30.026

WYRABIA I SPRZEDAJE:

1. WSZELKIE SUROWICE I SZCZEPIONKI

do celów leczniczych i zapobiegawczych u ludzi.

2. PREPARATY DIAGNOSTYCZNE, jak:

surowice aglutynujące,
„ precypitujące,
„ hemolityczne,
antygeny do odczynów na kile,
zawiesiny bakteryjne,
izoaglutyniny,
tuberkulinę (A. T.),
toksyny do odczynów skórnych (Schick, Dick),
pożywki bakteryjne.

3. ORGANOPREPARATY, a mianowicie:

Insulinę „PZH”,
Pituitrol „PZH” (wyciąg z tylnego płata przysadki
mózgowej).

Cenniki i wszelkie informacje wysyła się na żądanie.

Medycyna Doświadczalna i Społeczna

TOM XXII

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** — Tunis, **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>Seydel J.</i> Badania nad biologią maczugowców błonicy, pochodzących z obecnej epidemii. Doniesienie I. Biologia i morfologia maczugowców błonicy typu gravis i mitis.—Sur la biologie des bacilles diphtériques isolés au cours de la dernière épidémie. Communication I. Propriétés biochimiques et morphologiques des bacilles du type gravis et mitis	
<i>Goliborska T., Lachowicz K., Przesmycki F. i Seydel J.</i> Badania nad biologią maczugowców błonicy, pochodzących z obecnej epidemii. Doniesienie II. Rozprzestrzenianie się maczugowców błonicy w ustroju zwierzęcym w związku z typami prątki.—Sur la biologie des bacilles diphtériques isolés au cours de la dernière épidémie. Communication II. Bacilles diphtériques de différents types dans l'organisme du cobaye infecté expérimentalement	25
<i>Halberówna W., Milińska-Szwojnicka Z. i Raszkas B.</i> O wpływie temperatury na wynik odchylenia dopełniacza w kile. — Influence de la température sur les résultats de la déviation de l'alexine dans la syphilis	43
<i>Milińska-Szwojnicka Z. i Raszkas B.</i> Wpływ czasu wiązania dopełniacza na czułość odczynu gonokokowego. — Influence de la durée de la déviation de l'alexine sur la gonoréaction	73
<i>Fersztówna F.</i> Podłoże Seidenglanza w zastosowaniu do hodowli szczepów paratyfusowych zwierzęcych. — Milieu de Seidenglanz, employé pour la culture des bacilles paratyphiques de l'origine animale	83
<i>Szenderowiczówna R.</i> Przyczynek do zachowania się bakteriofagów w zespołach zwierzęcych. — Contribution à l'étude du bactériophage dans les groupes d'animaux	93
<i>Szymańska J.</i> W sprawie metodyki wykonywania „próby ryczałtowej” zjadliwości maczugowca błonicy. — Sur la méthode d'exécution de „crude test” dans la pratique épidémiologique	101
<i>Babenko K.</i> Badania nad przebiegiem depolimeryzacji skrobi w układzie: skrobia rozpuszczalna, amylaza, chlorek sodu. — Recherches sur le cours de la depolymérisation de l'amidon dans le système: amidon soluble, amylase et chlorure de sodium	106
<i>Goebel F. i Miller J. M.</i> Usunięcie śledziony, a układ siateczkowo-śródbłonkowy.—Ablation de la rate et le système réticulo-endothélial	117
<i>Paluch E.</i> Zatrucia chroniczne parami ksyleny wśród drukarzy. — Em-poisonnements chroniques des imprimeurs par les vapeurs de xylène.	131
<i>Lutwak-Mann C.</i> Przemiany chemiczne w bakteriach. Sposoby i kierunki badań. Referat zbiorowy. — Changements chimiques dans les bactéries. Revue	149

III

Treść zeszytu 3-4. Sommaire.

<i>Ryszkowska M.</i> Działanie alkaloidów grzybienia na myszy „decerebrowane”. — Sur l'action des alcaloïdes de <i>Nymphaea alba</i> et <i>lutea</i> sur les souris decerebrées	167
<i>Makower H. i Goldberg F.</i> O szybkich metodach aglutynacyjnych. — Sur quelques méthodes d'agglutination rapide.	186
<i>Berman M.</i> Związek między działaniem hemolitycznym saponin a ich farmakodynamicznym działaniem na narządy wewnętrzne. — Rapport entre l'action hémolysante des saponines et leur action pharmacodynamique sur les organes internes.	200
<i>Markuze Z.</i> Wartość biologiczna białka niektórych produktów zbożowych i ich przetworów. Sur la valeur biologique de certains produits du blé	223
<i>Afremow I.</i> Przystosowanie się drobnoustrojów do wysokiej koncentracji NaCl. — Adaptation des microbes à la haute concentration de NaCl dans le milieu	234
<i>Miller J. M.</i> Wpływ proteinoterapii na układ siateczkowo-śródbłonkowy. — Influence de la protéinothérapie sur le système réticulo-endothéliale	243
<i>Seydel J.</i> Badania nad biologią maczugowców błonicy pochodzących z obecnej epidemii. Doniesienie III. W sprawie stałości typów w obrębie maczugowców błonicy. — Sur la stabilité des types des bacilles diphtériques	257
<i>Rogożnicka R.</i> Przyczynek do sprawy stosunku pomiędzy strukturą antygenową bakterii a ich wrażliwością na działanie bakteriofagów. — Sur la corrélation entre la lyso-sensibilité et l'agglutinabilité des souches du b. Flexner	274
<i>Szabuniewtch B.</i> Badania nad niepobudliwością mięśni pod wpływem wielokrotnego drażnienia — Sur l'inexcitabilité des muscles après les irritations répétées	289
<i>Celarek J.</i> Uodpornianie koni anatoksyną błoniczą alunową. — Sur l'immunisation des chevaux par l'anatoxine diphtérique précipitée par l'alun	307
<i>Fischerów H.</i> Przyczynki do sprawy swoistości bakteriofagów gronkowcowych. Doniesienie I. Absorpcja swoistych bakteriofagów przez różne szczepy gronkowca. — Spécificité des bactériophages staphylococciques. Communication I.	316
<i>Ganc P.</i> Przyczynki do sprawy swoistości bakteriofagów gronkowcowych. Doniesienie II. Stosunek między zlepliwością szczepów gronkowcowych a ich zachowaniem się względem bakteriofagów. — Spécificité des bactériophages staphylococciques. Communication II.	323
<i>Celarek J.</i> Surowica enterokokowa. — Sérum entéroccoccique	331

IV

Treść zeszytu 5-6. Sommaire.

<i>Chmielewski F.</i> Studia nad enterokokami. — Sur les entérocoques . . .	347
<i>Mosing H.</i> Badania epidemiologiczne i serologiczne nad dudem plamistym. — Recherches épidémiologiques et sérologiques sur le typhus exanthématique	393
<i>Jakóbkiewicz J.</i> Antygeny pałeczek okrężnicy uzyskiwane przez kolejne zamrażanie i ogrzewanie drobnoustrojów. Doniesienie I.—Antigènes des colibacilles, obtenus au moyen de congélation et chauffage successifs des microorganismes. Communication I	429
<i>Jankowska H. i Zandowa N.</i> Badania doświadczalne nad podwzgórzem. Étude expérimentale sur l'hypothalamus	439
<i>Liwaser J.</i> Rozpowszechnienie bakterij halofilnych w przyrodzie. — Sur la fréquence des microbes halophiles dans la nature	460
<i>Chojnowski J. R.</i> Badania nad desorpcją środków farmakologicznych; zadsorbowanych na węglu, w warunkach ustroju zwierzęcego. — Recherches sur la désorption des substances pharmacologiques, adsorbées par le carbone dans l'organisme animal	467



MEDYCYNĄ DOŚWIADCZALNA I SPOŁECZNA

(Dawniej Przegląd Epidemiologiczny).

TOM XXII

WARSZAWA 1936

ZESZYT 1-2



Wpłynęło 29.V.1936.

Z Państwowego Zakładu Higieny, Dział Bakteriologii i Medycyny Doświadczalnej

○ BADANIA NAD BIOLOGIĄ MACZUGOWCÓW BŁONICY POCHODZĄCYCH Z OBECNEJ EPIDEMII.

(Prace wykonane pod kierunkiem Doc. F. Przesmyckiego).

Doniesienie I.

Biologia i morfologia maczugowców błonicy
typu *gravis* i *mitis*.

Podała

JULIA SEYDEL

Już od szeregu lat dochodziły z różnych stron Europy alarmujące wieści o nieskuteczności surowicy antytoksycznej w niektórych ciężkich przypadkach błonicy. Okoliczność ta na nowo wzbudziła zainteresowanie dla tego schorzenia.

W 1931 roku zjawiała się praca *Andersona, Happolda, Mc Leoda, Thomsona*. Autorzy ci badając materiał pochodzący od chorych z Leeds (Anglia) stwierdzili, że maczugowce błonicy występują w dwóch odrębnych postaciach. Przy hodowaniu wyosobnionych szczepów na podłożu z tellurynem potasu i krwią króliczą okazało się, że pośród szczepów błonicy występują nie tylko dwa, lecz trzy różne typy. Autorzy stwierdzili jednocześnie, że istnieje pewien związek między przebiegiem klinicznym choroby i typem maczugowca błonicy. Szczepy błonicy wyodrębnione w Leeds ciężkich przypadków błonicy w których swoiste surowice antytoksyczne były bezskuteczne otrzymały nazwę *C. diphtheriae*

gravis Prątki wyodrębnione z przypadków lżejszych, wyleczonych antytoksyną nazwano *C. diphtheriae mitis*. Trzeci zaś typ, który zajmuje miejsce pośrednie między dwoma wyżej wymienionymi, nazwany został *C. diphtheriae intermedius*.

Do wyosobniania szczepów stosowali autorzy specjalne podłoże. Jest to agar z krwią króliczą, t. zw. czekoladowy, z dodatkiem tellurynu potasu. Na podłożu tym, według autorów, zauważyć można bardzo ostro zarysowane różnice w koloniach poszczególnych typów. Maczugowce błonnicze typu *gravis* na tym podłożu występują w postaci kolonij szarych lub szaro-czarnych, posiadających często formę stokrotki, w preparatach barwionych występują w postaci krótkich prątków z nielicznymi ziarenkami metachromatycznymi. Szczepy *gravis* fermentują wyższe węglowodany jak dextrynę, glikogen, skrobię i nie posiadają własności hemolitycznych. Na bulionie tworzą na powierzchni błonkę oraz osad ziarnisty na dnie próbówki. Początkowo kwaśny odczyn bulionu po 2 — 3 dniach przechodzi w zasadowy.

Maczugowce błonnicze typu *intermedius* rosną w postaci kolonii ze środkowym wgłębieniem i krawędzią zlekka postrzępioną. W preparatach barwionych występują w postaci długich prątków jak gdyby z przerywaną zarodzią i z obfitą ziarnistością. Nie fermentują wyższych węglowodanów w bulionie nie tworzą błonki, płyn pozostaje przezroczysty z obfitym osadem ziarnistym na dnie. Odczyn bulionu pozostaje kwaśny nawet po dłuższym czasie.

Maczugowce błonnicze *mitis* rosną na tym podłożu w postaci kolonij czarnych, lśniących, wypukłych. Prątki tego typu są przeważnie długie z obfitą ziarnistością. Nie fermentują skrobi i glikogenu, rozkładają jedynie dextrynę. Posiadają własności hemolityczne. Na bulionie tworzą jednolity męt bez błonki, zwrotny odczyn zasadowy występuje po 4 — 5 dniach.

Według danych klinicznych maczugowce typu *gravis* wywołują często u chorych intensywniejsze stany zapalne, błony posiadają dużą rozciągliwość o konsystencji trwałej, występuje przy tym silny *foetor ex ore*. Zarazki te wywołują również często białkomocz, objawy toksemii i porażenia. Surowica antytoksyczna okazała się w tyc

przypadkach zawodna, a procent śmiertelności znaczny. U chorych u których stwierdzono typ mitis stan zapalny był przeważnie słaby, błony były niewielkie o stałej konsystencji. Foetor ex ore, białkomocz, objawy toksemii i porażenia były w tych przypadkach rzadko stwierdzone. Działanie surowicy było skuteczne, śmiertelność nieznaczna.

Maczugowce typu intermedius wykrywano w Leeds rzadko. Objawy chorobowe wywołane przez ten typ prątków zbliżone były bardziej do objawów występujących w przypadkach wywołanych przez typ gravis, zwłaszcza dość często występowały porażenia. Jednakże autorzy nie twierdzą, żeby typy mitis i intermedius nie mogły niekiedy wywołać ciężkich schorzeń.

Na zasadzie swoich obserwacji *Anderson, Happold, MacLeod i Thomson* (1931) stwierdzają, że typ mitis wywołuje sporadyczne, endemiczne zachorowania, natomiast typ gravis jest przyczyną zachorowań epidemicznych.

Co się tyczy własności chorobotwórczych dla zwierząt *Anderson, Cooper i MacLeod* (1933) stwierdzili pierwsi, że szczepy typu mitis wyodrębnione przez nich w Leeds są bardziej chorobotwórcze dla świnek morskich, niż szczepy gravis. Szczepy gravis natomiast posiadają większe własności chorobotwórcze dla królików, niż szczepy mitis. Badania podobne przeprowadzali w Hull *Leete i Morrison* (1933) i w zupełności potwierdzili dane poprzednich autorów.

W związku z przypuszczeniem, że przebieg błonicy zależy od typu zarazka podjęto pracę nad toksynami typu gravis i mitis. Badania, które przeprowadzali *Parish, Whatley, O'Brien* (1932), *Powitzky, Eisner, Jackson* (1933) wykazały, że jady tych dwóch typów błoniczych są w jednakowym stopniu zobojętniane przez wzorcową surowicę antytoksyczną Park Williams 8.

Poglądy *Mc Leoda* i jego współpracowników *Coopera, Happolda, Woodcocka, Andersona, Elliota, Leete'a i Sandersa* zostały całkowicie lub częściowo potwierdzone przez szereg badaczy jak przez *Robinsona i Marshala* (1934 i 1935) w Manchesterze, przez *Mentona, Coopera, Duke'a, Fussela* (1933 i 1935) w Staffordshire, przez *Wrighta i Christison* (1935) w Edynburgu przez *Cartera* (1933) w Glasgow, przez *Murraya* (1935) w Dundee, przez

Maira i Joe (1934) w Londynie, przez *Christison* (1934), przez *Schiffa i Webera* (1935), *Clauberga* (1935), *Gundla i Liebetrueth* (1935) w Niemczech, przez *Zeyland-Piasecką* (1935) w Poznaniu i *Zurkowskiego* w Łodzi (1936).

W wyniku tych prac autorzy stwierdzili fakt niezmiernie ważny, a mianowicie, że geograficzne rozmieszczenie tych trzech typów jest nierównomierne, w niektórych okolicach przeważa typ *gravis*, w innych *mitis*, w innych wreszcie *intermedius*. Nadto autorzy ci zwrócili uwagę, że pewnego odsetka wyosobnionych szczepów na zasadzie całokształtu ich cech biologicznych nie można było zaliczyć do żadnego z trzech wymienionych typów. Szczepy takie określano jako nietypowe.

W Państwowym Zakładzie Higieny w Warszawie w 1934 roku podjęte zostały prace nad biologią maczugowców błoniczych. Wyniki tych prac były omawiane częściowo na Zjeździe Mikrobiologów w Łodzi w 1935 roku i ogłoszone w *Med. Dośw. i Społ.*

W niniejszym doniesieniu przedstawiamy dalszy rozwój tych badań.

Początkowo badania morfologii kolonii przeprowadzane były na podłożu podanym przez autorów angielskich (agar czekoladowy z tellurynem potasu i krwią króliczą). Ponieważ przygotowanie tego podłoża okazało się nader kłopotliwe, a wyniki otrzymane były niestale i niepewne, wobec tego w dalszym ciągu pracy pożywki tej nie stosowano. To samo powiedzieć można o badaniach nad własnościami hemolitycznymi. Cecha ta jest prawdopodobnie chwiejna, co zresztą podkreślają również inni badacze. Co się tyczy własności morfologicznych wyosobnionych szczepów, to nie można było stwierdzić stałych różnic między typami *gravis* i *mitis*. Pałeczki dłuższe lub krótsze charakteryzowały raczej poszczególne szczepy, a nie typy. To samo tyczy się ziarnistości metachromatycznych.

Wobec czego przy różnicowaniu szczepów błoniczych na typy uwzględniono w Państwowym Zakładzie Higieny jedynie trzy cechy: 1) rozszczepianie wyższych węglowodanów, 2) zwrotny odczyn zasadowy w bulionie hormonalnym, 3) charakter wzrostu na tym podłożu. Opierając się na własnych obserwacjach doszliśmy do wniosku, że uwzględnienie mniejszej liczby cech przyjmo-

wanych za postawę różnicowania na typy ułatwia ponieważ zadanie, gdyż im więcej własności się rozpatruje, tym trudniejsze jest ustalenie poszczególnych typów. Zdolność zaś rozszczepiania wyższych węglowodanów jest tak charakterystyczna, że uwzględnienie tej jednej cechy jest już zupełnie wystarczające dla różnicowania pałeczek błonicy na typy. Inne zaś cechy, jak zwrotny odczyn zasadowy i wzrost w bulionie hormonalnym, uważać można za dodatkowe. Zanim przejdę do omówienia wyników mojej pracy pragnę omówić niektóre techniczne szczegóły dotyczące przygotowania używanych podłoży.

1. Przygotowanie bullonu hormonalnego (zamiast mięsa używa się serca wołu) jest dość trudne, pomimo, że składniki jego są bardzo proste. Wartość tego podłoża zależy od czynników zupełnie nieuchwytnych. Często też odrzucić trzeba dwie lub trzy serie pożywki, zanim otrzyma się taką, która nadaje się do badania cech charakterystycznych dla poszczególnych typów maczugowców błoniecznych. Podłoże to przygotowuje się w sposób następujący.

Serca wołu drobno posiekanego i pozbawionego tłuszczu .	500 g.
Wody	1 litr
Peptonu	10 g.
Soli	5 g.

Zmieszać pepton i sól z wodą i ogrzewać aż do rozpuszczenia. Po ostudzeniu do 60° dodać serce odpowiednio przygotowane i następnie gotować przez 20 min. nad płomieniem gazowym stale mieszając. Przepuścić przez sito druciane, doprowadzić odczyn nie więcej jak do pH 8 i gotować przez następne 5 min. Nalać do wysokich naczyń i wyjaławiać w autoklawie przez 20 min. pod ciśnieniem 1,3 atmosfery, co odpowiada temperaturze 107—108° C. Pozostawić w autoklawie przez noc, żeby osad opadł na dno. Następnie odlać płyn sponad osadu bardzo ostrożnie, doprowadzić odczyn do pH 7,8, rozlać do butelek i wyjaławiać w autoklawie pod ciśnieniem 1, 3 atm. Jest rzeczą zasadniczą, żeby bulionu nie filtrować, części stałe muszą opaść same. Jedynie w ten sposób należy przygotowywać przezroczysty bulion.

W celu określenia stopnia zakwaszania względnie alkalizacji podłoża przez maczugowce błonieczne, dodawałam do bulionu hormonalnego, mieszaninę wskaźników czerwienie fenolowej i błękitu tymolowego (2 ccm bulionu + 0,1 ccm wskaźnika). Mieszanina obydwóch wskaźników rozszerza zakres skali kolorymetrycznej, wykazując różnicę stężenia jonów wodorowych w granicach od pH 6,8 do pH 9,6. Normalny bulion hormonalny powinien być słabo alkaliczny (pH 7,6) w szczepach *gravis* odczyn ten po 24 godzinach przechodzi w kwaśny (pH 6,8), po następnych 2 — 3 dniach występuje zwrotny odczyn zasadowy (pH 8,6). W szczepach *mitis* po 24 godzinach otrzymujemy również

odczyn kwaśny (pH 6,8). Przejście zaś w odczyn zasadowy występuje dopiero 5 — 6 dnia.

Wzrost na bulionie w większości przypadków jest charakterystyczny dla danego typu. W hodowlach szczepów *gravis* po 24 — 48 godzinach występuje błonka na powierzchni bulionu, hodowla jest przezroczysta lub występuje męt, a na dnie próbówki gromadzi się osad ziarnisty, natomiast w hodowlach szczepu *mitis* bulion staje się jednolicie mętny, a na dnie próbówki występuje osad nieobfity mieszany (kłaczkowato-grudkowaty).

2) Podłoże z węglowodanami składa się z jednej części surowicy wołowej, trzech części wody przekroplonej z dodatkiem 1% dekstryny, skrobi lub glikogenu oraz 1% lakmusu. Maczugowce błonnicze rozszczepiają węglowodany stopniowo, po przez produkty przejściowe wytwarzają one jako ostateczny produkt kwas mlekowy, po 24 godzinach koncentracja kwasu jest niewielka, wystarczająca jednak dla wywołania zmiany zabarwienia z niebieskiego w różowe, w następnych dniach wytwarzające się coraz większe ilości kwasu mlekowego spowodować mogą krzepnięcie surowicy. Szczepy typu *gravis* rozszczepiać powinny bardzo silnie dekstrynę, glikogen i skrobię, powodując krzepnięcie surowicy. Szczepy typu *mitis* wytwarzają enzymy, rozszczepiające jedynie dekstrynę, — glikogen i skrobia pozostają niezmienione. Rozszczepianie dekstryny przejawia się przeważnie w zmianie barwy podłoża. Krzepnięcie surowicy występuje nie zawsze.

Nasz materiał obserwacyjny w porównaniu z materiałem opracowanym w roku 1935 powiększył się o pewną liczbę szczepów, nadto wykonano szereg powtórnych badań szczepów, wyosobnionych przed rokiem (190 szczepów), w celu stwierdzenia czy cechy biologiczne szczepów przechowywanych w muzeum pozostały bez zmiany, czy też w ciągu tego czasu wystąpiły pewne odchylenia od typu.

Badania nasze trwały od października 1934 roku do stycznia 1936 roku. Wyosobnione szczepy pochodziły od chorych, ozdrowieńców i nosicieli zdrowych.

Materiał do badania starano się pobierać zarówno z gardła jak i z nosa u tych samych osobników. Wykonano również pewną liczbę posiewów krwi.

Zbadano ogółem z wynikiem dodatnim 289 osób chorych i 123 nosicieli. Od tej liczby osób wyosobniono 533 szczepy błonnicze. Liczba ta, jak widzimy, nie odpowiada liczbie zbadanych przypadków, gdyż częstokroć z jednego przypadku wyosobniono po kilka szczepów. Na ogólną liczbę 533 wyhodowanych szczepów błonniczych wyosobniono 234 szczepy typu *gravis* (49,9%) i 299

szczepów typu mitis (56,1%). W tak wielkiej liczbie zbadanych szczepów ani razu nie wykryto szczepu intermedius.

Materiał nasz ugrupowany w zależności od tego czy pochodzi od chorych, czy też od ozdrowieńców lub nosicieli zdrowych przedstawiony jest w tablicy I. Od chorych wyosobniono 205 szczepów typu gravis (50,6%) i 200 szczepów typu mitis (49,4%). Od ozdrowieńców i nosicieli zdrowych 29 szczepów typu gravis (22,7%) i 99 szczepów typu mitis (77,3%). W zestawieniu tym uderza wysoki odsetek szczepów typu gravis, który wyosobniono od chorych na błonicę, niski zaś odsetek szczepów tego typu u ozdrowieńców i nosicieli zdrowych. Gdyby uwzględnić jedynie nosicieli zdrowych, nie należących do otoczenia chorych na błonicę, odsetek szczepów typu gravis byłby znikomy. Nie omawiam szerzej tej sprawy, gdyż będzie ona przedmiotem oddzielnego doniesienia.

T A B L I C A I.

Podział wyhodowanych szczepów błoniczych na typy z uwzględnieniem źródła ich pochodzenia.

S z c z e p y		W y h o d o w a n o			
		od 289 chorych		od 123 nosicieli	
		Liczba szczepów	%	Liczba szczepów	%
Gravis	Ogółem typowe nietypowe	205	50,6	29	22,7
		184	89,8	26	89,7
		21	10,2	3	10,3
Mitis	Ogółem typowe nietypowe	200	49,4	99	77,3
		64	32,0	19	19,2
		136	68,0	80	80,8
Ogólna liczba szczepów		405		128	

W celu sprawdzenia czy istnieje pewna zależność między porą roku i częstością występowania jednego lub drugiego typu maczugowca błoniczego, wyosobnione szczepy błonicze zgrupowano również według miesięcy (tablica Nr. II). Z zestawienia

TABLICA II

Występowanie typów maczugowców błoniczych w zależności od miesiący.

	Liczba zbadanych szczepów	W y h o d o w a n o s z c z e p y t y p u							
		od chorych				od nosicieli			
		gravis	%	mitis	%	gravis	%	mitis	%
Październik 1934 r.	22	11	57.8	8	42.2	—	—	3	100.0
Listopad	42	12	35.3	22	64.7	2	25.0	6	75.0
Grudzień	45	15	37.5	25	62.5	—	—	5	100.0
Styczeń 1935 r.	66	25	41.6	35	58.4	3	50.0	3	50.0
Luty	75	45	76.3	14	23.7	6	37.5	10	62.5
Marzec	84	38	53.5	33	46.5	6	46.1	7	53.9
Kwiecień	17	7	53.9	6	46.1	4	100.0	—	—
Maj	30	15	65.2	8	34.8	—	—	7	100.0
Czerwiec	26	8	42.1	11	57.9	—	—	7	100.0
Lipiec	17	3	20.0	12	80.8	—	—	2	100.0
Sierpień	6	1	25.0	3	75.0	—	—	2	100.0
Wrzesień	12	6	75.0	2	25.0	2	50.0	2	50.0
Październik	19	7	43.75	9	56.25	—	—	3	100.00
Listopad	25	5	38.4	8	61.6	3	25.0	9	75.0
Grudzień	47	7	63.6	4	36.4	3	8.3	33	91.7
	533	205	50.6	200	49.4	29	22.7	99	77.3

widzieć, że w miesiącach zimowych, w styczniu i lutym, jak również z początkiem wiosny, częstsze są schorzenia wywołane przez szczepy typu gravis, w maju odsetek ten zaczyna się zmniejszać. w miesiącach zaś letnich widzimy znaczną przewagę szczepów typu mitis. We wrześniu występuje znów gwałtowny wzrost szczepów typu gravis, który zmniejsza się w późniejszych miesiącach jesieni. Jednakże na zasadzie materiału zebranego w ciągu jednego tylko roku nie możemy wyciągać wniosków o częstotści występowania danego typu maczugowca błoniczego w zależności od pory roku i sezonowego nasilenia błonicy. Żeby ten punkt widzenia wyświecić należałoby przeprowadzać badania przez kilka lat z rzędu.

Badając cechy biologiczne maczugowców błoniczych natrafiono na takie, które nie posiadały całkowitego zespołu cech, charakteryzujących dany typ. Szczepy takie posiadają np. charakterystyczną dla pewnego typu zdolność rozszczenia wyższych węglowodanów, wykazują jednak w hodowli i na bulionie hormo-

nalnym pewne odchylenia, dotyczące czasu występowania odczynu zwrotnego, oraz pewne różnice w charakterze wzrostu. W innych znów wypadkach charakter wzrostu na bulionie hormonalnym i odczyn zwrotny były typowe, natomiast zdolność rozszczepiania wyższych węglowodanów nie była zupełnie charakterystyczna dla danego typu. Szczepy takie określano bądź to jako nietypowe gravis, bądź to jako nietypowe mitis.

Na ogólną liczbę wyosobnionych szczepów gravis (234) wyhodowano 24 szczepy nietypowe (w bulionie hormonalnym nie tworzyły one blonki i początkowo kwaśny odczyn podłoża przechodził w zasadowy dopiero po 8 — 10 dniach). 10,2% nietypowych szczepów gravis pochodziły od chorych, 10,3% — od ozdrowieńców i nosicieli. Nie stwierdziłam żadnych różnic w częstości występowania nietypowych szczepów gravis u chorych i u nosicieli.

Sprawa nietypowych szczepów mitis nastęrcza pewne trudności. Jak już nadmieniałam poprzednio, szczepy typu mitis w sposób bardzo rozmaity rozszczepiają dextrynę: jedne rozszczepiają bardzo energicznie, powodując już po 48 godzinach krzepnięcie zawartej w podłożu surowicy, inne rozszczepiają tenże węglowodan słabiej, barwiąc bardzo silnie lakmus na czerwono, nie ścinając jednak surowicy w granicach 10 dni. Inne szczepy hydrolizują dextrynę jeszcze słabiej — lakmus obecny w podłożu zabarwiony jest na kolor słabo czerwony, są wreszcie i takie szczepy, w których występuje jedynie ślad hydrolizy dextryny, gdyż po 24 godzinach podłoże jest zaledwie słabo zaczerwienione. W następnych dniach słabo kwaśny odczyn przechodzi w obojętny. Szczepy, które hydrolizują dextrynę słabo, nigdy nie powodują krzepnięcia surowicy. Wogóle typ mitis należy uważać na naszym terenie za bardzo niejednolity pod względem biologicznym. Świadczy o tym rozmaita zdolność wytwarzania enzymów. Z drugiej zaś strony energiczna lub słabsza zdolność hydrolizowania dextryny nie zawsze zbiega się z innymi cechami charakterystycznymi dla tego typu, np. niektóre szczepy mitis, które wybitnie hydrolizują dextrynę posiadają inne cechy właściwe dla typu intermedius; (hodowla na bulionie pozostaje przezroczysta, na dnie probówki występuje obfity osad grudkowaty, odczyn zaś pozostaje kwaśny pH — 6,8 w przeciągu 10 dni). Odwrotnie zaś niektóre szczepy o słabej

zdolności rozszczepiania dextryny, posiadają inne cechy zupełnie typowe, dla szczepu mitis.

Na ogólną liczbę 299 wyosobnionych szczepów mitis wyhodowano 216 nietypowych, z czego 60% nietypowych mitis pochodziło od chorych, nieco zaś więcej bo 80,8% od nosicieli i ozdrowieńców (tablica I).

Widzimy zatem, jak niezmiernie duży odsetek nietypowych szczepów występuje w obrębie typu mitis. W obrębie typu gravis odsetek szczepów nietypowych jest znacznie niższy.

Jak już wspomniałam nie udało się w Polsce wykryć typowych szczepów intermedius, przynajmniej na terenach badanych (Warszawa, Łódź, Katowice). Pierwotnie przypuszczałam, że szczepy te w naszym kraju, wbrew temu co znaleźli autorzy angielscy, posiadają słabą zdolność rozszczepiania dextryny, jednakże na zasadzie innych cech szczepy słabo zakwaszające dextrynę należało raczej zaliczyć do typu mitis. Niektóre z tych szczepów badałam wielokrotnie i stwierdziłam z czasem wybitne nasilenie się zdolności rozszczepiania dextryny, mogące prowadzić niekiedy nawet do ścinania się surowicy.

Nadto porównałam szczepy te z typowymi szczepami intermedius, przesłanymi mi łaskawie przez dr. *Robinsona* z Anglii. Nadesłano 5 szczepów tego typu, które wprowadzicie hydrolizowały dextrynę w niezmiernie słabym stopniu, jednakże w przeciwieństwie do naszych szczepów posiadały inne cechy zupełnie charakterystyczne dla typu intermedius (hodowla na bulionie hormonalnym przezroczysta oraz stały odczyn kwaśny pH 6,8).

Materiał kliniczny ze szpitala Karola i Marii.

Od 17 listopada 1934 roku do 2 lipca 1935 roku korzystano z materiału pochodzącego ze szpitala Karola i Marii. Materiał ten obejmuje dzieci w wieku od półtora roku do 11 lat. Naloty z gardła i z nosa dzieci chorych na błonicę pobierał dr. *Mazurek*. Waciki tego samego dnia przesyłano do P. Z. H. Posiewy robiono jednocześnie na surowicy Loefflera i płytce z podłożem Clauberga. Opracowano 124 przypadki. Niektóre z dzieci zbadano 2 i 3 krotnie (37 badań) tak, że ogółem wykonano 161 badań. Na 124 opracowane

przypadki 103 razy (83%) otrzymano wyniki dodatnie w sensie wykrycia pałeczek błoniczych i 21 (16%) wyników ujemnych. Uwzględniając typ biologiczny wyosobnionych maczugowców błoniczych powiedzieć możemy, że typ *gravis* występował w 54 przypadkach (52,43%), zaś typ *mitis* w 49 przypadkach (47,57%). Sprawa przebiegu klinicznego błonicy w związku z typem wyhodowanego maczugowca błoniczego opracowana została przez prof. *Szenajcha* i dr. *Kłobukowską*. Zdaniem autorów „ustalenie typu biologicznego maczugowca nie przesądza o przebiegu klinicznym błonicy, jednak rozpoznanie typu *gravis* niewątpliwie pogarsza rokowanie *quo ad vitam*“.

W niektórych ciężkich przypadkach błonicy z ujemnym wynikiem badania bakteriologicznego, wykonano posiewy w warunkach beztlenowych metodą *Fortnera*. Zasadą tej metody jest hodowanie szczepów względnie materiału badanego na płycie z *bac. prodigiosum*, które pochłania b. silnie tlen. Hodowanie w warunkach tych wydawało się wskazanym w związku z spostrzeżeniem *Kollatha*, który w ciężkich przypadkach błonicy w pierwszych dniach choroby hodując materiał w warunkach tlenowych nie mógł wykryć maczugowców błoniczych, natomiast stwierdzał ich obecność w hodowlach beztlenowych. W próbach pobranych później u tego samego pacjenta udało się *Kollathowi* wyhodować maczugowce błonice już w warunkach tlenowych. Zdaniem autora możliwe jest, że czasami w przypadkach ciężkiej błonicy na początku choroby występują maczugowce błonice jako bezwzględnie beztlenowce, które dopiero później przechodzą w formy typowe, rosnące w warunkach tlenowych.

Biorąc zatem pod uwagę spostrzeżenia *Kollatha*, materiał pochodzący z 5 przypadków ciężkiej anginy dyfterytycznej badano zarówno w warunkach tlenowych jak i beztlenowych, lecz w żadnym przypadku nie udało się wyhodować maczugowców błoniczych.

W dalszym ciągu naszych badań zastanawiano się nad sprawą umiejscowiania się zarazka błoniczego u dzieci chorych. Chodziło o stwierdzenie czy istnieją różnice w umiejscowianiu się zarazków błoniczych w zależności od typu maczugowca. Badano czy w określonym przypadku chorobowym maczugowce błonice

znajdują się wyłącznie w gardle lub nosie, czy też jednocześnie w gardle i nosie. W badaniach tych brany był przede wszystkim pod uwagę typ maczugowca błoniczego.

Materiał nasz zgrupowany jest w tablicy Nr. III.

T A B L I C A III.
Umiejscowienie maczugowca błoniczego w ustroju chorych
w zależności od typu biologicznego.

Typ biologiczny	Gardło i nos	Gardło	nos
Gravis	42,5%	55,5%	1,84%
Mitis	38,7%	61,2%	0

Jak widać z tablicy w schorzeniach wywołanych przez szczep typu gravis zarazek błonicy wykryć można zarówno w gardle jak i w nosie w 42,5% przypadków, w schorzeniach zaś wywołanych przez szczep mitis w 38,7% przypadków. Częściej jednakże zarówno szczepy typu gravis jak i mitis umiejscawiają się jedynie w gardle z pominięciem nosa.

Z kolei zajęto się sprawą czasu trwania zarazka w ustroju chorego. Chodziło o to, czy nie udałoby się pod tym względem zaobserwować różnic, zależnych od przebiegu klinicznego choroby lub od typu biologicznego zarazka.

W celu wyświetlenia tych spraw pobrano u pewnej liczby dzieci materiał do badania dwukrotnie (29 dzieci) u czworga zaś dwu i trzykrotnie, tak że ogółem wykonano powtórnych badań 37. Ponieważ badania trzykrotne wszystkie były ujemne, weźmę pod uwagę jedynie dwukrotne (33). W liczbie tej były i takie, które przy pierwszym badaniu były ujemne (5 przypadków) a zatem rozpatrywać będę jedynie 28 badań powtórnych.

Wyniki otrzymane zestawiono w tablicy Nr. IV. W 15 przypadkach (53,6%) przy powtórnym badaniu nie wykryto maczugowców błonicy. W 13 przypadkach (46,5%) powtórne badania dały dodatni wynik posiewu w sensie obecności maczugowców błonicy.

Rozpatrując 15 przypadków z ujemnym wynikiem posiewu w drugim badaniu, pod względem klinicznego przebiegu choroby

oraz biologicznego typu zarazka, widzimy że w 8 przypadkach o przebiegu zarówno ciężkim jak i lekkim, w których 3 razy stwierdzono typ mitis, 5 razy typ gravis, nie wykryto zarazków błonicy już po 4 — 5 dniach ani w gardle ani w nosie, (możliwie nawet, że znikły one z ustroju wcześniej).

Dodatni wynik powtórnego badania 13 przypadków nie jest czymś niezwykłym wobec znanego faktu, że chorzy dosyć często pozostają przez dłuższy czas nosicielami zarazków błonicy. Z tablicy Nr. IV widać, że w tych 13 przypadkach z dodatnim wynikiem posiewu w drugim badaniu, nie można było stwierdzić związku z przebiegiem schorzenia lub z typem wyosobnionego maczugowca błoniczego.

Ponieważ badania przeprowadzono na bardzo nielicznym materiale, nie wiem, czy należy przypisać większe znaczenie obserwacji, że przy powtórnym badaniu w posiewach ze śluzu z nosa nie wykrywano już pałeczek błoniczych, gdy tymczasem z posiewach z gardła udało się jeszcze stwierdzić ich obecność. Nigdy przy powtórnym badaniu nie otrzymano ujemnego posiewu z gardła, dodatniego zaś z nosa. W dwóch przypadkach przy pierwszym badaniu nie stwierdzono obecności pałeczek błoniczych w posiewach z nosa, natomiast w drugim badaniu zarazki te wyrosły. W sprawie zanikania maczugowców błoniczych z ustroju istnieje obszernie piśmiennictwo. *Park i Beebe, Büsing, Hartley i Martin, Martin, Weaver* podają że u bardzo licznego odsetka chorych pałeczki błonice giną w kilka dni od chwili zniknięcia błony.

Nasunęło się jeszcze pytanie, czy od jednego chorego można wyhodować w ciągu całej choroby lub w ewentualnym stadium nosicielstwa jeden i ten sam typ maczugowca, czy też mogą obok siebie występować dwa typy, lub najpierw jeden typ, a w dalszych badaniach drugi typ. Wykrycie odmiennych typów maczugowca błoniczego mogłoby być rozmaicie interpretowane. Z jednej strony moglibyśmy przypuszczać, że zachodzą procesy zmienności in vivo, z drugiej zaś strony nie moglibyśmy wykluczyć możliwości, że nosiciel jednego typu maczugowca błoniczego w okresie nosicielstwa zakaził się innym typem maczugowca, wobec czego z ustroju wyosobnić można było oba te typy.

T A B L I C A IV
Wyniki dwukrotnych badań tych samych osobników na obecność w gardle i nosie mącznicowców błonistych.

	Przebieg choroby	Wysobnio- no z		Zbadano powtórnie po dniach	Wysobnio- no z		Przebieg choroby	Wysobnio- no z		Zbadano powtórnie po dniach	Wysobnio- no z	
		gardła	nosa		gardła	nosa		gardła	nosa		gardła	nosa
1	średnio ciężki	mitis	—	4	—	—	15	niezbyt ciężki	gravis	—	5	—
2	niezbyt ciężki	gravis	—	8	—	—	16	dość ciężki	gravis	—	3	gravis
3	dość ciężki	"	—	11	—	—	17	ciężki	gravis gravis	7	gravis gravis	
4	lekki	mitis mitis	4	4	—	—	18	dość lekki	"	6	"	
5	dość ciężki	"	"	4	—	—	19	dość ciężki	mitis mitis	2	mitis	
6	"	gravis	—	10	—	—	20	bardzo lekki	gravis gravis	4	gravis gravis	
7	ciężki	"	—	7	—	—	21	bardzo ciężki	gravis	6	mitis gravis	
8	lekki	"	—	4	—	—	22	dość ciężki	mitis mitis	10	mitis	
9	"	"	—	4	—	—	23	"	gravis	6	gravis	
10	bardzo ciężki	gravis gravis	4	4	—	—	24	"	mitis	6	mitis mitis	
11	ciężki	"	—	5	—	—	25	ciężki	mitis mitis	11	mitis	
12	bardzo ciężki	gravis gravis	7	7	—	—	26	lekki	gravis	8	gravis	
13	ciężki	mitis mitis	8	8	—	—	27	"	gravis gravis	3	gravis	
14	średnio ciężki	gravis	—	7	—	—	28	średnio ciężki	mitis	5	mitis	

— oznacza ujemny wynik badania

Badania nasze jak już wspomniałam obejmują 37 przypadków, które dotyczyły dzieci chorych na błonicę, naloty zaś pobierane były z przerwą kilkodniową, dwu i trzykrotnie. W badaniach tych ani razu nie udało się wyhodować obok siebie dwóch różnych typów maczugowca, chociaż częstokroć badano po 3 do 10 kolonii z każdorazowego posiewu. A zatem w posiewach z jednego wacika nie udało się nigdy wykryć obok siebie dwu typów maczugowca.

Ciekawie przedstawia się wynik badania przypadku Nr. 21 (tablica Nr. IV). Otóż w pierwszym badaniu wyosobniono z gardła typ gravis, w wydzielinie zaś z nosa maczugowca błoniczego nie wykryto. Przy powtórnym badaniu wyhodowano z gardła typ mitis, z nosa zaś gravis. Po raz trzeci nie udało się otrzymać materiału od tego chorego — nie można więc było skontrolować otrzymanych wyników. Ponieważ jest to jedyny zaobserwowany przez nas przypadek i nie całkowicie skontrolowany, przeto powstrzymujemy się od wyciągnięcia z tego spostrzeżenia jakichkolwiek wniosków.

Zwróciliśmy również uwagę na typy maczugowców występujących u zdrowych nosicieli. Badania przeprowadzone były na 12 osobnikach. Nosicieli tych badano wielokrotnie w granicach od 3 do 10 miesięcy. U 8 nosicieli za każdym razem wykrywano ten sam typ zarazka (nietypowy mitis), u 3 nosicieli w pierwszym badaniu wykryto typowe szczepy mitis, a w następnych zaś nietypowe. U jednego dziecka wyosobniano przez dwa miesiące typowe szczepy gravis, w następnych zaś nietypowe mitis.

Badania stałości typu maczugowca błoniczego in vitro.

Badanie zmienności maczugowców błoniczych w ustroju żywym, jako w warunkach naturalnych byłoby oczywiście najbardziej interesujące, lecz dodatnie wyniki badań nasuwają zawsze pewne zastrzeżenia, wobec tego podjęliśmy badania nad zmiennością in vitro i nad rozpiętością tej zmienności. W badaniach nie stosowano żadnych środków dysocjujących w rodzaju chloru litu i t. p. uważając to za zbyt brutalne i sztuczne zmuszanie do zmiany. Interesowało nas zagadnienie, czy same maczugowce

blonnicze są potencjalnie zdolne do zmiany pewnych cech biologicznych, uważanych za charakterystyczne dla typu. Za czynnik umożliwiający ujawnianie tych ewentualnych, ukrytych w drobno-ustrojach potencyj wybrano czas.

Wyniki dotychczasowych badań różnych autorów nad stałością typu są różnorodne. Jedna grupa badaczy z *Mc Leodem* i *Carterem* na czele stoi na stanowisku, że typy maczugowców blonniczych są stałe i nie ulegają żadnym zmianom, ani podczas przechowywania w zwykłych warunkach laboratoryjnych, ani też przy hodowaniu ich w specjalnych warunkach, co było stosowane przez *Cartera*. Probował on szczepy zamrażać, następnie ogrzewać je prawie do punktu śmierci, hodować na bulionie z dodatkiem surowicy antytoksycznej blonniczej i we wszystkich tych przypadkach nie udało mu się otrzymać w szczepach badanych żadnych zmian, wszystkie cechy okazały się według tego badacza stałymi; natomiast inni autorzy jak *Wright i Rankin*, *Parish i O'Brien*, *Menton i Cooper*, *Duke*, *Fussel* stwierdzili, że niektóre szczepy blonnicze wykazują pewną skłonność do zmiany. *Christison* hodując na bulionie szczepy przesłane z Leeds i Edynburga, zauważyła pewne różnice w ich właściwościach, zmienność dotyczyła nie tylko morfologii, lecz wraz ze zmianą wyglądu kolonii wystąpiły pewne różnice w charakterze wzrostu na bulionie i w sposobie zachowania się na bulionie z krwią, natomiast zdolność rozszczepiania wyższych węglowodanów nie uległa zmianie. *Robinson*, badając szczepy blonnicze porównawczo w warunkach laboratoryjnych w granicach od 4 do 14 miesięcy, dochodzi do wniosku, że badane szczepy są na ogół dość stałe, najmniej ulegają zmianom własności biologiczne, natomiast trochę częściej występują zmiany w charakterze wzrostu na bulionie. Dokładniejsze jednak badania wykazały dość znaczne różnice w metabolizmie. *Robinson* dochodzi do wniosku, że cechy biologiczne są na ogół trwałe, istnieje jednak pewien odsetek szczepów będących w stanie uchwycjenia i te właśnie w warunkach laboratoryjnych ulegać mogą zmianom.

Badania nad samorzutną zmiennością maczugowców blonniczych *in vitro* przeprowadzono na 190 szczepach muzealnych. Szczepy te przechowywano w temperaturze pokojowej na agarze

prostym i badano powtórnie po roku. Z agaru prostego szczepy te przesiewano na płytkę z podłożem Clauberga, skąd wyosobniono po 5 do 6 kolonii, które wysiewano na surowicę Loefflera.

Zbadano w ten sposób 82 szczepy *gravis*. Szczepy te przy pierwszym badaniu posiadały wszystkie cechy charakterystyczne dla tego typu.

Przy powtórным badaniu, jak widać z tablicy Nr. V, 77 (93%) spośród tych szczepów zachowało swoje pierwotne własności. Natomiast 4 utraciły niektóre ze swoich cech charakterystycznych, wobec czego zakwalifikowano je jako nietypowe *gravis* (szczepy te nie wytwarzały błonki w bulionie hormonalnym, zasadowy odczyn zwrotny występował u niektórych późno, dopiero na 7 — 10 dzień u innych zaś odczyn pozostawał kwaśny przez cały czas badania). Jeden typowy szczep *gravis* przekształcił się w nietypowy *mitis*. Badany powtórnie rozszczepiał on dextrynę bardzo słabo, podłoże zlekka czerwieniał. W hodowli na bulionie hormonalnym wytworzyła się błonka, która w następnych dniach zniknęła. Reakcja zwrotna wystąpiła 4-go dnia (pH — 8.4) a zatem szczep ten zachował dwie cechy charakterystyczne dla typu *gravis*, stracił natomiast zdolność rozszczepiania wyższych węglowodanów — zasadniczą cechą warunkującą podział na typy.

Szczepów *mitis* zbadano powtórnie 108. W liczbie tej było 31 typowych i 77 nietypowych (rozszczepiały dextrynę słabo,

TABLICA V
Wyniki powtórного badania 190 uprzednio określonych szczepów.

Szczepy	Liczba zbadanych powtórnie	W y n i k p o w t ó r n e g o b a d a n i a							
		G r a v i s				M i t i s			
		T y p o w y		N i e t y p o w y		T y p o w y		N i e t y p o w y	
		liczba	%	liczba	%	liczba	%	liczba	%
Gravis typowe	82	77	93,9	4	4,8	—	—	1	1,2
Mitis typowe	31	1	3,2	—	—	19	61,2	11	35,4
Mitis nietypowe	77	—	—	—	—	32	4,5	45	58,4
Ogółem	190								

zlekka zakwaszając lakmus, nadto w bulionie jedne szczepy tworzyły silny męt, odczyn pozostawał kwaśny — pH 6.8, inne zaś szczepy dawały obfity grudkowaty osad, bulion był przezroczysty a reakcja zwrotna występowała 5—6 dnia—pH 7.8—8.2.

Z tablicy Nr. V wynika, że typowe szczepy mitis badane po raz drugi w 61,2% przypadków zachowały wszystkie swe cechy, natomiast 35,4% należało tym razem uznać za nietypowe. Jeden typowy szczep mitis przekształcił się w typowy szczep gravis. Szczepy zaklasyfikowane w pierwszym badaniu jako nietypowe mitis, w większości przypadków, bo w 58,4%, pozostały bez zmiany, natomiast 41,5% przy powtórnym badaniu okazały się typowymi.

Przeglądając wyniki powtórnych badań widzimy, że większość badanych szczepów gravis, zachowała swoje pierwotne własności (93,9%). Natomiast wśród typowych szczepów mitis tylko 61,2% zachowało swe charakterystyczne cechy, wśród nietypowych zaś mitis odsetek ten jest jeszcze niższy — wynosi bowiem 58,4%. Jak więc widać z tablicy Nr. V pokażna liczba szczepów zmieniła swe własności. Szczepy typu mitis w porównaniu ze szczepami gravis posiadają większą skłonność do zmiany. Wogóle grupę tę, ze względu na jej chwiejność, uważać należy za bardzo niejednolitą.

Omawiając na Zjeździe Mikrobiologów i Epidemiologów w Łodzi sprawę zmienności w obrębie maczugowców błoniczych nadmieniałam, że nie udało się zaobserwować przejścia jednego typu w drugi. Jednakże teraz na materiale większym udało się wykazać zmienność tego rodzaju. Jak wykazuje tablica Nr. V typowy szczep gravis zmienił się w nietypowy mitis i w jednym przypadku typowy mitis w gravis.

Zestawiając wyniki naszej pracy widzimy, że na terenie Polski w obecnych warunkach epidemicznych stwierdziliśmy obecność 2-ech typów biologicznych maczugowców błoniczego, a mianowicie typy gravis i mitis. Typu intermedius nie spotkaliśmy ani razu, z tego względu nasz teren epidemiczny różniłby się od terenu Leeds i Berlina.

Powstaje teraz pytanie, czy typy biologiczne maczugowców błoniczych stwierdzone w przebiegu obecnej epidemii na terenie

Anglii, Niemiec, Polski istniały poprzednio, czy też pewne cechy maczugowców błoniczych różnicowały się podczas obecnej epidemii, nadając drobnoustrojom odrębny charakter. Znanym jest w epidemiologii fakt, że po okresach prawie zupełnego wygaśnięcia epidemii albo zmniejszenia zachorowalności, następują okresy bardzo wybitnego wzmożenia się epidemii. Okresy nasilenia wiążemy ze wzmożeniem zjadliwości zarazka, uwzględniając również i inne niezmiernie ważne przyczyny takie, jak zmniejszenie się liczby osobników odpornych, zwiększenie się kontaktu między ludźmi i t. d. Niewątpliwie w okresie nasilenia epidemii mogą uwydatnić się pewne zasadnicze cechy drobnoustrojów, nadając im specjalny charakter „typu epidemicznego“. Przypuszczenie to znajduje potwierdzenie w obserwacjach *Griffitha* i innych badaczy angielskich nad szczepami meningokoków, wyhodowanymi w okresie epidemii zapalenia opon mózgowych. Badacze ci wykazali, że rozwój epidemii zapalenia opon mózgowych prowadzi do uwydatnienia cech warunkujących jednolitość typu. W badaniach ich ta jednolitość przejawia się głównie we własnościach aglutynacyjnych. Natomiast w okresie międzyepidemicznym stwierdzali oni tak dużą indywidualizację szczepów, że trudno byłoby zaliczyć je do jakiegoś określonego typu.

Niejednolite zatem wyniki otrzymane przez różnych badaczy przy klasyfikowaniu szczepów błoniczych mogą mieć swoje uzasadnienie w tym, że badania były przeprowadzone w rozmaitych okresach nasilenia epidemii.

Posiewy krwi.

Jak już nadmieniałam, materiał od chorych na błonicę, pochodzący ze szpitala Karola i Marii, zawierał niekiedy i próbki krwi.

Technika pobierania krwi do badania była następująca. Krew w ilości 5 ccm pobierano z żyły. 1 ccm krwi dodawano do próbówki, zawierającej 1 ccm 1% cytrynianu, resztą zaś krwi wlewano do buteleczki, zawierającej bulion zwykły. Zaraz po dostarczeniu materiału do pracowni krew w cytrynianie i w bulionie wysiewano na surowicę Loefflera i na płytkę z podłożem Clauberga. Nadto nadesłane próbówki i flaszeczki trzymano 24 godziny w cieplarni i po tym czasie powtórnie wysiewano na podłoża.

Powiewów krwi zrobiono 98. Trzy razy otrzymano wzrost maczugowców błoniczych, — dwa razy w czystej hodowli, raz z domieszką gronkowców złocistych. W 95 próbkach krwi żadnych drobnoustrojów nie wykryto. W 2-ch przypadkach otrzymane hodowle maczugowców błoniczych pochodziły z bezpośredniego posiewu krwi cytrynianowej na surowicę Loefflera i na płytkę Clauberga, w trzecim zaś z materiału, trzymanego pierwotnie przez 24 godz. w cieplarni, a dopiero następnie wysianego na podłoża. Nadmienić należy, że pomimo że posiewano krew jednocześnie do cytrynianu i do bulionu, dodatnie wyniki osiągnięto jedynie w posiewach krwi cytrynianowej. Wzrost wyosobnionych maczugowców błoniczych na surowicy Loefflera po 24 godzinach był bardzo nieznaczny. W preparatach drobnoustroje odznaczały się wielkim polimorfizmem, dotyczyło to zarówno wielkości jak i kształtu komórek. Przesiewając hodowle na nowe podłoże Loefflera otrzymano już wzrost obfity.

Podaję dane kliniczne dr. *Kłobukowskiej*, dotyczące tych trzech przypadków, w których ze krwi wyosobniono maczugowce błonice.

Nr. 2517. Dziecko półtora roku, przypadek nieciężki, naloty rozległe, oczyściły się jednak szybko, bez powikłań, chory był wyleczony.

W przypadku tym w posiewach ze krwi wyhodowano nietypowy szczep mitis.

Nr. 2321. Dziecko trzy lata, i cztery miesiące, przypadek b. ciężki, rozległe cuchnące naloty, duży obrzęk wokół gruczołowy, tętno nitkowate, tony serca głuche, exitus po trzech dniach.

Od dziecka tego wyhodowano ze krwi szczepy typu gravis.

Nr. 3415. Dziecko trzy lata, przypadek ciężkiej anginy dyfterytycznej, z rozległymi nalotami, cuchnienie z ust i kolosalny obrzęk szyi. Exitus po trzech dniach wśród objawów porażenia naczyń obwodowych.

W tym przypadku wyhodowano ze krwi prątki typu gravis.

Zaznaczyć należy, że w tych trzech przypadkach w gardle i w nosie wykryto takie same typy maczugowca błoniczego jak i we krwi.

Wyosobnione ze krwi szczepy błonice wstrzykiwano świnikom morskim podskórnice. Świnki padały po 24 lub po 48 godzinach i z narządów ich wyosobniano szczepy zupełnie podobne do tych, które zostały wprowadzone do ich ustroju.

Czym tłumaczyć należy zjawisko, że tylko w bardzo nielicznych przypadkach wyhodowano ze krwi maczugowce błonice. Większość autorów jest zdania, że obecność tych drobnoustrojów we krwi nie jest wyrazem posocznicy, gdyż pojęcie to wymaga, żeby krew dla danego zarazka była nie tylko drogą, która przenosi go do różnych narządów, lecz i podłożem w którym może się rozwijać. Obecność w krwiobiegu zarazków błonicznych jest zjawiskiem przejściowym i dlatego uważać je należy za bakteriemie.

Sprawa bakteriemii w błonicy była już oddawna przedmiotem rozważań różnych badaczy¹⁾. Pierwsze badania nad bakteriamią wywołaną przez maczugowce błonice wykonane były na materiale sekeyjnym ludzi zmarłych na błonicę. Wśród badaczy zajmujących się tym zagadnieniem należy w pierwszym rzędzie wymienić *Froscha*, *Beichego*, *Nowaka* i wielu innych. Od czasu wielkiej epidemii błonicy w Hamburgu w 1910 roku sprawa bakteriemii posunęła się naprzód, *Bloch* i *Sommerfeld* mogli we wszystkich narządach ludzi zmarłych na błonicę nie wyłączając krwi i żółci stwierdzić obecność maczugowców błonicznych. *Bonhoff* robiąc 300 sekeyj, w 4% przypadków wykrył maczugowce błonice we krwi i niekiedy w płynie mózgowo-rdzeniowym; w trzech przypadkach bez bakterij towarzyszących, w 10 zaś razem z paciorkowcami. Dodatnie wyniki badania post-mortem nasunęło różnym badaczom przypuszczenie, że zarazków błonicznych szukać należy w warunkach przyżyciowych. *Conradi* i *Biearst* przypuszczając możliwość przejścia tych zarazków do moczu zaczęli ich szukać w wydalinach ludzi chorych na błonicę. U 155 pacjentów 55 razy stwierdzili bakteriurię wywołaną przez prątki błonice. *Koch* u 29 pacjentów (111 próbek moczu) dwa razy wykrył zjadliwe maczugow-

¹⁾ Obszerne piśmiennictwo dotyczące tej sprawy podałam w Warsz. Czas. Lek. w Nr 33 w 1936 r.

ce błonice. Ważniejszym atoli niż stwierdzenie obecności zarazka błonicy w moczu byłoby wykrycie tych drobnoustrojów we krwi osobników chorych. Pierwsi badacze, którzy przeprowadzili podobne badania u chorych, jedni z wyjątkiem dodatnim, inni z ujemnym byli: *Rosen-Runge*, *Mahler*, *Hesse*, *Morgan* i inni. *Leed* np. wykrył na 18 badanych próbek krwi raz jeden maczugowce błonice. *Reiche* badając krew 142 osobników trzy razy stwierdził obecność zarazka błonicy, w 96% przypadków krew była jałowa. *Roedelius* na 187 badań (196 próbek krwi) otrzymał trzy razy hemokultury dodatnie w sensie maczugowców błoniecznych. W 2-ch przypadkach zarazki te były w czystej hodowli, w jednym zaś towarzyszyły im paciorkowce. Dwa przypadki były śmiertelne, posiewy krwi post-mortem dały wynik ujemny. Trzeci przypadek dotyczył chłopca, który był wyleczony. W nowszych czasach w 1935 pojawiła się praca dwóch autorów włoskich: *Revelli*ego i *Casassa*. Zbadali oni krew 113 chorych, stale z wynikiem ujemnym.

Wyniki naszych badań dotyczących bakteriemii w przypadkach błonicy u człowieka wskazują również, zgodnie z poglądami innych autorów, na rzadkość występowania maczugowców błoniecznych we krwi osobników chorych.

WNIOSKI.

1) Badania nasze potwierdzają spostrzeżenia autorów angielskich, dotyczące podziału maczugowców błoniecznych na typy.

2) Za podstawę podziału na typy przyjęto zachowanie się maczugowców błoniecznych na podłożach z wyższymi węglowodanami.

3) Na 533 zbadanych szczepów błoniecznych wyhodowano 234 szczepy *gravis* i 299 szczepów *mitis*, ani razu nie wyhodowano typowego szczepu *intermedius*.

4) Obok szczepów typowych występują również szczepy nietypowe o chwiejnych własnościach.

5) Odsetek nietypowych szczepów w obrębie typu *gravis* jest znacznie mniejszy niż w typie *mitis*, którą to grupę uważać należy za bardzo niejednorodną.

6) Przy powtórnym badaniu (po roku) 190 szczepów błoniczych muzealnych zauważono przejście jednego typu w drugi. Jeden typowy szczep gravis przekształcił się w nietypowy szczep mitis. Jeden typowy mitis przeszedł w typowy szczep gravis.

7) W trzech przypadkach na 98 badanych próbek krwi, pochodzących od chorych na błonicę, stwierdzono maczugowce błonice.

From the State Institute of Hygiene, Department of Bacteriology
and Experimental Medicine.

RESEARCHES ON THE BIOLOGY OF *C. DIPHTHERIAE* STRAINS FROM THE RECENT EPIDEMIC.

By

JULIA SEYDEL

SUMMARY.

The researches confirm the observations of the British authors concerning the division of *C. diphtheriae* into types. The behaviour of *C. diphtheriae* on media containing the higher carbohydrates has been taken as basis for the division into types. Among 533 examined diphtheria strains 234 were of the gravis type and 299 of the mitis type. On no occasion a typical intermedius strain was cultivated. Apart from the typical strains atypical ones of unstable properties were isolated. The percentage of atypical strains within the gravis type is lower as compared with the mitis, which type should be regarded as most heterogenic.

The second examination after 12 months of 190 strains of *C. diphtheriae* revealed the transition of one type into another, namely 1 gravis strain changed into atypical mitis strain, while one mitis strain changed into a gravis strain.

Among 98 examined bloods of diphtheria patients in 3 cases *C. diphtheriae* strains were cultivated.

P I Ś M I E N N I C T W O.

Anderson, Cooper, Happold, Mc Leod, Thomson. Journal of Path. and Bact. T. XXXIV 1931. *Anderson, Cooper, Happold, Mc Leod.* Journal of Path. and Bact. T. XXXVI 1931. The Lancet, str. 293, 1933. *Bloch i Sommerfeld.* Arch. f. Kinderheil. 28 — 1900. *Bonhoff.* Zeit. f. Hyg. T. LXVII Nr. 38 *Büssing.* Zeit. f. Hyg. und Infek. 1907. *Conradi i Biearst.* Deutsche Med. Woch. — 1912. *Clauberg.* Klin. Woch. Nr. 7 1936. *Christison.* Journ. of Path. and Bact. T. XXXVII, 1933. *Christison.* Z. f. Bakt. Orig. T. 133 — 1934. *Fortner.* Z. f. Bakt. Orig. T. 115 — 1929. *Frosch.* Zeit. f. Hyg. u. Infekt. T. 13 1893. *Goliborska.* Medyc. Dośw. i Społ., t. XX, 1936. *Hartley i Martins.* Proc. Roy. Soc. Med. 13, 1919—20. *Hesse.* Deutsche Med. Woch. T. 35, 1909. *Koch.* Deutsche Med. Woch. T. 35, 1912. *Kollath.* Münch. Med. Woch. 1934. *Leed.* Zeit. f. Hyg. u. Infek. T. 69, 1911. *Leed.* Zeit. f. Hyg. u. Infekt. T. 70, 1913. *Leed.* Zeit. f. Klin. Med. T. 77, 1913. *Mahler.* Berl. Klin. Woch. 1907. *Menton.* Journ. of Path. and Bact. T. XXXV, 1932. *Menton, Cooper, Duke, Fussel.* *Morgan.* A. m. J. Dis. T. 5, 1913. *Murray.* Journ. of Path. and Bact. T. XLI, 1935. *Murray.* British Journ. of Exp. Path. T. XVI, 1935. *Nowak.* Centr. f. Bakt. Orig. T. 19, 1896. *Parish, Whatley, O'Brien.* Journ. of Path. and Bact. T. XXXV, 1932. *Parish, Whatley, O'Brien.* British Med. Journ. 1932. *Park i Beebe.* Med. Res. Council Nr. 46, 1894. *Parker.* Journ. of Med. Res. T. 43, 1922. *Przesmycki.* Med. Dośw. i Społ. t. XX, 1936. *Reiche.* Zeit. f. Klin. Med. *Revelli i Casassa.* Annales Bact. T. 55, 1935. *Robinson.* Journ. of Path. and Bact. T. XXXIX, 1934. *Robinson i Marshall.* Journ. of Path. and Bact., T. XXXVIII, 1934. *Roedelius.* Zeit. f. Hyg. u. Infek. T. LXXV, 1913. *Rosen Runge.* Münch. Med. Woch. T. 50, 1903. *Seydel.* Med. Dośw. i Społ. T. XX, 1936. *Seydel.* Warsz. Czas. Lekarskie Nr. 33, 1936. *Szenajch i Kłobukowska.* Med. Dośw. i Społ. T. XX, 1936. *Kłobukowska.* Pediatria Polska T. XV, 1936. *Weaver.* Journ. of Infekt. Dis. T. 20, 1917. *Wright, Christison, Rankin.* Journ. of Path. and Bact. T. XLI, 1935. *Piasecka-Zeyland.* Annal. Pasteur t. 50. 1933. *Żurkowski.* Medyc. Dośw. i Społ. t. 20, 1936.

Wpłynęło 30.VI.1936.

Z Państwowego Zakładu Higieny, Dział Bakteriologii i Medycyny Doświadczalnej.

❖ BADANIA NAD BIOLOGIĄ MACZUGOWCÓW BŁONICY POCHODZĄCYCH Z OBECNEJ EPIDEMII.

(Prace wykonane pod kierunkiem doc. F. Przesmyckiego).

Doniesienie II.

Rozprzestrzenianie się maczugowców błonicy
w ustroju zwierzęcym w związku z typami.

Podali

GOLIBORSKA T., LACHOWICZ K., PRZESMYCKI F. i SEYDEL J.

Badania *Leofflera* (1884) nie tylko ustaliły etiologię błonicy, lecz stworzyły także podstawę naszych poglądów na patogenę błonicy, — podstawę umocnioną pracami *Roux* i *Yersina* nad toksyną błoniczą oraz wynikami leczenia swoistego surowicą antytoksyczną (*Behring*). Poglądy te, odmawiające maczugowcom błonicy zdolności wnikania do tkanek i płynów ustrojowych człowieka i zwierząt doświadczalnych, zostały jednak zachwiane. Zaczęto gromadzić fakty świadczące o istnieniu tych zdolności także i u maczugowca błonicy. Co raz częściej ukazywały się doniesienia o dodatnich wynikach badań bakteriologicznych narządów ludzi zmarłych na błonicę, narządów zwierząt padłych na błonicę doświadczalną i wreszcie krwi ludzi chorych na błonicę¹⁾. Z drugiej strony pewne dane kliniczne, w szczególności spostrzeganie przypadków błonicy nie leczonych swoiście

¹⁾ Przegląd piśmiennictwa dotyczącego badań bakteriologicznych na materiale błoniczym ludzkim podała *J. Seydel* w Warsz. Czas. Lek. 1936. Nr. 33.

a zakończonych wyzdrowieniem bez wytworzenia antytoksyn w ustroju chorego w ilościach dostępnych naszemu badaniu (*Hamburger, Siegl, Rosling*), pozwalają przypuszczać istnienie jeszcze innego mechanizmu odporności na błonicę, a więc może i innego jeszcze mechanizmu działania chorobotwórczego maczugowców błonicy. Stąd próby użycia do uodpornienia przeciw błonicy prócz stosowanej dotychczas toksyny względnie anatoksyny, także i ciał bakteryjnych (masę *Loewensteina*).

Także powtarzające się narzekania ze strony klinicystów na dość częstą nieskuteczność (zwłaszcza w przypadkach szczególnie złośliwych) terapii antytoksycznej, mimo znacznego zwiększenia dawek surowicy i wczesnego jej stosowania, skłaniały do przeprowadzenia rewizji poglądów na mechanizm działania chorobotwórczego maczugowca błonicy, tym bardziej, że poszukiwania jakościowych różnic w strukturze toksyn błonicy i w ich zołojętnianiu się zapomocą surowicy antytoksycznej dały (poza niepotwierdzonymi dotychczas spostrzeżeniami *Havensa*) wynik ujemny.

Toteż w ostatnich czasach zagadnienie inwazyjności jako czynnika patogenetycznego maczugowców błonicy zajmuje coraz więcej miejsca w piśmiennictwie. Podkreślili wyraźnie jego znaczenie *Feierabend* i *Schubert* (1929) w pracy nad szczepami błoniecznymi, pochodzącymi z nasilonej podówczas i obfitującej w złośliwe przypadki epidemii błonicy. Wysoką chorobotwórczość szczepów błonicy o słabych zdolnościach jadotwórczych odnieśli autorzy do inwazyjności tych szczepów. *Simić* (1931), któremu — również w okresie złośliwej epidemii błonicy — udało się na 22 bakteriologicznie zbadane sekeyjne przypadki z 7 wyhodować z narządów maczugowce błonicy, na przykładzie 2-ech szczepów pochodzących z narządów ludzi zmarłych na błonicę i szczepów innego pochodzenia użytych porównawczo wykazał, że te pierwsze — choć *in vitro* okazały się gorszymi producentami toksyny niż szczepy porównawcze — w doświadczeniach na świnkach morskich, w przeciwieństwie do ostatnich, rozprzestrzeniły się w narządach. Szczepy więc wyhodowane z narządów przypadków sekeyjnych odznaczałyby się wzmożoną inwazyjnością występującą także w doświadczeniu na świnkach morskich.

Wyodrębnienie trzech typów biologicznych w obrębie maczugowca błonicy (*McLeod* etc.) wywołało próby związania inwazyjności szczepów błonieczych z przynależnością do tego czy innego typu biologicznego. *Robinson i Marshall* a następnie *Gundel i Erzin* stwierdzili istnienie takiego związku. Według ich badań szczepy inwazyjne przeważają w obrębie typu *gravis* i *intermedius*, natomiast występują znacznie rzadziej w obrębie typu *mitis*.

Śmiałą koncepcję w związku z inwazyjnością maczugowców błonicy wysunął *Gins*. Badacz ten stwierdził, że użycie metody wzbogacania przy badaniu bakteriologicznym narządów w kierunku maczugowców błonicy znacznie zwiększa odsetek wyników dodatnich. Większy odsetek wyników dodatnich uzyskał on z narządów świnek zabitych wcześniej (24 godziny) niż z narządów świnek padłych. W związku z tymi spostrzeżeniami *Gins* rzucił myśl czy bakteriemia nie jest w błonicy pierwszą fazą choroby, zaś umiejscowienie się zarazka na migdałkach i błonach śluzowych górnych dróg oddechowych wraz z dalszymi tego konsekwencjami — drugą, wtórną fazą. Próby potwierdzenia tej koncepcji drogą badań migdałków świnek morskich zakażonych podskórnie hodowlą maczugowców błonicy, wykonane przez *Ginsa*, zresztą na bardzo małym materiale (6 świnek morskich), nie dały dodatnich wyników. Badania te podjęli w dalszym ciągu *Gundel i Erzin* i uzyskali w jednej serii doświadczeń z 32 badanymi migdałkami sekcjonowanymi świnek morskich w 17 przypadkach szczepy błonieczne zjadliwe, identyczne co do typu ze szczepami użytymi do doświadczeń, zaś w drugiej serii ze 140 badań uzyskali w 32 przypadkach szczepy błonieczne odpowiedniego typu, (przynależność do typu określali oni na podstawie morfologii kolonii na podłożu *Gundla—Tietza*), ale z tych 32 szczepów tylko 9 okazało się zjadliwymi dla świnek morskich.

W badaniach naszych podjęliśmy zagadnienie inwazyjności maczugowców błonicy w celu stwierdzenia jak częstym zjawiskiem w błonicy doświadczałnej świnek morskich jest rozsianie zarazka w ustroju zwierzęcia, czy i jaka jest różnica w inwazyjności (zdolności wnikania do ustroju zwierząt i rozprzestrzeniania się w nim) między różnymi szczepami błoniecznymi w zależności

od typu biologicznego i od przebiegu klinicznego przypadków chorobowych, z których te szczepy wyhodowano. Wyniki naszych badań mogłyby rzucić światło na wyrażony przez *Ginsa*, a poparty wynikami badań *Gundla* i *Erzina* pogląd na patogenę błonicy. Zagadnienie to wydało się nam ważne ze względu na możliwość rewizji poglądów na patogenę błonicy u człowieka i wynikających z tego ewentualnie konsekwencji w leczeniu i zapobieganiu błonicy.

Przebieg badań. Świnki morskie wagi około 250 gr. zakażaliśmy podskórnie albo 1 cm przemytej zawiesziny sporządzonej z 24-godzinnej hodowli Loefflerowskiej według wzorca pałeczki okrężnicy zawierającego 100 mil. bakterij w 1 cm, albo też 0,5 cm. 24-godzinnej hodowli bulionowej. Przynależność każdego szczepu do typu biologicznego określaliśmy przedtem na podstawie własności biochemicznych, wzrostu na bulionie hormonalnym i zwrotnej reakcji zasadowej. Część świnek morskich zabiłszy po 24 godz. część po 48 godz. a w większości przypadków czekaliśmy na śmierć zwierzęcia, po czym dokonywaliśmy sekcji w warunkach możliwie aseptycznych zwracając uwagę na zmiany anatomo-patologiczne. Z każdej świnki morskiej pobieraliśmy uszkiem z miejsca zastrzyku materiał, który posiewaliśmy wprost na surowicę *Loefflera*, poza tym pobieraliśmy płyn z jam surowiczych (o ile był obecny), krew z serca oraz z narządów wewnętrznych wątrobę, śledzionę, nerkę, nadnercze i płuco. Płyn z jam surowiczych, krew oraz posiekane jałowco narządy posiewaliśmy na bulion, a po 24 godz. z bulionu na płytkę Clauberga. W razie ujemnego wyniku posiewu na podłożu Clauberga w większości przypadków ponawialiśmy posiew z bulionu po 48 godzinach, przyczem należy nadmienić, że w pewnym niewielkim odsetku przypadków ten powtórny posiew wypadał dodatnio. Z płytek Clauberga izolowaliśmy kolonie rozpoznane makro- i mikroskopowo jako błonice na surowicę *Loefflera* i po 24 godzinach sprawdzaliśmy czystość szczepu, morfologię w preparacie gramowym i neisserowskim, własności biochemiczne (dekstroza, sacharoza, maltoza, dekstryna, glikogen i skrobia), własności hodowlane na bulionie hormonalnym oraz występowanie zwrotnej reakcji zasadowej na tym bulionie z dodatkiem wskaźnika barwnego. Z pewnej części materiału sekcyjnego pobrano jałowym wacikiem materiał z błon śluzowych gardzieli, posiano na podłożu Clauberga i po 24 oraz 48 godzinach zbadano mikroskopowo wzrost w kierunku maczugowców błonicy.

Dla zmniejszenia wpływu indywidualnych właściwości zwierzęcia na wynik doświadczeń, a zarazem dla uwidocznienia tego wpływu, każdym badanym szczepem zakażaliśmy co najmniej dwie świnki morskie. W razie, gdy użyta ilość materiału zakaźnego nie spowodowała śmierci zwierzęcia (obserwowano zwierzęta przez zgórą miesiąc po infekcji) ponawialiśmy zakażenie dawką większą.

W ten sposób zbadaliśmy ogółem 32 szczepy błonice, w tym 15 szczepów typu *gravis*, 13 typu *mitis* oraz 4 typu *intermedius*.

Wszystkie szczepoty typu *gravis* i *mitis* zostały wyosobnione z przypadków chorobowych, z tego część z przypadków o znanym przebiegu klinicznym (do badanych przez nas szczepów typu *mitis* dołączyliśmy również szczep laboratoryjny P. W. 8, który — według danych zaczerpniętych z piśmiennictwa — pochodzi z przypadku chorobowego o średnio-ciężkim przebiegu klinicznym). Ponieważ dotychczas nie wyosobniliśmy z naszego materiału diagnostycznego i z materiału uzyskanego do prac badawczych ani jednego szczepu o cechach typu *intermedius*, do badań naszych użyliśmy 4 szczepoty tego typu, przysłane nam z Anglii przez *Robinsona*. Bliższych danych dotyczących pochodzenia tych czterech szczepów nie posiadamy. Spośród szczepów pochodzących z naszej pracowni część wyosobniono na kilka miesięcy przed badaniem i przechowywano we wkłutej hodowli agarowej, część zaś wyosobniono bezpośrednio przed badaniem. Wśród nich trzy szczepoty (2 typu *gravis* i jeden typu *mitis*) uzyskano ze krwi chorych (a więc przyżyciowo), jeden z nosa, jeden z worka spojówkowego, reszta zaś z gardła.

Z tych 32 szczepów użytych do doświadczeń — 23 szczepoty okazały w organizmie świnki morskiej zdolność do przenikania i umiejscowiania się w narządach wewnętrznych. Zdolność ta nie jest więc wśród szczepów błoniczych wyjątkowa, przeciwnie większość zbadanych przez nas szczepów bo 71,9% posiadała tę zdolność. Nie każde jednak zakażenie szczepem posiadającym tę zdolność dawało w efekcie rozsianie zarazka w narządach. Ponieważ zakażano zwierzęta tym samym materiałem, tą samą dawką i jednocześnie, różnice w wynikach należy przypisać różnicom indywidualnym zwierząt. Różnice te nieraz były znaczne. Dość często zdarzało się, że spośród dwóch świnek morskich zakażonych równoległe tym samym szczepem z jednej uzyskano dodatnie posiewy, z drugiej zaś ujemne. Czasem zaś nawet tak, że podczas gdy z jednej świnki morskiej uzyskano posiewy dodatnie, druga zaszczepiona równoległe tym samym materiałem wcale nie padła. Nasuwa się zatem podejrzenie, że przy szczepieniu większej liczby świnek morskich szczepem, który w badaniu na 2-ch świnkach okazał się nie inwazyjny, możnaby uzyskać w którejś z kolej próbie wynik posiewu dodatni. W ten sposób mógłby się odsetek

szczepów inwazyjnych zwiększyć, ale równocześnie musiałoby maleć znaczenie inwazyjności, jako indywidualnej cechy szczepów błoniczych. Różnice w inwazyjności szczepów błoniczych mogłyby zejść do roli różnic ilościowych tylko. Miarę znaczenia indywidualnych różnic wśród zwierząt użytych do doświadczeń ilustruje obliczenie, że na 62 świnek morskich zakażonych wyłącznie szczepami, które okazały się inwazyjnymi, 13 przeżyło zakażenie, a 17 dało wyniki posiewów ujemne. Pozostałe 32 świnki morskie, z których narządów wyhodowano maczugowce błonice stanowią zatem niewiele ponad połowę (51,6%) zakażonego szczepami inwazyjnymi materiału zwierzęcego.

T A B L I C A I.

Zestawienie wyników badań zwierząt zabitych i padłych.

Rodzaj śmierci	Liczba świnek morskich	Z tego posiewów	
		dodatnich	ujemnych
zabite po 24 godz.	7	3 (42,9%)	4 (57,1%)
zabite po 48 godz.	6	1 (16,7%)	5 (83,3%)
padłe	51	28 (56,8%)	23 (43,2%)

Jak wspomniano część świnek morskich zabito po 24 i 48 godzinach, aby móc ewentualnie zdać sobie sprawę z zależności dodatnich wyników posiewów od czasu jaki upłynął od zakażenia i w celu porównania tych wyników z wynikami uzyskanymi z pośmiertnego materiału sekcyjnego. Jak widać z tablicy I, spośród 7 świnek zabitych po 24 godzinach w trzech przypadkach wyhodowano maczugowce błonicy z narządów, spośród 6 zabitych po 48 godzinach — w jednym przypadku, zaś z 51 padłych w różnym czasie po infekcji (od 24 godzin do kilku i kilkunastu dni) w 28 przypadkach uzyskano wynik posiewu dodatni. Największy zatem odsetek wyników dodatnich dają narządy świnek morskich padłych na skutek infekcji. Być może dzieje się to po części dla tego, że wśród zabitych znajdować się mogą takie, które z powodu indywidualnej odporności zwalczają zakażenie, nie dopuszczają do przeniknięcia zarazka poza miejsce infekcji i mogłyby jej

wcale nie ulec. Porównanie wyników uzyskanych po 24 i 48 godzinach (z narządów zwierząt zabitych) wykazuje pewną przewagę wyników dodatnich po 24 godzinach, ale i nasz materiał porównawczy w tym kierunku jest za mały, aby można było wyciągnąć jakieś konkretne wnioski i nie możemy zapominać o tym, że w 24 czy 48 godzin po infekcji nie u wszystkich zwierząt procesy chorobowe jednakowo się rozwinęły. Pod tym względem istnieją znaczne różnice. Jedne zwierzęta są już w agonii, inne zaś mogą nie objawiać jeszcze wyraźnych oznak schorzenia ogólnego. Poza tym nie sposób nie zwrócić uwagi na fakt, że i wśród zwierząt padłych na skutek zakażenia odsetek posiewów dodatnich znacznie większy, gdy śmierć nastąpiła w pierwszej dobie po infekcji, zaś mniejszy właśnie w drugiej dobie (tablica IV). Spośród zwierząt padłych w pierwszej dobie 83,3% dały posiewy dodatnie zaś w drugiej dobie już tylko 36,8%. W przypadkach późniejszej śmierci liczba dodatnich wyników w sumie biorąc równa się liczbie wyników ujemnych.

T A B L I C A II.
Inwazyjność a przynależność do typu biologicznego.

Typ biologiczny	Liczba zbadanych szczepów	Liczba szczepów inwazyjnych	Liczba szczepów nieinwazyjnych
gravis	15	13 (86,7%)	2 (13,3%)
mitis	13	6 (46,2%)	7 (53,8%)
intermedius	4	4 (100%)	—
Ogółem	32	23 (71,9%)	9 (28,1%)

T A B L I C A III.
Typ biologiczny a częstość dodatnich wyników.

Typ biologiczny	Liczba zwierząt zakażonych	Z ilu zwierząt zarazek z narządów		Ile zwierząt przeżyło infekcję
		wyhodowano	nie wyhodowano	
gravis	39	22 (56,4%)	12 (30,8%)	5 (12,8%)
mitis	35	6 (17,1%)	18 (51,4%)	11 (31,5%)
intermedius	12	4 (33,3%)	3 (25%)	5 (41,7%)
Ogółem	86	32 (37,2%)	33 (38,4%)	21 (24,4%)

Jeśli rozpatrywać wyniki naszych badań, biorąc pod uwagę przynależność szczepów do poszczególnych typów biologicznych, zauważymy wśród szczepów inwazyjnych (tabela II, III i IV) dość znaczną przewagę typu gravis i intermedius nad typem

T A B L I C A IV.

Wyniki posiewu w zależności od typu maczugowca błonicy i czasu śmierci zwierzęcia.

T y p	Liczba świnek padłych	Wynik posiewu ¹⁾	C z a s ś m i e r c i				Ogólna liczba dodatnich i ujemnych posiewów	Liczba świnek, które przeżyły infekcję
			24 godz.	48 godz.	72 godz.	p ó ź n i e j		
gravis	26	+	13	3	—	3 (6,6 i 9-ty dzień)	19	5
		—	2	4	—	1 (7-my dzień)	7	
mitis	18	+	1	2	1	1 (9-ty dzień)	5	11
		—	1	8	1	3 (8, 17 i 19 dzień)	13	
intermedius	7	+	1	1	—	2 (5 i 6-ty dzień)	4	5
		—	—	1	—	2 (5 i 12-ty dzień)	3	
Ogółem	51		18	19	2	12		21

mitis. Procent inwazyjnych szczepów typu gravis wynosi 86,7% (13 szczepów na 15), z 4-ch zbadanych szczepów typu intermedius wszystkie okazały się inwazyjne, podczas gdy tylko 46,2% szczepów typu mitis udało się nam wyhodować z narządów zakażonych nimi świnek morskich. Poza tym szczepy typu gravis dawały dodatnie wyniki posiewu bardziej regularnie. Spośród 39 świnek morskich zakażonych 15 szczepami typu gravis, 22 świnki dały w posiewach z narządów hodowle błonicy identycznego typu, podczas gdy spośród 35 świnek morskich zakażonych 13 szczepami typu mitis tylko w 6 przypadkach uzyskano dodatnie posiewy z narządów. Nadmienić należy, że z narządów jak też i z miejsca zastrzyku wyhodowaliśmy za każdym razem szczepy błonicy identyczne co do typu ze szczepem użytym do zakażenia (jeden ze szczepów użytych do doświadczeń okazał się typem

¹⁾ Wyhodowanie maczugowców błonicy wyłącznie z miejsca zastrzyku uważane jest za wynik ujemny.

gravis o znacznym stopniu uchwienienia cech warunkujących przynależność typową; szczep ten opracowała osobno *J. Seydel*. Może najwyraźniej podkreśla różnice w inwazyjności i chorobotwórczości poszczególnych typów biologicznych tabela IV. W tablicy tej mamy przedstawioną zależność dodatnich wyników posiewu od typu biologicznego zarazka i od czasu śmierci zwierzęcia. Widzimy tu, że typ gravis powoduje śmierć zwierzęcia w około 50% przypadków już w przeciągu pierwszej doby i że wtedy daje też i największy odsetek dodatnich posiewów. W następnej dobie pada już znacznie (przeszło o połowę) mniejsza liczba zwierząt i odsetek posiewów ujemnych jest większy niż dodatnich. W przypadkach późniejszych śmierci liczba posiewów dodatnich znów przeważa nad liczbą ujemnych, ale już nie tak znacznie jak w pierwszej dobie. 5 świnek morskich nie uległo infekcji szczepami typu gravis. Szczepy typu mitis zabijają większość zwierząt nieco później, bo w drugiej dobie i nigdy nie mają przewagi posiewów dodatnich nad ujemnymi. W przypadkach późnej śmierci dodatnie wyniki posiewów są znacznie rzadsze niż w typie gravis. Stosunkowo duża liczba zwierząt przeżyła zakażenie szczepami mitis. Zbadane przez nas 4 szczepy typu intermedius zabiły większość świnek morskich stosunkowo późno i nie ujawniły zależności wyników posiewu od czasu śmierci zwierzęcia.

Porównyując wyniki posiewów narządów w zależności od typu biologicznego maczugowca błonicy użytego do badania zwróciliśmy też uwagę na stopień rozsiania zarazka w ustroju świnki morskiej (tablica V).

T A B L I C A V.
Stopień rozprzestrzenienia się maczugowców błonicy w narządach.

T y p	Liczba świnek morskich, z których otrzymano dodatnie wyniki posiewu z :				
	1 narz.	2 narz.	3 narz.	4 narz.	ponad 5 narz.
gravis	5	1	4	2	10
mitis	2	—	2	1	1
intermedius	3	—	—	—	1
Ogółem	10	1	6	3	12

Okazuje się, że przy zakażeniu typem gravis otrzymano wyniki dodatnich posiewów z wielu narządów na raz w większym odsetku przypadków, niż w typie mitis. Jeśli przyjmiemy, że otrzymanie dodatniego wyniku posiewu tylko z jednego lub dwu narządów (miejsce zastrzyku naturalnie nie wchodzi w rachubę) oznacza niski stopień rozsiania zarazka w ustroju, z trzech średni, zaś powyżej trzech wysoki, to przewaga typu gravis nad pozostałymi jest zupełnie wyraźna. Typ gravis w 53,6% zwierząt doświadczalnych dał dodatni wynik posiewu z wielu narządów, podczas gdy typ mitis w 33,3%, zaś intermedius w 25%. Wgląd w sprawę umiejscowienia się zarazków w poszczególnych narządach daje tablica VI.

T A B L I C A VI.
Rozmieszczenie zarazka w narządach

T y p	Liczba przyp. dodatnich	Miejsce zastrz.	Krew	Wys. opł.	Wys. ostrz.	Wątr.	Śledź.	Nerka	Naćn.	Płuco ¹⁾	Gardło
gravis	22	17	2	9	8	16	15	15	10	14	—
mitis	6	3	—	—	1	5	4	4	1	2	—
intermedius	4	3	1	2	—	1	1	2	2	1	—
Ogółem	32	23	3	11	9	22	20	21	13	17	—

Jak widać z tabeli różnica między typami gravis i intermedius a typem mitis wyraża się głównie w tym, że typ gravis uzyskano z płynów ustrojowych (krew, wysięk otrzewnowy i wysięk opłucnowy) w 19 przypadkach, typ intermedius w trzech przypadkach (na cztery), a tylko jeden raz (z wysięku otrzewnowego) typ mitis. Poza tym częstość występowania maczugowców błonicy różnych typów w poszczególnych narządach nie wykazuje zasadniczej różnicy w porównawczym zestawieniu.

W pracy naszej staraliśmy się uwzględnić jeszcze jeden punkt widzenia, mianowicie, czy istnieje związek między klinicznym przebiegiem schorzenia, z którego wyosobniono dany szczep, a inwazyjnością tego szczepu w doświadczeniu na śwince mor-

¹⁾ Nie we wszystkich przypadkach sekcyjnych zrobiono posiew płuca.

skiej. Na podstawie prac *Feierabenda* i *Schuberta* oraz *Simića* możnaby podejrzewać, że szczepy wyhodowane z przypadków ciężkich, opornych na leczenie antytoksyeczne, okaza się inwazyjne i że właśnie tą ich właściwością będzie można tłumaczyć przebieg schorzenia i niepodatność na stosowanie antytoksyny błoniczej. Możliwość się też spodziewać, że szczepy dające lekki przebieg schorzenia nie przejawia inwazyjności lub, co najwyżej, przejawia ją w stopniu nieznacznym.

Materiał nasz (prócz szczepów typu intermedius, co do których brak nam danych) w całości pochodzi z przypadków chorobowych, ale tylko dla 15 szczepów udało nam się uzyskać dane kliniczne dotyczące przypadków, z których one zostały wyosobnione. Spośród tych 15 szczepów — 6 pochodzi z przypadków ciężkich (trzy z nich z zejściem śmiertelnym), 5 z przypadków średnich i 4 z lekkich.

T A B L I C A VII.

Przebieg kliniczny schorzenia a inwazyjność szczepów w doświadczeniu na śwince morskiej.

Przebieg kliniczny	Liczba przypadków	S z c z e p ó w t y p u			
		g r a v i s		m i t i s	
		inwazyjnych	nieinwazyjnych	inwazyjnych	nieinwazyjnych
ciężki	6	3	—	—	3
średni	5	4	—	1	—
lekki	4	2	1	1	—
Ogółem	15	9 (90%)	1 (10%)	2 (40%)	3 (60%)

Jak wynika z zestawienia (patrz tablica VII), spośród tych 15 szczepów 11 wykazało inwazyjność. Stanowi to 73,3%, a zatem odpowiada odsetkowi szczepów inwazyjnych z całości materiału badanego. W zupełności też odpowiada stosunkom zaobserwowanym na całym naszym materiale fakt, że spośród rozpatrywanych 15 szczepów 90% szczepów typu gravis, a 40% typu mitis okazało się inwazyjnymi. Uderzające jest, że spośród 6 szczepów pochodzących z przypadków ciężkich tylko trzy okazały się inwazyjne, podczas gdy szczególnie z przypadków średnich, ale też i z lekkich, znacznie większa część szczepów posiada tę właściwość.

Wszystkie trzy szczepy *gravis* wyhodowane z przypadków ciężkich wystąpiły w posiewach z narządów, podczas gdy ani jeden ze szczepów *mitis* pochodzących z ciężkich przypadków, (z tego jeden skończył się śmiertelnie) nie okazał się inwazyjny. Jedyne szczepu typu *gravis* nie inwazyjny wyhodowany był z przypadku o lekkim przebiegu schorzenia. Liczba przypadków rozważanych tutaj jest za mała aby móc to zjawisko uogólnić, nie mniej jednak wyniki są takie, że usposabiają do przyjęcia różnego — choćby tylko częściowo — mechanizmu działania chorobotwórczego dla typu *gravis* i dla typu *mitis*. Szczególnie, gdy się równocześnie uwzględni uwidocznione w tabeli IV różnice między tymi typami występujące w doświadczeniach na zwierzętach.

W uzupełnieniu nadmienimy jeszcze, że wszystkie trzy szczepy wyhodowane w naszym zakładzie ze krwi chorych przyżyciowo (*Seydel*) okazały się również inwazyjne w doświadczeniu na świnkach morskich, natomiast szczep typu *gravis* wyhodowany przez nas z worka spojówkowego w przypadku *conjunctivitis diphtherica* szybko wyleczonego bez wyraźnych objawów ogólnych, dał w posiewach narządów świnek morskich, padłych po zakażeniu nim, wynik ujemny. Szczep laboratoryjny P. W. 8, zbadany na 6 świnkach morskich, okazał się nieinwazyjny. Jest to zupełnie zgodne z protokołami ogłoszonymi przez *Simića*.

Po zaznajomieniu się z pracami *Gundla* i *Erzina* każdą sekcjonowaną świnkę morską badaliśmy też w kierunku ewentualnego wystąpienia maczugowców błonicy na błonach śluzowych gardzieli. Zbadaliśmy w tym kierunku 38 świnek morskich, zakażonych różnymi szczepami błonicznymi trzech typów biologicznych. Mimo skrupulatnych badań ani razu nie udało się nam wyhodować maczugowca błonicy z błony śluzowej gardzieli świnek morskich, padłych na błoniec doświadczalną. Z posiewów z błon śluzowych gardzieli otrzymywaliśmy zawsze bogatą florę bakteryjną z grupy t. zw. dyfteroidów, które zarówno charakterem wzrostu i morfologią w obrazie mikroskopowym, jako też własnościami biochemicznymi różniła się od maczugowców błonicy. Kilkakrotnie natknęliśmy się na drobnoustrój, który na podstawie wyglądu w preparacie gramowym nasuwał pewne podejrzenia, czy nie mamy do czynienia z formą maczugowca błonicy niety-

pową pod względem morfologicznym. Choć badania metodą *Neissera* na ziarnistości biegunowe dawały wyniki ujemne, szczepy te każdorazowo badaliśmy dokładniej, przeszczepiając je i określając ich własności biochemiczne. W następnych przeszczepach, szczepy te ustaliły swój charakter, dając obraz mikroskopowy zdecydowanie odmienny od obrazu maczugowca błonicy. Własności biochemiczne również odbiegały znacznie od charakterystycznych dla gatunku i typów maczugowca błonicy.

Na podstawie uzyskanych przez nas wyników oraz rozważenia wyników badań innych autorów, którzy się zajmowali zagadnieniem inwazyjności maczugowców błonicy i jej znaczeniem patogenetycznym, możemy stwierdzić, że bakteriami maczugowców błonicy — przynajmniej w doświadczeniu na świnkach morskich — nie jest zjawiskiem rzadkim i że nie można jej uważać za przejściowe tylko rozsianie zarazka, wynikające ze sposobu zakażenia powodującego przerwanie ciągłości tkanek i naczyń krwionośnych (*Clauberg*, *Revelli* i *Casassa*) ani też za pośmiertne rozprzestrzenianie się zarazka poza miejsce infekcji w przebiegu procesów gnilnych i po ustaniu działania sił bakteriobójczych jakimi dysponuje żywy organizm. Wprawdzie posiewy krwi zwierzęcia zakażonego rzadko wypadają dodatnio, ale za to skutek bakteriemii w postaci występowania maczugowców błonicy w różnych, odległych od miejsca zakażenia, narządach da się stwierdzić wcale często. Roli inwazyjności w patogenecie błonicy doświadczałnej a tym bardziej błonicy ludzkiej nie możemy określić na razie. Spotykaliśmy szczepy inwazyjne pochodzące z lekkich przypadków chorobowych i na odwrót szczepy nieinwazyjne (ściśle wyrażając się, nie wykazujące inwazyjności) pochodzące z przypadków chorobowych o bardzo ciężkim przebiegu klinicznym nawet z zejściem śmiertelnym. Także z naszego materiału doświadczalnego wyhodowywaliśmy maczugowce błonicy z narządów zarówno w przypadkach rychłej śmierci zwierzęcia jak i śmierci późnej, choć w tych pierwszych częściej. Do poglądu na patogenetę błonicy reprezentowanego przez *Ginsa* oraz *Gundla* i *Erzina* trudno nam się przychylić na podstawie naszych wyników. Wprawdzie i z naszego materiału otrzymaliśmy większy odsetek posiewów dodatnich ze zwierząt zabitych po 24 godzinach niż zabitych póź-

niej, ale nie udało się nam ani razu wyhodować maczugowca błonicy z błony śluzowej gardzieli. W naszym też materiale (prze ciwnie niż u *Ginsa*) uzyskaliśmy większy odsetek dodatnich wyników ze zwierząt padłych niż zabitych weześniej.

Z krytyką tego poglądu na patogenezę błonicy wystąpił już *Clauberg*. Badacz ten kwestionuje zasadę wyciągania wniosków zakażenia drogą podskórną. Według niego inaczej należy interpretować procesy chorobowe występujące po zakażeniu przez nieuszkodzone błony śluzowe, a inaczej gdy zakażając naruszymy ciągłość tkanek. *Clauberg* zakażając świnki morskie drogą nieuszkodzonych błon śluzowych, nie otrzymał bakteriemii. W stosunku do uzyskania przez *Gundla* i *Erzina* hodowli maczugowców błonicy z gardzieli świnek morskich zakażonych podskórną zajął *Clauberg* również stanowisko krytyczne, wysuwając podejrzenie, czy aby te maczugowce błonicy nie dostają się do gardzieli świnek morskich połknięte wraz z paszą, która stanowiłaby drogę przyjsięcia zarazków z miejsca infekcji do gardzieli. To podejrzenie — gdyby okazało się słusznym — w zupełności tłumaczyłoby wielką rozbieżność między wynikami *Gundla* i *Erzina* a naszymi. Także i *Preunerowi* w badaniach migdałków zwierząt zakażonych błonicą nie udało się potwierdzić *Gundla* i *Erzina*.

Abstrahując od roli uszkodzenia tkanki podskórnej, jakie wywołuje użyty przez nas (i przez *Ginsa* oraz *Gundla* i *Erzina*) sposób zakażenia świnek morskich, w umożliwianiu wystąpienia bakteriemii błoniczej musimy podkreślić, że na fakt wystąpienia bakteriemii wpływa również indywidualna właściwość drobnoustroju (choćby była ona tylko ilościowej natury) oraz indywidualna właściwość ustroju zakażonego. Że tak jest, świadczy o tym istnienie szczepów, które wprowadzone pod skórę świnkom morskim, mimo niewątpliwego przerwania ciągłości tkanki podskórnej i znajdujących się w niej naczyń krwionośnych i dróg limfatycznych, nie dają się wyhodować z narządów tych świnek i istnienie świnek morskich, w których narządach nie można wykryć szczepu błoniczego, którym zostały zakażone mimo, że inne świnki morskie zakażone tym samym szczepem dały obfite nawet posiewy. Trudno jest przypuszczać, aby posiadanie takich właściwości przez pewne szczepy błonicze nie miało znaczenia w patogenezie

blonicy i nie wpływało na przebieg choroby. Roli patogenetycznej inwazyjności szczepów błoniczych na podstawie naszych badań i badań innych autorów nie można na razie określić, można tylko snuć na ten temat przypuszczenia mniej lub więcej związane z danymi doświadczalnymi.

Zdaje się nie ulegać natomiast wątpliwości, że istnieje różnica w inwazyjności szczepów błoniczych typu gravis i intermedius a mitis. Fakt ten podany przez *Robinsona i Marshalla* a potwierdzony przez *Gundla i Erzina* uwydatnił się i w naszych badaniach. Zbiega się to również z nieco odmiennym, możnaby rzec gwałtowniejszym, przebiegiem infekcji u świnek morskich zakażonych maczugowcami błonicy typu gravis. Już w ciągu pierwszej doby pada 50% świnek morskich zakażonych szczepami typu gravis, a przeżywa infekcję przy stosowaniu naszej dawki około 17% świnek zakażonych, podczas gdy w zakażeniu szczepami typu mitis największa śmiertelność osiągnąta jest w ciągu drugiej doby i obejmuje około 33% zwierząt zakażonych, zaś przeżywa infekcję również 33%. Według badań *Gundla i Erzina* efekty lecznicze osiągnąć zapomocą surowicy antytoksycznej są też lepsze w zakażeniu świnek morskich szczepami typu mitis niż szczepami pozostałych dwu typów. Różnica ma polegać na tym, że w zakażeniu typem mitis możemy uzyskać efekt leczniczy swoistą surowicą antytoksyczną jeszcze wtedy, gdy w zakażeniu szczepami typu gravis i intermedius swoista terapia zupełnie zawodzi.

Fakty te wskazywałyby, że z inwazyjnością szczepów błoniczych, jako czynnikiem patogenetycznym w eksperymentalnej błonicy zwierzęcej, należy się liczyć i że właściwość ta, względnie jej brak częściowo zbiega się z przynależnością do jednego z trzech typów biologicznych maczugowca błonicy, opisanych przez autorów angielskich i uważanych przez nich za kryterium zdolności chorobotwórczej zarazka. Czy i w błonicy ludzkiej właściwość ta odgrywa jakąś rolę patogenetyczną trudno w tej chwili odpowiedzieć, w każdym razie trzeba mieć na uwadze fakty wyhodowywania maczugowców błonicy z ludzkiego materiału septycznego i przyżyciowo ze krwi chorych oraz stwierdzoną przez *Simica* i przez nas zdolność tych właśnie szczepów do rozprzestrzeniania

się w organizmie zakażonym także i w eksperymencie na materiale zwierzęcym.

STRESZCZENIE.

1. Zbadano inwazyjność 32 szczepów błoniczych (15 typu gravis, 13 typu mitis i 4 typu intermedius) w doświadczeniu na świnkach morskich. 71,9% zbadanych szczepów okazało się inwazyjnymi.

2. Na wystąpienie bakteriemii, stosunkowo częściej w błonicy doświadczalnej świnek morskich, zdają się wpływać dwa czynniki: z jednej strony inwazyjność szczepu, z drugiej indywidualna właściwość zwierzęcia doświadczalnego.

3. Wśród szczepów typu gravis spotyka się szczepy inwazyjne znacznie częściej niż wśród szczepów typu mitis. 86,7% szczepów typu gravis zaś 46,2% szczepów typu mitis okazało się inwazyjnymi. Poza tym właściwość ta jest wśród szczepów gravis znacznie silniej rozwinięta. Bakteriemia w zakażeniu inwazyjnymi szczepami typu gravis występowała znacznie regularniej niż w zakażeniu inwazyjnymi szczepami typu mitis.

4. Infekcja świnek morskich szczepami typu gravis przebiega znacznie gwałtowniej, dając już w ciągu pierwszej doby śmierć około 50% zwierząt zakażonych, podczas gdy infekcja szczepami typu mitis daje w większości przypadków nieco późniejszą śmierć i większy odsetek zwierząt przeżywających infekcję. Z tego faktu i z częstszej i nasilonej wśród szczepów typu gravis inwazyjności możnaby wnosić o odmiennym, choćby częściowo mechanizmie działania chorobotwórczego szczepów typu gravis i o roli inwazyjności w tym mechanizmie.

5. Stwierdzona przez *Simića* i przez nas inwazyjność w doświadczeniu na świnkach morskich szczepów, które okazały się inwazyjnymi w błonicy ludzkiej, to znaczy wyhodowanych z narządów ludzi zmarłych na błonicę lub przyżyciowo ze krwi chorych na błonicę, zda się upoważniać do przyjęcia pewnych analogii między znaczeniem patogenetycznym inwazyjności w błonicy doświadczalnej na zwierzętach i w błonicy ludzkiej.

6. Nie znaleziono podstawy do przyjęcia poglądu na patogenezę błonicy, według którego bakteriemia byłaby pierwszą fazą choroby, a lokalizacja zarazka na migdałkach i błonach śluzowych gardzieli drugą, wtórną fazą, ponieważ nie wyhodowano ani razu maczugowców błonicy z błon śluzowych gardzieli świnek morskich zakażonych drogą podskórną i równocześnie nie stwierdzono większego odsetka dodatnich wyników posiewów z narządów świnek morskich zabitych po 24 godzinach niż z narządów świnek morskich padłych na skutek infekcji.

From the State Institute of Hygiene, Department of Bacteriology
and Experimental Medicine.

DIPHTHERIA STRAINS OF VARIOUS TYPES IN EXPERIMENTALLY INFECTED GUINEA-PIGS.

By

GOLIBORSKA T., LACHOWICZ K., PRZESMYCKI F. i SEYDEL J.

SUMMARY.

1. Thirty two diphtheria strains (15 of the gravis type, 13 mitis strains and 4 of the intermedius type) have been experimentally tested for their power of invasion in guinea-pigs. In 71.9 per cent of the examined strains the power of invasion has been established.

2. Two factors seem to influence the bacteriaemia, which is comparatively common in guinea-pigs experimentally infected with diphtheria. These factors are: the power of invasion of the strain and the individual character of the animal.

3. Strains with invasion power are more common among the gravis type (86.7%) than among the mitis type (46.2%). Besides this feature is higher developed among the gravis type.

The bacteriaemic condition was more regularly observed in infections with invading gravis strains than in those caused by the invading mitis type.

4. The course of infection of gravis type is in guinea-pigs more violent (death-rate 50%) as compared with the mitis type. In the latter case the disease is of longer duration with lower death-rate. This fact as well as the higher power of invasion of the gravis type give reason to consider a partly different mechanism of pathogenic action of the gravis type and the rôle of the invasion power in this process.

5. It has been established by *Simić* and by the writers that those diphtheria strains which possess invading power for man (i. e. cultivated from postmortem material or from the blood stream of the patients) show the same features for guinea-pigs. A certain analogy between the pathogenic properties of invasion power of experimental diphtheria and human infection may be concluded from this fact.

6. In no case diphtheria bacili were cultivated from the throat of guinea-pigs infected subcutaneously and no higher proportion of positive cultures was obtained from organs of guinea-pigs killed after 24 hours as compared with those which succumbed to the infection.

The above results do not support the view that bacteraemia is the first phase of the disease, and that the localisation of the germ on the tonsils and throat should be considered as secondary phase.

P I Š M I E N N I C T W O .

- 1) *Anderson, Happold, Mc Leod i Thomson*. Journ. of Path. t. XXXIV. 1931.
- 2) *Anderson, Cooper, Happold i Mc Leod*. Journ. of Path. XXXVI. 1933.
- 3) *Andrewes, Bulloch, Douglas, Dreyer, Fildes, Ledingham i Wolf*. Diphtheria (monografia) Med. Res. Counc London. 1923.
- 4) *Clauberg*. Klin. Wschr. 1936. Nr 1.
- 5) *Feierabend i Schubert*. Zeit. f. Immunforsch. 62 1929.
- 6) *Gins*. Zbl. Bakt. Orig. t. 135. 1935.
- 7) *Gundel i Erzin*. Klin. Wschr. Nr 33, 1935.
- 8) *Gundel i Erzin*. Zbl. Bakt. Orig. t. 136. 1936.
- 9) *Gundel i Erzin*. D. m. W. t. 62. 1936.
- 10) *Havens*. J. inf. Dis. t. 26. 1920.
- 11) *Jordan, Smith i Kingsbury*. Lancet. T. CCIII. 1921.
- 12) *Loewenstein*. Wien. Kl. Wschr. 1929. Nr 7.
- 13) *Preuner*. Zbl. Bakt. Orig. t. 137. 1936.
- 14) *Revelli i Cassassa*. An. de l'Inst. Pasteur t. LV. 1935.
- 15) *Robinson i Marshall*. Journ. of Path. t. XXXVIII. 1934
- 16) *Seydel*. Warsz. Czas. Lek. Nr 33. 1936.
- 17) *Seydel*. Med. Dośw. i Społ. t. XX. 1935.
- 18) *Siegl*. Wien. Kl. Wschr. Nr 37. 1935.
- 19) *Simić*. Zbl. Bakt. Org. t. 120. 1931.

Wpłynęło 1.VII.1936.

Z Państwowego Zakładu Higieny, Dział Bakteriologii i Medycyny Doświadczalnej
Dyrektor Prof. L. Hirszfeld.
i z Kliniki Dermatologicznej Uniwersytetu Józefa Piłsudskiego.
Dyrektor Prof. M. Grzybowski.

O WPŁYWIE TEMPERATURY O NA WYNIK ODCHYLENIA DOPEŁNIACZA W KILE.

Część serologiczna.

Pod ały

W. HALBERÓWNA i Z. MILIŃSKA-SZWOJNICKA

Część kliniczna.

Pod ał

BOLESŁAW RASZKES

I. Część serologiczna.

Już w roku 1910 stwierdził *Jacobstahl*, że można otrzymać znacznie lepsze wyniki przy odczynie Bordet — Wassermann, jeżeli wiązanie dopełniacza odbywa się nie przy 37°, lecz w chłodni. Inni autorzy, jak *Thomsen i Boas*²⁾ podali, że optymalną dla wiązania dopełniacza jest temperatura pokojowa. Najdokładniej zbadał wpływ temperatury na odczyn Bordet-Wassermann autor węgierski *Olah Gabor*³⁾. Stosował on zarówno różne temperatury, jak i różny czas działania i stwierdził, że wiązanie dopełniacza w przeciągu 1 godziny w wodzie lodowatej znacznie

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. S. 689 1910

²⁾ Zeitschr. für Immunitätsf. S. 516 1913

³⁾ " " " S. 517 1920

podnosi czułość odczynu, nie zmniejszając zupełnie jego swoistości. Podobne wyniki otrzymywał autor, wiążąc dopełniacz w wodzie bieżącej, zamiast przy 37°. Wiązanie dopełniacza w chłodni przy +6 do +8° przez 20—22 godziny podnosi znacznie czułość odczynu, przeważnie jednak kosztem jego swoistości.

Najlepsze wyniki otrzymał autor przy wiązaniu dopełniacza w chłodni przy 6 do +8°, lecz tylko wówczas, gdy wiązanie trwało nie dłużej, niż 4 godziny. Do podobnych wniosków doszli i autorzy amerykańscy, zwłaszcza *Wadsworth*¹⁾. Uznali oni tę metodę za najlepszą i przyjęli ją w Ameryce jako standardową, z tą jedynie zmianą, że po wyjęciu z chłodni stawiają statywy przed dodaniem krwinek na 10 — 15 minut do ciepłarki przy 37° C.

W pracowni Wassermannowskiej PZH., której zadaniem jest, między innymi, sprawdzenie wartości praktycznej ważniejszych metod serodiagnostycznych w kile — przebadano również, opierając się na wyżej wymienionych pracach, wpływ temperatury na odczyn Bordet-Wassermanna.

Przystępując do badań w tym kierunku, początkowo nastawialiśmy równolegle odczynu na lodzie, w chłodni przy +4 do +6°, w pokoju przy 19—22° i na łaźni przy 37, 38 i 42° C. Czas wiązania dopełniacza trwał od 1/2 do 24 godzin. Ponieważ najlepsze wyniki otrzymaliśmy w chłodni i w temperaturze pokojowej, przeto ograniczyliśmy się w naszych badaniach do tych 2 temperatur, a dla kontroli nastawialiśmy odczyn, jak zwykle na łaźni przy 37°, gdzie wiązanie dopełniacza trwało 1/2 godziny. Czas wiązania w chłodni i w pokoju wynosił 4 godziny.

Materiał nasz obejmuje 4102 surowice, w tem 2757 surowic kiłowych²⁾, i 1345 kontrolnych. Wszystkie surowice badałyśmy na odchylenie dopełniacza z antygenem Mc Intosha i z antygenem Bordet-Ruelensa. Z metod kłaczujących, stosowałyśmy odczyn citocholowy II, *Sachsa-Witebsky'ego*.

¹⁾ Hommage à la mémoire du Professeur Jean Cantacuzène 1934. 2. 789.

²⁾ Między surowicami kiłowymi znajdują się surowice przysłane z kliniki dermatologicznej Uniwersytetu Warszawskiego, które klinicznie są omówione w drugiej części tej pracy przez *Bolesława Raszkę*.

Technika odczynu Bordet-Wassermanna stosowana w P. Z. H.

Technika przygotowania antygenów: antygen Mc Intosha jest to wyciąg alkoholowy serca wołu z dodatkiem cholesteryny rozpuszczonej w alkoholu absolutnym. 1% roztwór cholesteryny dodaje się do alkoholowego wyciągu serca bezpośrednio przed nastawieniem odczynu w stosunku 0,4 ccm roztworu cholesteryny i 0,6 ccm wyciągu alkoholowego serca na 14 ccm NaCl (0,85%), dodając antygen do soli fizjologicznej kroplami bardzo szybko, przy jednoczesnym wstrząsaniu.

Antygen Bordet-Ruelensa jest to wyciąg alkoholowy serca cielęcego ekstahowanego poprzednio acetonem, bez dodatku cholesteryny. Antygen ten rozcieńcza się do odczynu w stosunku 1:40, dolewając szybko 39 ccm soli fizjologicznej (0,85%) do 1 ccm antygeny.

Zarówno do odczynu Mc Intosha jak i Bordet-Reulensa bierze się 0,1 ccm inaktywowanej surowicy i 0,5 ccm rozcieńzonego antygeny. Komplement miareczkuje się każdorazowo w 3 szeregach, jak to wykazuje tablica Nr I: I szereg sam system hemolityczny, II — w obecności antygeny Bordet-Ruelensa i III — w obecności antygeny Mc Intosha. Przy miareczkowaniu komplementu określa się nie dawkę, lecz rozcieńczenie: dawka komplementu jest stała i wynosi 0,5 ccm. Do odczynu bierze się zawsze pewien nadmiar komplementu. I tak na przykład, jeżeli przy miareczkowaniu wypada kompletna hemoliza w drugiej próbówce, a więc w rozcieńczeniu 1 + 33, to bierzemy do odczynu rozcieńczenie 1 + 24, czyli przesuwamy dawkę o 1 próbówkę. Amboceptor miareczkuje się tylko co pewien czas, a do uczulenia 3% zawiesiny krwinek barana używa się 5-cio krotnej dawki. Surowicę, zmieszane z antygenem i komplementem, trzyma się na łaźni przy 37° przez 1/2 godziny, poczem dodaje się 0,5 ccm uczulonych 3% krwinek barana i po pozostawieniu przez 10 minut na łaźni przy 37° odczytuje się wyniki.

Odechylenie dopełniacza w chłodni i w pokoju było wykonane tak samo jak na łaźni, z tą jedynie różnicą, że wiązanie trwało 4 godziny.

Zbadany przez nas materiał podajemy poniżej w szeregu tablic, uwidaczniających porównanie otrzymanych wyników wiązania dopełniacza przy antygenie Mc Intosha w t° 37° C. z wynikami otrzymanymi w chłodni i w ciepłocie pokojowej, oraz wyniki otrzymane z tymże antygenem przy każdej z poszczególnych temperatur z wynikami odczynu citocholowego.

W analogicznych tablicach zestawiamy wyniki otrzymane z antygenem Bordet-Ruelensa.

Wyniki odechylenia dopełniacza otrzymane z antygenem Mc Intosha na łaźni przy 37° w ciągu 1/2 godziny i w chłodni przy +4 do +6° w ciągu 4 godzin, przedstawione są w tablicy II.

T A B L I C A Nr. 1
Miareczkowanie komplementu.

I s z e r e g .

NaCl (0.85%)	0,85	0,8	0,75	0,7	0,65	0,6 ccm
komplem. $\frac{1}{20}$	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4 ..
3% krwinki uczul.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 ..

II s z e r e g

NaCl (0.85%)	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1
Antygen Bordet-Ruelens 1:40	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
komplem. 1:20	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4

łaźnia 37° C minut 30

3% krwinki uczul.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
---------------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

łaźnia 37° C minut 15 i odczytać hemolizę

Rozcieńczenia komplementu do

odczynu B-Wassermanna	1+99	1+67	1+49	1+39	1+33	1+27	1+23
---------------------------------	------	------	------	------	------	------	------

III s z e r e g

NaCl (0.85%)	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1
Antygen Mc Intosha 1:15	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
komplement 1:10	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4

łaźnia 37° C minut 30

3% krwinki uczul.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
---------------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

łaźnia 37° C minut 15 i odczytać hemolizę

Rozcieńczenia komplementu do

odczynu B-Wassermanna	1+49	1+33	1+24	1+19	1+16	1+13	1+11
---------------------------------	------	------	------	------	------	------	------

T A B L I C A II.

		Chłodnia 4 — 6°		R a z e m	% zgodności
		+ ¹⁾	—		
Mc Intosh	+	647	34	681	95
łaźnia 37°	—	81	1995	2076	96
R a z e m		728	2029	2757	

Jak wynika z tablicy, na materiale, obejmującym 2757 surowie, otrzymano zgodność w 2642, co stanowi 95%; z pozostałych

¹⁾ W rubryce „+” znajdują się wszystkie surowce dodatnie, a więc +, ++, +++; wszystkie zaś ujemne a także ± zaliczono do rubryki „—”.

115 niezgodnych przypadków, należy odnieść na korzyść chłodni — 81, a na korzyść 37°—34. Przy bliższym rozpatrzeniu tych przypadków okazało się, że na 81 surowie reagujących tylko w chłodni, było 59 kiłowych, w pozostałych zaś 22 nie udało się uzyskać rozpoznania. Jeżeli przyjmiemy jednak za miernik swoistości odczyn citochołowy, to musimy na korzyść chłodni zaliczyć jeszcze 9 surowie, gdyż wszystkie one dały dodatni odczyn citochołowy. Co do pozostałych 13, nie możemy się wypowiedzieć — gdyż 5 surowie nie badano na odczyn citochołowy, a 8 dało odczyn citochołowy ujemny. Pośród 34 surowie reagujących tylko na łaźni, były 24 kiłowe, i 10 surowie bez rozpoznania. Z tych 10 przypadków 8 dało dodatni odczyn citochołowy, w 2 zaś odczyn citochołowy nie był robiony. Już z tego pierwszego zestawienia wynika, że bywają surowice kiłowe, dla których wiązania optymalną jest nie temperatura 37°, lecz temperatura chłodni.

Jak już wspomniano, niektórzy autorzy *Thomsen* i *Boas* podają, że optymalną dla wiązania dopełniacza jest temperatura pokojowa. Chcąc się przekonać, w jakich warunkach cieplnych otrzymane będą najlepsze wyniki, nastawialiśmy odczyn Bordet-Wassermanna, również w temperaturze pokojowej. Tablica III. wykazuje wyniki otrzymane przy wiązaniu dopełniacza z antygenem *Mc Intosh* przez 1/2 godziny na łaźni, w zestawieniu z wynikami, otrzymanymi w temperaturze pokojowej, przy wiązaniu trwającym 4 godziny.

T A B L I C A III.

		P o k ó j 19 — 22°		R a z e m	% zgodności
		+	—		
Mc Intosh łaźnia 37°	+	539	24	563	95,7
	—	43	2064	2107	97,9
R a z e m		582	2088	2670	

Z tablicy tej wynika, że na materiale 2670 surowie kiłowych zgodność wynosi 96%. Pośród 67 niezgodnych wyników 43 dały dodatnie wyniki tylko w cieplecie pokojowej, i 24 — tylko w łaźni

przy 37°. Jeżeli, tak, jak w poprzednim zestawieniu, uwzględnimy dane kliniczne, to się okaże, że spośród 43 surowic, dających dodatni odczyn Bordet-Wassermanna tylko w temperaturze pokojowej było 35 przypadków kilowych, w pozostałych zaś 8, gdzie nie udało się otrzymać rozpoznania, — 3 dały dodatni odczyn citocholowy, w 2 przypadkach odczyn citocholowy nie był robiony, a w 3 był ujemny. Fakt ten jednak nie wyklucza kiły, gdyż, jak się później okazało przy zestawianiu wyników odchylenia dopełniacza w chłodni, względnie w pokoju z odczynem citocholowym, były surowice, które dawały dodatni odczyn Bordet-Wassermanna i ujemny odczyn citocholowy, aczkolwiek były to niewątpliwie przypadki kilowe. Pośród 24 surowic, które reagowały tylko na łaźni, było 15 kilowych, z pozostałych zaś 9 przypadków, gdzie nie udało się ustalić rozpoznania, 6 surowic dało dodatni odczyn citocholowy; w 3 zaś odczyn citocholowy nie był robiony.

Z zestawienia tego wynika, że temperatura 37° i czas wiązania, ograniczający się do 1/2 godziny, bynajmniej nie stanowią optymalnych warunków dla wszystkich surowic. Są bowiem takie surowice, które reagują tylko przy niższych temperaturach — a więc w chłodni, względnie w pokoju i przy wiązaniu trwającym 4 godziny.

Zobaczmy obecnie jakie są wyniki odchylenia dopełniacza przy wyżej wymienionych temperaturach, w porównaniu z odczynem citocholowym. Zestawiliśmy ten materiał, aby się przekonać, czy odczyny występujące w chłodni, ewentualnie w pokoju, są zgodne z odczynem citocholowym, a więc — czy są swoiste. Przekonano się bowiem na materiale, obejmującym setki tysięcy surowic, przebadanych w ciągu ostatnich kilku lat, że odczyn citocholowy nie daje wyników nieswoistych. Wyniki tego odczynu przyjmujemy więc jako probierz swoistości.

Wyniki otrzymane z antygenem Mc. Intosha przy 37° zestawione są porównawczo z wynikami odczynu citocholowego w tablicy Nr. IV.

Z tablicy tej wynika, że większość przypadków niezgodnych przemawia na korzyść odczynu citocholowego, albowiem

T A B L I C A IV.

		C i t o c h o l i l l		R a z e m	% zgodności
		+	—		
Mc Intosh	+	481	—	481	100
łaźnia 37°	—	108	1529	1637	93
R a z e m		589	1520	2118	

pośród 108 surowic, było 89 surowic kilowych, 19 zaś bez rozpoznania.

Przy zestawieniu wyników otrzymanych z antygenem Mc Intosha w chłodni występuje również pewna przewaga na korzyść odczynu citocholowego są tu jednakże i takie surowice, które dają dodatni odczyn Bordet-Wassermanna przy ujemnym odczynie citocholowym. Tablica V ilustruje te wyniki.

T A B L I C A V.

		C i t o c h o l i l l		R a z e m	% zgodności
		+	—		
Mc Intosh	+	478	26	499	95,8
chłodnia	—	90	1498	1588	94,2
R a z e m		568	1524	2087	

Tablica ta wykazuje, że na materiale, obejmującym 2087 surowic, otrzymano w 95% zgodność między odczynem B. Wassermanna w chłodni i odczynem citocholowym. W większości pozostałych przypadków (90) stwierdzono większą czułość odczynu citocholowego. Poza tym było jednak 26 surowic, które dały dodatni odczyn Bordet-Wassermanna w chłodni przy ujemnym odczynie citocholowym. Jeżeli uwzględnimy dane kliniczne, to pośród tych 90 surowic było 82 surowice kilowe i 8 bez rozpoznania. Na 26 surowic, które dały tylko dodatni odczyn B. Wasserman-

na w chłodni — było 16 przypadków kiłowych i 9 bez rozpoznania. Oczywiście, co do ostatnich 9 przypadków nie możemy się wypowiedzieć, czy odczyn Wassermanna w chłodni był swoisty. W każdym razie możemy stwierdzić, że w 16 przypadkach udało się wykryć zakażenie kiłowe tylko zapomocą odchylenia dopełniacza w chłodni, 1 przypadek jest wątpliwy, gdyż kliniczne rozpoznanie brzmi: compressio medul. spinalis.

W tablicy VI podajemy zestawienie wyników odchylenia dopełniacza z antygenem Mc Intosha w ciepłocie pokojowej z odczynem citocholowym.

T A B L I C A VI.

		C i t o c h o l l		R a z e m	% zgodności
		+	—		
Mc Intosh pokój	+	418	18	436	93.5
	—	95	1617	1712	94,0
R a z e m		513	1635	2148	

Widzimy, że i przy odczynie Bordet-Wassermanna, wykonanym w ciepłocie pokojowej, było 18 surowic, które dały dodatni odczyn wiązania dopełniacza, przy ujemnym odczynie citocholowym. Było tu 9 surowic kiłowych i 9 bez rozpoznania. Na korzyść zaś odczynu citocholowego było 95 przypadków, wśród których 75 kiłowych, i 20 bez rozpoznania. Dla większości więc surowic najbardziej czułym jest odczyn citocholowy; istnieją jednak surowice, dla których odczyn odchylenia dopełniacza w chłodni lub w pokoju jest nawet czulszy od odczynu citocholowego.

Cały nasz materiał przebadaliśmy również z antygenem Bordet-Ruelensa, i otrzymane wyniki zestawiliśmy w podobny sposób, jak wyniki otrzymane z antygenem Mc. Intosha. Tablica VII przedstawia wyniki, otrzymane przy wiązaniu dopełniacza z antygenem Bordet-Ruelensa przy 37° w ciągu 1/2 godziny i w chłodni przy 4 — 6° w ciągu 4 godzin.

Z zestawienia tego wynika, że i przy użyciu antygeny Bordet-Ruelensa otrzymuje się na materiale kiłowym więcej odczy-

T A B L I C A VII.

		Bordet-Ruelens chłodnia 4 — 6°		R a z e m	% zgodności
		+	—		
Bordet-Ruelens łaźnia 37°	+	304	16	320	95.0
	—	148	1934	2082	92,9
R a z e m		452	1950	2402	

nów dodatnich w chłodni, niż przy 37°. Zgodność wyników na całym materiale kilowym wynosi około 95%. Rozbieżność otrzymano w 164 przypadkach. Z tego 16 surowie dało odchylenie dopełniacza dodatnie przy 37°, 148 zaś surowie reagowało dodatnio w chłodni. Należało naturalnie, sprawdzić, czy wszystkie te odczyny w chłodni były swoiste. Otóż pośród tych 148 surowie było 116 przypadków kilowych, z pozostałych 24 dały dodatni odczyn citocholowy, należy je więc również zaliczyć do kilowych, w 2 natomiast odczyn citocholowy był ujemny, a w jednym nie był robiony. Pozostałe 5 przypadków należy uważać za wątpliwe, lub nieswoiste, gdyż nadesłane rozpoznania głosiły: 1) hemiplegia, 2) hemiplegia abortus, 3) neoplasma orbitae, 4) aneurysma aortae i 5) dermoepidermitis.

Jeżeli nawet z liczby 148 surowie uznamy 9 za wątpliwe, to musimy stwierdzić, że przewaga na korzyść chłodni w porównaniu z łaźnią (37°) jest ogromna.

Pośród 16 surowie, które reagowały tylko przy 37° było 14 przypadków kilowych i 2 bez rozpoznania, w których jednak odczyn citocholowy był silnie dodatni. Należy stwierdzić, że przy użyciu antygeny Bordet-Ruelensa ani temperatura 37°, ani temperatura w chłodni, nie stanowią bezwzględnie optymalnych warunków dla wszystkich surowie. Dla przeważającej jednak większości surowie optimum stanowi raczej długi czas wiązania przy niskiej temperaturze. Dla antygeny Bordet-Ruelensa należałoby stosować niską temperaturę, gdyż antygen ten daje naogół znacznie słabsze odczyny, niż anygen Mc Intosha.

Przebadano również 2279 surowie z antygenem Bordet-Rue-

lensa równolegle przy 37° i w temperaturze pokojowej. Tablica VII ilustruje te wyniki.

T A B L I C A VIII.

		Bordet-Ruelens pokój 19 — 22°		R a z e m	% zgodności
		+	—		
Bordet-Ruelens żażnia 37°	+	250	27	277	90,3
	—	110	1892	2002	94,5
R a z e m		360	1919	2279	

Widzimy, że i dla antygeny Bordet-Ruelensa temperatura pokojowa jest znacznie korzystniejsza. niż 37°. Na 110 surowic, które reagowały tylko w ciepłocie pokojowej, było 68 kilowych, i 38 bez rozpoznania, pośród których 21 surowic dało dodatni odczyn citocholowy i 7 odczyn ujemny, a w 10 przypadkach citochol nie był robiony. Pozostałe 4 przypadki były wątpliwe. Rozpoznanie głosiło: aneurysma aortae, martwienie końców palców, dermo-epidermitis i neoplasma orbitae. jeżeli nawet uznać, że surowice z ujemnym odczynem citocholowym (co bynajmniej nie jest pewne), reagowały w chłodni nieswoiście, to pozostaje jeszcze 68 przypadków, w których udało się stwierdzić zakażenie kilowe tylko przy ciepłocie pokojowej.

Zestawiamy obecnie wyniki, otrzymane z antygenem Bordet-Ruelensa przy 37°, w chłodni, i w pokoju, z wynikami, jakie dał odczyn citocholowy. Zestawienia te podajemy w tablicach, IX X i XI.

T A B L I C A IX.

		C i t o c h o l l		R a z e m	% zgodności
		+	—		
Bordet-Ruelens żażnia 37°	+	271	—	271	100,0
	—	268	1537	1805	86,2
R a z e m		539	1537	2076	

Z tablicy IX widzimy, że w porównaniu z odczynem wiązania dopełniacza, wykonanym przy 37°, przewaga odczynu citocholowego jest duża, wynosi bowiem 268 przypadków, z których w 238 kiła została stwierdzoną klinicznie. Pozostałe 30 surowie nadesłano bez rozpoznania.

T A B L I C A X.

		C i t o c h o l I I		R a z e m	% zgodności
		+	—		
Bordet-Ruelens chłódnia 4 — 6°	+	378	6	384	98,4
	—	177	1505	1682	89,4
R a z e m		555	1511	2066	

Porównywając w tablicy X wyniki otrzymane przy wiązaniu dopełniacza w chłodni i przy odczynie citochol II, stwierdzamy przewagę dodatnich wyników, które daje metoda kłaczkująca: na 177 przypadków było 175 kiłowych, i 2 bez rozpoznania. Poza tym było 6 surowie, które dały dodatni odczyn odchylenia dopełniacza, przy ujemnym odczynie citocholowym. Rozpoznania kliniczne, które otrzymano, głosiły: poronienie, porażenie połowicze, aneurysma aortae, neoplasma orbitae, dermo-epidermitis i martwienie końców palców. (W żadnym z tych przypadków nie stwierdzono kiły, należy je więc wszystkie zaliczyć do nieswoistych lub wątpliwych).

Tablica XI ilustruje porównawczo wyniki otrzymane z antygenem Bordet-Ruelensa w cieplecie pokojowej z odczynem citocholowym.

T A B L I C A XI.

		C i t o c h o l I I		R a z e m	% zgodności
		+	—		
Bordet-Ruelens pokój 19 — 22°	+	295	8	303	97,3
	—	188	1683	1871	90,0
R a z e m		483	1691	2174	

Odsetek wyników zgodnych wynosi tu 97,3%. Przypadków niezgodnych z przewagą odczynu citocholowego było 188, wśród których 165 kilowych, i 23 bez rozpoznania, na korzyść zaś wiązania dopełniacza było 8 przypadków, wśród których tylko 2 kilowe, pozostałe zaś wątpliwe, lub nieswoiste.

Chcąc przedstawić materiał przez nas zbadany w sposób bardziej przejrzysty, podajemy zestawienie w 2 tablicach: Tablica XII obejmuje wyniki otrzymane przy wiązaniu dopełniacza z antygenem Mc Intosha przy 37°, w chłodni i w ciepłocie pokojowej w porównaniu z odczynem citocholowym. Tablica XIII obejmuje takie same zestawienie porównawcze, lecz z antygenem Bordet-Ruelensa.

T A B L I C A XII.

	Mc Intosh 4 — 6°		Razem	Mc Intosh 19 — 22°		Razem	Citochol II		Razem
	+	—		+	—		+	—	
Mc Intosh + łąznia 37° —	647 81	34 1995	681 2076	539 43	24 2064	563 2107	481 108	— 1529	481 1637
Razem	728	2029	2757	582	2088	2670	589	1529	2118

T A B L I C A XIII.

	Bordet- Ruelens 4 — 6°		Razem	Bordet- Ruelens 19 — 22°		Razem	Citochol II		Razem
	+	—		+	—		+	—	
Bordet-Rue- + lens 37°C —	304 148	16 1934	320 2082	250 110	27 1892	277 2002	271 268	— 1537	271 1805
Razem	452	1950	2402	360	1919	2279	539	1537	2076

Reasumując wyniki, jakie otrzymano na materiale kilowym, należy podkreślić w potwierdzeniu innych autorów, że wiązanie dopełniacza w chłodni, wzgl. w pokoju daje znacznie lepsze wyni-

ki, niż na łaźni przy 37°. Jeżeli nawet uwzględnimy, jak to wynika z zestawień, pewien odsetek odczynów nieswoistych, to jest on tak nikły, że można go praktycznie nie brać pod uwagę. Jak wynika z powyższych tablic, jest jednak pewien odsetek surowic, które reagują silniej w łaźni przy 37° niż w chłodni lub w pokoju. Na fakt ten zwrócił uwagę również i *Olah Gabor*. Podkreśla on, że zależy to od antygeny, od temperatury i od czasu wiązania. Zdaniem tego autora, który przeprowadził swe badania, używając jednocześnie 7 rozmaitych antygenów z dodatkiem i bez dodatku cholesteryny, jest bardzo mało takich surowic kiłowych, któreby ze wszystkimi antygenami i przy różnych metodach reagowały słabiej w chłodni, niż przy 37°. W naszych warunkach doświadczalnych, gdzie używano tylko jednego antygeny z dodatkiem i jednego bez dodatku cholesteryny, należy się z tym faktem liczyć.

Chodziło nam następnie o stwierdzenie, czy reagowanie niektórych surowic tylko w chłodni, względnie w pokoju, jest sprawą przypadku, czy też cechą stałą danych surowic. W tym celu przebadaliśmy dwukrotnie 9 surowic, które dawały wyniki

T A B L I C A XIV.

	t° 37			Chłodnia		Pokój		data zbadań
	Mc	B.	Cit.	Mc	B.	Mc	B.	
1. W.	+++	—	+++	+++	+++	+++	+++	3/II.36 r.
"	+++	±	+++	+++	+++	+++	+++	13/II.36 r.
2. B.	+++	—	+++	+++	+++	+++	+++	3/II.36 r.
"	+++	—	+++	+++	+++	+++	+++	13/II.36 r.
3. J.	—	—	+	+++	+++	+	—	3/II.36 r.
"	±	—	++	+++	+++	±	—	13/II.36 r.
4. K.	+++	—	+++	+++	+++	++	+	30/I.36 r.
"	+++	—	+++	+++	+++	+++	+++	17/II.36 r.
5. O.	—	—	0	+++	++	—	—	3/II.36 r.
"	—	—	+	++	+	—	—	17/II.36 r.
6. N.	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	3/II.36 r.
"	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	13/II.36 r.
7. Ł.	+++	±	++	±	+	±	—	3/II.36 r.
"	+++	+	++	±	±	±	±	13/II.36 r.
8. D.	+++	—	+++	—	—	±	—	3/II.36 r.
"	+++	—	+++	—	—	±	—	13/II.36 r.
9. B.	+++	±	++	—	—	—	—	17/II.36 r.
"	+++	±	+++	±	—	±	—	5/II.36 r.

rozbieżne. Badanie powtórne potwierdziło całkowicie wyniki badania pierwszego, jak to wykazuje zestawienie w Tablicy XIV.

Z zestawienia tego wynika, że reagowanie lub niereagowanie w chłodni jest cechą stałą surowicy, i że temperatura 37° stanowi optimum dla większości, choć bynajmniej nie dla wszystkich, surowic..

O ile jednym ze sprawdzianów przy ocenie swoistości odczynów wiązania dopełniacza w chłodni, ewentualnie w pokoju, było porównanie otrzymanych wyników z odczynem citocholemy, to drugim, nie mniej ważnym, było badanie w identycznych warunkach surowic kontrolnych, niekilowych.

Nasz materiał kontrolny obejmował 1355 surowic, wśród których przeważały t. zw. surowice labilne, a więc surowice łożyskowe i pępowinowe z kliniki ginekologicznej, surowice gruźlicze, rzeżączkowe, tyfusowe i surowice z oddziału wewnętrznego Szpitala Wolskiego, przypadki zapalenia płuc, zapalenia dróg żółciowych, nowotwory i t. p.

Surowice łożyskowych i pępowinowych zbadano 500 wśród których 21 dało dodatni odczyn Bordet-Wassermanna i citocholemy, należy je więc uważać za kilowe. 460 surowic dało wyniki zgodne na łaźni i w chłodni i w pokoju; 13 zaś surowic dało wyniki rozbieżne.

Wyniki te zestawimy w tablicy Nr. XV.

Z tablicy tej wynika, że 3 surowice pępowinowe, które przy zwykłej technice były ujemne, dały w chłodni dodatni odczyn Bordet-Wassermanna. Odczyn citocholemy był tu również ujemny. We wszystkich tych przypadkach chodziło o dzieci matek kilowych. Widzimy więc, że tylko przy wykonaniu odczynu Bordet-Wassermanna przy niższej temperaturze udało się u noworodków stwierdzić zakażenie kilowe, co ma praktycznie doniosłe znaczenie.

W 2 przypadkach surowice pępowinowe dały z antygenem Mc Intosha słabo dodatni odczyn tylko w chłodni. Chodziło tu również o dzieci matek kilowych. W jednym przypadku łożysko dało w chłodni dodatni odczyn zarówno z antygenem Mc Intosha, jak i z antygenem Bordet Ruelensa. Ponieważ surowice łożyskowe dają czasami odczynu nieswoiste poddano badaniu w tym przy-

T A B L I C A XV.

	37°		Cit.	Chłod.		pokój		
	Mc	B.		Mc	B.	Mc	B.	
1	+	—	++	++	++	+	—	krew matki z żyły dodatnia
2	++	++	++	++	++	—	++	" " " "
3	++	++	++	++	—	++	++	krew z żyły dodatnia
4	—	—	—	++	++	++	++	" " " "
5	—	—	—	++	++	—	—	" " " "
6	++	++	++	++	++	++	++	krew z żyły nie badana
7	++	++	++	++	++	++	++	" " " "
8	—	—	0	—	0	—	0	" " " "
9	—	—	0	—	—	++	++	krew z żyły ujemna
10	—	—	—	++	++	++	++	" " " "
11	—	—	—	++	++	++	++	" " " "
12	—	—	—	++	++	++	++	" " " "
13	—	—	—	++	++	++	++	" " " "

padku również krew żylną położyć; badanie to dało odczyn dodatni, potwierdzając wyniki otrzymane w chłodni przy badaniu krwi łożyskowej. Był to więc przypadek kilowy. Odczyn Wassermanna przy 37° i odczyn citocholowy był tu ujemny. Sześć przypadków, gdzie krew łożyskowa dała w chłodni i w pokoju odczyny dodatnie, a krew żylna odczyny ujemne, — uważamy za nieswoiste. Jeden przypadek, gdzie surowica łożyskowa dała przy badaniu w temperaturze pokojowej silnie dodatni a w chłodni odczyn słabo dodatni, odczyn zaś Bordet Wassermanna w warunkach zwykłych i odczyn citocholowy były ujemne, krew żylna natomiast nie była badana — uważamy za wątpliwy. Właściwa krew pępowinowa nie reagowała ani przy 37, ani też w chłodni i w pokoju. Odczyn citocholowy był również ujemny.

Jak widać z powyższego zestawienia, odsetek nieswoistych odczynów wynosił na materiale ginekologicznym około 1%.

Surowie ludzi chorych na dur brzuszny zbadano 248, pośród których 65 dały ujemny odczyn Widala i ujemny posiew krwi. Z pozostałych 183 surowie z dodatnim odczynem Widala, wzgl. z dodatnim posiewem — 6 dało dodatni odczyn Wassermanna w chłodni, a 5 w pokoju, przy ujemnym odczynie citocholowym. Ponieważ jednak te surowice były nieświeże, gdyż dotarły do pracowni Wassermanna dopiero na 8 lub 10 dni po pobraniu, uważamy te odczyny za niemiarodajne.

Spośród 22 świeżych surowie tyfusowych, które zbadano dodatkowo, 1 dała dodatni odczyn odchylenia dopełniacza w chłodni i w pokoju, przy ujemnym odczynie Wassermanna przy 37° i przy ujemnym odczynie citocholowym.

Widzimy, że zarówno na materiale ginekologicznym, jak i tyfusowym, stwierdzono odczyny nieswoiste, aczkolwiek w odsetku bardzo nieznacznym.

Surowie nadesłanych na odczyn gonokokowy zbadano 247 przy czym odczynów nieswoistych stwierdzono w chłodni 3, a w pokoju 2.

Spośród 290 surowie nadesłanych przez Oddział Wewnętrzny Szpitala Wolskiego¹⁾ tylko 1 dała odchylenie dopełniacza

¹⁾ Pani Dr. *Jelenkiewiczowej* składamy podziękowanie za łaskawe udzielenie rozpoznania klinicznego.

zarówno w chłodni jak i w pokoju, przy ujemnym odczynie Bordet Wassermanna przy 37° i przy ujemnym odczynie citocholowym. Był to przypadek guza złośliwego.

Na 47 surowie gruźliczych¹⁾ 2 dały dodatni odczyn w chłodni a tylko 1 w temperaturze pokojowej. Odczyny te należy również uważać za nieswoiste, gdyż odczyn Bordet Wassermanna przy 37° i odczyn citocholowy były ujemne, a rozpoznanie wykluczało kiłę.

Na ogólną liczbę 1345 surowie kontrolnych otrzymano przy wiązaniu dopełniacza w chłodni w 20 przypadkach odczyny nieswoiste, co stanowi 1,5% w temperaturze pokojowej, w 15 przypadkach (1,1%) Tak się przedstawiają wyniki dotyczące materiału kontrolnego przebadanego z antygenem Mc Intosha. Co się tyczy wyników otrzymanych na tymże materiale z antygenem Bordet-Ruelensa, to w przypadkach ginekologicznych odsetek odczynów nieswoistych wynosi 0,5%; na materiale zaś ogólnym, zarówno w cieplecie pokojowej, jak i w chłodni — około 1% (w chłodni 10 surowie, a w pokoju 11).

Ponieważ przekonaliśmy się, że przedłużenie czasu wiązania dopełniacza daje przy odczynie Bordet-Wassermanna lepsze wyniki, przeto próbowaliśmy, czy nie uda się zwiększyć odsetka dodatnich odczynów, przedłużając czas wiązania na łaźni z 1/2 do 1 godziny. Tablica XVI przedstawia te wyniki.

T A B L I C A XVI.

		Mc Intosh 37° 1 godz.		R a z e m
		+	—	
Mc Intosh	+	112	—	112
37° C 1/2 godz.	—	25	579	604
R a z e m		137	579	716

Na ogólną liczbę 716 surowie, było 25 wyników, czyli 3,5% niezgodnych. Pośród tych 25 surowie było 11 kiłowych, 3 bez

¹⁾ Panu Dr. *Gelbfiszowi* składamy podziękowanie za łaskawe nadesłanie tych surowie.

rozpoznania, a wśród pozostałych były surowice łożyskowe, pępowinowe, rzeźączkowe i t. p. Były to wszystko przypadki niekilowe. Widzimy więc, że czułość odczynu zwiększa się w tych warunkach w dużym stopniu kosztem swoistości.

Zestawiając pokrótce wyniki otrzymane w tej pracy, musimy zgodnie z innymi autorami potwierdzić, że wiązanie dopełniacza w ciągu 4 godzin w chłodni lub w pokoju, daje na materiale kilowym znacznie lepsze wyniki, niż przy 37° i przy wiązaniu, trwającym 1/2 godziny. Odsetek odczynów nieswoistych na materiale kontrolnym jest bardzo nieznaczny. Należy jednak podkreślić, że metoda ta nie przewyższa naogół odczynu citocholowego, *Olah Gabor* również podkreślił w swych pracach, że żadna z tych metod, wykonanych czy to w chłodni, czy w pokoju, nie dorównywa metodzie Kalna. Jeżeli uwzględnimy, że metoda wiązania dopełniacza w chłodni lub w pokoju jest dość uciążliwa, gdyż trwa przynajmniej 4 godziny, przyjdziemy do wniosku, że szerszego zastosowania praktycznego prawdopodobnie mieć nie będzie, nadaje się jedynie do przypadków wątpliwych, kiedy istnieje rozbieżność między odczynem Bordet-Wassermanna i metodami klaczkującymi, lub gdy dane kliniczne przemawiają za kilą, a odczyny zwykle stosowane są ujemne.

STRESZCZENIE.

2757 surowic kilowych i 1345 kontrolnych niekilowych zbadano na odchylenie dopełniacza z antygenem Mc Intosha i Bordet-Ruelensa równolegle na łaźni przy 37°, w chłodni przy + 4 do + 6° i w pokoju przy 19 — 22°. Czas wiązania wynosił na łaźni 1/2 godziny, a w chłodni i w pokoju 4 godziny. Jako odczyn kontrolny stosowano odczyn klaczkujący Sachsa - Witebsky'ego citochol II.

Przy zestawieniu wyników poszczególnych metod zgodność na materiale kilowym wynosiła z antygenem Mc Intosha 93 — 97%, z antygenem Bordet-Ruelensa 86 — 97%, przy czym większy odsetek dodatnich odczynów otrzymywano naogół w chłodni i w pokoju, niż na łaźni. Bywają jednak surowice kilowe, które nie reagują w chłodni i w pokoju zupełnie lub znacznie słabiej, niż na łaźni. Optymalną dla tych surowic jest temperatura 37°.

Odsetek nieswoistych odczynów na materiale kontrolnym wynosił z antygenem Mc Intosha 1,5%, z antygenem Bordet-Roussy 1,2%.

Metoda wiązania dopełniacza w chłodni i w pokoju jest naogół czulsza, niż wiązanie na łaźni 37°, nie dorównywa ona jednak metodzie kłaczkującej citochol II. Jeżeli uwzględnimy poza tym, że jest to bądź co bądź metoda kłopotliwa, gdyż wiązanie trwa 4 godziny, to dojdziemy do wniosku, że nie zasługuje na szersze zastosowanie i że należy się nią posługiwać tylko w wypadkach gdy istnieje rozbieżność między odczynem Bordet-Wassermann'a i metodami kłaczkującymi, lub też wówczas, gdy odczyny te są ujemne, a dane kliniczne wskazują na kiłę.

II. Część kliniczna.

W celu uzupełnienia badań, podanych w części serologicznej, opiszę wyniki, uzyskane na surowicach, które pochodziły od osobników zbadanych pod względem klinicznym. Czynię to w celu ustalenia, czy odczyn odchylenia dopełniacza w opisanych powyżej modyfikacjach (obniżona ciepłota, przedłużony czas wiązania dopełniacza) wykazuje zwiększoną albo zmniejszoną czułość w tej lub innej postaci klinicznej kiły, u osobników leczonych i nieleczonych.

Ogół pacjentów, badanych klinicznie, obejmuje: 308 przypadków kiły (w tym 21 przyp. kiły pierwotnej, 26 przyp. kiły drugookresowej, 23 przyp. kiły trzeciookresowej, 200 przyp. kiły utajonej, 19 przyp. późnej kiły mózgowo-rdzeniowej i 14 przyp. kiły wrodzonej) oraz 543 przypadki kontrolne (schorzenia dróg moczopłciowych, w tym 114 przyp. rzeżączki, schorzenia skóry oraz osobniki zdrowe).

W tabl. I zestawione są w celu ogólnej orientacji wyniki odczynu wiązania dopełniacza w warunkach zwykłych (łaźnia 37° C, czas wiązania dopełniacza 1/2 godz.) i w obniżonej ciepłocie (chłodnia 4 — 6° C. i ciepłota pokojowa 19 — 22° C, czas wiązania dopełniacza 4 godz.) w rozmaitych postaciach kiły oraz u osobników niekiłowych.

T A B L I C A I.

Rozpoznanie		Z = C		Z > C	Z < C	Ogółem
		RW dod.	RW ujem.			
Lues I		6	9	2	4	21
" II		17	1	6	2	26
" III		11	2	9	1	23
" asympt.		34	128	32	6	200
" cer. spin.		3	4	10	2	19
" congen.		5	1	4	4	14
O g ó ł e m		76	145	63	19	303
Koltrcla	Gonorrhoea	0	114	0	0	114
	Varia	0	424	5	0	429
	O g ó ł e m	0	538	5	0	543

W 1-szej kolumnie pionowej uwidoczniiona jest liczba surowic, w których nie stwierdzono różnicy w zachowaniu się odcz. wiąz. dop. w warunkach zwykłych i po wpływem niższej ciepłoty, t. zn. chłodni wzgl. ciepłoty pokojowej („zimno“ nie różni się od „ciepła“, w skrócie $Z=C$). W rubryce pionowej po stronie lewej znajdują się surowice oddziaływujące dodatnio (+ + +, + +, +), po stronie prawej — surowice oddziaływujące ujemnie lub wątpliwie (—, ±).

W 2-iej kolumnie pionowej uwidoczniiona jest liczba surowic, w których odczyn wiąz. dop. wykazuje w obniżonej ciepłocie większą czułość, zaś w 3-iej kolumnie — mniejszą czułość.

Należy zaznaczyć, że w powyższym zestawieniu oceniałem łącznie zachowanie się odczynu wiąz. dop. przy użyciu antygenów Mc Intosha i Bordet-Ruelensa. W części surowic badanie było wykonane tylko przy użyciu jednego z tych dwu antygenów. Jeżeli różnica czułości chociażby przy użyciu jednego antygeny wyniosła co najmniej jeden „plus“ na korzyść łaźni z jednej strony lub chłodni albo ciepłoty pokojowej — z drugiej, to włączałem surowicę do kolumny 2-iej lub 3-iej. Natomiast jeżeli np. przy użyciu antygeny Mc Intosha większa „czułość“ występowała w łaźni, zaś przy użyciu antygeny Bordet-Ruelensa — w chłodni lub ciepłocie pokojowej, to tylko wówczas włączano surowicę do kolumny 2-iej lub 3-iej, gdy różnica czułości w tym lub innym kierunku przekraczała jeden „plus“; jeżeli różnica nasilenia odczynu nie przekraczała jednego „plusa“ — włączano surowicę do kolumny 1-iej.

Jak widzimy z tego zestawienia, na ogólną liczbę 303 surowic kilowych w 82 surowicach wystąpiły róż-

nice, a mianowicie w 63 przypadkach (czyli w 76,8%) na korzyść modyfikacji w zimnie.

Rozpatrując wyniki badań w poszczególnych postaciach klinicznych kiły (które należy oceniać z dużą ostrożnością ze względu na szczupły materiał), stwierdzamy, że przewaga „zimna” nad „ciepłem” nawiąraźniej jest zaznaczona w póżnej kile objawowej, kile utajonej i mózgowo-rdzeniowej, słabiej w kile drugookresowej; w kile wrodzonej nie udało się jej stwierdzić. Natomiast w kile pierwotnej występowała przewaga zwykłej metody (ze stosowaniem łaźni).

Na 543 surowice kontrolne (w tym 114 przyp. rzeźączki i 429 przypadków dotyczących osobników zdrowych oraz z rozmaitymi schorzeniami skóry i nierzeźączkowymi schorzeniami dróg moczopłciowych) nieswoiste zahamowanie hemolizy przy użycie modyfikacji zaobserwowano w 5 przypadkach (czyli w niespełna 1%), jak to obrazuje poniższe zestawienie:

Ł a ź n i a. C h ł o d n i a. P o k ó j.

M—I. B.—R. cit. M.—I, B.—R. M.—I. B.—R.

1. przyp.: zapalenie skóry (dermo-epidermitis)	—	—	—	+	—	—	—
2. „ bez objawów kiły (in anamnesi lues negatur).	±	—	0	+++	—	+	—
3. „ bez objawów kiły (in anamnesi lues negatur)	—	—	—	—	±	—	+
4. „ opryszczka (herpes genitalis)	—	0	0	+++	0	0	0
5. „ urethro - cystitis non-gonorrhoica	—	—	—	+	±	+	±
— „ powtórne badanie po 2 tygodniach	—	—	—	—	—	—	—

Spośród tych 5 przypadków nieswoistość odczynów wiąż. dopełniacza w obniżonej ciepłocie nie budzi wątpliwości w przyp. 1, 3. i 5.; przemawia za nią, po za badaniem klinicznym i wywiadami, ujemny odczyn citocholowy, a w ostatnim przypadku ponadto samoistne ustąpienie odczynów dodatnich po powtórnym zbadaniu. Natomiast przyp. 2. i 4. nasuwają pewne wątpliwości (wskutek niewykonania odczynu citocholowego i niepowtórzenia badania), których nie udało się wytłumaczyć.

•

•

Zajmę się obecnie rozpatrzeniem wyników, otrzymanych w poszczególnych postaciach klinicznych kiły, zestawiając oddzielnie wyniki uzyskane przy zastosowaniu antygeny Mc Intosha i antygeny Bordet-Ruelensa.

Zestawienie wyników odczynu wiązania dopełniacza przy zastosowaniu antygeny Mc Intosha w zwykłym wykonaniu (łaźnia) — z jednej strony, a w chłodni i w ciepłocie pokojowej — z drugiej, wykazuje, że modyfikacja ta daje naogół znacznie lepsze wyniki (wyjątek stanowi tu tylko kiła 1-okresowa i kiła wrodzona). Przy zastosowaniu ciepłoty pokojowej w większości przypadków wyniki są gorsze (za wyjątkiem kiły 2-okresowej).

Przy ocenie wyników odczynu wiązania dopełniacza i odczynu citocholowego, uwidocznia się wyraźnie większa czułość tego ostatniego w porównaniu z o. w. d. w wykonaniu zwykłym (łaźnia), nieco mniej wyraźna jest jego przewaga w porównaniu z o. w. d. z zastosowaniem ciepłoty pokojowej, jeszcze mniejsza — w porównaniu z o. w. d. z zastosowaniem chłodni.

Porównyując odczyn wiąz. dop. i odczyn citocholowy w rozmaitych postaciach klinicznych kiły, należy stwierdzić, że odczyn wiąz. dop. z zastosowaniem obniżonej ciepłoty wypada z największą czułością, zbliżoną do czułości odczynu citocholowego, w kile 2-okresowej oraz w kile mózgowo-rdzeniowej; w innych postaciach kiły występuje przewaga czułości odczynu citocholowego.

Czy zachodzi jakiś związek pomiędzy działaniem obniżonej ciepłoty na odchylenie dopełniacza a leczeniem kiły? W celu uchwycenia tego związku należy zestawić o. w. d. w zwykłym wykonaniu (łaźnia) i w czulszej modyfikacji z zastosowaniem chłodni u osobników leczonych i nieleczonych.

Jak to jest uwidocznione na tabl. II, na ogólną liczbę 68 nieleczonych odczynu niezgodne na korzyść chłodni wystąpiły u 4 (= 5.9%), na korzyść łaźni u 4 (= 5.9%); na ogólną liczbę 225 leczonych odczynu niezgodne na korzyść chłodni wystąpiły u 14 (= 6.2%), na korzyść łaźni u 7 (= 3.1%). A zatem odczynu niezgodne na korzyść chłodni u nieleczonych i leczonych są mniej więcej jednakowe, natomiast na korzyść łaźni występuje wyraźna przewaga u nieleczonych. Z tego wynika, że modyfikacja pole-

T A B L I C A II.

		C h ł o d n i a			
		+		—	
		nielecz.	lecz.	nielecz.	lecz.
Ł a ż n i a	+	48	73	4	7
	—	4	14	12	131

gająca na wiązaniu dopełniacza w chłodni, wykazuje mniejszą czułość w nieleczonej (czy też wczesnej?) kile, większą — w leczonej.

Przy porównywaniu odczynu wiąż. dop. w zwykłym wykonaniu i w cieplecie pokojowej — te różnice czułości odczynu u nieleczonych i leczonych zacierają się.

Zestawienie wyników odczynu wiązania dopełniacza przy zastosowaniu antygeny Bordet-Ruelensa w zwykłym wykonaniu oraz chłodni i cieplecie pokojowej uwidacznia jeszcze wyraźniej, niż przy zastosowaniu antygeny Mc Intosha, większą czułość modyfikacji, polegającej na wiązaniu dopełniacza w obniżonej cieplecie. Porównyując wyniki w chłodni i w cieplecie pokojowej, nie stwierdzamy uchwytnych różnic na korzyść jednego lub drugiego sposobu. Ocena wyników badań w poszczególnych postaciach klinicznych kily pozwala stwierdzić, że przewaga „zimna“ nad „cieplem“ najwyraźniej jest zaznaczona w kile mózgowo-rdzeniowej i wrodzonej, nieco słabiej w innych postaciach kily. W kile pierwotnej (podobnie, jak z antygenem Mc-Intosha) wyniki wiązania dopełniacza w łaźni nie różnią się od wyników, uzyskanych w chłodni lub cieplecie pokojowej.

Antygen Bordet-Ruelensa posiada znacznie mniejszą czułość, niż antygen Mc Intosha; należało więc przewidywać, że jeżeli odczyn citocholowy odznacza się większą czułością, niż odczyn wiąż. dop. z antygenem Mc Intosha, to różnica na korzyść odczynu citocholowego tymbardziej się uwydatni, w porównaniu z odczynem wiąż. dop. z antygenem Bordet-Ruelensa. I rzeczywiście porównanie wyników odczynu wiąż. dop. i odczynu citocholowe-

Badania z antygenem Bordet-Ruelensa.

Zestawienie wyników o. w. d. w zwykłym wykonaniu (łaźnia) oraz z zastosowaniem chłodni.

Na 15 przyp. laes I		wyniki niezgodne uzyskano w 2 przyp., w czym 1 na korzyść łaźni, 1 na korzyść chłodni	
23	" II	7	" 1
18	" III	5	" 1
163	" lat.	27	" 3
22	" cer.-spin.	10	" —
11	" cong.	4	" —

Zestawienie wyników o. w. d. w zwykłym wykonaniu (łaźnia) oraz z zastosowaniem ciepłoty pokojowej.

Na 13 przyp. laes I		wyniki niezgodne uzyskano w 2 przyp., w czym 1 na korzyść łaźni, 1 na korz. ciepł. pok.	
21	" II	3	" —
17	" III	5	" 1
152	" lat.	17	" 2
22	" cer. spin.	6	" —
10	" cong.	3	" —

Zestawienie wyników o. w. d. w zwykłym wykonaniu (łaźnia) oraz odczynu citocholowego.

Na 10 przyp. laes I		wyniki niezgodne uzyskano w 4 przyp.	
19	" II	6	"
15	" III	3	"
137	" lat.	38	"
18	" cer.-spin.	12	"
8	" cong.	7	"

Zestawienie wyników o. w. d. z zastosowaniem chłodni oraz odczynu citocholowego.

Na 10 przyp. laes I		wyniki niezgodne uzyskano w 4 przyp., w czym — na korzyść chłodni, 4 na korz. odcz. cit.	
19	" II	3	" 1
16	" III	2	" —
136	" lat.	24	" 1
17	" cer.-spin.	3	" —
8	" cong.	3	" —

Zestawienie wyników o. w. d. z zastosowaniem ciepłoty pokojowej oraz odczynu citocholowego.

Na 9 przyp. laes I		wyniki niezgodne uzyskano w 4 przyp., w czym — na korz. ciepł. łok., 4 na korz. odcz. cit.	
19	" II	6	" 1
15	" III	3	" 1
131	" lat.	29	" 2
17	" cer.-spin.	7	" —
8	" cong.	4	" —

wszystkie na korzyść odczynu citocholowego.

go uwidocznia większą czułość tego ostatniego w porównaniu z odczynem wiąz. dop. w wykonaniu zwykłym (łaźnia), niezależnie od postaci klinicznej kily. Przewaga czułości odczynu citolowego nieco słabiej jest wyrażona w porównaniu z odczynem wiąz. dop. w chłodni i ciepłocie pokojowej w niektórych postaciach kily (kila 2-okresowa, 3-okresowa, utajona).

Jak stwierdziliśmy na podstawie porównania wyników odczynu wiązania dopełniacza z antygenem Mc Intosha u osobników nieleczonych i leczonych — odczyn wiązania dopełniacza w chłodni odznacza się większą czułością w leczonej kile.

Obecnie należy to sprawdzić za pomocą zestawienia wyników odczynu wiązania dopełniacza u leczonych i nieleczonych przy zastosowaniu antygeny Bordet-Ruelensa.

T A B L I C A III.

		C h ł o d n i a			
		+		—	
		nielecz.	lecz.	nielecz.	lecz.
Łaźnia	+	26	19	2	4
	—	11	38	17	135

Na tabl. III podane są wyniki odcz. wiąz. dop. w łaźni i w chłodni u osobników nieleczonych i leczonych, przy czym możemy stwierdzić, że na ogólną liczbę 56 nieleczonych odczynów niezgodne na korzyść chłodni wystąpiły u 11 (= 19,6%), na korzyść łaźni u 2 (= 3,5%); na ogólną liczbę 196 leczonych odczynów niezgodne na korzyść chłodni wystąpiły u 38 (= 19,4%), na korzyść łaźni u 4 (= 2%). Odczynы zatem niezgodne na korzyść chłodni u nieleczonych i leczonych są prawie zupełnie jednakowe, natomiast na korzyść łaźni występuje wyraźna przewaga procentowa u nieleczonych. A więc znaleźliśmy potwierdzenie spostrzeżenia, dokonanego na podstawie porównania wyników wiązania dopełniacza z antygenem Mc Intosha u nieleczonych i leczonych, że odczyn wiązania dopełniacza w chłodni wykazuje większą czułość w leczonej kile.

Przy porównywaniu odczynu wiąż. dop. w łaźni i w ciepłocie pokojowej — te różnice czułości odczynu u leczonych i nieleczonych zacierają się, podobnie, jak w badaniach z antygenem Mc-Intosha.

W n i o s k i.

1. Odczyn wiązania dopełniacza z antygenami Mc-Intosha i Bordet-Ruelensa w modyfikacji, polegającej na wiązaniu dopełniacza w ciągu 4-eh godzin w obniżonej ciepłocie (chłodnia lub ciepłota pokojowa), odznacza się w zastosowaniu do surowic kilowych większą czułością, niż klasyczna metoda, wedle której wiązanie dopełniacza odbywa się w łaźni w ciągu 1/2 godziny.

2. Porównanie wyników odcz. wiąż. dop. z antygenami Mc Intosha i Bordet-Ruelensa wykazuje większą czułość wiązania dopełniacza w niższej ciepłocie przy zastosowaniu antygeny Bordet-Ruelensa.

3. Porównanie czułości odczynu citocholowego z odczynem wiąż. dop. w obniżonej ciepłocie przemawia na korzyść odczynu citocholowego; różnica czułości jest tu jednak znacznie mniejsza. niż przy zastosowaniu klasycznej metody wiązania dopełniacza.

4. Odcz. wiąż. dop. w obniżonej ciepłocie daje pewną liczbę odczynów nieswoistych, która wedle moich spostrzeżeń na materiale kontrolnym, składającym się z 543 surowic niekilowych, wynosi niespełna 1%.

5. Ocena wyników odczynu wiąż. dop. w obniżonej ciepłocie w rozmaitych postaciach klinicznych kiły wskazuje na to, że odczyn ten nie zachowuje się z jednakową czułością we wszystkich okresach kiły. Według dotychczasowych spostrzeżeń najmniejsza jest jego czułość w kile 1-okresowej (w której zaznaczona jest przewaga czułości odczynu w wykonaniu klasycznym), a następnie w kile wrodzonej (co się uwidocznia przy wiązaniu dopełniacza z antygenem Mc Intosha). We wszystkich innych postaciach kiły stwierdziłem większą czułość odcz. wiąż. dop. w obniżonej temperaturze, a więc zarówno w chłodni, jak w ciepłocie pokojowej.

6. Przy porównaniu wyników odczynu wiąż. dop. w chłodni na surowicach osobników kilowych nieleczonych i leczonych

zaznacza się większa czułość odczynu u leczonych, którą stwierdza się zarówno przy zastosowaniu antygenu Mc-Intosha, jak i Bordet-Ruelensa.

Zestawienie wyników odcz. wiąż. dop. w ciepłocie pokojowej nie wykazuje różnicy czułości odczynu w kile nieleczonej i leczonej.

Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut, Abteilung für Bakteriologie und Experimentelle Medizin. Direktor Prof. Dr. L. Hirszfeld.
und der Dermatologischen Klinik der Universität Józef Piłsudski in Warschau.
Direktor Prof. Dr. M. Grzybowski.

UEBER DEN EINFLUSS DER TEMPERATUR AUF DAS ERGEBNIS DER KOMPLEMENTBINDUNGSREAKTION BEI LUES-

Serologischer Teil.

V o n

W. HALBER und Z. MILIŃSKA-SZWOJNICKA

Klinischer Teil.

V o n

B. RASZKES

ZUSAMMENFASSUNG.

I. Serologischer Teil.

2757luetische und 1345 nichtluetische Kontrollsera wurden auf die Komplementbindungsreaktion mit den Antigenen Eisschrank bei 4° — 6° und bei Zimmertemperatur bei 19° — 22° parallel untersucht. Die Bindungszeit betrug auf dem Wasserbade 1/2 Stunde, im Eisschrank und bei Zimmertemperatur 4 Stunden. Als Kontrollmethode wurde die Flockungsreaktion Citochol II von Sachs-Witebsky benutzt.

Der Prozentsatz konkordanter Ergebnisse betrug amluetischen Material bei Benutzung des Antigens von Mc Intosh 93 —

97%, bei Benutzung desjenigen von Bordet-Ruelens 86 — 97%. Die Reaktionen waren häufiger positiv im Eisschrank bei Zimmertemperatur, als bei 37°. Es kamen jedoch zuweilen Luessera vor, die im Eisschrank und bei Zimmertemperatur gar keine oder eine schwächere Reaktion aufwiesen, als auf dem Wasserbade bei 37°.

Der Prozentsatz uspezifischer Reaktionen betrug am Kontrollmaterial mit dem Antigen von Mc Intosh 1,4%, mit dem Antigen von Bordet-Ruelens 1,2%.

Die Komplementbindungsreaktion ist im Eisschrank und bei Zimmertemperatur empfindlicher als bei 37°, sie ist aber nicht empfindlicher als die Flockungsreaktion Citochohol II. Berücksichtigt man, dass die Komplementbindungsreaktion im Eisschrank und bei Zimmertemperatur zeitraubend ist, denn die Bindung dauert 4 Stunden und dass sie die technisch sehr einfache Flockungsreaktion nicht übersteigt, — so wird man ihr keinen praktischen Wert zumessen und sie vielleicht nur in zweifelhaften Fällen, wenn z. B. eine Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der Wassermann und der Flockungsreaktion besteht, verwenden.

II. Klinischer Teil.

303luetische Sera (21 Fälle Lues I, 26-Lues II, 23-Lues III, 200-Lues latens, 19-Lues cerebro-spinalis tarda, 14-Lues congenita) und 543 nichtluetische Kontrollsera (Erkrankungen des Urogenitalapparates, in dem 114 Gonorrhoeafälle, Hautkrankheiten und gesunde Individuen) — wurden gleichzeitig auf die Komplementbindungsreaktion mit den Antigenen von Mc Intosh und Bordet-Ruelens 4 Stunden im Eisschrank, 4 Stunden bei Zimmertemperatur und 1/2 Stunde im Wasserbad, untersucht; als Kontrollmethode wurde die Flockungsreaktion Citochohol II von Sachs-Witebsky benutzt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren folgende:

1) Die Komplementbindungsreaktion mit den Antigenen von Mc Intosh und Bordet-Ruelens im Eisschrank und bei Zimmertemperatur ist empfindlicher, als die klassische Metho-

de, bei welcher die Komplementbindung auf dem Wasserbade 1/2 Stunde dauert.

2) Die Empfindlichkeit der Komplementbindungsreaktion im Eisschrank bezw. bei Zimmertemperatur gleicht trotzdem derjenigen der Citocholreaktion nicht.

3) Der Procentsatz unspezifischer Reaktionen beträgt am Kontrollmaterial 1%.

4) Nach den bisherigen Beobachtungen ist die Empfindlichkeit der Komplementbindungsreaktion im Eisschrank bezw. bei Zimmertemperatur bei primärer und angeborener Lues geringer, als diejenige der klassischen Methode. In allen anderen Stadien der Lues ist die Kältemethode empfindlicher.

5) Die Komplementbindung im Eisschrank ergibt bessere Resultate bei behandelten, als bei nichtbehandelten Luetikern. Die Komplementbindung bei Zimmertemperatur weist solche Unterschiede nicht.



Wpłynęło 1.VIII.1936

Z Państwowego Zakładu Higieny. Dział Bakteriologii i Medycyny Doświadczalnej
Dyr. Prof. Dr. L. Hirszfeld
i z Kliniki Dermatologicznej Uniwersytetu Józefa Piłsudskiego.
Dyr. Prof. Dr. M. Grzybowski.

○ WPŁYW CZASU WIAZANIA DOPEŁNIACZA NA CZUŁOŚĆ ODCZYNU GONOKOKOWEGO.

Podali

Z. MILIŃSKA-SZWOJNICKA i B. RASZKES

Od czasu zastosowania odczynu Bordet-Gengou w serodiagnostyce rzeżączki, t. j. od roku 1906, gonoreakcja zyskuje coraz większe znaczenie, jako odczyn pomocniczy w rozpoznawaniu klinicznym tego schorzenia.

Pierwsze badania w tym kierunku, podjęte przez *Müllera* i *Oppenheima*, a niezależnie od nich i przez *Brucka*, oraz zachęcające wyniki ich prac wzbudziły zrozumiałe zainteresowanie wśród bakteriologów i skłoniły licznych badaczy do kontynuowania poszukiwań w tej dziedzinie. Powstało od tego czasu pokaźne piśmiennictwo poświęcone temu zagadnieniu. Szereg autorów tak zagranicznych, (*Szwarc, Rubinstein, Gaurau, Säufferling, Osmund, Gheorghin, Crampon i Lawrance, Schröpl, Weldeyer, Nagell, Bucura*) jak i polskich (*Lenartowicz, Gieszczykiewicz, Gelman, Kwiatkowski i Legieżyński, Zalewski, Obtulowicz*) poświęca temu zagadnieniu liczne prace, omawiające istotę odczynu, osiągnięte wyniki, szczegóły techniczne i t. p.

Początkowo przy ocenie gonoreakcji nie brak było opinii ujemnych: *Uhle* i *Mac Kinney* np. zapatrują się bardzo sceptycz-

nie na swoistość odczynu, który według nich, daje 60% wyników niezgodnych z orzeczeniem klinicznym (należy zaznaczyć, że autorzy nie przerabiali gonoreakcji sami, lecz posyłali krew chorych na rzeżączkę do 4-ech różnych pracowni). *Wollstein* podaje, że otrzymał dodatnie odczyny, badając surowice chorych rzeżączkowych z antygenem meningokokowym, a *Thomson*, *Colmer* i *Braun* z antygenem, sporządzonym z *micrococcus catarrhalis*. Inni autorzy jak *Bauman*, *Heiman*, *Cohn*, *Gräfenberg*, *Osmond Heiner*, *Gieszczykiewicz*, *Szwojnicka* i *Zawodziński* otrzymali 2 do 7% wyników dodatnich u chorych nierzeżączkowych.

W ostatnich latach były stosowane do tego odczynu rozmaite antygeny, przeważnie jednak zawiesiny gonokokowe. Niektórzy autorzy, w celu uczulenia antygeny, dodawali do alkoholowych zawiesin gonokokowych olejku oliwkowego (*Grünsberg* i *Fischer*) oleju rybnego (*Brandt*), albo też lecytyny (*Witebsky*), lecz, mimo to, bardziej czułych wyników nie udało się im uzyskać, jak również nie można było uniknąć pewnego odsetka odczynów nieswoistych. Stroną dodatnią tej modyfikacji było jedynie osiągnięcie znacznej oszczędności antygeny przy wykonywaniu odczynu.

Próbowano również zastosować odczyn skłębienia Müllera, jako „Gonoballungsreaktion“; ponieważ jednak w tym odczynie używa się takiego samego antygeny, jak do wiązania dopełniacza w kile, jedynie z dodatkiem gonokoków, przeto wszystkie surowice kilowe dawały dodatni odczyn.

Stwierdzono, że odsetek dodatnich wyników przy gonoreakcji waha się od 50 do 100% i zależny jest od postaci chorobowej. Najmniejszy odsetek odczynów dodatnich daje rzeżączka w formie ostrej i podostrej, większy, bo 80 do 90%, otrzymujemy przy rzeżączce z powikłaniami i największy — przy schorzeniach rzeżączkowych metastatycznych (zapalenie stawów, zapalenie wsierdza i t. p.).

Z biegiem czasu, w miarę udoskonalenia antygenów, otrzymywano przy gonoreakcji coraz lepsze wyniki i obecnie odczyn ten uzyskał duże znaczenie w serodiagnostyce rzeżączki, jednakże absolutnej zgodności odczynu gonokokowego z rozpoznaniem klinicznym dotychczas nie udało się osiągnąć.

Witebsky twierdzi, że antygeny bakteryjne mają mniejsze powinowactwo do przeciwciał, niż antygeny sporządzane z narządów, i dlatego w serodiagnostyce gruźlicy stosował on czas wiązania dopełniacza, wynoszący dwie godziny. W związku z tym postanowiliśmy przebadąć, czy nie możnaby uzyskać bardziej czułych wyników w odczynie gonokokowym, przedłużając okres wiązania dopełniacza.

Badania nasze przeprowadziliśmy na 531 surowicach, w czym surowic rzeżączkowych było 194 i kontrolnych, nierzeżączkowych, 337. Technika, jaką posługiwaliśmy się w naszej pracy, jest następująca:

Używaliśmy dwóch antygenów: antygenu Crosti'ego i antygenu Owera, oba antygeny wieloważne. Antygen Crosti'ego jest zawiesiną bakteryjną w roztworze fizjologicznym soli, antygen zaś Owera jest to wyciąg wodny z gonokoków. Sposób przygotowywania antygenów jest następujący:

Antygen Crosti'ego¹⁾: kilkanaście szczepów dwoinek Neissera posiewa się na agarze japońskim, do którego dodaje się jajek, roztrzepanych w wodzie destylowanej z dodatkiem 20% ługu sodowego we flaszach Roux.

Sposób przyrządzania agaru japońskiego: do 1 litra wyciągu z mięsa dodać 30 gramów agaru, 10 gramów peptonu Wittego i 5 gramów NaCl, następnie gotować aż się rozpuści agar, potem dodać 0,28 gramów kwasu cytrynowego krystalicznego.

Po 48 godzinach trzymania posiewów w cieplarni przy 37° zmywa się hodowlę każdej butelki 20 ccm roztworu fizjologicznego soli kuchennej z dodatkiem 0,5% fenolu i zlewa do jednej kolby z perełkami szklanymi. W ten sposób sporządzoną zawiesinę bakteryjną trzęsie się na trzęsawce 5 godzin, po czym stawia do chłodni na 6 tygodni. Po upływie tego czasu antygen nadaje się do odczynu, należy tylko określić jego rozcieńczenie.

Antygen Owera: kilkanaście szczepów dwoinek Neissera, świeżo wyosobnionych, posiewa się we flaszach Roux na agarze japońskim z dodatkiem 15—20% płynu puchlinowego, sprawdzwszy przed tym Ph tego płynu. Kwasota agaru japońskiego musi być dostosowana do kwasoty płynu puchlinowego tak, by Ph końcowe pożywki wynosiło 7,4. Po 48 godzinach trzymania posiewów gonokokowych w cieplarni przy 37° C zmywa się każdą flaszę 15 ccm. wody przekrojonej z dodatkiem 0,3% fenolu. Zawiesinę tę zlewa się do jednej kolby, którą następnie umieszcza się w cieplarni przy 37° C na przeciąg 10 dni, trzę-

¹⁾ Nasz sposób przygotowania antygenów nieco się różni od metody oryginalnej.

sąc codziennie na trzęsawce w ciągu 10 minut. Po upływie 10 dni należy zawiesinę wirować 10—30 minut i odpipetować płyn z ponad osadu, jako właściwy antygen. Po sprawdzeniu tego wyciągu na jałowość określamy rozcieńczenie, które będziemy używali do gonoerakcji.

Miareczkowanie antygenów wykonywa się w sposób następujący: przygotowuje się szereg rozcieńczeń, poczynawszy od 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 itd., następnie przy użyciu każdego z tych rozcieńczeń nastawia się podług tablicy Nr. I odczyn wiązania dopełniacza w obecności.

- 1) surowicy ludzkiej rzeżączkowej,
- 2) „ odpornościowej króliczej antygonokokowej,
- 3) „ ludzkiej nierzeżączkowej,
- 4) „ „ „ dającej dodatni odczyn Bordet-Wassermann.

T A B L I C A I.
Określenie rozcieńczenia antygenów.

Probówki	1	2	3	4	5	6	7	8
Rozcieńczenie antygenu	1:5	1:10	1:15	1:20	1:25	1:30	1:35	kontrola surowicy
Dawka antygenu	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—
Surowica nieczynna NaCl fizjol.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1 ccm
Dopełniacz 1:10	—	—	—	—	—	—	—	0,25 ccm
	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25 ccm
Łaźnia przy 37°C dwie godziny								
3% krwinki uczul.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 ccm

Łaźnia przy 37° C minut 30 i odczytać, przy którym rozcieńczeniu antygenu surowice rzeżączkowe dają zahamowanie, a surowice nierzeżączkowe — hemolizę. Za właściwe rozcieńczenie antygenu uważać należy to, przy którym surowice rzeżączkowe, ludzka jak i odpornościowa królicza, dają kompletne zahamowanie hemolizy, a surowica nierzeżączkowa i kiłowa dają całkowitą hemolizę.

Ponieważ w tej technice nie miareczkuje się dopełniacza, którego siła hemolityczna może być różna, a stale używa go się w rozcieńczeniu 1 : 10, to dla otrzymania subtelniejszych wyników, bierze się do odczynu gonokokowego trzy rozcieńczenia antygenu: jedno, które wskazuje miareczkowanie i dwa inne, z któ-

rych jedno powinno być bardziej, a drugie mniej stężone od wymiareczkowanego. Jeżeli np. rozcieńczenie wynikające z miareczkowania wynosi 1 : 25, to bierzemy poza tym do gonoreakcji rozcieńczenia 1 : 20 i 1 : 30, wszystkie w dawce 0,25 ccm., jak to wykazuje tablica Nr. II.

T A B L I C A II.
Technika gonoreakcji.

Probówki	1	2	3	4
Surowica nieczynna	0,1	0,1	0,1	0,1 ccm
Rozcieńczenie antyg.	1 : 20	1 : 25	1 : 30	—
Dawka antyg.	0,25	0,25	0,25	—
0.85% Na Cl	—	—	—	0,25 ccm
Dopełniacz 1 : 10	0,25	0,25	0,25	0,25 ccm
łąznia 37° C dwie godziny				
3% krwinki uczulone	0,5	0,5	0,5	0,5
łąznia 37° C minut 30				

Do każdej próby gonoreakcji bierze się surowice kontrolne: rzezączkową, nierzezączkową i kilową z wykluczeniem rzezączki, i jeżeli np., surowica kilowa daje lekkie zahamowanie ($\pm$ lub $+$) przy użyciu antygenu w rozcieńczeniu 1 : 20, to przy odczytywaniu wyników tego pierwszego rozcieńczenia antygenu nie bierzemy pod uwagę, a kierujemy się stopniem zahamowania hemolizy jedynie w próbówce drugiej (1 : 25) i trzeciej (1 : 30).

Porównaliśmy wyniki otrzymane w gonoreakcji przy wiązaniu dopełniacza przez dwie godziny i przez jedną godzinę, na 194 surowicach rzezączkowych. Otrzymane wyniki wykazują tablice Nr. III (z antygenem Crosti'ego) i Nr. IV (z antygenem Owersa).

Jak widać z powyższych tablic, wiązanie dopełniacza, trwające 2 godziny, daje znacznie czulsze wyniki, niż wiązanie, trwające jedną godzinę. Czulość ta nie odbywa się kosztem swoistości odczynów, co zostało stwierdzone przy badaniu surowic nierzezączkowych.

Surowie kontrolnych nierzezączkowych było ogółem 337. Pośród nich było 297 surowie przysłanych na odczyn Bordet-

T A B L I C A III

Wyniki porównawcze między wianiem dopełniacza w przeciągu 2-ch i 1-nej godziny

		Ant. Crosti wiązanie 1 godz.			na korzyść 2 godz.
		+	—	Razem	
Ant. Crosti wiązanie 2 godz.	+	70	43	113	38%
	—		81	81	
				194	

T A B L I C A IV

		Ant. Owers wiązanie 1 godz.			na korzyść 2 godz.
		+	—	Razem	
Ant. Owers wiązanie 2 godz.	+	50	44	94	46,8%
	—		70	70	
				164	

Wassermanna i 40 surowie gruźliczych¹⁾. Wszystkie te surowice dały odczyn gonokokowy ujemny i to zarówno z antygenem Crosti'ego, jak i Owersa.

W liczbie 194 surowie rzeżączkowych były 122 surowice przysłane z Kliniki Dermatologicznej Uniwersytetu Józefa Piłsudskiego w Warszawie. Rozpoznanie kliniczne i wyniki badania serologicznego podane są w tablicy Nr. V.

T A B L I C A V.

Rozpoznanie		Zgod dodat.	Dodat. (Wyższe nasilenie przy 2 g.)	Niezgod. (na korzyść 2 g.)	Zgod. ujem.	Ogółem
gonorrhoea acuta et subacuta	urethritis anterior	1	1	4	11	17
	urethritis antero-posterior	7	7	6	13	33
	complic. ad reg. urethrae ant.	—	—	—	1	1
	cystitis, epididymit, prostatit.	4	1	1	—	6
	arthritis gonorrhoeica	2	1	—	—	3
gonorrhoea chronica		4	4	1	1	10
residua post gonorrhoeam		1	5	8	17	31
surowice kontrolne		—	—	—	21	21
Razem		19	19	20	64	122

¹⁾ P. Dr. Jelenkiewiczowej składamy podziękowanie za łaskawe ich nadysłanie.

Spośród tych 122 surowie było 101 surowie rzeżączkowych i 21 surowie kontrolnych (nierzeżączkowe zapalenie cewki 13 przypadków, poza tym gruzlica jądra, nierzeżączkowe zapalenie najądrza i inne).

Na ogólną liczbę 122 badanych surowie, w 19 przypadkach były wyniki zgodne dodatnie, w 64 zgodnie ujemne, w 39 przewaga czułości na korzyść wiązania przez 2 godziny (w 20 surowiach wyniki niezgodne na korzyść wiązania w czasie 2-ch godzin, w 19 surowiach wyniki gonoreakcji w czasie jednej godziny i 2-ch godzin dodatnie, jednak z przewagą nasilenia odczynu co najmniej o „+“ na korzyść 2-ch godzin). Ani razu nie stwierdzono większej czułości odczynu w warunkach wiązania dopełniacza w czasie jednej godziny.

W 21 surowiach nierzeżączkowych, kontrolnych wyniki we wszystkich przypadkach zgodnie ujemne.

W ostrej rzeżączce na 20 wyników niezgodnych względnie dodatnich z przewagą nasilenia odczynu na korzyść 2-ch godzin — w 4-ch przypadkach stwierdzono większą czułość gonoreakcji w czasie 2-ch godzin już w drugim tygodniu choroby, z czego można wywnioskować, że gonoreakcja w tych warunkach wcześniej staje się dodatnią.

Na 31 surowie pochodzących od osobników, którzy przebyli rzeżączkę przed krótszym lub dłuższym czasem, w 13 surowiach stwierdzono większą czułość gonoreakcji w czasie 2-ch godzin. Wśród tych 13 surowie, 9 pochodziło od osobników, którzy przebyli rzeżączkę poniżej 3-ch miesięcy, w jednym przypadku rzeżączka była przebyta nie dalej, niż przed pół rokiem, w pozostałych trzech — w okresie, przekraczającym pół roku. Należy zatem sądzić, że gonoreakcja w czasie 2-ch godzin ma słabszą tendencję do ustępowania w wyleczonej rzeżączce, niż gonoreakcja w czasie jednej godziny.

W pracy wykonanej z *Halberówną* nad wpływem temperatury na wynik odchylenia dopełniacza w kile przekonał się, że wiązanie dopełniacza w chłodni w ciągu 4 godzin daje czulsze wyniki, niż przy 37° C, w ciągu ½ godziny; zastosowaliśmy więc tę metodę i w odczynie gonokokowym.

W pracy naszej posługiwaliśmy się taką samą techniką, jak przy odczynie Bordet-Wassermanna, a więc wiązanie dopełniacza w chłodni przy temperaturze $+4$ do $+6^{\circ}$ C. w przeciągu 4-ch godzin. Wyniki tych badań wykazują tablice Nr. 6 i Nr. 7.

TABLICA VI (antygen Crostiego)

TABLICA VII (antygen Owera)

Wyniki porównawcze wiązania dopełniacza w przeciągu 2-ch godzin przy 37° C i w chłodni w przeciągu 4 godzin przy $+4$ do $+6^{\circ}$ C.

		Ant. Crosti chłodnia			na korzyść 2godz.
		+	—	Razem	
Ant. Crosti 37° C 2 godziny	+	43	34	77	38,6%
	—		78	78	
				155	

		Ant. Owers chłodnia			na korzyść 2godz.
		+	—	Razem	
Ant. Owers 37° C 2 godziny	+	35	29	64	45,3%
	—		87	87	
				151	

Jak widać z powyższych tablic, wiązanie dopełniacza w chłodni dało znacznie słabsze wyniki, niż przy 37° C w przeciągu 2-ch godzin i to zarówno z antygenem Crostiego, jak i Owera. Przewaga bowiem na korzyść łaźni z antygenem Crostiego wynosi 38,6%, a z antygenem Owera 45,3%.

Surowice nierzeżączkowe dały 2,2% odczynów nieswoistych.

Reasumując wyniki, jakie otrzymaliśmy na surowicach gonokokowych, możemy stwierdzić, że w odczynie gonokokowym otrzymuje się znacznie czulsze wyniki, jeżeli wiązanie dopełniacza odbywa się na łaźni nie w przeciągu jednej godziny, lecz w przeciągu dwu godzin. Na korzyść 2-ch godzin było na naszym materiale 38% wyników dodatnich z antygenem Crostiego, a 46,8% z antygenem Owera.

Należy podkreślić, że nie odbywa się to kosztem swoistości odczynu, albowiem nie otrzymaliśmy ani jednego dodatniego odczynu gonokokowego z surowicami kontrolnymi, to też w pracowni serologicznej P. Z. H. w Warszawie wykonywa się obecnie odczyn gonokokowy, w wyżej opisany sposób.

Przeprowadzone przez nas próby wiązania dopełniacza w chłodni w przeciągu 4 godzin, dały, w porównaniu z metodą dwugodziną przy 37° C., wyniki znacznie słabsze i mniej swoiste i tym samym wykazały, że powyższa metoda nie nadaje się do serodiagnostyki rzeżączki.

De l'Institut d'Hygiène d'Etat, Département de Bactériologie et Médecine
Expérimentale. Directeur Prof. L. Hirschfeld
et de la Clinique Dermatologique de l'Université Józef Piłsudski à Varsovie,
Directeur Prof. M. Grzybowski.

INFLUENCE DE LA DURÉE DE LA DÉVIATION DE L'ALEXINE SUR LA GONORÉACTION.

P a r

Z. MILIŃSKA-SZWOJNICKA et B. RASZKES

R É S U M É.

Les auteurs ont examiné la déviation de l'alexine avec l'antigène gonococcique d'après Crosti et d'après Owers. Ils ont exécuté la gonoréaction dans deux séries d'expériences parallèles: dans la première, la déviation a été faite au bain—marie à 37° pendant 2 heures, et dans la seconde pendant 1 heure. Les auteurs ont examiné 194 sérums gonococciques et 337 sérums non gonococciques, dont 40 tuberculeux. Les résultats des auteurs ont été suivants: quand la déviation était faite pendant 2 h. en employant l'antigène de Crosti (suspension des gonocoques dans l'eau physiologique additionnée de 0.5 p. c. de phénol), ils ont reçu un surplus des résultats positifs montant à 38 p. c., avec l'antigène d'après Owers (extrait aqueux des gonocoques additionné de 0,3 p. c. de phénol) ce surplus était de 46,6 p. c. La réaction étant dans ces conditions plus sensible, n'est nullement moins spécifique, car les auteurs n'avaient noté aucune réaction positive avec les sérums non gonococciques.

P I Ś M I E N N I C T W O .

Gelman. Med. Dośw. i Społ. t. XII. 1930. *Szwojnicka i Zawodziński.* Med. Dośw. i Społ. t. XII. 1930. *Witebsky.* Klin. Wschr. Nr 37. S. 1455 — 1456 1933. *Szwojnicka i Raszkas.* Przegląd Dermatol. t. XXIX. 1934. *Säufferling* Deutsch. med. Wschr. 285 — 287. 1934. *Waldeyer.* Deutsch. med. Wschr. 301 — 304. 1935. *Birnbaum.* Dermat. Wschr. 101. S. 1503 — 1506. 1935. *Thomson, Hamann i Parck* of Immun. 29. S. 249 — 254. 1935. *Brandt.* Klin. Wschr. 1212 — 1213. 1935. *Brückner.* Dermat. Wschr. 101. S. 995 — 1001. 1935. *Brandt.* Wien. Klin. Wschr. 775 — 777. 1936. *Lewin, Lewin i Fink.* Dermat. Z. B. 73. S. 201 — 203. 1936.

Wpłynęło 3.IX.1936

Z Zakładu Bakteriologii Wydz. Wet. U. J. P. w Warszawie.
(Kierownik: Prof. Dr. Z. Szymanowski).

PODŁOŻE SEIDENGLANZA W ZASTOSOWANIU DO HODOWLI SZCZEPÓW PARATYFUSOWYCH ZWIERZĘCYCH.

P o d a ł a

F. FERSZTÓWNA

Pracą niniejszą ma za zadanie wypróbowanie wartości wymienionego w tytule podłoża w zastosowaniu do szczepów, które najczęściej omijane są w badaniach systematycznych, aczkolwiek mają wielkie znaczenie diagnostyczne. Przedmiotem badania były zawiesiny odnośnych bakterii sporządzone sztucznie. W takich warunkach własności namnażające podłoża w stosunku do badanego szczepu występują daleko wyraźniej i dają się ściślej ująć, niż w zwykłych badaniach diagnostycznych, w których probierzem jest tylko dodatni, względnie ujemny wynik posiewu. Pożywka *Seidenglanza* oparta jest na tych samych zasadach co podłoże wzbogacające *L. Müllera*, względnie *Kauffmanna* w modyfikacji *Szustowej* ze specjalnymi poprawkami. Podłoże składało się pierwotnie z tiosiarczanu sodowego z dodatkiem roztworu jodu w jodku potasu i agaru. Było to więc podłoże wzbogacające, nie różniące się niczym od podłoża *Szustowej*. Na podłożu tym, jak wynikało z doświadczeń *Seidenglanza*, wyrastało niekiedy obok bakterii tyfusu i paratyfusu także *bact. coli*, *b. faecalis* *alcaligenes*. Jako środka hamującego wzrost tych ostatnich *Seidenglanz* użył barwika metachromgelb w stężeniu 0,2%, który już

dawniej stosował *Gassner* w swej pożywce, która zresztą nie przyjęła się szeroko. Wreszcie wprowadził *Seidenglanz* wskaźnik dla różniczkowania barwnego kolonii, a mianowicie błękit bromotymolowy. Na podłożu *Seidenglanza* *b. coli* tworzy kolonie czerwono-pomarańczowe, *b. paratyphi* większe kolonie zielone a *b. typhi* małe kolonie zielone. Po 24 godzinnym pobycie w cieplarni, niektóre kolonie, zwłaszcza na brzegu płytki słabo zielonieją. W takim razie należy je podług wskazówki autora pozostawić przez 24 godziny na świetle. *Seidenglanz* w swoich doświadczeniach porównywał podłoże swoje z podłożami *Szustowej* i *Kauffmanna* i otrzymał wyniki lepsze, niż tamci badacze.

W doświadczeniach moich zajęłam się głównie pałeczkami *suiperstifer* i *abortus equi*. Dla porównania wysiewałam jednocześnie pałeczkę tyfusową. Zbadałam trzy szczepy *b. suipestifer* S_1 , S_3 i S_6 trzy szczepy pałeczki ronienia zakaźnego klaczy E_9 , E_9 i E_{12} . Nadto wzięłam 1 szczep pałeczki tyfusowej i jedną pałeczkę okrężnicową. Stosowałam równocześnie trzy podłoża *Müllera*, *Kauffmanna* i *Seidenglanza*. Skład pierwszych dwóch pomijam jako znany czytelnikom polskim, zwłaszcza z pracy *Amzelówny* i *Szperówny*. Co się tyczy podłoża *Seidenglanza*, to przedstawia się ono jak następuje:

Do 100 ccm rozpuszczonego agaru dodaję 1) 0,2 gr. barwika metachromgelb (Grübler 11 R. D.), rozpuszczonego poprzednio w wodzie i przesączonego. 2) 1 gr cukru mlecznego, czystego chemicznie, rozpuszczonego w niewielkiej ilości wody i wyjałowionego. Agar z powyższymi dodatkami po uprzednim zmieszaniu, sterylizuję w ciągu 15 minut w aparacie Kocha, poczym ostudzam na kąpieli wodnej do temp. 40° — 45° . Do ostudzonej pożywki dodaję świeżo przygotowanej mieszaniny, złożonej z 11 ccm. tiosiarczanu sodu (roztwór wodny 50%) wyjałowionego uprzednio i 2,2 ccm. roztworu J. w K. J. (25 gr. J. i 20 gr. K. J. ad. 100 ccm. wody dest.). W końcu dodaję 4 ccm. błękitu bromotymolowego, przygotowanego w sposób następujący: na 100 ccm. wody destylowanej daje 0,16 gr. suchego barwika i 4 ccm alkoholu.

Otrzymane podłoże rozlewam w wyjałowione uprzednio płytki. Podłoże jest zielone i ma $Ph = 7,4 - 7,5$.

W technice badania posługiwałam się dwiema metodami, niewiele się od siebie różniącymi, jedną w odniesieniu do podłoży płynnych i drugą w stosunku do podłoża stałego *Seidenglanza*.

I metoda dla podłóż Müllera i Kauffmanna.

Z 24-ro godzinnej hodowli bulionowej czystego szczepu przesiewałam po jednym oczku do jednakowej ilości podłoża płynnego *Müllera* wzgl. *Kauffmanna* i do bulionu użytego jako kontroli. Następnie po 24 godzinach otrzymane hodowle rozcieńczałam w stosunku 1 : 100.000, przy pomocy uprzednio wyjałowionego płynu fizjologicznego. Następnie z rozcieńczonej w ten sposób hodowli *Müllera* względnie *Kauffmanna* wysiewałam po jednym oczku na płytki agarowe, oraz z rozcieńczonej w ten sam sposób hodowli bulionowej również jedno oczko na inne płytki agarowe. Próby w celu uniknięcia przypadkowości wykonywałam jednocześnie conajmniej na dwóch płytkach agarowych. Następnie płytki umieszczałam na 24 godziny w cieplarni, po upływie tego czasu liczyłam oddzielnie wyrosłe kolonie. Aby uniknąć przerastania pałeczką odmienca na podłożu *Müllera* (zamiast poprawki *van Hoedena*) i *Kauffmanna*, stosowałam zlewanie płytek agarowych alkoholem, przed ich użyciem i umieszczenie ich następnie na 15 minut w cieplarni, co dało zupełnie zadowalające wyniki. W celu porównania tychże wyników z otrzymanymi z bulionu, jako kontroli, musiałam stworzyć jednakowe warunki doświadczenia, przez zastosowanie tego samego zabiegu w stosunku do płytek, na które przesiewałam rozcieńczone hodowle bulionowe.

Wyniki otrzymane na pożywkach płynnych ułożyłam w tablicach, które ze względów technicznych muszę pominąć.

Dla każdego szczepu obliczona jest liczba kolonii otrzymanych z bulionu i jednocześnie z odpowiedniego podłoża. Z porównania obu tych cyfr wyliczam % przyrostu względnie ubytku i w końcu biorę przeciętną tych %. Ostateczne te cyfry dla wszystkich podłóż i wszystkich posiewów umieszczone są na syntetycznej tablicy, którą załączam.

Metoda nie jest pod względem wyliczenia zupełnie ścisła, ale ponieważ ogólna liczba kolonii na płytce wahała się w dość nieznacznych granicach, przeto błąd nie wpływa na przejrzystość wyników. Cyfry podane w tablicy oznaczają więc przeciętny % namnożenia lub zahamowania, w porównaniu do liczby kolonii z bulionu.

Przechodzę obecnie do wyników szczegółowych. Z danych otrzymanych na podłożu *Müllera* wynika, że:

1. Czyste szczepy *b. suipestifer* są hamowane na podłożu *Müllera* w 89% wszystkich zbadanych przypadków.

2. *b. abortus equi* hamowany w 94% wszystkich przypadków.

3. *b. typhi* namnożone jest w 83,4% wszystkich przypadków.

4. *B. coli* zahamowane w 100% przypadków. W obrębie 3 zbadanych szczepów *abortus equi* najbardziej hamowane jest E_9 (77,9%), mniej E_8 (64,4%), najmniej zaś E_{12} (60,3%).

W obrębie 3-ch zbadanych szczepów pałeczki *suipestifer* najbardziej hamowany jest szczep S_3 (72,05%), następnie S_6 (55,7%), najmniej zaś zahamowany jest S_1 (46,1%).

Biorąc pod uwagę częstość zahamowania jak i stosunek w jakim zostają te szczepy zahamowane, można stwierdzić, że podłoże to jest najbardziej hamujące dla *b. coli*, następnie dla szczepu *abortus equi*, w mniejszym stopniu dla pałeczki *suipestifer*, namnażające jedynie w stosunku do *b. typhi*. Co się tyczy podłoża *Kauffmanna*, widzimy że na całkowitą ogólną liczbę zbadanych przypadków:

szczepy pałeczki <i>suipes'tifer</i> są zahamowane w	91,7%
„ <i>b. abortus equi</i>	„ „ 83,4%
„ „ <i>coli</i>	jest „ „ 100 %
„ „ <i>typhi</i>	„ namnożone „ 83,4%

Biorąc pod uwagę stosunki zahamowania 3-ech szczepów *b. abortus equi*, najbardziej zahamowane jest E_9 (52,7%), następnie E_2 (42,8%), i najmniej E_3 (26,6%). W obrębie trzech zbadanych szczepów pałeczki *suipestifer* w najwyższym stosunku jest hamowane S_3 (67,4%), następnie S_6 (44%) i najmniej S_1 (41%).

Reasumując wyniki powyższe widzimy, że najbardziej i w najwyższym stosunku jest hamowane *b. coli*, następnie szczepy pałeczki *suipestifer* w niższym stosunku, w mniejszym jeszcze stosunku szczepy *abortus equi*, namnożone jedynie jest *b. typhi*.

Czyste szczepy zarówno pałeczki *suipestifer* jak i szczepy *abortus equi* zahamowane są na podłożu *Kauffmanna* w niższym stopniu niż na podłożu *Müllera* oraz wykazują tę samą prawidłowość odnośnie do poszczególnych szczepów, zwłaszcza dla pałeczki *suipestifer*.

Z zachowania się szczepów na wyżej wymienionych podłożach zwłaszcza z uwzględnienia o wiele wyższego stopnia zahamowania *b. coli*, nasuwa się wniosek, że podłoże *Kauffmanna* będzie dawało dobre wyniki w odniesieniu do mieszanin poszczególnych szczepów z *b. coli*. Dla potwierdzenia tego przerobiłam następujące doświadczenia: Z 24-ro godzinnej hodowli *b. abortus equi* i 24-ro godzinnej hodowli *b. coli* przesiewałam po jednym oczku do bulionu i na podłoże *Kauffmanna*. Po 24-ech godzinach rozcieńczałam w płynie fizjologicznym otrzymane hodowle na podłożu *Kauffmanna* i w bulionie, poczem wysiewałam po jednym oczku na podłożu *Endo*. Tak jak wszystkie próby tak i tę, w celu uniknięcia błędów, wykonałam kilkakrotnie. Poza tym posiałam analogicznie sporządzone mieszaniny pałeczki *suipestifer* i *b. coli*, oraz *b. typhi* i *b. coli* do bulionu i na podłoże *Kauffmanna*. Z prób tych wynika, że z rozcieńczenia 1 : 1000000 z hodowli na podłożu *Kauffmanna* wyrosło samo *b. typhi*, lub tylko samo *abortus equi*, nieco mniej pałeczki *suipestifer* z nielicznymi koloniami *b. coli*, w kontroli natomiast na bulionie wyrosło samo *b. coli*.

Widzimy więc, że podłoże *Kauffmanna* okazało się najlepsze w odniesieniu do mieszaniny *b. typhi* i *b. coli*, prawie w równej mierze, dla mieszaniny *b. abortus equi* i *b. coli*, nieco gorsze, dla mieszaniny *b. suipestifer* i *b. coli*. Takie same próby przeprowadzone równolegle na podłożu *Müllera* z wyżej wymienionymi mieszaninami, wykazały również znaczną przewagę tego podłoża nad bulionem. Podłoże *Müllera* daje jednak słabsze wyniki, aniżeli podłoże *Kauffmanna*. Wyniki osiągnięte odnośnie podłoża *Kauffmanna*, w zakresie mieszaniny, *b. typhi* i *b. coli*, są zgodne z wynikami *Amzelówny* i *Kuryłowicza*. Jednak, jak już zaznaczyłam, autorzy ci wyprowadzali swoje wnioski z zachowania się mieszanin materiału zakaźnego, natomiast moje wyniki zo-

stały osiągnięte na ściśle z góry ustalonych mieszaninach laboratoryjnych.

Prób tych nie ujęłam w ilościowe wyniki i nie umieściłam w tablicach, gdyż wykonałam ich tylko kilka na marginesie mojej pracy.

II-ga metoda dla podłoża stałego *Seidenglanza*.

24-ro godzinna hodowlę czystego szczepu rozcieńczam tak, jak w metodzie 1-szej, płynem fizjologicznym w stosunku 1 : 100000. Z otrzymanego w ten sposób rozcieńczenia wysiewam po jednym oczku na 2 — 3 płytki z podłożem *Seidenglanza* oraz na 2 — 3 płytki agarowe. Płytki umieszczalam na 24-godziny w cieplarni oraz następnie, w myśl wskazań *Seidenglanza*, wystawiałam na działanie światła w temperaturze pokojowej na dalsze 24 godziny. *B. coli* wzrastało odrazu t. j. po 24 godz. w cieplarni, w czerwono-pomarańczowych koloniach, natomiast tyfus i paratyfusy najczęściej, dopiero po dodatkowym działaniu światła zielonego w większej liczbie kolonij. Podłoże to jednak niezawsze daje wybitne zróżnicowanie barwne, to znaczy nie wszystkie kolonie tyfusu i paratyfusów były zielone, częstokroć nawet po 24-godz. działaniu światła, niektóre kolonie pozostały pomarańczowe, aczkolwiek były to napewno czyste szczepy i przesiewane na podłoże *Endo* pozostawały zawsze bezbarwne. Wada ta występowała w większości przypadków na płytkach starszych (np. już 72-godz.), wobec tego sądzę, że podłoże to w stanie gotowym nie powinno być przechowywane dłużej niż 48 — 72 godz. Ta wada istotna w odniesieniu do mieszanin, w stosunku do mojej pracy nie miała żadnego znaczenia, gdyż jak już zaznaczyłam, pracowałam tylko z czystymi hodowlami, tak, że zróżnicowanie barwne było mi zbędne.

Wyniki otrzymane na podłożu *Seidenglanza* przedstawiają się jak następuje. Na ogólną całkowitą liczbę zbadanych przypadków:

b. suipestifer	jest namnożone	w 83,4%
„ abortus equi i b. typhi są	namnożone	w 75 %
„ pullorum	jest namnożone	w 91,7%
„ coli	jest zahamowane	w 100 %

Ze zbadanych szczepów abortus equi w prawie jednakowym stopniu okazały się namnożone szczepy E₉ (32,3%) i E₁₂ (31,3%), pozornie zaś w najwyższym stosunku namnożony okazał się szczep E₈ (45,3%), jest on jednak na 12 zbadanych przypadków aż pięć razy zahamowany.

Ze zbadanych szczepów pałeczki suipestifer w najwyższym stosunku namnożony jest S₁ (45%), w mniejszym S₆ (30,5%), w jeszcze mniejszym S₃ (29%).

Widzimy, że poszczególne szczepy abortus equi w swym zachowaniu na 3-ch zbadanych podłożach przedstawiają tę samą prawidłowość, różniąc się tylko nieznacznie, podczas gdy szczepy pałeczki suipestifer wykazują identyczne prawie prawidłowości.

We wszystkich zbadanych przypadkach nie zauważono ani razu przerastania podłoża *Seidenglanza* pałeczką odmieńca, tak, że nie były w tym celu stosowane żadne dodatkowe środki ostrożności.

T A B L I C A I.

Wyniki otrzymane na podłożach stosowanych do hodowania pałeczek z grupy okrężnicowo durowej													
Podłoże		Müllera				Kauffmanna				Seidenglanza			
Szczepy	Ogólna liczba posiewów	Ogólna liczba wyników		Namnoż. lub hamowanie w % przeciętnych w przypadkach		Ogólna liczba wyników		Namnoż. lub hamowanie w % przeciętnych w przypadkach		Ogólna liczba wyników		Namnoż. lub hamowanie w % przeciętnych w przypadkach	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Parat.-suiptifer	36	4	32	10,4	57,9	3	33	12,9	50,8	30	6	35,1	16,3
Parat.-equi	36	2	34	29	67,5	6	30	22,4	40,7	27	9	36,3	21,9
Tyfus	12	10	2	68,7	28,2	10	2	43,5	30,5	10	2	24,6	15
Coli	12	0	12	0	96,7	0	12	0	93,6	0	12	0	84,7

Reasumując wszystkie poczynione spostrzeżenia według załączonej tablicy widzimy, że:

I) Podłoża powyższe zachowują się, w stosunku do zbadanych szczepów zwierzęcych (pałeczka suipestifer i abortus equi), raczej jako podłoża wybiórcze, a nie zbogacające, z wyjątkiem jedynie podłoża *Seidenglanza*.

II) Podłożem dającym odnośnie do czystych szczepów najslabsze wyniki jest podłoże *Müllera*. Podłoże to bowiem hamując w wysokim stopniu wzrost *b. coli* hamuje również w dużym, aczkolwiek mniejszym stopniu, wzrost innych szczepów, a więc zarówno pałeczki suipestifer jak i *b. abortus equi*, namnażając jedynie *b. typhi*.

III) Podłoże *Kauffmanna* jest hamujące odnośnie do hodowli zbadanych szczepów gatunków bakteryjnych, namnażające jedynie dla *b. typhi*. Hamowanie jednak zachodzi w o wiele niższym stopniu, niż na podłożu *Müllera*, zwłaszcza w stosunku do *b. abortus equi*.

IV) Najlepszym podłożem, z trzech zbadanych, dla czystych szczepów pałeczki suipestifer, abortus equi i pullorum jest podłoże *Seidenglanza*, dające w przeważającej liczbie przypadków namnożenie.

V) O ile chodzi o *b. typhi* orientuję się, że z tak niewielkiej liczby kolonii, wyrosłych na agarze oraz podłożach zbogacających, trudno wnosić o ilościowym namnażaniu lub hamowaniu. Przeważająca jednak liczba przypadków otrzymania większej liczby kolonii na podłożach zbadanych, aniżeli kontrolnie na agarze, lub bulionie, pozwala wnosić bez określania ścisłych stosunków ilościowych, o zbogacaniu *b. typhi*, na podłożach powyższych.

Sprawa ta jednak nie posiada dla mojej pracy głębszego znaczenia, gdyż jak już zaznaczyłam, *b. typhi* odgrywało w moich badaniach jedynie rolę kontroli.

VI. *B. coli* było zahamowane w 100% wszystkich zbadanych przypadków na podłożach wymienionych. Wnoszę o tym nietylko z wyników umieszczonych w tablicach, gdyż wykonałam dalej więcej doświadczeń, celem zbadania zachowania *b. coli*, lecz ze względu na identyczność otrzymanych wyników, oraz biorąc pod uwagę względy techniczne podałam tylko część. Uwzględniając stosunki w jakich wzrost *b. coli* został zahamowany, naj-

lepszym okazało się podłoże *Müllera*, nieco słabsze podłoże *Kauffmanna i Seidenglanza*.

VII) Podłoże *Seidenglanza* posiada tę wyższość, nad pozostałymi podłożami z bogacającymi, że w przeciwieństwie do nich hamuje ono nie tylko wzrost *B. coli* ale i innych bakterij jelitowych, towarzyszących drobnoustrojom z grupy tyfusowo-paratyfusowej, a w szczególności hamuje ono wzrost pałeczki odmieńca, co w praktyce ma doniosłe znaczenie..

Panu prof. Z. Szymanowskiemu, składam serdeczne podziękowanie za podanie mi tematu pracy, oraz za cenne wskazówki, udzielone mi w toku pracy.

Aus dem Bakteriologischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Universität J. Piłsudski in Warschau.
(Direktor: Prof. Dr. Z. Szymanowski).

DER NÄHRBODEN NACH SEIDENGLANZ UND SEINE VERWENDUNG FÜR TIERISCHE SALMONELLASTÄMME.

V o n

F. FERSZT

ZUSAMMENFASSUNG.

Die Arbeit hat zum Gegenstand die Untersuchung der Anreicherung von Paratyphusstämmen auf genannten Nährboden, besonders im Vergleich mit den Anreicherungsverfahren nach L. Müller und F. Kauffmann. Es wurden von den untersuchten Stämmen Aufschwemmungen hergestellt und die Zahl der angezüchteten Keime quantitativ bestimmt und zwar mit folgendem Ergebnis:

1. Die Nährböden von L. Müller und F. Kauffmann wirken nur relativ anreichernd: sie wirken viel stärker hemmend auf *B. coli* als auf die untersuchten *Suipestifer* und *Abortus equi* Stämme.

2. Der Nährboden von L. Müller hemmt stärker als derjenige von F. Kauffmann. Der letztere wirkt anreichernd auf *B. typhi*.

3. Der Nährboden von Seidenglanz wirkt fast ausnahmslos anreichernd. Die Anreicherung ist für *B. typhi* am stärksten.

4. *B. coli* wird auf allen untersuchten Nährböden zu 100% gehemmt. In dieser Beziehung wirkt der Nährboden von L. Müller am stärksten.

5. Der Nährboden von Seidenglanz bietet den Vorteil, dass auf ihm nicht nur *B. coli* sondern auch Proteusstämmen gehemmt werden.

P I Ś M I E N N I C T W O.

Amzelówna. Med. Dośw. i Społ. t. 18, str. 96. 1934. *Van der Hoeden*. Ztrbl. f. Bakt. t. 104, str. 477. 1927. *Kauffmann*. Ztrbl. f. Bakt. t. 119, str. 148. 1931. *Kuryłowicz*. Polska Gazeta Lekarska, t. 14, str. 891. 1935. *Kolle u. Wassermann* *Abdominaltyphus*. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen t. 3, str. 737. 1913. *Kolle, Krauss, Uhlenhuth*. Differential Nährböden. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, t. 9. str. 929, 1928. *Müller*. C.R.Soc. Biol. t. 89, str. 434. 1923. *Rosen, Wagner-Sacharowa i Sobolewa*. Ztrbl. f. Bakt. t. 100, str. 293. *Schustowa*. Ztrbl. f. Bakt. t. 122, str. 403. 1931. *Seidenglanz*. Ztrbl. f. Bakt. t. 125, str. 534. 1932. *Szperówna*. Med. Dośw. i Społ. t. 19, str. 289. 1935.



Wpłynęło 1.1X.36.

Z Zakładu Bakteriologii Wydziału Weter. U. J. P. (Dyr. Prof. Z. Szymanowski).

PRZYCZYNEK DO ZACHOWANIA SIĘ BAKTERIOFAGÓW W ZESPOŁACH ZWIERZĘCYCH.

P o d a ł a

R. SZENDEROWICZÓWNA

Nauka o bakteriofagach zawiera jeszcze wiele punktów ciemnych, aczkolwiek w ostatnich czasach zaczyna górować pogląd, że są to samodzielne twory żywe, najbardziej zbliżone do zarazków pozawidzialnych, związane jednak, ściśle z bakteriami, wrażliwymi na ich działanie. Z tego punktu widzenia ekologia bakteriofagów budzi wielkie zainteresowanie. Praca niniejsza stanowi przyczynek do tej kategorii zagadnień. W szczególności chodziło nam o zbadanie, czy w zamkniętym zespole zwierzęcym istnieje jakaś korelacja pomiędzy rozpowszechnieniem szczepów pałeczki okrężnicowej, wrażliwych na działanie bakteriofaga również znajdującego się w tym samym zespole. Obiektem naszych badań były z jednej strony dwie obory krów, z drugiej zaś hodowla białych myszy i szczurów w naszym laboratorium. Dla porównania przeprowadziliśmy również badania nad pewną liczbą szczurów dzikich, pochodzących z jednego i tego samego środowiska.

T e c h n i k a. Próbkę kału poszczególnych zwierząt posiewaliśmy do bulionu z którego po 24 godzinym pobycie w cieplarni przygotowywaliśmy przesącz, traktowany jako źródło bakteriofaga. Jednocześnie robione były posiewy kału na płytkach Endo i z każdej płytki 10 kolonii badaliśmy na wrażliwość względem przypuszczalnego bakteriofaga; w razie dodatniego dzia-

B. coli z krów obory "Kamionek"	B _g 1 K	B _g 2 K	B _g 3 K	B _g 4 K	B _g 5 K	B _g 7 K	B _g 8 K	B _g 10 K	B _g 11 K	B _g 12 K	B _g 13 K	B _g 14 K	B _g 15 K	B _g 16 K	B _g 17 K	B _g 18 K	B _g 20 K
b. coli 1 K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 3 K	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 4 K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 5 K	—	—	—	—	+	—	—	+	+	—	—	+	—	—	—	—	+
b. coli 6 K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 8 K	—	+	—	—	+	—	+	—	—	+	+	—	—	—	+	—	—
b. coli 10 K	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 11 K	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 12 K	—	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	—	—	—	+	—	—
b. coli 13 K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
b. coli 14 K	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
b. coli 16 K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
b. coli 20 K	—	+	—	—	+	+	—	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+

Zestawienie do tablicy I

Bg 3 K, Bg 4, Bg 8 K, Bg 16 K	—	5	przesączy	—	działa	litycznie na 1 szczep
Bg 7 K, Bg 10 K, Bg 13 K, Bg 17 K, Bg 18 K	—	5	przesączy	—	działa	litycznie na 2 szczepy
Bg 2 K; Bg 11 K, Kg 14 K	—	3	przesącze	—	"	"
Bg 20 K	—	1	przesąc	—	"	"
Bg 12 K	—	1	"	—	"	"
Bg 5 K	—	1	"	—	"	"
					"	7
					"	"

łania litycznego badano zachowanie się kolonii pałeczki okrężnicowej z kału innych zwierząt względem tego samego bakteriofaga.

Protokół 1. Na 20 zbadanych przesączy kałów obory „Kamionek” 16 wykazało działanie lityczne (tabl. I i zestawienie). Tylko 5 przesączów działało swoiście wyłącznie na własny szczep, pozostałe 11 wykazało dość dużą wieloważność. Niektóre bakteriofagi obu przesączów, jak np.: bakteriofag 5 K i bakteriofag 12 K działały litycznie na prawie wszystkie szczepy b. coli, otrzymane z kału zwierząt danego środowiska; inne wykazały mniejszą rozpiętość działania. Charakterystyczna jest wspólność działania przesączów na pewne tylko szczepy np. na b. coli 20 K działa litycznie aż 9 przesączów, na szczep b. coli 8 K działa litycznie 7 przesączów. Wrażliwość innych szczepów b. coli, wyhodowanych z kału zwierząt tego środowiska, jest mniejsza i działają na nie tylko niektóre przesącze, bądź wykazują niezupełną odporność na działanie prawie wszystkich przesączów. Np. na szczepy b. coli 6 K i 10 K nie działa żaden przesącz, na szczepy b. coli 4 K, 13 K i 14 K działają tylko po 2 przesącze.

Protokół 2. Przesącze kałów krów z obory Agrilu działały podobnie jak przesącze z obory „Kamionek” (tabl. II i zestawienie). I tu niektóre przesącze działają wspólnie na pewne tylko szczepy, jak np. z 13 przesączów, wykazujących działanie lityczne, aż 7 działa na szczep b. coli 3 Kr, a 6 przesączów działa na szczep b. coli 8 Kr. Są też szczepy, wykazujące całkowitą odporność na działanie lityczne wszystkich przesączów np.: b. coli 15 Krów i 16 Kr. Znaczna ilość przesączów wykazuje dużą wieloważność np. bakteriofag 9 Kr działa aż 9 szczepów b. coli z 15 badanych, niektóre jednak wykazują mniejszą rozpiętość działania.

Z zestawienia tych dwóch obór wynika, że w danym zespole zwierzęcym stwierdzić można z pewnością istnienie zarówno wspólnych wrażliwych szczepów, jak i wspólnych bakteriofagów. Te dwie kategorie wspólności nie pokrywają się całkowicie. Ten stan rzeczy przemawia na korzyść odrębności wzajemnej szczepów i bakteriofagów, gdyż jedno i drugie są w danym środowisku rozsiiane nierównomiernie.

W dalszym ciągu poddaliśmy badaniu zespoły, których współzycie jest daleko ściślejse, a mianowicie badaliśmy kały białych myszy i szczurów, hodowanych u nas w laboratorium. Jedne i drugie żyją we wspólnych klatkach, żywią się tym samym pokarmem i stykają się w stopniu znacznie większym niż krowy w oborze.

Protokół 3. Przebadaliśmy 60 przesączów kałów białych myszy i szczurów. (Badaliśmy 4 razy po 15 przesączów). Żaden z tych przesączów nie wykazał działania litycznego. Badaliśmy ich działanie na szczepach b. coli,

T A B L I C A II

B. coli z krów obory „Agrilu“	Bg 1 Kr	Bg 2 Kr	Bg 3 Kr	Bg 4 Kr	Bg 5 Kr	Bg 7 Kr	Bg 8 Kr	Bg 9 Kr	Bg 10 Kr	Bg 11 Kr	Bg 13 Kr	Bg 14 Kr	Bg 16 Kr
b. coli 1 Kr	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
b. coli 2 Kr	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 3 Kr	+	+	+	—	+	—	—	+	+	+	—	—	—
b. coli 4 Kr	—	+	—	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—
b. coli 5 Kr	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—
b. coli 6 Kr	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
b. coli 7 Kr	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	+	—	—
b. coli 8 Kr	—	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—
b. coli 9 Kr	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—
b. coli 10 Kr	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—
b. coli 11 Kr	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+	—	—	+
b. coli 13 Kr	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—
b. coli 14 Kr	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+	—
b. coli 15 Kr	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 16 Kr	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. coli													
z dzikich szczurów													
b. coli 4 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
b. coli 6 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 7 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 8 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 16 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
b. coli 20 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
b. coli 21 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
b. coli 22 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
b. coli 23 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. coli z krów													
obory „Kamionek“													
b. coli 1 K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 5 K	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
b. coli 8 K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 11 K	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—
b. coli 14 K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—

Zestawienie do tablicy II

Bg 4 Kr, Bg 5 Kr, Bg 8 Kr, Bg 14 Kr, Bg 7 Kr — 5 przesączy — działa litycznie na 1 szczep.

Bg 16 Kr — 1 przesącz — działa litycznie na 2 szczepy

Bg 1 Kr — 1 „ — „ „ 3 „

Bg 3 Kr, Bg 11 Kr — 2 przesącze — „ „ 4 „

Bg 2 Kr, Bg 10 Kr — 2 „ — „ „ 5 szczepów

Bg 9 Kr — 1 przesącz — „ „ 11 „

Bg 13 Kr — 1 „ — „ „ 13 „

otrzymanych z tych kałów, oraz na szczepach b. coli otrzymanych z kału innych zwierząt. Okazało się, że żadnych bakteriofagów, działających na b. coli z własnego kału ani z kału innej grupy zwierząt nie udało się nam wykryć. Zjawisko to wydało się nam tak paradoksalne, że powtarzane były te badania kilkakrotnie na partiach białych myszy i szczurów zawsze z tym samym wynikiem. Powzięliśmy podejrzenie, że może wchodzić tu w rachubę sposób życia tych zwierząt, stosunkowo mniej od innych narażonych na zetknięcie się ze światem zewnętrznym. Dlatego też poddaliśmy badaniu pewną liczbę szczurów szarych, dostarczonych do laboratorium w czasie tępienia tych zwierząt w jedne z hal targowych w Warszawie. Z pewnym przybliżeniem można przyjąć, że jest to również grupa zwierząt, stanowiących pewien zespół żyjący w zetknięciu wzajemnym i w jednakowych warunkach.

Protokół 4. Z 20 zbadanych przesączów kału dzikich szczurów 16 wykazało działanie lityczne (tabl. III i zestawienie). Wszystkie te przesącze wykazały bardzo dużą wieloważność w stosunku do b. coli ze swego środowiska i z innych, np. bakteriofagi 5 Sz, 11 Sz i 18 Sz, 20 Sz i 21 Sz działają na dużą liczbę szczepów. Żaden przesącz nie działał swoiście tylko na jeden szczep, wyhodowany z tego samego kału. I tu widzimy wspólność działania przesączów na pewne tylko szczepy b. coli. Z 16 przesączów, wykazujących działanie lityczne, aż 12 działało na szczepy b. coli 17 Sz. Wrażliwość innych szczepów była dużo mniejsza np. na szczepy b. coli 7 Sz, 11 Sz, 19 Sz, 23 Sz, działał tylko jeden lub dwa przesącze.

Wyniki na szczurach były więc zupełnie inne niż u zwierząt w laboratorium. Udało się nam wykryć wielką ilość bakteriofagów, odznaczających się bardzo daleko idącą wieloważnością. Niewątpliwie na ten stan rzeczy wpływa okoliczność, że szczury żywią się wszelkiego rodzaju odpadkami i przebywają w środowisku, odznaczającym się wybitnym bogactwem bakteriofagów i dlatego duża ich ilość występuje w treści jelitowej danego osobnika. Wieloważność taka przemawia stanowczo za tym, że szczury szare zakażają się wzajemnie bakteriofagami tak jak bakteriami.

Badania nasze mają być przyczynkiem do sprawy, którą można nazwać epidemiologią bakteriofagów. Są one niewątpliwie zbyt szczupłe, aby można było z nich wyciągnąć wnioski daleko idące. Niewątpliwym brakiem jest ta okoliczność, że przedmiotem badania było działanie bakteriofagów tylko na jeden gatunek szczepów. Nie sprawdzaliśmy także, czy działanie na

T A B L I C A III

B. coli z dzikich szczurów	Dg 5 Sz	Bg 7 Sz	Bg 8 Sz	Bg 10 Sz	Bg 11 Sz	Bg 13 Sz	Bg 16 Sz	Bg 17 Sz	Bg 18 Sz	Bg 19 Sz	Bg 20 Sz	Bg 21 Sz	Bg 22 Sz	Cg 23 Sz	Bg 24 Sz	Bg 26 Sz
b. coli 1 Sz	+	+	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—
b. coli 3 Sz	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
b. coli 4 Sz	—	+	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	—	—	—	—
b. coli 5 Sz	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—
b. coli 7 Sz	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 8 Sz	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
b. coli 10 Sz	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—
b. coli 11 Sz	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
b. coli 13 Sz	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b. coli 16 Sz	+	+	—	—	—	—	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—
b. coli 17 Sz	+	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—
b. coli 18 Sz	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—
b. coli 19 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+
b. coli 20 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—
b. coli 21 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+	—	—
b. coli 22 Sz	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	+	+	+	—	—
b. coli 23 Sz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
b. coli 24 Sz	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—
b. coli 26 Sz	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	+

B. coli z krów obory „Kamionek“																
b. coli 4 K	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—
b. coli 5 K	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	+	—	—
b. coli 8 K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
b. coli 11 K	+	—	—	+	+	—	+	—	+	—	+	—	—	+	+	—
b. coli 12 K	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	—	+	—	—
b. coli 13 K	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—
b. coli 14 K	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	+	—	—
b. coli 20 K	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—	+	—

B. coli z białych szczurów																
b. coli 5 S. b.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+	—	—
b. coli 6 S. b.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+	—	—
b. coli 7 S. b.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—
b. coli 11 S. b.	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
b. coli 19 S. b.	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
b. coli 20 S. b.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—

Zestawienie do tablicy III

Bg 13 Sz, Bg 17 Sz, Bg 19 Sz, Bg 22 Sz, Bg 26 Sz — 5 przesaczy — działa litycznie na 2 szczepy.

Bg 10 Sz	— 1 przesacz	—	działa litycznie na 3 szczepy
Bg 8 Sz	— 1	"	" " " 4 "
Bg 7 Sz	— 1	"	" " " 5 szczepów
Bg 11 Sz	— 1	"	" " " 7 "
Bg 16 Sz, Bg 24 Sz	— 2	"	" " " 8 "
Bg 21 Sz	— 1	"	" " " 12 "
Bg 23 Sz	— 1	"	" " " 16 "
Bg 18 Sz	— 1	"	" " " 17 "
Bg 5 Sz	— 1	"	" " " 19 "
Bg 20 Sz	— 1	"	" " " 22 szczepy

różne szczepy jest jednakowe. Właściwie należało dokładnie kontrolować łyśinki, charakter szczepów wtórnych i własności antygenowe badanych bakteriofagów. Wszystko to jednak spowodowałoby nadmierny rozrost pracy. Ograniczając świadomie zakres badania, chcieliśmy tylko przekonać się, czy w zespole zamkniętym można mówić o wspólności pewnych elementów flory jelitowej, oraz pewnych bakteriofagów i czy wspólność jednej i drugiej kategorii występuje równoległe, czy nie.

Z doświadczeń naszych zdaje się wynikać, że istnieje zarówno wspólność flory bakteryjnej jak i bakteriofagowej, ale że wspólność ta nie pokrywa się wzajemnie. Sądzymy, iż możemy przyjąć, że wzajemna infekcja bakteryjna rozwija się niezależnie od wzajemnej infekcji bakteriofagowej. Zupełnie odrębną kwestię stanowi sprawa zachowania się zespołów białych myszy i szczurów. Sprawa ta wymaga bliższego zbadania. Dlaczego właśnie najpospolitszy saprofit jelitowy, jakim jest pałeczka okrężnicowa, nie znajduje w tych zespołach odpowiedniego bakteriofaga, niepodobna w tej chwili wyjaśnić. Pewną próbę tłumaczenia podaliśmy wyżej. Należy jednak koniecznie zbadać dokładnie, czy przesacze kałów tych zwierząt są wogóle ubogie w bakteriofagi, czy też chodzi i tu tylko o brak pewnych kategorii bakteriofagów. Kilka doświadczeń podjętych w tym kierunku zdaje się przemawiać za pierwszą ewentualnością.

STRESZCZENIE.

Badanie kałów krów, myszy i szczurów w zespołach zamkniętych wykazuje w każdym z nich rozpowszechnienie zarówno szczepów pałeczki okrężnicowej, wrażliwych na działanie lityczne, oraz odnośnego bakteriofaga wśród członków zespołu. Rozpowszechnienie to nie jest ściśle równoległe i obejmuje zmienną liczbę osobników. Zdaje się, że poszczególne osobniki zakażają się wzajemnie zarówno szczepami bakterii jak bakteriofagami. Największe rozpowszechnienie odnośnych szczepów bakteriofagów stwierdziliśmy u szczurów dzikich. U krów w oborze rozpowszechnienie analogiczne stwierdziliśmy również, choć nie w tak znacznym stopniu. Natomiast u białych myszy i szczurów, hodowanych w laboratorium, nie znaleźliśmy wcale bakteriofagów, działających na szczepy pałeczki okrężnicowej, wyhodowane z tych samych zwierząt. Zjawisko to stwierdzono 4-krotnie zasługuje na bliższe zbadanie.

Aus dem Bakteriologischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der
Universität J. Piłsudski in Warschau.

BEITRAG ZUM AUFTRETEN VON BAKTERIOPHAGEN IN GESCHLOSSENEN TIERGRUPPEN.

V o n

R. SZENDEROWICZ

ZUSAMMENFASSUNG.

Der Gegenstand der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung des Kotes von Tieren, die in geschlossenen Gruppen leben, auf das Vorhandensein von Phagen, die auf Colistämme wirkten, welche aus demselben Kot gazüchtet waren. Es ergab sich, dass Kühe in demselben Stal und wilde Ratten, welche in denselben Objekt gefangen waren, im Kote gemeinschaftliche Phagen besitzen die auf gemeinsame Colistämme eingestellt sind. Weiße Mäuse und Ratten aus der Laboratoriumszucht hatten keine auf Colistämme wirkende Phagen. Die Tatsache ist mehrmals festgestellt worden und verdient besondere Aufmerksamkeit.

Wpłynęło 8.IX.1936.

Z Miejskiego Instytutu Higieny m. st. Warszawy. Kier. Dr. A. Ławrynowicz.

W SPRAWIE METODYKI WYKONYWANIA „PRÓBY RYCZAŁTOWEJ” ZJADLIWOŚCI MACZUGOWCA BŁONICY.

P o d a ł a

J. SZYMAŃSKA

W epidemiologii błonicy ważnym czynnikiem jest nosicielstwo maczugowca błonicy. Samo stwierdzenie obecności maczugowca w posiewie jest niewystarczające, gdyż nie każdy nosiciel jest niebezpieczny dla otoczenia. W każdym przypadku pożądane jest określenie zjadliwości danego szczepu maczugowca błonicy.

Wszystkie metody określania zjadliwości polegają na doświadczeniu na śwince morskiej. Początkowo określano zjadliwość czystych szczepów (*Roux i Yersin*) drogą podskórną. Dalsze badania wykazały, że wystarczy doskórne wstrzyknięcie małej ilości zawiesiny badanego szczepu (*Römer*), gdyż maczugowiec błonicy zawsze wywołuje charakterystyczne zmiany nekrotyczne na skórze.

Autorzy amerykańscy *Force i Beatti* oraz *Havens i Powell* wprowadzili tak zwaną „próbę ryczałtową“ dla określenia zjadliwości. Używa się do tej próby nie czystych szczepów, lecz zawiesiny, sporządzonej z posiewu na podłożu Loefflera; kilka prób wykonywa się na jednej śwince.

Metoda ta była poddana analizie doświadczalnej w Miejskim Instytucie Higieny i wypróbowana równolegle z określe-

niem zjadliwości czystych hodowli maczugowca błonicy przez *Z. Bohdanowiczównę* i *A. Ławrynowicza*. W pracowni naszej — metoda „próby ryczałtowej“ jest obecnie stosowana w przypadkach długotrwałego nosicielstwa.

Nasza metodyka wykonania próby ryczałtowej była następująca. Próbę wykonywuje się równolegle na dwóch świnkach — doświadczalnej i kontrolnej. Świnika kontrolna otrzymuje przed wykonaniem doświadczenia dootrzewnowo 500 jednostek surowicy przeciwbłonicy. Świnika doświadczalna otrzymuje 125 jednostek surowicy w $3\frac{1}{2}$ — $5\frac{1}{2}$ godzin po doświadczeniu. Sporządza się zawiesinę z posiewu na podłożu Loefflera śluzu, zawierającego maczugowca błonicy i wstrzykuje się doskórnie na wygolonej powierzchni brzucha obu świnkom. Wynik próby odczytuje się po trzech dobach.

Szereg autorów wprowadza do zasadniczej metody *Havensa* i *Powella* niewielkie odchylenia. Tak — *Schroeder* i *Reider* — wprowadzają surowicę przeciwbłonicyą dosercowo. Próbę wykonywują na jednej śwince, wstrzykując badany materiał dwa razy. Pierwszy raz po jednej stronie brzucha; po 6-ciu godzinach wprowadza się surowicę i wstrzykuje się badany materiał tej samej śwince po drugiej stronie.

Wszystkie modyfikacje i zmiany w technice określania zjadliwości, mają na celu stworzenie takich warunków, aby charakterystyczne zmiany występowały wyraźnie. Jedną z tych modyfikacji było zastosowanie specjalnego płynu do sporządzania zawiesiny, zamiast ogólnie używanego fizjologicznego roztworu soli. Modyfikację tę zastosował przy dużej liczbie badań *Aichelburg*. Autor podaje, że przy stosowaniu płynu *Stone* i *Weigla* otrzymywał częściej zmiany nekrotyczne.

Płyn *Stone* i *Weigla* ma skład następujący: 0,2% agaru, 4% peptonu, 0,5% soli kuchennej, 0,3% wyciągu mięsnego, 0,2% glukozy na 100 części wody destylowanej. Wyjaławia się w aparacie Koch'a 3 razy.

Pepton działa jako składnik odżywczy, wywołuje także przekrwienie, co wpływa dodatnio na rozmnażanie się drobnoustrojów w miejscu wstrzyknięcia do skóry. Obecność agaru zatrzymuje wchłanianie tworzącej się na miejscu wstrzyknięcia toksyny,

co zwiększa i przedłuża stan miejscowy przekrwienia i podrażnienia.

Inne składniki mają znaczenie pożywki. Powyższą modyfikację zastosowałam w swoich, stale prowadzonych, próbach zjadliwości metodą „próby ryczałtowej“.

Chodziło mi o stwierdzenie, czy istotnie maczugowiec błonicy zawieszony w płynie *Stone i Weigla* daje po wstrzyknięciu częstsze lub większe zmiany martwicze, niż w zawiesinie w roztworze fizjologicznym.

W tym celu dokonałam spostrzeżeń porównawczych nad 100 dodatnimi posiewami śluzu na podłożu *Loefflera*, pochodzącymi od nosicieli lub ozdrowieńców. Próby wykonywano na dwóch świnkach; kontrolna dostawała w przeddzień doświadczenia 500 jednostek surowicy przeciwbłonicy, doświadczalna — 200 jednostek w cztery godziny po doświadczeniu.

Zawiesinę hodowli w soli i w płynie *Stone i Weigla* wstrzykiwano doskórnie w ilości 0,2 cm³.

Po trzech dniach odczytywano wynik, określając intensywność zmian nekrotycznych od jednego do trzech plusów.

Stwierdzam, że na 100 równolegle zbadanych zawiesin: I) w 49-ciu przypadkach wystąpiły większe i wyraźniejsze zmiany nekrotyczne przy zastosowaniu płynu *Stone i Weigla*. II) w 45 przypadkach otrzymano wyniki jednakowe — ujemne bądź dodatnie. III) w sześciu przypadkach otrzymałam większe zmiany przy zastosowaniu roztworu soli.

W pierwszej grupie przypadków intensywność zmian była rozmaita (tablica I). W 17-u przypadkach stwierdziłam wyraźnie zmiany nekrotyczne przy zastosowaniu płynu *Stone i Weigla* — brak wszelkich zmian, wszelkich reakcji w tych samych przypadkach przy zastosowaniu roztworu soli. W ośmiu przypadkach zmiany martwicze były znaczniejsze w płynie *Stone i Weigla*. W osiemnastu przypadkach zmiany martwicze nie wystąpiły; szczepy nie były zjadliwe, jednak w miejscu wstrzyknięcia zawiesiny bulionowej (*Stone i Weigla*) wystąpiły obrzęki i zaczerwienienie, w miejscu wstrzyknięcia zawiesiny soli — nie było żadnej reakcji.

T A B L I C A I.

Bulion agarowo-peptonowy (Pł. Stone i Weigla)	Fizjologiczny roztwór soli	Liczba
martwica	brak odczynu	17
"	zmiany zapalne	6
" +++	martwica +	2
" +++	" +++	4
" +++	" ++	1
" ++	" +	1
Obrzęk	brak odczynu	18

W trzeciej grupie w 6-ciu przypadkach wystąpiły większe zmiany przy zastosowaniu soli: w czterech przypadkach stwierdzono zmiany nekrotyczne + po wstrzyknięciu zawiesiny w soli przy braku odczynu po wstrzyknięciu zawiesiny w płynie *Stone i Weigla*; w 2-eh przypadkach w soli stwierdzono zmiany na jeden plus, w płynie wynik był niejasny (+).

Z powyższych danych wynika, że:

- 1) przy zastosowaniu płynu *Stone i Weigla* częściej występują zmiany martwiczne,
- 2) używając do sporządzania zawiesiny płynu *Stone i Weigla* — częściej możemy wykryć szczepy zjadliwe.

Fakt ten posiada znaczenie praktyczne, gdyż ułatwia wykrywanie nosicieli zjadliwych szczepów maczugowca błonicy.

De l'Institut Municipal d'Hygiène de la ville de Varsovie.
Directeur Dr. A. Ławrynowicz.

SUR LA MÉTHODE D'EXÉCUTION DE „CRUDE TEST” DANS LA PRATIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE.

P a r

J. SZYMAŃSKA

R É S U M É.

Dans la pratique épidémiologique on détermine la virulence des souches de b. diphtériques par la méthode de Havens et Powell (crude test). L'auteur se servait de la modification de Aichelburg.

Cette modification consiste en remplacement de l'eau physiologique dans l'émulsion de la souche étudiée par le liquide de Stone et Weigl. Ce liquide est composé de: 0,2% de gélose, 4% peptone, 0,5 NaCl, 0,3% extrait de viande, 0,2% de glucose sur 100 parties de l'eau distillée.

L'auteur a examiné cent encencements positifs de la diphtérie sur le milieu de Loeffler, en étudiant le degré de leur virulence, en employant parallèlement leurs émulsions dans l'eau physiologique et dans le liquide de Stone et Weigl.

De cet examen il suit: 1° que l'emploi du liquide Stone Weigl augmente la fréquence des lésions nécrotiques chez les cobayes; 2° que l'emploi du même liquide pour l'émulsion des souches facilite la constatation des souches virulentes.

P I Ś M I E N N I C T W O

Aichelburg. Bollet. d. Sez. Ital. f. V, 1935. *Bohdanowiczówna i Ławrynowicz.* Med. Dośw. i Społ. t. VIII, z. 5-6. 1928. *Force i Beattie.* Americ. Journ. of Hyg. 5. 490. 1922. *Havens i Powell.* Americ. Journ. of Hyg. 2. 234. 1922. *Schroeder i Reider.* Acta Path. Scand. 3. 377 — 380. 1930. Według Centr. G. H. 22. 632. 1930. *Stone i Weigel.* Amer. J. Publ. Health. 19. 1133. 1929. Według Centr. G. H. 22. 483. 1930.

Wpłynęło 20.XI.1936.

Z Zakładu Chemii Fizjologicznej Uniwersytetu Józefa Piłsudskiego.
(Kierownik Prof. S. Przyłęcki).

BADANIA NAD PRZEBIEGIEM DEPOLIMERYZACJI SKROBI W UKŁADZIE: SKROBIA ROZPUSZCZALNA, AMYLAZA, CHLOREK SODU.

P o d a ł

K. BABENKO

I. Uwagi wstępne.

Znane są liczne prace stwierdzające, że rozpad amylolityczny skrobi nie idzie do końca.

Sjöberg ('23), działając amylazą na skrobię rozpuszczalną, otrzymał substancję dalej nie ulegającą rozpadowi; barwiła się ona jodem na błękitno, rozpuszczała się w wodzie przy 140° C, stanowiła 28% rozłożonej skrobi. Otrzymał on ('24) również dwu- i trójamylozę, odporne względem amylazy.

Pringsheim ('23) otrzymał substancję pozostającą po działaniu amylazy bądź stosując dialyzę, bądź usuwając maltozę. W obu przypadkach substancja mogła być scharakteryzowana jako trójheksozan.

Aż do początku bieżącego stulecia za fazę diastatycznego rozpadu skrobi, poprzedzającą maltozę, przyjmowano achroodekstryny. Pogląd ów został zachwiany od czasu scharakteryzowania przez *Pringsheima* „dekstryny krystalicznej“ *Schardingera* jako składnika budulcowego skrobi.

Zdaniem *Pringsheima* ('23) owe krystalizujące dekstryny mają całkiem proste wzory: $(C_6H_{10}O_5)_4$ i $(C_6H_{10}O_5)_6$. Są one

według niego podstawowymi składnikami skrobi; nadał on im nazwę amyloz.

Ogólnie przyjmowane są dwa stadia rozpadu, poprzedzające powstawanie achroodekstryn: amylodekstryny i erytrodekstryny, jednak wszystkie powyższe substancje, a nawet w dużym stopniu i wieloamylozy dotychczas otrzymane, są raczej mieszaninami, a nie substancjami czystymi.

Cegielką podstawową skrobi, uważam, nie jest ani dwuamyloza, ani też jednoamyloza, bowiem są to tylko bezwodniki maltozy i glukozy. Członem podstawowym może być tylko glukoza. Gdyby budulec stanowiły bezwodniki, skrobia byłaby raczej produktem polimeryzacji, a nie kondensacji, jednak kinetyka rozpadu wskazuje na hydrolizę, a nie na rozkład polimeronu. Stopniowość odbudowy, a tym bardziej zmniejszanie się szybkości reakcji, przemawia za procesem uwodnienia. Tym samym wypada przedstawiać skrobię nie jako składnik bezwodników-heksozanów: $(C_6H_{10}O_5)_n$, tylko jako połączenie glukozy odwodnionych: $[(C_6H_{12}O_6)_n - n H_2O] x$.

II. Strona metodyczna.

Poszukiwania szły drogą rozbicia enzymatycznego skrobi z zastosowaniem metod *Pflügera* i *Przyłęckiego*.

Materiał wyjściowy stanowiła skrobia rozpuszczalna *Mercka*. W pierwszych seriach doświadczeń sporządzano 1% roztwór skrobi; czynnikiem stałym była ilość skrobi 45 cm³ i temperatura, zmianie zaś uległy ilości amylazy i czas. Ilość NaCl (1%) brano w stosunkach, dopełniających porcje do stałej objętości (50 cm³). Początkowo posługiwano się termostatem powietrznym z termoregulatorem elektrycznym, później — z gazowym. W pierwszych seriach utrzymywano temperaturę 25° C. w dalszych 30° i 37°. Na początku czas doświadczenia trwał 2, 4 i 6 godzin, dalej stopniowo czas przedłużano. Po wyjęciu z termostatu brano po 20 cm³ do reakcji *Bertranda*, 2 cm³ do próby z jodem, 5 cm³ wytrącano alkoholem 90% i 5 cm³ alkoholem 60%. Przesącz 90% zawsze oddestylowywano i, po hydrolizie pozostałości, badano na zawartość cukru. Czasem oddestylowywano i przesącz 60%. Strą w obu przypadkach poddawano hydrolizie z HCl i oznaczano cukier.

Bezpośrednie oznaczenie maltozy dawało stopień zeukrzenia skrobi, strą wykazywał ilość dekstryn i amyloz wyższych na poszczególnych ogniwach, przesącz oprócz maltozy zawierał i amylozy niższe. Zestawienie zawartości przesączu 90% po hydrolizie z ilością bezpośrednio w roztworze pierwotnym powstającej maltozy wskazywać mogło, ile związków nie redukujących pozo-

staje niewytrąconymi przez alkohol 90%. Za wskaźniki występowania poszczególnych ogniw procesu służyła reakcja z jodem. ¹⁾ Otrzymywano w ten sposób (Tab. I) obraz rozpadu i wydzielano produkty rozpadu w różnych stadiach co do czasu i co do wielkości cząsteczki.

Gdy już stwierdzony został fakt pozostawania reszty nie ulegającej w danych warunkach rozkładowi, powstała sprawa otrzymania większej ilościowej substancji i zbadania jej. Doświadczenia stwierdziły, że w czasie od 12 do 24 godz. prawie już żadne zmiany w zabarwieniu z jodem nie zachodzą, wzięto więc w warunkach poprzednich 500 cm³ płynu i po 24 g. wytrącono alkoholem 90%. Otrzymaną substancję badano na redukcję, reakcję z jodem reakcję *Nylandra*, na rozpuszczalność w wodzie, kwasach, zasadach, poddawano ponownemu działaniu amylazy i hydrolizie kwasem.

Poszczególne doświadczenia i obserwacje, związane z nimi, wysunęły szereg badań w celu wyświetlenia wyników. Okazało się potrzebnem badanie ewentualnej redukcji powstających cukrów przez alkohol, zjawiała się potrzeba zbadania kwestii porywania labilnego cukru przez skrobię, koniecznością stało się zbadanie amylazy na zawartość ciał redukujących — preparat amylazy w 60% dawał się wykryć przez reakcję *Bertranda*.

Otrzymano w dalszym ciągu szereg produktów rozpadu. Przy oznaczeniu c. cz. posługiwałem się metodą kryoskopową. Pomiaru optyczne wykonywałem zapomocą polarymetru *Lippicha*. Stężenie pH regulowałem metodą kolorymetryczną *Clarka*. Starałem się, gdzie to było możliwe, unikać zagęszczeń i odparywania, aby nie narażać produktów przejściowych na działanie wysokiej temperatury.

III. Część doświadczalna.

A) Doświadczenia bilansowe: zcukrzanie, wytrącanie 90% i 60% alkoholem.

Reakcja z jodem po 2 i 4 godzinach była prawie jednakowa. Porównyując zawartość przesączu z ilościami maltozy, widzimy, że składniki koloidalne niższe (kolum. 4 Tab. I), nie redukujące, są w przesączu obecne. Widoczna jest zależność rozpadu od ilości amylazy i czasu jej działania. Wytrącalność przez alk. 60% do 4 h jeszcze stanowi ponad 9%, więc pozostaje jeszcze tyle substancji o cząsteczce dużej; dla 6 godz. spada ona do 8%.

Obraz rozpadu po 6 godzinach jest blizki stosunku:

cząsteczka wielka	cząst. średnia	cząst. mała	cząst. maltozy
8 %	28 %	10 %	54 %

¹⁾ Metodą kolorymetryczną zabarwień z jodem posługiwał się w swojej pracy *Sym.* (192).

T A B L I C A I.
Ogólne zestawienie doświadczeń bilansowych.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Czas trwania doświadczenia	Ilość wprowadzonej amyłazy 1%	Skrobia rozłożona do maltozy	Strat 90% alk. (cząsteczka śred. + wiel.)	Przesącz 90% alk. (maltoza + niż. kol. cz.)	Różnica przesączu i maltozy (cz. niż. 5 — 3)	Suma: strat + przesącz (4 -- 5)	Strat 60% alk. (cząst. wiel.)	Średnia cząsteczka (4 — 8)
h	cm ³	%	%	%	%	%	%	%
2	0,5	43,80	39,40	64,20	20,40	103,60	10,90	28,50
	1,0	45,21	39,38	58,54	13,33	97,92	9,51	29,87
	2,0	47,81	33,80	64,25	16,44	98,05	9,89	23,91
	5,0	53,40	36,52	60,72	7,32	97,24	9,80	26,72
4	0,5	46,01	45,28	55,30	9,29	100,58	10,90	35,41
	1,0	49,59	45,25	58,55	8,96	103,87	9,51	35,41
	2,0	50,60	34,97	52,80	2,20	87,77	9,89	25,85
	5,0	54,25	36,50	58,70	4,45	95,20	9,80	27,02
6	0,5	51,80	40,70	60,70	8,90	101,40	0,87	32,30
	1,0	51,41	39,37	64,24	12,83	103,61	9,84	30,98
	2,0	54,25	36,52	64,30	10,05	100,82	9,12	28,13
	5,0	60,00	34,95	68,80	6,80	101,75	9,48	25,82
8	0,5	54,60	38,92	76,19	21,59	115,11	8,40	26,42
	1,0	54,62	38,90	77,60	22,98	116,50	8,39	30,00
	2,0	60,69	37,51	83,99	23,30	121,50	3,39	32,81
	5,0	61,39	35,80	90,34	28,95	126,14	9,10	29,55
10	0,5	54,23	38,90	77,60	23,37	116,50	5,87	33,03
	1,0	59,50	35,82	77,61	18,10	113,43	5,17	30,65
	2,0	59,60	37,50	84,07	24,47	121,57	4,67	32,83
	5,0	66,16	34,10	77,61	11,45	111,70	3,88	30,22
24	0,5	57,50	38,51	77,61	20,10	115,12	3,48	34,03
	1,0	59,50	34,12	90,30	30,80	124,42	3,90	30,22
	2,0	59,61	35,82	84,08	14,47	119,90	6,26	29,56
	5,0	66,86	32,60	100,00	33,14	132,60	3,88	28,72

Wytrącalność przez alkohol mało się różni dla 2, 4 i 6 h, — dowodzi to, że reakcja na początku idzie prędko, dalej zaś posuwa się powoli. Przed 2 godz. już następuje zwolnienie procesu. Pierwszy etap (szybki) kończy się jeszcze przed zucerkzeniem 40% skrobi.

Ilości skrobi nierozłożone, wytrącalne przez 90% alkohol stanowią do 6 h ponad 1/3 część jej, przez 60% alkohol blisko 1/12. Wytrącalność przez alkohol 60% przy 24 godz. spada poniżej 4%, nie doszło jednak do całkowitego rozbitcia większej cząsteczki.

Możliwym jest, że owe wytrącane ilości nie odpowiadają resztom nierozłożonym, lecz stanowią sumę tych reszt i stratę, będącego wynikiem działania alkoholu, wobec czego ten sam cukier oznaczony mógł być jako maltoza i jako strąt.

Doświadczenie podjęte w celu sprawdzania ewentualnej redukcji przez alkohol (zestawiano wynik hydrolizy przed wytrącaniem alkoholu i sumę hydrolizy strātu i przesączu 90% alk.) dały:

dla 5 cm ³	przy 0,5 cm ³	amylazy 1 ‰	6,5 mg	} nadwyżka po działaniu alkoholu
próbki	1 cm ³	"	6,5 "	
płynu	2 cm ³	"	4,95 "	
reagującego	5 cm ³	"	4,95 "	

Z porównania układu 1-go i 2-go (Tab. II) widoczny jest wpływ fosforanów na stopień rozpadu skrobi. Potwierdza to i porównanie z układem 3-cim. Układ 2-gi wskazuje wyraźnie na aktywację amylazy przez NaCl, potwierdza to i układ 3-ci. Również z następnych układów (4—6) widoczna jest zależność rozpadu od obecności NaCl. Zmniejszenie ilości fosforanów w ukl. 6 spowodowało i zmniejszenie się rozpadu.

B) W y d z i e l a n i e p r o d u k t ó w r o z p a d u .

Substancja Nr. 1. Otrzymana została przez wytrącanie 90% alk. po 24 h działania 0,1% amylazy w 25° C na skrobię 1%. Analiza wykazała, że jest ona w 82% hydrolizowana przez kwas, blisko zaś 18% stanowią składniki nie węglowodanowe. Przy ponownym traktowaniu amylazą ulega rozkładowi ca. 26%. Różnica więc działania hydrolizy i amylazy = 56%. Cząsteczka mniejszej

T A B L I C A II.

Wpływ NaCl i fosforanów ($\frac{1}{15}$ m roztwory KH_2PO_4 i Na_2HPO_4 w stosunku 9 : 1).
Doświadczenia trwały 24 godz. T — 25° C. Indykator bromokrezol.

Nr. układu	U k ł a d y					pH	Rokład do maltozy ‰
	Amylaza 1‰ cm^3	Skrobia 1‰ cm^3	NaCl‰ cm^3	Woda cm^3	Modera- tor cm^3		
1	0,5	45	4,5	0	0		75,3
	5,0	45	0	0	0		81,3
2	0,5	15	4,5	0	10	5,8	92,8
	5,0	15	0	0	10	5,8	84,8
3	0,5	15	0	4,5	4	5,8	84,0
	5,0	15	0	0	4	5,8	85,4
4	0,5	15	4,5	0	10	5,9	115,9
	5,0	15	0	0	10	5,9	95,8
5	0,5	15	4,5	0	10	5,9	94,9
	5,0	15	0	0	10	5,9	86,5
6	0,5	15	4,5	0	10	5,9	97,3
	5,0	15	0	5	5	5,9	82,3

wielkości (rozpuszczalna w wodzie zimnej) stanowiła blisko 66%, z których 22% ulega działaniu amylazy; cząsteczka większa wynosiła tylko 16% i tylko 4% jej ulegało działaniu amylazy.

Substancja Nr. 2. Otrzymana z 1½% roztworu skrobi po działaniu 0,1% amylazy w t = 30° C w ciągu 25 h. Wytrącona alkoholem 90%. Wydajność stanowiła 15%. Ulega w 89,7% hydrolizie kwasem, przez amylazę rozkładana w 9,8%. Różnica hydrolizy i działania amylazy = 79,9%. Na frakcję rozpuszczalną w wodzie gorącej (cząsteczka większa) przypadało tylko 2,9%. Oznaczenia cięż. cząst. substancji dały 650,2—c. cz. zbliżony do czteroamylozy.

Substancja Nr. 3. Otrzymana ze skrobi 2% po działaniu 0,1% amylazy w ciągu 46 h w 30° C. Wytrącona ponad 90% alkoholem. Wydajność 7%. Wykazała nieznaczną zdolność redukcyjną. C. cz. = 953,25 — zbliżony do sześćoamylozy.

Substancja Nr. 4. Ze skrobi 2% po działaniu 0,2% amylazy w ciągu 6 h w 37° C. Wytrącona 90% alkoholem, wydajność 13,5%. Zabarwienie z jodem ziel.-niebieskie. C. cz. = 1692, zbliżony do dziesięcioamylozy.

Substancja Nr. 5. Ze skrobi 2% po działaniu (24 h) amylazy 0,2% w 37° C; wytrącona 90% alkoholem, wydajność 5,3%. Zabarwienie z jodem — żółte. C. cz. = 407,34 — agregat dwuamylazy i cząsteczki większej.

Substancja Nr. 6. Ze skrobi 2% po działaniu (48 h) amylazy 0,2% w 37° później 30° C. Wytrącona 90% alkoholem, wydajność 1,5% C. cz. zbliżony do jednoamylazy. Oznaczenie skręcalności dało (α) $D = + 55,5^{\circ}$.

Substancja Nr. 7. Ze skrobi 2% po działaniu (72 h) amylazy 0,2% w 37° — 30° C, wytrącona 90% alkoholem, wydajność 2,6%. C. cz. = 364,8 — zbliżony do dwuamylazy.

Substancja Nr. 8. Ze skrobi 1% po działaniu (96 h) amylazy 0,1% przy 35° C. Wytrącona 90% alkoholem, strąt był nieznaczny (rozpad skrobi doszedł do 98,5% — dodawano po 72 h amylazy i toluenu). Zabarwienie z jodem żółte.

Substancja Nr. 9. Przesącz alk. 90% został oddestylowany i zagęszczony do 20 cm³, wytrącona przez alkohol 93,7% (procentowsć płynu wytrącanego). C. cz. zbliżony do jednoamylazy. Oznaczenia skręcalności dały (α) $D = + 167,75^{\circ}$.

Substancja Nr. 10. Otrzymana została z przesączu 60% alkoholu przez wytrącenie 70% alk. po działaniu 0,1% amylazy na skrobię 1% w ciągu 120 h w 35° C. C. cz. = 304,7, zbliżony do dwuamylazy.

IV. Rozważania dyskusyjne.

Pomiary c. cz. produktów rozpadu dały dostateczne potwierdzenie, że przy rozpadzie skrobi mamy stale do czynienia z mieszaninami. Nawet i otrzymane przez *Pringsheima* ('23) heksozany, jak wykazał *Berner* ('32), nie są jednorodnymi jednostkami.

Za kwestię zasadniczą uważałem wydzielenie związków z przesączu alkoholowego, a nie tylko ze strātu, jak to czynili zwykle badacze, kierując tym samym uwagę nie na ostatnie szczeble, lecz na wyraźnie jeszcze odległe ogniwa i określając razem z tym owe produkty jako końcowe ciała rozpadu.

W związku z substancją N 6 i N 9 wypadaloby przyjąć, że musi być w produktach rozpadu obecna i jednoamylaza, co może w pewnym stopniu tłumaczyć też, dlaczego rozkład nie dochodzi do końca.

O ile by wydzieloną z przesączu substancję Nr 9 uważać za produkt odwodnienia występującej labilnej postaci glukozy przez alkohol mocnej koncen-

tracji, to jednak glukozy nie stwierdzono nawet w pracy *Rony* ('30) przy kombinowanym stosowaniu amylaz: ślinowej, trzustkowej i słodowej razem.

Zatrzymania się rozpadu są zbyt różnorodne w przypadkach poszczególnych i tym samym nie są graniczne, czy końcowe, do pewnego zaś stopnia są dowolne: substancja otrzymana czasem może nie być nawet wcale produktem rozpadu właściwego, tylko produktem zabiegów otrzymywania.

Przyczyną każdorazowego stanu równowagi reakcji są warunki, w jakich w poszczególnych wypadkach, przeprowadzamy rozkład. Jak w hydrolizie kwasem, tak i w rozpadzie enzymatycznym są pewne „optima” warunków, o jakie właśnie chodzić musi, nie zaś o uboczne i w istocie innej kategorii rozwiązania — jak np. drogą „komplementu” *Pringsheima* ('23, '26, '28, '33). Że owe wystarczające optima istnieją, przekonywują podawane w piśmiennictwie odrębne fakty rozkładu całkowitego bez wprowadzania „komplementu”, o czym się przekonałem i z własnych doświadczeń. Nie poznano jednak jeszcze dobrze owego optimum. *Brintzinger* ('31) nawet po 456 godz. nie osiągnął całkowitego rozkładu skrobi do maltozy.

W piśmiennictwie spotykamy się z przyjmowaniem niektórych „reszt granicznych” za podstawowe składniki skrobi. Skoro jednak nie możemy uznać ich za graniczne, tym bardziej nie dopatrzymy się w nich budulec podstawowych.

Pringsheim stosuje „komplement”, otrzymywany z drożdży po traktowaniu toluenem, — stąd, możnaby wnioskować i o roli katalitycznej toluenu. Celem zbadania ewentualnego wpływu toluenu na przebieg reakcji wziąłem kilka prób z toluenem i bez; po 120 h działania amylazy w 37° C rozpad: bez toluenu wynosił 83%, z toluenem 93,8%.

Pringsheim ('28) zajmuje stanowisko, że aktywacja samego „komplementu” zachodzi przy trawieniu białka pepsyną, ewentualnie trypsyną, *Filipowicz* ('31) przy pH wyższym od optymalnego (4, 5) stwierdził przyspieszający wpływ ciał białkowych. Ostatnio *Mystkowski* ('33) badał wpływ glikokolu.

Przebieg kinetyki wykazuje, iż na początku zachodzi rychły rozpad, dalej powolny, na skutek czego po 6 h, 12 h i 24 h zauważa się już nieznaczne różnice. Mógł by więc przebieg początkowy wskazywać na polimeron, — dalej zaś miałyby miejsce rozpad kondensatu. Razem stanowiłoby to już podstawę podziału procesu na dwa stadia, a tym samym i czyni zrozumiałym, dlaczego rozpad w pewnym etapie ulega zatrzymaniu się. Nie dająca się jednak stwierdzić stopniowość przejść w zabarwieniu z jodem przemawiałaby nie za stopniowością rozpadu (a więc i nie za kondensatem), lecz za skokami (i za polimeronem). Przyjmując dwa stadia rozpadu, będziemy mieli tam ich granicę, gdzie proces sięga bez uwodnienia. Owe ogniwo graniczne etapu pierwszego mogłoby być uważane za składnik podstawowy w budowie polimeronu, glukoza zaś stanowiłaby budulec kondensatu. Stany polimeryzacji i kondensacji mogą jednak mieć wzajemne przeplątania się, i stąd wynikać musi niejednołitość w budowie skrobi. To byłoby ujęciem jak kwestii „ciał granicznych” tak również budulca podstawowego skrobi i zmian w kinetyce rozpadu.

V. Wnioski.

1^o. Z doświadczeń bilansowych wynika, że stan równowagi reakcji w zależności od każdorazowego przebiegu procesu doświadczeń jest zmienny, czym tłumaczy się różnorodność pozostających reszt nierozłożonych. Rozpad zwykle nie idzie do końca, jednak w pewnych przypadkach dochodzi i 100%. (Zachodzi to w roztworach nie wyżej 1% skrobi, w obecności fosforanów i NaCl, przy pH = 5,9, w obecności zwiększonych ilości toluenu i przy ponownym dodawaniu amylazy).

Kinetyka wykazuje na początku (jeszcze przed osiągnięciem 40% zcukrzenia i przed 2 h) rozpad łatwy, ku końcowi zaś zwolniony. Zatrzymywanie się rozpadu zachodzi: 1) na skutek wypadania samorzutnego cząstek z roztworu skrobi, 2) odchylenia od warunków optymalnych i każdorazowej zmiany równowagi, 3) ewentualnego istnienia stadiów, będących odbiciem procesu depolimeryzacji ściślej i uwodnienia, 4) na skutek ewentualnego zdekompletowania amylazy w czasie preparowania

2^o. Wyodrębnienie substancji nierozłożonych (otrzymano 10 substancji) wykazało, że przy rozpadzie występuje zawsze mieszanina różnych składników i przeplątanie się ogniów. Rozpad skrobi wykazuje charakter jak stopniowości tak i skoków: wyniki przemawiałyby za stopniowością rozpadu z zastrzeżeniem co do członów nieparzystych (5-, 7-, i 9- amyloz nie stwierdzono). Stwierdzono występowanie 6-, 4-, i 2- amyloz i ewentualnie 10-amylozy. Ponowne traktowanie amylazą substancji wydzielonych posuwa ich rozkład o dalsze 10 — 25%.

3^o Występowała aktywacja amylazy roślinnej przez NaCl, szczególnie przy pH = 5,9 i na etapach końcowych rozpadu.

Aus dem Institut für physiologische Chemie der Universität Józef Piłsudski
in Warschau. (Leiter: Prof. S. Przyłęcki).

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN STÄRKEABBAU IN DEM SYSTEM: LÖSLICHE STÄRKE, AMYLASE UND NATRIUMCHLORID.

V o n

K. BABENKO

ZUSAMMENFASSUNG.

Bekannt sind die Arbeiten, welche nachweisen, dass die amylytische Aufspaltung der Stärke nicht zu Ende geht. Bis zum Anfang des laufenden Jahrhunderts nahm man die Achroodextrine als Phase der diastatischen Zerlegung der Stärke an, die der Maltose vorangeht. Diese Ansicht wurde erschüttert, als *Pringsheim* die „kristallisierten Dextrine“ *Schardingers* als Bausteine der Stärke erkannt hat.

Vorliegende Arbeit wurde vorgenommen, um die Hemmungserscheinungen aufzuklären und die Abbaustadien zu erforschen, in welchen die Hemmnisse auftreten.

Es liess sich in dieser Arbeit feststellen, dass anfangs (bis 2 Stund. und vor 40% Verzuckerung) die Spaltung zunächst schnell dann höchst langsam vor sich geht. Die jedesmaligen Vorgänge des Prozesses sind zum Teil ungleichartig und daher ergibt sich die Mannigfaltigkeit der Etappen, in welchen die Abbauhemmung vorkommt.

Es ist in der Arbeit festgestellt worden, dass bei der Aufspaltung sich immer eine Mischung der Zwischenprodukte, aber keine einheitlichen Stufen bilden. Bei der Isolierung der Abbauprodukte (zehn Substanzen) wurde das Auftreten der 10-, 6-, 4-, 2-Amylosen festgestellt. Die neue Behandlung der Abbauprodukte mit der frisch hinzugefügten Amylase bringt die Zerlegung vorwärts (ca 10 — 25%).

Auch die Aktivierung der Malzamyase durch die Lösung des Na-chlorids ist nachgewiesen worden (bei pH = 5,9).

Die gänzliche Verzuckerung fand nur ausnahmsweise statt.

P I Ś M I E N N I C T W O .

Berner E. i. Peterson R. Ber. ch. G. 65. (687). 1932. *Borchardt H. i Pringsheim. H. W.* Bioch. Zeit, 259 (134). 1933. *Printzinger H. i. W.* Z. an. u. allg. Ch. 196 (50). 1931. *Filipowicz B.* Bioch. J. 25 (1874) 1931. *Mystkowski E. i Landau M.* Bioch. Zeit. 261 (116) 1933. *Pringsheim H. i Fuchs W.* B. ch. G. 56, (1762) 1923. *Pringsheim H. i Schmalz K.* Bioch. Z. 142 (108) 1923. *Pringsheim H. i Otto G.* Bioch. Z. 173 (399) 1926. *Pringsheim H. Bondi J. i Thilo E.* Bioch. Z. 197 (143) 1928. *Rona P. i Hefter J.* Bioch. Z. 217 (113) 1930. *Sjöberg K.* H. S. Z. ph. Ch. 131 (116) 1923. *Sjöberg K.* B. ch. g. 57 (1251) 1924. *Sym E.* Bioch. Z. 253 (1) 1932.

Wpłynęło 19 XII.1936

Z Zakładu Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Uniwersytetu Józefa Piłsudskiego
w Warszawie. (Kierownik Prof. Dr. F. Venulet).

USUNIĘCIE ŚLEDZIONY, A UKŁAD SIATECZKOWO-ŚRÓDBŁONKOWY.

Podali

Doc. Dr. F. GOEBEL i J. M. MILLER

Sledziona mieści w sobie okazałą ilość układu siateczkowo-śródbłonkowego, gdyż zawarte w niej są nie tylko komórki siateczki miazgi, ale i ponadto komórki wyściełające zatoki żyłne.

Usunięcie śledziony stosuje się zarówno w celach leczniczych jak i w doświadczalnych dla częściowego wyłączenia układu siateczkowo-śródbłonkowego. Wobec powyższego wzbudzało zainteresowanie, jak ustrój zachowuje się po usunięciu tak okazałej części układu.

Ustalenie tej sprawy posiada ważne znaczenie dla wysuwania wniosków o wpływie splenektomii nie tylko na sprawy odpornościowe, ale również na przemianę białkową, węglowodanową, lipidową i t. d. Osobliwie w dziedzinie badań nad przemianą materii po usunięciu śledziony spotykamy często sprzeczne i rozbieżne wyniki i wnioski.

M e t o d y k a .

W pracy naszej zastosowaliśmy, z jednej strony badania czynnościowe układu siateczkowo-śródbłonkowego przed i po usu-

nięciu śledzony, z drugiej strony przeprowadziliśmy badania histologiczne pozostałego układu.

Badanie czynnościowe układu siateczkowo-śródbłonkowego przeprowadzaliśmy za pomocą czerwieni Kongo. Metoda ta oparta jest na zdolności wychwytywania barwików jak i innych ciał, obdarzonych ujemnym ładunkiem elektrycznym. Barwik wprowadzony do krwi jest wychwytywany przez komórki układu. Im większa jest sprawność czynnościowa układu, tym szybciej barwik ten znika ze krwi. Barwik Kongo, wprowadzony dożylnie odkłada się w komórkach brzeźnych (*Siegmund*) oraz nie we wszystkich komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego. Po wprowadzeniu dootrzewnowym, odkłada on się w klazmatocytach sieci.

U ludzi, którym przed śmiercią wprowadzono dożylnie 80 cmm 1% roztworu czerwieni Kongo, odkłada on się w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego i śledzony. Dalsze losy barwika w ustroju nie są dokładnie znane.

Wydala on się z ustroju powoli, głównie drogą żółci. Przez nerki u psów, według naszych badań, nie wydala on się zupełnie, nawet po podaniu znacznych ilości barwika (30 cmm 1% roztworu codziennie w ciągu ośmiu dni).

U ludzi barwik z moczem nie wydala się zupełnie, jedynie przypadkach nerezyc kilowych, nerki przepuszczają ten barwik.

Badanie czynnościowe układu siateczkowo-śródbłonkowego przeprowadziliśmy według własnej modyfikacji, pozwalającej wykazywać subtelniejsze zmiany funkcjonalne układu.

Psom, na których przeprowadziliśmy doświadczenia, wprowadzano dożylnie ściśle określone dawki czerwieni Kongo. Wprowadzaliśmy mianowicie po 2 mg. barwika na kg. wagi w 1% roztworze soli fizjologicznej. Następnie oznaczaliśmy ilościowo zawartość barwika w osoczu co 2', 4', 8', 15', 30', 45', 60', 1h30'.

Zestawienie otrzymanych wartości pozwala na wykreślenie krzywej szybkości znikania barwnika ze krwi co daje przejrzystszy obraz i dokładniejszy wgląd w stan czynnościowy układu siateczkowo-śródbłonkowego, niż oznaczanie tylko wskaźnika barwikowego *Adlera* (stosunek ilości barwika znajdującego się w

osoczu w 4' i 60' po wprowadzeniu go do krwi). Zresztą ten ostatni sposób jest zupełnie wystarczający do celów klinicznych.

Przy oznaczeniu ilości barwika we krwi należy unikać ewentualnej hemolizy. Osiągnąć to można przez staranne przygotowanie wszystkich odczynników i sprawne pobieranie krwi.

Podanie malej dawki barwika (2 mg. na kg. wagi) wyłącza, zdaniem naszym, wpływ tego barwika na czynność układu.

Jakkolwiek przed usunięciem śledziony oznaczano zawsze szybkość znikania czerwieni Kongo, wprowadzonej dożylnie, wykonaliśmy ponadto takie same badania u szeregu innych psów normalnych celem ustalenia przeciętnej krzywej znikania barwika ze krwi czyli, innymi słowy, wychwywania go przez komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego.

Badania te zestawione są na tablicy I.

Widzimy więc, że zawartość barwika w osoczu w 4', po podaniu go w ilości 2 mg. na kg. wagi, wynosi od 85,2 — 100,0%, w 45' maksymalna jego zawartość wynosi 37,7%, — po godzinie barwika we krwi nie ma wcale, bądź znajduje się on tylko w śladach.

Część doświadczalna.

Badania nasze przeprowadziliśmy na psach wagi od 10 do 20 kg.

Naprzód oznaczaliśmy krzywą wychwytywania barwika przed zabiegiem operacyjnym. Po ustaleniu krzywej normalnej w kilka dni po tym usuwano śledzionę. Zabiegu dokonywano szybko, prawie bezkrwawo w uśpieniu chloralozowym. Do dalszych badań używano tylko takie psy, którym rana pooperacyjna goiła się przez rychłozrost.

Następnie badano czynnościowo układ siateczkowo-śródbłonkowy w 3 — 10 dni po raz pierwszy i drugi raz w 28 — 55 dni. Otrzymane wyniki ujęte są w protokołach, tablicach i wykresach podanych poniżej.

Doświadczenie I. Pies wagi 17 kg.

26.1.1934 r. Badanie wstępne. Wstrzyknięto 3,4 cmm 1% roztworu czerwieni Kongo dożylnie (0,034 gr.)

30.1.34 dokonano usunięcia śledziony w uśpieniu chloralozowym.

T A B L I C A I

Szybkość znikania czerwieni Kongo wstrzykniętej dożylnie w 1%, roztworze ze krwi u psów normalnych

Numer kolejny	Waga psa w k.g.	Ilość wstrzykniętej czerwieni Kongo w gr.	Z a w a r t o ś ć b a r w i k a w e k r w i					
			P o 4 m i n .		P o 4 5 m i n .		P o 1 g o d z .	
			Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	%	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	%	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	%
1	17,00	0,034	2,9016	85,2	ślady	—	niema barwika	—
2	13,30	0,026	2,7378	87,5	ślady	—	niema barwika	—
3	18,70	0,036	2,9040	91,0	0,9360	29,3	ślady	—
4	14,00	0,028	2,7876	92,6	ślady	—	niema barwika	—
5	13,70	0,027	2,6894	86,7	1,1040	35,6	ślady	—
6	12,90	0,025	2,7100	95,1	0,7200	28,7	ślady	—
7	20,00	0,040	2,7100	99,0	1,0300	37,7	ślady	—
8	9,50	0,019	4,4600	92,9	1,6600	34,5	ślady	—
9	13,00	0,026	3,5700	100,0	1,0800	30,2	ślady	—
10	16,70	0,038	3,0200	94,0	0,9400	29,2	ślady	—
11	15,20	0,022	2,9200	100,0	ślady	—	niema barwika	—
12	28,80	0,057	3,9000	90,9	ślady	—	niema barwika	—
13	22,00	0,044	3,0900	92,5	0,8300	24,8	ślady	—
14	22,70	0,045	2,6800	86,7	ślady	—	niema barwika	—
15	15,70	0,031	3,6400	95,7	ślady	—	niema barwika	—

9.2.34 r. m Waga psa 16,4 kg. Badanie I po splenektomii. Wstrzyknięto 3,4 cmm 1% roztworu czerwieni Kongo dożylnie 0,034 gr.

9.13.34 r. waga 16,7 kg. Badanie II po usunięciu śledziony. Wstrzyknięto tę samą ilość czerwieni Kongo co w doświadczeniach poprzednich u tego psa. Wyniki badań zestawione są na tablicy II.

T A B L I C A II

Czas	Badanie wstępne		Badanie w 10 dni po splenektomii		Badanie w 40 dni po splenektomii	
	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %
2'	3,4200	100,0	3,8640	100,0	3,5090	100,0
4'	2,9016	85,2	3,7674	97,6	3,1100	88,6
6'	2,5920	76,2	3,7138	96,2	3,7120	77,2
8'	—	—	3,4365	89,0	—	—
15'	2,5704	75,5	2,3400	60,6	2,2748	64,7
30'	1,2614	37,0	1,4042	36,3	1,1374	32,4
45'	ślady	—	ślady	—	nikłe ślady	—
1h	niema barwika	—	ślady	—	niema barwika	—
1h 15'	—	—	niema barwika	—	—	—

Z przebiegu tego doświadczenia widzimy, że w 10 dni po usunięciu śledziony ta sama ilość barwika wprowadzona dożylnie, co i przed splenektomią, była wychwytywana przez układ znacznie wolniej. Szczególnie dotyczy to okresu czasu od 1' — 15'. Wytłomaczenie zjawiska znajdujemy w tym, że wraz z usunięciem śledziony wyłączono przecież znaczną część układu siateczkowo-śródbłonkowego.

W 40 dni po splenektomii mamy inny obraz. Barwik zostaje nawet szybciej wychwytywany niż w normie. To szybkie wychwytywanie spowodowane jest przerostem wyrównawczym pozostałego układu.

Doświadczenie II Pies wagi 13,3 kg.

13.2.34 r. Badanie wstępne: Wstrzyknięto dożylnie 2,6 cmm 1% chlorowodorku morfiny + eter.

23.2.34 Waga 13,2 kg. Badanie I po usunięciu śledziony. Wstrzyknięto dożylnie 2,6 cmm 1% roztworu czerwieni Kongo (0,026 gr.)

Badania zestawione są na tablicy III.

T A B L I C A III.

Czas	Badanie wstępne		Badanie w 3 dni po splenektomii	
	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %
2'	3,1384	100,0	3,4122	100,0
4'	2,7378	87,4	3 4122	100,0
6'	2,5920	82,8	2,9282	85,8
8'	2,2560	72,0	2 8080	82,3
15'	1'7760	56,7	2,3076	67,7
30'	0,8267	23,3	1,4880	46,9
45'	ślady	—	1,1040	32,3
1h	niema barwika	—	0,7440	21,8
1h 15'	—	—	niema barwika	—

Badanie przeprowadzone w 3 dni po splenektomii, wykazuje jeszcze większe odchylenia niż w doświadczeniu poprzednim. Wychwytywanie barwika jest w tym okresie znacznie upośledzone. Okazuje się, że zawartość barwika we krwi w godzinę po jego podaniu stanowiła jeszcze 21,8% ilości wyjściowej podczas, gdy w normie po 45' stwierdzono tylko ślady barwika.

Doświadczenie III Pies wagi 18,7 kg.

1.3.34 Badanie wstępne: wstrzyknięto 3,6 cmm 1% roztworu Kongo dożylnie (0,036 gr.)

2.3.34 Dokonano usunięcia śledziony w uśpieniu chloralozowym. Waga śledziony 60 gr.

6.3.34 Waga psa 18,6 kg. Badanie pierwsze po splenektomii w cztery dni. Wstrzyknięto 3,6 cmm 1% roztworu czerwieni Kongo dożylnie (0,036 gr. w 53 dni).

24.4.34 waga 19,1 kg. Badanie drugie po splenektomii. Wstrzyknięto 3,6 cmm. 1% roztworu czerwieni Kongo dożylnie (0,036 gr.)

W doświadczeniu tym rzuca się w oczy znaczne przyspieszenie wychwytywania barwika w 54 dni po usunięciu śledziony, co znów jest spowodowane, jak przekonamy się później, przerostem pozostałego układu siateczkowo-śródbłonkowego, który nastąpił w tym okresie czasu.

Doświadczenie IV. Suka wagi 14,0 kg. 15.3.34 Badanie wstępne. Wstrzyknięto dożylnie 2,8 cmm 1% roztworu czerwieni Kongo (0,028 gr.)

16.3.34 dokonano splenektomii w narkozie chloralozowej.

T A B L I C A IV.

Czas	Badanie wstępne		Badanie w 4 dni po splenektomii		Badanie w 54 dni po splenektomii	
	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %
2'	3,1920	100,0	3,3824	100,0	—	—
4'	2,9040	91,0	—	—	1,9680	61,7
6'	2,7120	85,0	2,8896	85,4	1,5768	49,4
8'	—	—	2,6894	79,5	—	—
15'	2,0468	64,1	2,1182	62,6	—	—
30'	1,5840	49,6	1,3960	41,3	1,3920	43,7
45'	0,9360	29,3	1,0040	29,6	ślady	29,3
lh	ślady	—	ślady	—	niema śladów	—
lh 15'	niema barwika	—	ślady	—	—	—

21.3.34 waga 14,8 kg. Badanie I w 5 dni po usunięciu śledziony. Wstrzyknięto tę samą dawkę czerwieni Kongo, co w doświadczeniu wstępnym.

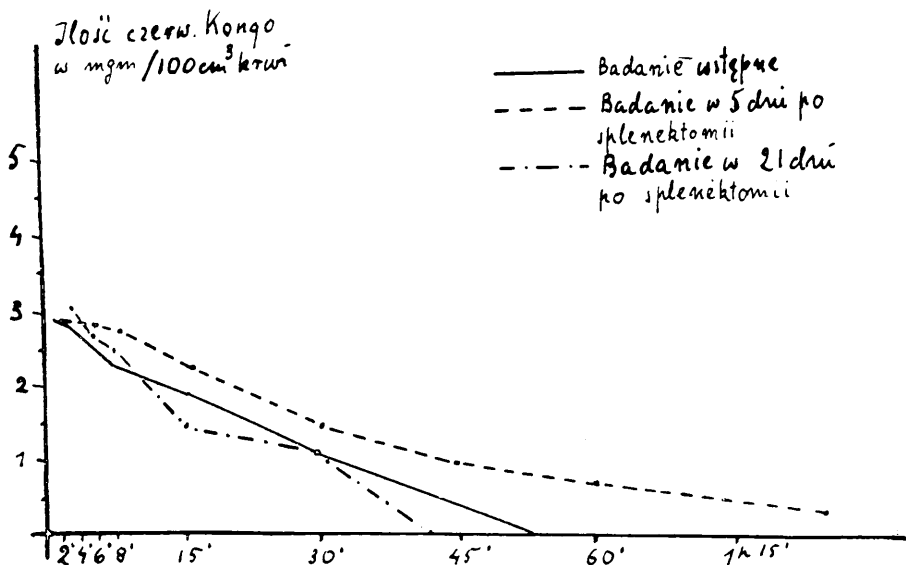
11.4.34 Waga 14,6 kg. Wykonano drugie badanie czynnościowe układu siateczkowo-śródbłonkowego po splenektomii. Podano również taką samą dawkę czerwieni, jak w doświadczeniach poprzednich u tego psa.

T A B L I C A V.

Czas	Badania wstępne		Badanie w 5 dni po splenektomii		Badanie w 21 dni po splenektomii	
	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %
2'	2,9660	100,0	2,9282	100,0	—	—
4'	2,7846	92,6	—	—	3,0250	100,0
6'	—	—	2,9282	100,0	2,6160	87,0
8'	2,3280	74,0	2,7120	92,8	2,4480	81,3
15'	1,9440	64,6	2,2320	76,3	1,5600	52,0
30'	1,1186	37,0	1,3764	47,1	1,1280	37,3
45'	ślady	—	0,9360	35,4	niema barwika	—
lh	niema barwika	—	0,7564	25,9	—	—
lh 15'	—	—	ślady	—	—	—

W 5 dni po usunięciu śledziony wychwytywanie barwika jest znacznie upośledzone. Np. po 1 godz. w normie w osoczu nie

było już wcale barwika, zaś w tym samym czasie po splenektomii osocze zawierało jeszcze 25,9% wprowadzonego barwika. Natomiast w 21 dni po splenektomii wychwytywanie barwika było sprawniejsze nawet niż w normie, gdyż już po 45' w osoczu nie stwierdzono obecności barwika. Przejrzyście zmiany są zobrazowane na wykresie (Rys. 1).



Rys. 1. Szybkość wychwytywania barwika Kongo ze krwi przed splenektomią oraz 5 i 21 dni po splenektomii. Na rzędnych przedstawiona jest ilość barwika Kongo w mgm, w 100 ccm krwi, na odciętych zaś czas.

Doświadczenie V Pies wagi 13,7 kg. 25.4.34 Badanie wstępne. wstrzyknięto 2,7 cmm 1% roztworu czerwieni Kongo dożylnie (0,027 gr.)

28.4.34 dokonano splenektomii w narkozie chloralozowej.

1.4.34 Badanie w 3 dni po splenektomii. Wstrzyknięto 2,7 cmm 1% roztworu czerwieni Kongo dożylnie.

I z tego doświadczenia wynika, że w 3 dni po usunięciu śledziony wystąpiło znaczne upośledzenie wychwytywania barwika. W 1 godz. 15' po wprowadzeniu barwika zawartość jego wynosiła jeszcze 65,8, podczas, gdy u tegoż psa przed usunięciem śledziony w tym samym czasie barwik zotał wychwytywany całkowicie.

T A B L I C A VI.

Czas	Badanie wstępne		Badanie w 3 dni po splenektomii	
	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %	Ilość czerw. Kongo w mgm/100 ccm krwi	Stosunek znikania barwika w %
2'	3,1040	100,0	3,5760	100,0
4'	2,6894	86,7	3,5462	99,3
6'	2,5200	81,2	3,3558	93,9
8'	—	—	3,2880	92,1
15'	2,0400	65,8	—	—
30'	1,2960	41,8	2,9040	81,3
45'	1,1040	35,6	2,8080	78,3
1h	ślady	—	2,4780	69,4
1h 15'	niema barwika	—	2,3520	65,8

Widzimy więc, że u psów upośledzenie czynności układu siateczkowo - śródblonkowego po splenektomii trwa około 10 dni. W okresach późniejszych występuje nie tylko wyrównanie, ale nawet czynność układu jest bardziej wzmożona niż przed usunięciem śledziony.

W celu ustalenia istoty tej wzmożonej czynności przeprowadziliśmy badania histologiczne wątroby psów bezśledzionowych. Badaliśmy wątroby w 6 tyg., 3 i 4½ miesiąca po splenektomii.

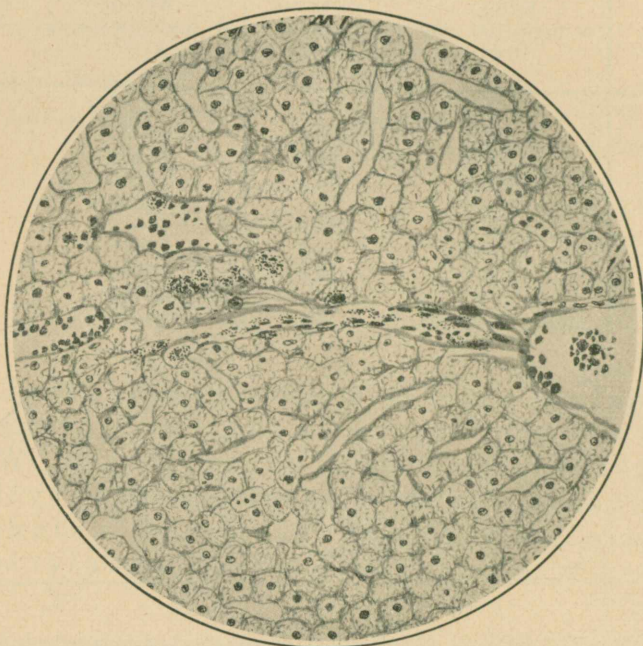
W wątrobie psa normalnego znajduje się przeciętnie w 20 polach widzenia 6,9 komórek *Browicz-Kupffera*, u psów bezśledzionowych znaleźliśmy 18,4 w 6 tygodni, 19,0 w trzy miesiące, 21,3 w 4-ry miesiące po zabiegu.

U psów bezśledzionowych komórki *Browicz-Kupffera* bardzo często są wypełnione złocistym barwikiem (hemosyderyna). Barwik ten spotyka się niemal w całej wątrobie w dość równomiernym rozproszeniu.

W trzy i cztery miesiące po usunięciu śledziony spotyka się

ponadto w świetle naczyń grupki komórek o typie monocytarnym i leukocytarnym.

Zmiany powyższe ilustrują obrazy histologiczne wątroby (Rys. 2 i 3).

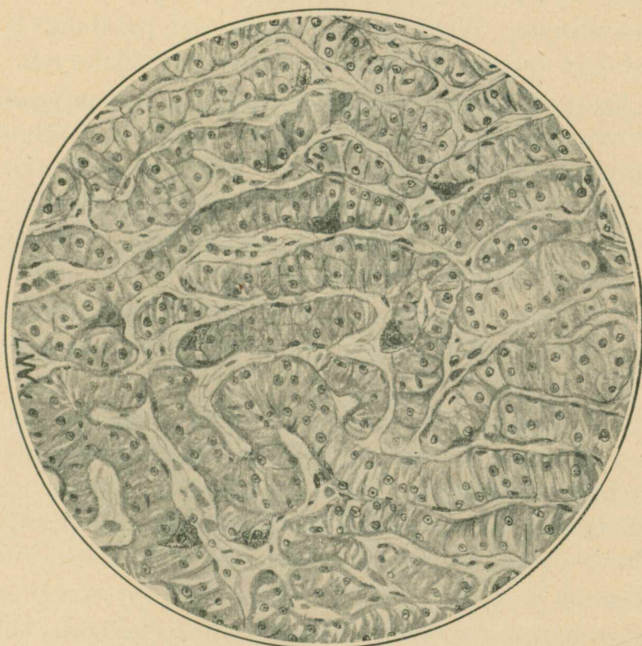


Rys. 2. Wątroba psa w trzy miesiące po usunięciu śledziony. Zwiększenie się ilości komórek Browicz-Kupffera.

Co do pozostałego układu siateczkowo-śródbłonkowego, to stwierdziliśmy, że gruczoly chłonne uległy nieznacznemu powiększeniu.

Widzimy z powyższego, że obraz morfologiczny układu siateczkowo - śródbłonkowego w wątrobie u zwierząt bezśledzionowych zgadza się zupełnie z badaniem czynnościowym układu: tam, gdzie znajdowaliśmy wzmożone i przyspieszone wychwytywanie barwika Kongo, tam obraz histologiczny wskazywał na przerost komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego.

Badania morfologiczne nad układem siateczkowo-śródbłonkowym przeprowadzali również *Nishikawa*, *Yoshikata* i *Takagi*. Autorzy ci usuwali u białych szczurów śledzionę i następnie badali wątrobę tych zwierząt w rozmaitych odstępach czasu. Oka-



Rys. 3. Wątroba psa w cztery miesiące po usunięciu śledziony. Zwiększenie się ilości komórek Browicz-Kupffera, które zawierają hemosyderynę.

zało się, że w 8 — 10 dni po splenektomii zaczyna się bujanie nowej tkanki około naczyń włosowatych. Nowoutworzone ugrupowania, komórek mogą zatrzymywać krwinki i je przerabiać.

10 — 15 tygodni po splenektomii jest okresem największego bujania „tkanki śledzionowej” w wątrobie.

Podobne spostrzeżenia uczynił również *E. Seifert*, po usunięciu śledziony u myszy. I tu również w wątrobie spotyka się po splenektomii ugrupowania komórkowe takie, jakie spotykamy w

śledzienie normalnej. Tkanka ta bierze początek prawdopodobnie z komórek naczyn włosowatych wątroby.

Seifert stwierdził również, że te nowoutworzone komórki w wątrobie posiadają własności przyżyciowego barwienia się i obdarzone są zdolnością żerną, dalej mogą one również rozkładać hemosyderynę. Wszystkie te czynności przebiegają jakościowo w podobny sposób jak w komórkach gwiaździstych.

A. Schmidt przeprowadzał badania histologicznie wątroby ludzi pozbawionych śledziony. Jedno badanie przeprowadzono w 8 miesięcy po splenektomii, drugie u innego osobnika w 6 i pół roku. W tych przypadkach komórki Browicz-Kupffera nie uległy rozmnożeniu, jednak wykazywały zwiększoną czynność, przejawiającą się w przeróbce czerwonych ciałek krwi.

Dalej należy wspomnieć, że *H. Maltaz* stwierdził u 6-cio letniego chłopca w 8 miesięcy po splenektomii przerost wrzystkich gruczołów chłonnych.

Z powyższego zestawienia widzimy, że po splenektomii u myszy i u szczurów występuje wyraźna splenizacja wątroby. Zjawiska tego nie stwierdza się u ludzi. U psów, jak wynika z naszych badań, nie dochodzi do właściwej splenizacji wątroby, stwierdzamy tylko rozrost komórek gwiaździstych i ich wzmożoną czynność.

Zestawiając otrzymane wyniki przychodzimy do wniosku że:

1) Po usunięciu śledziony u psów w okresie do 10 dni po zabiegu czynność układu siateczkowo-śródbłonkowego jest upośledzona.

2) W okresach późniejszych stwierdza się nie tylko wyrównanie tego ubytku, ale czynność układu siateczkowo-śródbłonkowego jest nawet wzmożona.

3) Badania czynnościowe układu siateczkowo-śródbłonkowego po usunięciu śledziony znajdują swe poparcie w badaniach morfologicznych.

4) Opierając się na powyższym podkreślamy, że o ile chodzi o wyciąganie wniosków dotyczą-

cych upośledzenia czynności układu siateczko-wo-śródbłonkowego po usunięciu śledziony, to badania odnośne powinny być wykonywane w jak najwcześniejszym okresie po splenektomii.

Institut de Pathologie Générale et Expérimentale de l'Université Józef Piłsudski
à Varsovie, Directeur Prof. F. Venulet.

ABLATION DE LA RATE ET LE SYSTÈME RÉTICULO-ENDOTHÉLIAL.

P a r

F. GOEBEL et J. M. MILLER

R É S U M É .

Nos expériences ont porté sur des chiens et consistaient dans l'étude fonctionnelle du système réticulo-endothélial à l'aide du rouge Congo, et dans l'étude histologique de ce système après splénectomie.

La méthode d'examen de l'état fonctionnel du système en question est fondée sur la propriété que possèdent ses cellules de capturer les colorants introduits dans la circulation. Plus le pouvoir du système est considérable, plus la disparition du colorant dans le sang est rapide.

Nous avons administré aux chiens 2 mgr. par kgr. de rouge Congo à 1 p. 100, dans la solution physiologique de NaCl, et déterminé ensuite la vitesse de sa disparition du sang, en mesurant son taux dans le sang après 2, 4, 6, 8, 30, 45, 60 min. et 1 h 30.

Six jours par exemple après la splénectomie, l'absorption du colorant devient minima. Normalement, au bout d'une heure il n'y avait plus de traces du colorant dans le plasma; et après la splénectomie, au bout de ce laps de temps le plasma contenait encore 25,9 p. 100 du colorant injecté. Vingt et un jours après

l'ablation de la rate, l'absorption du colorant était meilleure même que dans les conditions normales, soit avant la splénectomie, car après 45' le plasma ne contenait plus du tout de colorant.

Les autres expériences montrent, que pendant 3 à 10 jours après la splénectomie, le colorant est retiré du sang moins rapidement qu'avant l'opération, ce qui témoigne de l'affaiblissement fonctionnel du système, ensuite le tableau devient différent: le colorant disparaît même plus vite, que normalement.

Cet accroissement de fonction est causé par l'hypertrophie compensatrice des autres parties du système. Les examens histologiques ont été faits chez les chiens 1 mois 1/2, 3 et 4 mois 1/2 après la splénectomie. Dans le foie du chien normal on trouve dans 20 champs visuels en moyenne 6,9 cellules de Browicz-Kupffer dans celui des chiens dératés, nous en avons trouvé 1 mois 1/2 après l'opération 18,4, après 3 mois 19,0 et après 3 mois 19,0 et après 4 mois 21,3. On voit que les ganglions lymphatiques sont aussi un peu hypertrophiés après la splénectomie.

P I Ś M I E N N I C T W O .

- 1) *Goebel F. i Miller J. M.* Med. Dośw. i Społ. Nr 15. 1935 2) *Goebel F i Miller J. M.* Cpt. Rend. de l'Association des Anatomistes Montpellier. 1935. 3) *Goebel F. i Miller J. M.* C. R. Soc. Biol 119. 1935. 4) *Nishikawa, Yoshikata et Takagi* Dtsch. med. Woch. 48. 1922. 5) *Schmidt M. B.* Zeit. f. Geburt. u. Gyn. 87 1924. *Seifert E.* Klin. Woch. 48 1922.
-

Wpłynęło 3 II.1937.

Z Oddziału Higieny Pracy Państwowej Szkoły Higieny w Warszawie
Kierownik Oddziału: Dr. Brunon Nowakowski.

ZATRUCIA CHRONICZNE PARAMI KSYLENU WŚRÓD DRUKARZY.

P o d a ł

Dr. EMIL PALUCH

U w a g i w s t ę p n e .

W opisywanych dotychczas wypadkach zatruc zawodowych ksylenem wśród personelu technicznego i pomocniczego, zatrudnionego w zakładach drukarskich przy maszynach do druku wgłębnego, zwracano głównie uwagę na objawy ostre, zatrucia, które występują wskutek działania narkotycznego par ksyleny na układ nerwowy. Ksylen jednak, podobnie jak jego homologi, benzen i toluen, jest również jadem krwi. Jest rzeczą dotychczas niewyjaśnioną, czy działanie to ujawnia się i w jakim stopniu wśród drukarzy, narażonych na pracę w atmosferze zanieczyszczonej parami ksyleny. Wypadki ogłoszone dotychczas w literaturze obcej nie dostarczają danych zupełnie pewnych. I tak w pewnych doniesieniach, które stwierdzają u drukarzy poważne zmiany we krwi znajdujemy równocześnie, że do rozpuszczania farby drukarskiej obok ksyleny stosowany był benzen, którego działanie szkodliwe na krew znane jest oddawna; w innych wykonywano same badania krwi u drukarzy bez stwierdzenia, jaki rozpuszczalnik stosowano do farby drukarskiej; wiadomo zaś z innych źródeł, że ksylen techniczny, używany w drukarstwie, często poza nazwą nie ma nic wspólnego z ksylenem właściwym i jest poprostu benzenem zanieczyszczonym innymi homologami. Powstaje zatem wątpliwość, czy opisywane zmiany we krwi u drukarzy istotnie zostały wywołane przez ksylen, czy też raczej przez benzen, stosowany w poszczególnych wypadkach; poza tym nadal pozostaje nierozstrzygnięte pytanie, czy sam ksylen, który stosowany jest coraz częściej w drukarstwie ze względu na mniejszą palność, również może wywołać zmiany we krwi, jakiego rodzaju i w jakich warunkach.

Cheąc uzyskać odpowiedź na wysunięte zagadnienie zbadałem grupę 25 osób, zatrudnionych w trzech drukarniach warszawskich, posiadających maszyny do druku wgłębnego. Są to, o ile mi wiadomo, wszystkie osoby narażone na zatrucie ksylenem w dostępnym mi okręgu. Nie wystarczy jednak samo badanie ludzi. Należało je, ze względów metodycznych, poprzedzić zbadaniem warunków, w jakich przychodzi do zatrucia; a więc: 1) ustalić stopień zanieczyszczenia powietrza ksylenem w zakładach drukarskich i 2) określić właściwości chemiczne rozpuszczalnika stosowanego do farby drukarskiej. Dopiero bowiem połączenie trzech tych ogniw pozwala na wyciągnięcie uzasadnionych wniosków co do mechanizmu zatrucia.

Ogólnego opisu warunków technicznych i zdrowotnych pracy przy maszynach do druku wgłębnego nie podaję, ponieważ uczyniłem to na innym miejscu ¹⁾ z okazji badania jednej z wielkich drukarni w Krakowie.

1. Zanieczyszczenie powietrza parami ksylenu w pomieszczeniach drukarskich.

a) Metoda oznaczania węglowodorów w powietrzu.

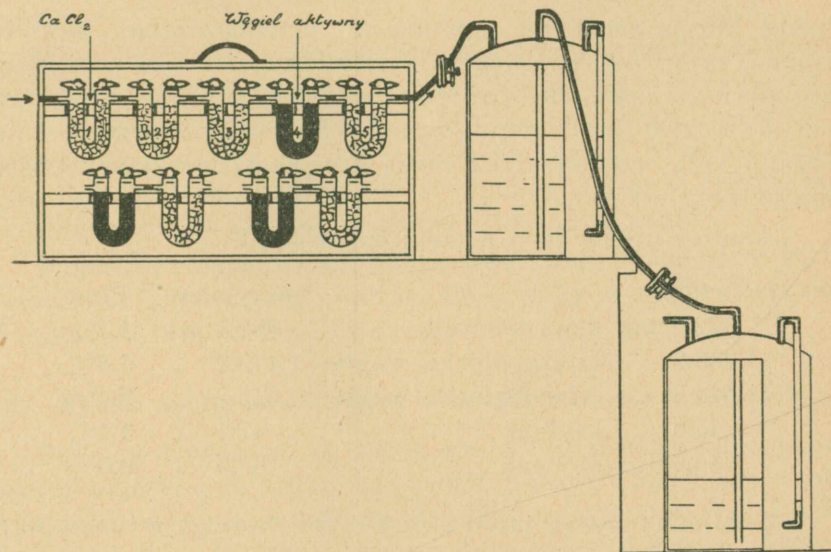
Zadaniem wstępnym było opracowanie metody do oznaczania par ksylenu w powietrzu, dostatecznie czulej i dla wykrycia małych stosunkowo zanieczyszczeń i dającej się zastosować w badaniach terenowych. Metodę tę oparłem na pochłanianiu par ksylenu przez węgiel aktywny. Ponieważ metoda ta daje bardzo dokładne wyniki i daje się zastosować do oznaczania par wszystkich rozpuszczalników organicznych, opisuję ją szczegółowo.

Sama zasada pochłaniania par węglowodorów przez węgiel aktywny nie jest niczym nowym: została ona w pierwotnej formie zastosowana przez *Berla*, *Andresa* (3), a potem przez *Grodzowskiego* (14) i *Winsłowa* (19) do oznaczania par benzyny. Ten ostatni ostrzega przed błędami metody. Zdaniem jego wywołane są one pochłanianiem przez węgiel innych gazów, zawartych w powietrzu. I tak otrzymywał on przy badaniu powietrza na zawartość benzyny 71,2 — 115,6% dodanej benzyny; przy przepuszczaniu czystego powietrza laboratoryjnego stwierdzał przybytek wagi, wynoszący + 32 mg, co absolutnie nie powinno mieć miejsca.

¹⁾ *W. Gądzikiewicz i E. Paluch: Zatrucia ksylolem w zawodzie drukarskim. Medycyna Nr 15/16, 1931.*

Błędy tego rodzaju wywołane są, jak wykazały przeprowadzone przeze mnie badania próbne, tylko parą wodną, którą węgiel chłonie, albo ją oddaje, zależnie od stopnia wilgotności przepuszczanego powietrza. Inne gazy, zawarte normalnie w powietrzu pomieszczeń, nie są pochłaniane, o ile węgiel nasycił się powietrzem. Praktycznie więc przeszkoda ta nie odgrywa żadnej roli.

Do pochłaniania par węglowodanów stosowano U — rurkę wypełnioną węglem chłonnym „Sucharda“, wysuszonym w 120°C . Węgiel zamykano w naczyniu szklanym dopiero po oziębieniu,



aby stygnąc nasycił się w pewnym stopniu wilgocią. Powietrze badane przed przeniknięciem do pochłaniacza było osuszane w 3-ch U — rurkach, wypełnionych CaCl_2 świeżo wysuszonym w 150°C . Mimo to nie było ono zupełnie suche. Stosując stężony H_2SO_4 stwierdzono w 30 litrach powietrza, przy szybkości przepływu 60 l/godz., 4 mg pary wodnej. Aby eliminować błąd spowodowany przez tę wilgotność powietrza oraz przez możliwość utraty wilgoci z samego węgla chłonnego umieszczono na samym końcu urządzenia za węglem jeszcze jedną rurkę z chlorkiem wapniowym.

Razem więc aparat absorpcyjny składał się z 5-ciu ogniw: 3 rurek z CaCl_2 , 1 rurki z węglem, 1 rurki z CaCl_2 . Przybytek na wadze ogniwa 4 + 5 oznacza ilość zaabsorbowanego gazu.

Przebieg analizy jest następujący: po zmontowaniu rurek przepuszcza się 30 l. powietrza dla przepłukania aparatu; waży się rurkę 4 + 5; przepuszcza się ponownie 30 l. czystego powietrza; waga rurek 4 + 5 nie powinna ulec zmianie w granicach 1 mg (ślepa próba). Następnie przepuszcza się przez aparat chłonny powietrze badane.

Proste to urządzenie pozwala osiągnąć wyniki bardzo dokładne. Można się o tym przekonać przepuszczając powietrze o znanej zawartości par węglowodorów. W tym celu z przodu aparatu absorpcyjnego włączono zważoną rurkę z benzyną lub ksylenem. Ze względu na silne parowanie tych cieczy i możliwość kondensacji pary wodnej przed rurką z węglowodorem umieszczano jeszcze rurkę z CaCl_2 .

Analizy próbne dały następujące wyniki:

Dodano	Otrzymano	Błąd
862,5 mg benzyny	852,3 mg	1,1%
1.436,9 „ czterochlorku węgla	1.415,8 „	1,5%
548,3 „ czterochlorku węgla	545,9 „	0,4%
47,8 „ ksylenu	47,1 „	1,4%
85,6 „ ksylenu	85,5 „	0,0%

Przy przepuszczeniu 30 l. powietrza czystego w ciągu 30 minut otrzymywałem następujące różnice (ślepa próba) w wadze ogniwa:

Przed próbą	Po próbie	Różnica
100.3462 gr.	100.3458 gr.	0.4 mg.
93.5316 „	93.5307 „	0.8 „
102.2432 „	102.2423 „	0.9 „
102.2423 „	102.2410 „	1.3 „
96.3220 „	96.3217 „	0.3 „

Po przeliczeniu różnicy na 1 litr powietrza otrzymujemy błąd, nie odgrywający żadnej roli.

W celu zabezpieczenia się przed błędami, należy zwrócić uwagę na następujące okoliczności:

1. Rurki U muszą być badane pod ujemnym ciśnieniem na szczelność ich zamknięcia.
2. Zupełna szczelność połączeń gumowych przyrządu.
3. Uchylenie możliwości zapylenia rurek ważonych.

Aparat absorpcyjny umieszczony został w przenośnym pudełku ażeby analizę powietrza można było wykonać na miejscu. Próby pobierania powietrza do baniek metalowych dały wyniki bardzo złe, gdyż pary węglowodorów kondensują się na ścianach naczyń.

W pudełku aparatu przenośnego w jednym rzędzie znajduje się cały komplet absorpcyjny, w drugim po dwa wymienione ogniwa 4 + 5 co pozwala wykonać 3 analizy powietrza. Pierwsze 3 ogniwa suszące należy zmieniać, skoro nasycą się wilgocią. Zmieniało zawsze 3-cie ogniwo co 3 analizy, drugie przesuwano na pierwsze miejsce, zaś pierwsze usuwano zupełnie.

Powietrze wciągano zapomocą respiratora wodnego z szybkością około 60 litrów na godzinę. Ilość wody w respiratorze odpowiadała 30 l. powietrza przepuszczonego.

b) Wyniki analiz powietrza w pomieszczeniach drukarskich.

Badania wykonano w trzech zakładach drukarskich, posiadających maszyny do druku wgłębnego. Pierwszy z nich drukarnia P. posiada maszynę rotacyjną. Znajduje się ona w dużej sali, w której ponadto znajdują się dwie pospieszne maszyny rotacyjne gazetowe, dwie maszyny płaskie i podręczne warsztaty. Pojemność sali wynosi 2400 m^3 ($60 \times 10 \times 4$).

Obie dłuższe ściany posiadają okna, podzielone na małe poprzeczne segmenty, dające się całkowicie lub częściowo odchyłać. Dzięki temu, warunki wentylacji naturalnej są dobre. W kącie sali, koło drzwi, w pobliżu maszyny rotacyjnej druku wgłębnego znajduje się otwór wentylacyjny wyciągowy, umieszczony na poziomie posadzki. Wymiary jego wynoszą $65 \times 34 \text{ cm}$. Kanał wentylacyjny prowadzi pionowo na dach (budynek 4-o piętrowy), u wylotu umieszczony jest silny motor. Sprawność kanału wenty-

lacyjnego wynosi według pomiarów średnich 3046 m³ powietrza na godzinę. Po przeciwległej stronie sali znajduje się drugi taki sam otwór wentylacyjny, umieszczony w połowie wysokości ściany. Na usunięcie par ksyleny nie może on mieć jednak wpływu z powodu znacznego oddalenia.

Poza wentylacją zanieczyszczenie powietrza ksylenem w pomieszczeniach drukarskich zależy od wielu czynników natury technicznej, powodujących mniej lub więcej szybkie parowanie farby. Z pośród ważniejszych należy wymienić: powierzchnię ilustracyj w tekście (dużo lub mało rycin), szybkość druku, temperaturę powietrza; druk może zajmować całą maszynę lub pół maszyny zależnie od formatu wydawnictwa.

Analizy powietrza wykonywano w miejscu, gdzie zatrudniony jest personel obsługujący maszynę. Maszyniści dozoruja bieg maszyny, chodząc koło niej, od czasu do czasu wchodzą w przestrzeń pomiędzy wałcami. Na obu końcach siedzą odbieracze. Jedni i drudzy oddaleni są mniej więcej $\frac{1}{2}$ —1 m. od maszyny.

Jak widać z załączonej tablicy najsilniejsze zanieczyszczenie powietrza ksylenem występuje pomiędzy wałcami maszyny rotacyjnej. W miejscu tym paruje farba, znajdująca się w wannie, rozmazana na wałcach i schnie druk na bębnoch pod wpływem gorącego powietrza, którego prąd skierowany zostaje na świeżo nadrukowany papier. U osoby, znajdującej się w tej części maszyny, występuje natychmiast silne podrażnienie błon śluzowych oczu i dróg oddechowych. Na szczęście jednak w pukię tym obsługa maszyny przebywa bardzo krótko, wchodzi bowiem co pewien czas na chwilę tylko, ażeby dolać ksyleny do farby, dokręcić wałce, lub skontrolować druk. Praktycznie więc analizy powietrza, wykonane w tym pukię, nie są miarodajne dla stopnia narażenia obsługi maszyny. Punkt ten jednak, ze względu na najwyższe stężenie par ksyleny, nadaje się najlepiej do zainstalowania w nim otworów wentylacji wyciągowej. W omawianym przypadku otwory te są umieszczone zdala od maszyny, gdzie stężenie ksyleny wynosiło w chwili badania 0,9 mg/l. Pomiędzy wałcami wynosi ono 5,0 mg/l. Nie jest napewno rzeczą obojętną dla czystości powietrza, czy 3000 m³ powietrza usuwanych w godzinę przez wentylator zawiera 0,9 czy 5 mg ksyleny w litrze.

Nr	D a t a	Punkt pobrania próby	Wentylacja		Rodzaj druku	Tempera- tura powie- trza w sali	Znaleziono kysielenu mg/l powietrza
			Wyciągowa	Okna			
1	11.XII.1935	W oddaleniu 1 m. od maszyny, na wyso- kości głowy czło- wieka siedzącego	czynna	górna część otwarta	jednobarwny $\frac{1}{2}$ maszyny czyn- nej	21° C	0.8
2	"	"	nieczynna	"	"	"	1.0
3	13.XII.1935	"	czynna	"	3-barwny, cała ma- szyna czynna	19,7° C	0.9
4	"	"	nieczynna	"	"	"	1.5
5	"	W otworze wentyla- cyjnym	czynna	"	3-barwny, $\frac{1}{2}$ ma- szyny czynnej	"	0.9
6	14.XII.1935	Pomiędzy walcami	"	"	cała maszyna szyb- ki bieg	16,5° C	5.0
7	24.XII.1935	W oddaleniu 1 m. od maszyny na wyso- kości głowy siedzą- cego	nieczynna	otwarta gór- na część o- kien obu- stronnie	"	18,5° C	1.8
8	"	"	"	"	$\frac{1}{2}$ maszyny	"	1.4
9	"	"	"	"	"	"	1.3

Zanieczyszczenie powietrza ko' o maszyny rotacyjnej, gdzie obsługa jej spędza większą część dnia roboczego, wynosiło 0,8 — 1,8 mg/l powietrza. Whania te są uzależnione od szeregu czynników, wymienionych poprzednio.

Na szczególną uwagę zasługuje wpływ wentylacji wyciągowej na stopień zanieczyszczenia powietrza. Dwukrotnie zatrzymano wentylator i badano zanieczyszczenie powietrza ksylenem przed i w 30 minut po zatrzymaniu wentylatora. W pierwszym wypadku zanieczyszczenie wzrosło z 0,8 do 1,0 gm ksyleny w litrze powietrza, w drugim z 0,9 do 1,5 mg. Widać z tego, iż wentylacja zmniejsza stopień zanieczyszczenia powietrza o 20 — 35%, czyli dość pokaźnie. Jednak za pomocą tego typu wentylacji powietrza całkowicie oczyścić nie można.

Możnaby to uzyskać przez zainstalowanie urządzeń do rekuperacji par ksyleny. Urządzenia takie w pomieszczeniach drukarskich nie zostały nigdzie jeszcze w Polsce — o ile mi wiadomo — zastosowane, pomysł ten jednak zasługuje na uwagę, gdyż łączy możliwość usunięcia szkodliwych dla zdrowia zanieczyszczeń z korzyścią ekonomiczną. Parowanie ksyleny powoduje pewne dość znaczne straty. Naprzykład w drukarni P. przez kanał wentylacyjny uchodzi w powietrze około 3 kg. ksyleny na godzinę, gdyż w 1 l. powietrza znajduje się 0,9 mg. ksyleny, zaś sprawność wentylatora wynosi ponad 3000 m³ powietrza na godzinę. W ciągu 8 godzin daje to 24 kg. ksyleny, czyli około 24 zł. Gdyby powietrze zanieczyszczone było odprowadzane z miejsca, w którym stężenie par ksyleny jest wyższe (np. pomiędzy walcami wynosi ono około 5 mg/l), wówczas możnaby do filtrów odprowadzić kilkakrotnie większą ilość ksyleny.

Według obliczeń *Schwartzkopffa* (17) w Niemczech instalacje do rekuperacji pozwalają na odzyskanie do 85% ksyleny użytego do druku; instalacje amortyzują się w ciągu 10 miesięcy. Przed zastosowaniem rekuperacji powstrzymuje jednak polskich przedsiębiorców wysoki koszt urządzeń, oraz w większym jeszcze stopniu niepewność, czy istotnie rekuperacja da zapowiadane wyniki. Ze względu na znaczenie zdrowotne i ekonomiczne sprawa ta zasługuje na przebadanie w jednej choćby drukarni.

Oprócz dużej drukarni, posiadającej maszynę rotacyjną do druku wgłębnego, są jeszcze w Warszawie dwie małe, z których pierwsza drukarnia R. posiada dwie maszyny płaskie do druku wgłębnego, druga zaś drukarnia K. — jedną. Badanie powietrza wykonano również i w obu ostatnich drukarniach.

W drukarni R. maszyny do druku wgłębnego mieszczą się w sali o pojemności 400 m^3 ($10 \times 10 \times 3$). W pomieszczeniu są trzy okna, brak jakiegokolwiek innych urządzeń wentylacyjnych. Z dwu maszyn w użyciu jest tylko jedna. Obsługę jej stanowią: maszynista, nakładaczka i odbieracz.

Badanie powietrza wykonano w dniu 28 XII. 1935 r. dwukrotnie: przy zamkniętych i przy otwartych (dwóch) oknach. Próba była pobrana w tym samym punkcie, a mianowicie w oddaleniu około 1 m. od maszyny, na wysokości 1,5 m. Przy oknach zamkniętych stwierdzono zawartość 0,6 mg. ksyłenu w litrze powietrza, po otwarciu zaś dwóch okien znaleziono 1,1 gm/l. Ten paradoksalny wynik pochodzi stąd, iż w pierwszym przypadku wynikła około 10 minutowa przerwa w druku, wywołana defektami technicznymi w maszynie; powtórę wskutek znacznej różnicy temperatur pomiędzy powietrzem zewnętrznym (5° C) a wychodzącym z maszyny (27° C), ogrzanym przez gaz, wytworzyły się prądy powietrza silnie zanieczyszczonego z maszyny, idące ku górze, które w danych warunkach zostały pobrane przez aparat.

W dniu 7. I. 1936 r. wykonana powtórnie analiza w tym samym punkcie wykazała 0,6 gm/l przy zamkniętych oknach, powietrze wychodzące z maszyny wykazywało 0,9 mg/l.

Drukarnia K. posiada jedną tylko maszynę płaską do druku wgłębnego. Ponieważ maszyna posiada urządzenie do automatycznego nakładania papieru, obsługują ją tylko dwie osoby: maszynista i pomocnik. Maszynista stoi w pomieszczeniu o pojemności 1350 m^3 ($50 \times 8 \times 3$), w którym znajduje się oprócz tego kilkanaście innych maszyn drukarskich. Wentylacji sztucznej nie ma; w czasie pracy otwierane są drzwi na przestrzal, leżące po tej samej stronie ściany długiej. Maszyna do druku wgłębnego była ostatnio mało używana; udało mi się raz tylko wykonać analizę powietrza. Próba pobrana w pobliżu maszyny wykazała 1 mg/l powietrza. Druga próba pobrana w oddaleniu około 6 m. od maszyny

w kierunku drzwi, dokąd przechodzi prąd powietrza z maszyny, wykazała 0,5 mg/l.

2. Skład chemiczny ksylenu technicznego, używanego w drukarstwie.

Ksilen techniczny stosowany do rozpuszczania farby drukarskiej nie zawsze jest prawdziwym ksylenem w pojęciu chemicznym. W literaturze obcej zanotowano szereg przypadków, w których rzekomy ksylol był benzenem, toluenem, lub najczęściej mieszaniną tych cieczy w różnym stosunku procentowym, obok zanieczyszczeń innymi węglowodorami. Z punktu widzenia toksykologicznego jest to sprawa dużej wagi, ponieważ mimo pewnych wspólnych cech, każde z tych ciał odznacza się inną jadowitością zarówno w zatruciach ostrych, jak i chronicznych.

W badanych przeze mnie zakładach drukarskich, a także — jak mnie informowano w całej Polsce — używa się t. zw. „czystego ksylolu“, pochodzącego z jednej i tej samej fabryki, jako jedyne go źródła ksylenu w Polsce. Ażeby się przekonać o składzie preparatu, ksilen pobrany z drukarni P. poddano destylacji cząstkowej. Do destylacji używano kolumny rektyfikacyjnej długości 80 cm. Po 3-krotnym, dokładnym rozdzieleniu 1000 cm³ badanego preparatu otrzymałem następujące frakcje:

W temperaturze do 80° C	wrze	0.2%
„ od 81 — 111° C	„	0.4%
„ „ 112 — 135° C	„	4.6%
„ „ 136 — 139° C	„	<u>94.8%</u>
		100.0

Strata wskutek parowania preparatu przy 3-krotnej destylacji wynosiła 3,3%, pozostałość w kolbie destylacyjnej nie dająca się przedestylować wynosiła 4,4% całkowitej ilości próby. Straty te w obliczeniu procentowym nie zostały uwzględnione.

Temperatury wrzenia benzenu i jego homologów są następujące:

benzen	80.18°
toluen	109.86°

L. p.	Nr karty badania	Rodzaj zatrudnienia	Wiek	Lata pracy przy włóśnodruku	Hb w/g Sahlięgo	Ciąłka czerwone w tysiącach	Wskaźnik Hb	Ciąłka biała	Stosunek % ciątek białych				
									Zasadochłonne	Kwasochłonne	Objętino- chłonne	Limfocyty	Monocyty
1	3	Maszyna rotacyjna — maszynista	29	10	102	4 360	1.2	4 150	0.2	2.0	52.0	43.0	3.8
2	13	" — pomocnik	56	8	120	5 120	1.3	4 650	0.5	0.5	47.5	48.8	2.7
3	1	Maszyna płaska — maszynista	38	5	131	5 700	1.1	4 450	0.5	2.5	43.0	52.5	1.5
4	2	" — pomocnik	31	5	128	5 660	1.1	4 850	0.5	2.0	28.5	66.8	2.2
5	6	" — maszynista	29	5	119	6 360	0.9	3 150	0.5	5.0	45.0	45.3	4.2
6	19	Maszyna rotacyjna — maszynista	20	5	108	4 890	1.1	7 400	0.2	1.0	63.5	34.0	1.3
7	4	Maszyna płaska — pomocnik	29	3	100	5 300	0.9	6 100	1.0	3.5	61.8	30.0	3.7
8	11	Maszyna rotacyjna — maszynista	25	3	110	5 420	1.0	7 850	0.7	2.3	32.0	65.5	4.5
9	14	" — pomocnik	31	3	100	5 030	1.0	5 000	0.7	0.7	50.5	45.8	2.3
10	5	Maszyna płaska — pomocnik	19	2	101	4 920	1.0	4 650	0.5	5.0	45.9	45.3	4.2
11	10	Maszyna rotacyjna — pomocnik	25	2	115	5 150	1.1	5 600	1.0	4.0	39.0	54.0	2.0
12	18	" — maszynista	25	2	131	5 880	1.1	9 000	0.5	1.2	59.0	35.5	3.8
13	20	" — pomocnik	25	2	112	4 380	1.3	10 000	0.0	2.5	54.3	39.7	3.5
14	22	" — "	33	2	102	4 580	1.1	3 850	1.2	7.0	52.5	35.5	3.8
15	24	" — "	26	2	120	5 490	1.1	5 300	0.2	2.8	20.5	74.3	2.1
16	7	" — "	26	1.6/1.2	99	4 980	1.0	5 900	2.2	7.2	46.3	40.5	3.8
17	9	" — maszynista	31	1.6/1.2	110	6 010	0.9	6 500	0.5	0.2	53.0	41.0	5.3
18	17	" — "	28	1.6/1.2	102	4 600	1.1	3 950	0.5	5.5	55.0	39.0	4.5
19	8	" — pomocnik	20	1	111	4 810	1.2	6 000	0.5	3.0	48.8	44.0	3.7
20	13	" — "	43	1	104	4 710	1.1	9 200	0.5	1.5	43.0	51.8	8.2
21	15	" — maszynista	35	1.9/1.2	112	6 310	0.9	7 100	0.5	0.7	47.0	49.3	2.5
22	12	" — pomocnik	25	8/12	114	5 860	1.0	6 500	0.5	1.5	44.5	47.0	6.5
23	16	" — "	20	5/12	107	5 510	1.0	3 600	0.5	2.7	43.3	46.8	6.7
24	25	" — "	25	5/12	120	5 490	1.1	5 300	0.2	4.0	36.5	57.8	1.5
25	21	" — "	31	4/12	113	5 610	1.0	9 500	0.0	5.5	59.0	33.0	2.5

p-ksylen	136.— ^o
m-ksylen	139.— ^o
o-ksylen	141.— ^o

Opierając się na wynikach destylacji należy stwierdzić, że 94,9% preparatu wykazuje temperaturę wrzenia charakterystyczną dla ksylenu. Jest to więc stosunkowo bardzo czysty ksylen będący mieszaniną wszystkich tych ksylenów izomerycznych.

3. Badania krwi u drukarzy, pracujących w atmosferze zanieczyszczonej parami ksylenu.

Omówione zakłady drukarskie zatrudniają łącznie 25 osób przy obsłudze maszyn do druku wgłębnego (24 mężczyźni i 1 kobietę). Są to wykwalifikowani mechanicy i pomocnicy maszynistów, nakładacze i odbieracze. Stopień narażenia wszystkich pracowników jest ten sam.

Naogół są to ludzie młodzi, zaledwie dwóch ma powyżej 40 lat. Przy maszynach do druku wgłębnego większość z nich pracuje stosunkowo krótko; najdłuższy okres pracy wynosi 10 lat. Nie jest to ich pierwsza praca; wszyscy pracowali już przedtem w drukarstwie, lecz w innych działach, w których nie byli narażeni na działanie par ksylenu.

U wszystkich dokonano morfologicznego badania krwi. Początkowo usiłowałem skłonić ich za pośrednictwem Związku Zawodowego Drukarzy do poddania się badaniu; zgłosiło się jednak tylko 6 osób. Resztę pracowników, która składała się grupy zatrudnionej w drukarni P., zbadałem na miejscu, w czasie godzin pracy, za zezwoleniem kierownika zakładu.

Wyniki badania krwi są zestawione w załączonej tablicy. Jeśli chodzi o stosunki ilościowe, objawem uderzającym u wszystkich osób jest wysoki poziom barwika we krwi. Wskaźnik Hb wynosi u 22 osób 1 i powyżej 1; zaledwie u czterech osób 0,9. Występuje on przy normalnej na ogół liczbie ciałek czerwonych, choć u kilku osób można stwierdzić wyraźnie zwiększenie liczby ciałek czerwonych, u innych natomiast niewielkie obniżenie poniżej ogólnej przyjętej normy fizjologicznej; przy braku jednak norm po-

prawionych dla danej grupy zawodowej trudno wnosić, czy i o ile stosunki te wykraczają poza granice normy fizjologicznej. Mam wrażenie, że raczej należałoby tu mówić o erythrocytemii obok niewątpliwie stwierdzonej hyperchronemii. W preparatach barwionych stwierdzono u 5-ciu osób anizocytozę (Lp.: 3, 4, 8, 20, 24.); w dwu wypadkach polichromatofilję (Lp. 4, 8).

Ciałka białe we krwi zachowują się nieco odmiennie. U dość znacznej grupy można stwierdzić wyraźną leukopenię. Jest ona tym większa, że badanie nie mogło być przeprowadzone naczecz. U stosunkowo mniejszej grupy stwierdzono reakcję odwrotną: leukocytozę.

Bardzo charakterystycznie wypadł stosunek procentowy ciałek białych. U wszystkich osób badanych, z wyjątkiem trzech, można stwierdzić wybitną limfocytozę. U 7 osób stosunek procentowy limfocytów wynosi ponad 50%. Porównanie liczby ciałek białych z ich składem procentowym nie stwierdza żadnej prawidłowości: limfocytoza występuje zarówno w przypadkach leukocytozy, jak i leukopenii. Proporcjonalnie do powiększenia liczby limfocytów występuje mniej lub silniej wyrażona neutropenia. Stosunek procentowy innych elementów morfotycznych nie wykazuje charakterystycznych odchyień.

Próba korelacji zmian we krwi z czasem pracy nie dała wybyć może ze względu na małą liczbę badań. Z tego samego powodu powodu nie podaje innych prób korelacji.

4. D y s k u s j a .

Powietrze w zakładach drukarskich, posiadających maszyny do druku wgłębnego, wykazuje stale zanieczyszczenie parami ksyleny, których stężenia w punkcie przebywania personelu technicznego waha się od 0,6 m/l. do 1,8 m/l., a w pewnych punktach dochodzi do 5 mg/l.

Naogół stopień zanieczyszczenia powietrza jest nieco większy w zakładzie posiadającym maszynę rotacyjną, co wynika z daleko szybszej produkcji par ksyleny. Niekorzystny ten czynnik wyrównywa jednak dobra wentylacja. W zakładach, w których nie ma takiej wentylacji, dostrzega się znacznie większe zanieczysz-

czenie powietrza ksylenem, jak dowodzą tego badania wykonane w drukarni rotacyjnej w Krakowie w roku 1932. W drukarniach posiadających maszyny płaskie produkcja par ksyleny jest prawdopodobnie kilkanaście razy mniejsza, jednakże powietrze w tych zakładach wykazuje prawie ten sam stopień zanieczyszczenia. Wywołane to jest niekorzystnymi warunkami lokalowymi i brakiem urządzeń wentylacyjnych w małych zakładach drukarskich. Nie wolno jednak zapominać, że sama wymiana powietrza, choćby bardzo intensywna, może tylko w mniejszym lub większym stopniu rozcieńczyć pary ksyleny jednak zupełnie ich usunąć zapomocą wentylacji nie można. Musimy więc zawsze liczyć się ze szkodliwym działaniem par ksyleny w zakładach drukarskich wszelkiego typu.

Zachodzi pytanie, jakie są objawy szkodliwego działania par ksyleny w stwierdzonym stężeniu na personel drukarski?

Objawami ostrymi zatrucia zajmę się krótko, gdyż zostały one dostatecznie zbadane i opisane. W wywiadach i na podstawie własnych spostrzeżeń nie stwierdziłem żadnych poważniejszych zaburzeń ze strony systemu nerwowego, jedynie od czasu do czasu występują u niektórych osób objawy oszłomienia, jako początkowy lekki stan działania narkotycznego par ksyleny. U osób wrażliwych spotyka się bóle głowy, czasami nudności, utratę łaknienia i podrażnienie błon śluzowych oczu i narządu oddechowego. Objawy te występują niecodzinnie, lecz tylko w wypadkach silniejszego zanieczyszczenia powietrza, lub też przedłużenia czasu pracy (godziny nadliczbowe). U osób, które rozpoczynają pracę przy maszynach do druku głębokiego objawy są bardziej dokuczliwe, zwłaszcza bóle głowy i utrata łaknienia, potem — jak twierdzi większość pracowników — następuje pewne przyzwyczajenie. Oczywiście zawsze istnieje niebezpieczeństwo zatruc ostrych poważniejszego stopnia w przypadku, czy to wzmożonej pracy, czy to niekorzystnych warunków atmosferycznych, lub złej wentylacji i o możliwości tej kierownictwo drukarni zawsze musi pamiętać.

Przy niewielkim już zanieczyszczeniu powietrza ksylenem, które nie przedstawia większego niebezpieczeństwa zatruc ostrych, zachodzi możliwość zatrucia chronicznego, które powoli narasta

i może wywołać bardziej trwałe uszkodzenia. Wykonane badania krwi nie wykazały jednak zmian, które uważano dotychczas za typowe dla zatruc węgłowodarami aromatycznymi. Zamiast anemii, stale spotykanej w zatruciach zawodowych benzenem, stwierdzono wzmożoną produkcję hemoglobiny przy niezmnieszonej, względnie w pewnych przypadkach nawet zwiększonej liczbie erytrocytów. Obraz podobny stwierdzili ostatnio również autorzy niemieccy, *Nelken* (15) i *Gerbis* (12), na materiale dużym, obejmujących w badaniach *Nelkena* 399 drukarzy *Gerbisa* — 349. Zbliżone wyniki otrzymała także *Adler-Hreszmarck* (2) u 19 drukarzy, oraz *Brand* (4) u 34 drukarzy. Jest rzeczą wątpliwą, aby to nietypowe dla zatruc węgłowodarami aromatycznymi zachowanie się erytrocytów i hemoglobiny, było wynikiem swoistego działania ksyleny na narządy krwiotwórcze, odmienne od działania benzenu. Przeczą temu wyniki badań doświadczalnych *Engelhardta* (7) który wywołał ciężką anemię u zwierząt, podając im podskórnie zarówno benzen, toluen, jak i ksylen; co prawda ten ostatni wykazywał działanie najslabsze. Należy raczej przypuścić, jak twierdzi *Gerbis*, że paradoksalne to napozór zjawisko przedstawia pierwszą fazę zatrucia, wywołaną podrażnieniem narządów krwiotwórczych, po której mogą przyjść fazy dalsze: osłabienie, a potem porażenie.

W badanej grupie nie stwierdziłem żadnego wypadku, któryby można zaliczyć do drugiej lub trzeciej fazy zatrucia. Nie zostały one stwierdzone również przez wymienionych poprzednio autorów. Fakt ten da się wytłumaczyć tym, że wypadków takich należy szukać raczej w klinice, a nie wśród pracujących. Jak podaje jednak *Gerbis* (12), zanotowano w Niemczech 4 wypadki śmierci u drukarzy zatrudnionych przy wkłęsłodruku, wskutek anemii aplastycznej i jeden wypadek podaje także *Sanders* (16). Również *Glibert* (13) donosi z Belgii o 6 wypadkach ciężkiej anemii u drukarzy, leczonych klinicznie. Za fazę pośrednią zatrucia możnaby uznać 12 wypadków anemii, o których doniósł niedawno *Ehrhardt* (6) z Kliniki chorób zawodowych w Berlinie. Niestety w dochodzeniach, dotyczących wszystkich wspomnianych wypadków nie zostało ustalone, jakie rozpuszczalniki były stosowane w zakładach drukarskich, w których wypadki te

zaszły; wyjątek stanowi ostatnio cytowana praca *Ehrhardta* (6), który podaje, iż w przypadkach przez niego opisanych stosowano mieszanke, zawierającą 48% benzenu i 50% ksylenu i toluenu. To samo podejrzenie zachodzi w stosunku do innych przypadków. Jest więc rzeczą niewyjaśnioną czy stwierdzone poważne zmiany we krwi należy kłaść na karb benzenu, czy ksylenu. Ostateczną odpowiedź na to mogłyby dać tylko dokładniejsze badania kliniczno-terenowe wypadków anemii u drukarzy, względnie systematyczne zbadanie mechanizmu powstawania zmian we krwi pod wpływem zatrucia ksylenem u zwierząt.

Drugą charakterystyczną zmianą we krwi jest zachowanie się ciałek białych. Reakcja z ich strony na czynnik toksyczny przebiega w części przypadków pod postacią leukopenii, w innych stwierdzić można normalne wartości ciałek białych, a nawet leukocytozę. Nasuwa to podejrzenie, że również funkcje leukoplastyczne mogą ulec podrażnieniu względnie osłabieniu w różnych okresach zatrucia ksylenem. Słabym punktem takiego rozumowania jest jednak fakt, że we wszystkich niemal przypadkach stwierdza się w stosunku procentowym ciałek białych silną limfocytozę. Biorąc liczby bezwzględne, należałoby raczej w większości przypadków stwierdzić silne ograniczenie produkcji ciałek wielojądrzastych. Wskazuje to wyraźnie, iż punktem działania toksycznego ksylenu jest szpik kostny, a nie czynność gruczołów limfatycznych. Zarówno więc zmiany ciałek czerwonych, jak i białych miałyby to samo pochodzenie.

WNIOSKI PRAKTYCZNE.

Badania nasze dowodzą, iż u personelu drukarskiego, zatrudnionego przy maszynach do druku wgłębnego, zachodzą zmiany we krwi wskutek chronicznego zatrucia ksylenem, które charakteryzują się podrażnieniem narządów krwiotwórczych i upośledzeniem funkcji leukoplastycznych. Są one — biorąc praktycznie — o tyle niebezpieczne, że przebiegają napozór bezobjawowo, kryjąc w sobie możliwości poważniejszych uszkodzeń.

Wykrycie ich możliwe jest tylko przy pomocy badań krwi. Ponieważ zmiany te występują nawet przy niewielkim zanieczysz-

czeniu powietrza ksylenem, zaś aktualnie stosowane metody wentylacji nie pozwalają na zupełne usunięcie tego zanieczyszczenia, wydaje się rzeczą słuszną, ażeby jako jedyny dostępny środek ochronny, wprowadzić u drukarzy zatrudnionych przy wkłęsłodruku okresowe badania krwi, któreby pozwoliły na możliwie wczesne rozpoznanie poważniejszych uszkodzeń i leczenie zapobiegawcze. Badania takie powinny być wykonywane 1 — 2 razy w roku i winny być poprzedzane badaniem wstępnym kandydatów do pracy, ażeby uzyskać możność właściwej oceny ewentualnych zmian.

Obok tego istnieje możliwość zmniejszenia stopnia narażenia na zatrucie przez ograniczenie czasu pracy.; W tym celu proponuje w Niemczech *Gerbis* skrócenie czasu pracy przy wkłęsłodruku do 7 lub 6 godzin na dobę, ograniczenie pracy nocnej zwłaszcza w pomieszczeniach źle wentylowanych i zwiększenie urlopu o 8 — 14 dni. Słuszne te w zasadzie postulaty wymagają jednak odpowiednich aktów ustawodawczych, co przedstawia drogę długą i uciążliwą. Aktualnie możliwym i pilnym postulatem jest natomiast zakaz stosowania godzin nadliczbowych, który powinien być przeprowadzony bezwzględnie, podobnie jak i zakaz pracy kobiet i młodocianych przy wkłęsłodruku.

Rozwiązaniem najlepszym byłoby zastosowanie urządzeń do rekuperacji ksyleny, któreby skuteczniej, niż sama wentylacja zapobiegały zanieczyszczeniu powietrza ksylenem.

Aus der Arbeitshygieneabteilung der Staatlichen Schule für Hygiene in Warschau.
Leiter: Dr. Br. Nowakowski.

CHRONISCHE XYLOLSCHÄDIGUNGEN IN TIEFDRUCKBETRIEBEN.

V o n

Dr. E. PALUCH

ZUSAMMENFASSUNG.

Der Verfasser bearbeitete eine neue Methode der Bestimmung der Kohlenwasserstoffe in der Luft, die auf Absorption mit akti-

ver Kohle beruht und ganz exacte Werte gibt. Die Fehlergrenze überschreitet nicht mehr als 1,5% des eigentlichen Inhalts der Kohlenwasserstoffe in der Luft. Die ausgeführten mittels dieser Methode Analysen in 3 warschauer Tiefdruckbetrieben ergaben eine Luftverunreinigung mit Xyloldämpfen von 0,8—5 mg/L. Das technische Xylol, benutzt zur Lösung der Druckfarbe enthielt 94,8% chemisch reines Xylol.

Beim technischen Personal der Tiefdruckmaschinen (25 Personen) wurden Blutuntersuchungen ausgeführt. 22 Personen wiesen einen hohen Hb Gehalt und hohen Hb Index (1 und oberhalb 1) auf. Die Zahl der roten Blutkörperchen war normal. In den weissen Blutkörperchen beobachtete der Verfasser stark ausgeprägte Neutropenie bei relativer Lymphocytose. Dieses Bild sieht er als erstes Zeichen der Knochenmarkschädigung durch chronische Xylolvergiftung an.

P I Ś M I E N N I C T W O .

- 1) *Adler-Herzmarck J. i Selinger* — Arch. f. Gewerbepathologie. T. I, 763, 1931. 2) *Adler-Herzmarck J.* — Arch. f. Gewerbepathologie. T. 4, 491, 1933. 3) *Berl, Andress i Müller* — Zeitsch. f. Angew. Chemie. Cyt. w/g Grochowskięgo (14). 4) *Brandt* — Cyt. w/g Breziny (5). 5) *Brezina E.* — Zentrbl. f. d. ges. Hyg. T. 34, z. 6, 1931. 6) *Ehrhardt W.* — Zentrbl. f. Gewerbehyg. u. Unfallverhütung. T. 13, z. 1, 1936. 7) *Engelhardt W. E.* — Archiv. f. Hygiene u. Bakteriologie T. 114, z. 4, 1935. 8) *Engelhardt W. i Estler W.* — Archiv. f. Hygiene u. Bakteriologie, T. 114, z. 5, 1935. 9) *Estler W.* — Archiv f. Hygiene u. Bakteriologie. 10) *Flury F. i Zernik Fr.* — Die schädliche Gase. Berlin 1931, J. Springer. 11) *Gądzikiewicz W. i Paluch E.* — Medycyna Nr 15/16, 1931. 12) *Gerbis* — Gesundheitsgefahren des Tiefdruckverfahren des Reichsarb. bl. 15, 1935. 13) *Glibert D.* — La Médecine du Travail. 8 An. Nr 2, 1936. 14) *Grodrowskij M. K.* — Wydawnictwo „Woprosy truda“, Moskwa 1925. 15) *Nelken L.* — Zentrbl. f. Gewerbehygiene u. Unfallverhütung, T. 8, z. 7, 1931. 16) *Sanders W.* — Arch. f. Gewerbehygiene, T. 3, 777, 1932. 17) *Schwartzkopf E.* — Lösemittel-Rückgewinnung beim Tiefdruckverfahren. Deutscher Drucker, 1934. Odbitka. 18) *Stoc-ké A.* — Zentr. bl. f. Gewerbehyg. u. Unfallverhütung. 19) *Winslow A.* — Journ. ind. Hyg. 9, 61, 1927.

Wpłynęło 19. X. 1936.

PRZEMIANY CHEMICZNE W BAKTERIACH.

Sposoby i kierunki badań.

Podała

CECYLIA LUTWAK-MANN (Lwów-Cambridge).

W s t ę p.

Bakteriologia, jedna z najpiękniej rozwijających się nauk przyrodniczych, może się poszczycić zupełnie nowymi zdobyczami z zakresu młodej stosunkowo gałęzi wiedzy, jaką jest — *biochemia drobnoustrojów*. Początków tej wiedzy można się dopatrywać w podstawowych badaniach. *L. Pasteura* nad alkoholową fermentacją cukru, wywołaną przez drożdże. Zaslugą *Pasteura* w tym wypadku było uchwycenie związku pomiędzy obecnością i aktywnością drożdży w płynie fermentującym, a potężnymi zmianami chemicznymi, którym cukier ulega w czasie fermentacji, przechodząc w alkohol etylowy i dwutlenek węgla. Od owych czasów poczyniono ogromne postępy, niemniej jednak tysiące zagadnień nadal czekają rozwiązania i nauka ta spotyka się z rosnącym zainteresowaniem badaczy — przedstawicieli wszelkich działów nauk przyrodniczych.

Jakież są — ogólnie rzecz biorąc — dane i warunki, umożliwiające podjęcie tych nad wyraz ciekawych i ważnych badań? Zastanawiając się nad rodzajem przygotowania, potrzebnego do pracy nad przemianami chemicznymi w drobnoustrojach, dochodzi się do przekonania, że tu, podobnie jak i w wielu innych rodzajach nowoczesnej pracy doświadczalnej, najdoskonalszych wyników

można się spodziewać po celowej współpracy, w tym wypadku n. p. chemika z bakteriologiem lub lekarza z biologiem i t. p. Rozumie się, że jeśli ktoś posiadał wszystko w jednej osobie, to nie wygląda pomocy znikąd; prawdą jest również, iż na to, by pracować owocnie w biochemii bakteryjnej, nie musi się koniecznie lat całych poświęcać czystej bakteriologii, ponieważ do szeregu zagadnień wystarczy posiadać pewne, nieraz czysto techniczne wiadomości. Z drugiej zaś strony, w wielu typach doświadczeń wystarczy, z punktu widzenia chemicznego, gruntowne zrozumienie i opanowanie pewnych tylko metod analitycznych lub preparatowych. Istnieją zatem duże możliwości i dziedzina jest w rzeczywistości dla wielu znacznie bardziej dostępna, niżby się mogło wydawać jedynie na podstawie przeglądu piśmiennictwa. Podobnie także wyposażenie pracowni nie wymaga żadnych prawie niezwykłych wkładów. Potrzebne są — po za zwykłym sprzętem bakteriologicznym, — zależnie od typu badań — odpowiednie urządzenia chemiczne, a więc aparatury, przeważnie do mikrometod, jak najspawniejsza wirówka elektryczna lub separator, kolorymetr wzgl. przewyższający go znaczenie pod względem wszechstronnej użyteczności fotometr (Stufenfotometer, Zeiss) bardzo przydatny bywa polarymetr, refraktometr, spektroskop. Ze wszech miar pożądana jest możliwość rozdziału, nawet w obrębie tej samej pracowni, na część bakteriologiczną i chemiczną.

I.

Byłoby zgoła niemożliwością, wyczerpać w ramach artykułu wszelkie metody, będące obecnie w użyciu u biochemików, zajmujących się przemianami drobnoustrojów. Zebrane przy końcu piśmiennictwo ma na celu ułatwienie zainteresowanym zapoznania się ze szczegółami, poniżej zaś omówione będą wytyczne metod, które zostały przyjęte w większości pracowni i okazały się praktyczne i pożyteczne.

Jednym z zagadnień pierwszej wagi jest uzyskanie materiału doświadczalnego w ilości nadającej się do badań chemicznych. Z naszego punktu widzenia należy podnieść nietylko szczegó-

łowy skład ilościowy pożywki stosowanej do hodowli drobnoustrojów — choć i to jest ważne — ile przede wszystkim fakt, czy mamy do czynienia z hodowlą płynną czy też stałą. Nie wchodząc w szczegóły, jakie składniki musi każda pożywka zawierać, bo zaprowadziłoby to nas za daleko, w dziedzinę raczej fizjologii bakterii, — zastanowimy się, jakie różnice wypływają stąd, że bakterie zostały wyhodowane na stałej lub płynnej pożywce. Jeśli bakterie rosną na pożywce agarowej, to wskutek ciągłego, postępującego rozkładu podłoża jako materiału odżywczego, nagromadzają się na powierzchni pożywki produkty przemian bakteryjnych. Mogą one wpłynąć w znacznym stopniu swą obecnością w większym stężeniu, na wydolność bakterii pod niektórymi względami. I tak, szereg fermentów właściwych *Bact. coli*, ulega osłabieniu, lub nawet zniszczeniu, jeśli hodować drobnoustroje na pożywce stałej z dodatkiem glukozy, a to dlatego, że nagromadza się na powierzchni m. in. kwas mlekowy. Można zapobiec dosyć skutecznie wpływowi zakwaszenia, dodając do pożywki węglanu wapniowego. Należy pozatem wziąć pod uwagę dalszy moment: rosnąc na stałej pożywce, bakterie rozwijają się w warunkach tlenowych. Wiemy z szeregu doświadczeń, że ten sam rodzaj bakterii zachowuje się odmiennie w doświadczeniu, zależnie od tlenowych lub beztlenowych warunków wzrostu. Znamiennym przykładem jest zachowanie się *Bact. coli* w stosunku do glukozy; wyhodowane tlenowo, utlenia glukozę, podczas gdy hodowla beztlenowa fermentuje glukozę. Hodowla w pożywce płynnej jest zasadniczo beztlenowa, zwłaszcza w głębszych warstwach płynu tymbardziej, jeśli dane bakterie wytwarzają produkty gazowe, jak dwutlenek węgla i wodór, przesycając nimi pożywkę. Hodowanie w pożywce płynnej nadaje się również do doświadczeń, w ciągu których pragnie się osiągnąć bakterie hodowane w specjalnej atmosferze gazowej, więc w azocie lub wodorze, po uprzednim usunięciu powietrza przez wypróżnienie, czyli w warunkach „ściśle beztlenowych“.

Zarówno co do wieku hodowli, jak i temperatury, trudno określić ogólnie wytyczne; naogół używa się hodowli 17 — 20 godzinnych, hodowanych w 37° Po upływie czasu, w którym uzyskano optymalny wzrost, zmywa się hodowlę z pożywki stałej

niedużą ilością wody. Hodowlę płynną przelewa się do naczyń wirówkowych, to samo czyni się również z wyżej wspomnianą zawiesiną, wypłukaną z pożywki stałej i odwirowuje się ostro w ciągu 30 — 45 minut. Po tego rodzaju odwirowaniu uzyskuje się większość bakterii w osadzie; dłuższe wirowanie jest niepotrzebne, a nawet szkodliwe, gdyż często rozprasza z powrotem osad w płynie. Uzyskany osad bakteryjny nie nadaje się w tym stanie do doświadczenia chemicznego, należy go wprzód oczyścić z resztek pożywki przez gruntowne, 2 — 3-krotne przemycie wodą i wirowanie. Niektórzy autorzy używają zamiast wody fizjologicznego roztworu soli kuchennej, inni moderatora fosforanowego obojętnego. Przy opisywanym tu postępowaniu należy przekonać się, czy dane bakterie nie ulegają plazmolizie w czasie wirowania w wodzie. Większość gatunków jest niesłychanie odporna, niektóre jednak (np. *Cl. sporogenes*) plazmolizują z łatwością. Z chwilą, kiedy komórki bakteryjne uległy plazmolizie, uwalnia się z nich szereg fermentów i następuje autoliza; badanie w tych warunkach np. składników komórkowych bakterii, daje naturalnie wyniki nie odpowiadające rzeczywistości.

Uzyskany z hodowli przemyty osad bakteryjny należy zawiesić w dowolnej, lecz znanej objętości wody, dla uzyskania jednostajnej zawiesiny bakteryjnej, która nadaje się do większości doświadczeń. Nie mając innego podłoża prócz wody, bakterie nie rozmnażają się, lecz są niejako w stanie spoczynku: „*resting bacteria*“. Niektóre rodzaje bakterii można przechowywać w takiej zawieszynie przez kilka godzin, przy czym ich aktywność w stosunku do badanego w doświadczeniu podłoża nie spada w znaczniejszym stopniu. Zaznacza się w tej mierze pewne bardzo ciekawe zjawisko: podczas gdy zawiesina danych bakterii traci w ciągu niedługiego czasu tę czy inną właściwość przeprowadzania pewnej reakcji chemicznej, to szereg innych fermentów nie unieczynnia się nawet i po kilku dniach. Jako prosty przykład może służyć zawiesina *Bact. coli.*, której zdolność glikolityczna (rozkład glukozy), a w szczególności właściwość rozkładania kwasu mrówkowego (*Stephenson*, hydrogenolazy; 1) spada niemal do zera już po kilku godzinach, a fermenty rozkładające kwas adenyłowy lub adenozyne zostają nietknięte nawet po tygodniu przechowywania zawiesiny w 0° (*C. Lutwak-Mann*, 2).

Pracując z zawiesinami bakteryjnymi należy w jakiś sposób ustalić ich stężenie, o ile się pragnie porównywać ze sobą wyniki uzyskane w szeregu doświadczeń, do których użyto bakterii tego samego rodzaju, lecz pochodzących z różnych hodowli. Istnieje kilka sposobów: 1^o można sporządzić w zatopionej rurce szklanej zawiesinę bakteryną o wzorcowym stężeniu i porównywać z nią następnie wszystkie inne, później uzyskane. Zamiast zawiesiny bakteryjnej można użyć jako wzorca roztworu skrobi. Jeżeli się nie dowierza oku przy sporządzaniu rozcieńczeń, to najlepiej oprzeć się o pomiar nefelometryczny. 2^o odwirowawszy ostro bakterie po ostatnim przemyciu w naczyniu o znanym ciężarze, odlewa się dokładnie cały płyn i oznacza przy pomocy ważenia t. zw. „mokrą wagę“ bakterii świeżych. Mokra bakterie wykazują, przy użyciu dobrej wirownicy, prawie niezmiennie 80% wody. 3^o Najdokładniejszym sposobem jest oznaczenie azotu całkowitego zawiesiny bakteryjnej po spaleniu met. Kjeldahla. W tym wypadku sporządza się rozcieńczenia zgrubsza, a wyniki doświadczalne przerachowuje się i porównywa zależnie od wartości azotu. Wartości azotu w bakteriach wykazują tylko niewielkie wahania, przeciętnie stanowi azot 12,5% suchej wagi bakterii.

Bardzo istotnym punktem jest sprawdzenie oddziaływania zawiesiny; po kilkakrotnym przemywaniu zawiesiny, powinno ono być bliskie obojętnego ($\text{pH} = 6-7$), co najlepiej stwierdzić indykatorami (n. p. błękitem bromotymolowym, czerwienią fenolową). Jeśli zawiesina zawiera w sobie resztki kwasu mlekowego lub indolu, czy też amoniaku z pożywki, to mimo przemycia bakterii, oddziaływanie może być słabo kwaśne lub zasadowe ($\text{pH} = 5-8$). Zaniedbanie sprawdzenia pH może być źródłem błędów, tymbardziej, o ile się doświadczenia nie przeprowadza w obecności moderatorów.

Używając do doświadczeń dziesiątków gramów świeżych bakterij, niektórzy badacze hodują je w 20-tu lub 50-ciu litrach pożywki (*Ucuberg, Virtanen, i inni*). W tego rodzaju doświadczeniach usiłowano niejednokrotnie uzyskać preparaty suszone z bakterii, na wzór preparatów suszonych z drożdży piekarskich lub piwnych, — jak dotąd, z niewielkim powodzeniem. Uważając doświadczenia przeprowadzone z preparatami

i wyciągami drożdżowymi za klasyczny przykład w technice doświadczałnej z drobnoustrojami, zebrano poniżej pokrótce najważniejsze dane.

Było już sprawą ogólnie uznaną, że drożdże powodują proces chemiczny zwany fermentacją, kiedy *Buchner* (1897) przeprowadził swe sławne doświadczenie, w którym roztarłszy i wycisnąwszy zniszczone przez roztarcie komórki drożdżowe, uzyskał z nich sok, przy pomocy którego można było przeprowadzić fermentację cukru zupełnie tak samo, jak w obecności żywych drożdży. Owo przełomowe odkrycie dało początek nowej erze badań nad fermentami i ich właściwościami, zaczęto wówczas stosować do badań enzymatycznych miazg, rozcierów i wyciągów tkankowych. Temu właśnie rodzajowi doświadczeń zawdzięczamy ogrom wiadomości uzyskanych z zakresu przemien chemicznych w szeregu ważnych narządów (wątroba, nerki, mięśnie).

Badając właściwości danego zaczynu przy pomocy preparatów tkankowych, w których struktura komórkowa uległa zniszczeniu, należy pamiętać o tym, że podczas gdy większość fermentów daje się z rozcieru tkankowego wypłukać wodą, to jednak istnieje szereg fermentów nierozpuszczalnych, które uporczywie trzymają się stałych strukturalnych części komórki i nie przechodzą do płynu wyciągowego. Poszukując zatem fermentu, należy badać zarówno wyciąg jak i nierozpuszczalną pozostałość.

Ferment zawarty w soku drożdżowym nazwał *Buchner* *zymazą*. Można ją uzyskać nie tylko ze świeżych drożdży, lecz także z drożdży zautolizowanych w trzydziestu kilku stopniach i wysuszonych następnie w powietrzu lub nawet z drożdży suszonych acetonem i eterem; jest to zatem czynnik stosunkowo bardzo oporny. Drożdże suszone, wodne lub acetonowe, dają preparaty dość trwałe, t. j. można je przechowywać w 0° przez kilka miesięcy bez znaczących wahań i utraty aktywności. Już z tego jednego faktu wynika, jak dogodnie są tego rodzaju czynne preparaty w celach doświadczałnych na dłuższą metę.

Do doświadczeń fermentacyjnych można użyć drożdży suszonych jako takich, znacznie jednak prościej i wygodniej postępuje się sporządzając z nich wodny wyciąg, znany pod nazwą soku *Lebedewa*.

Sporządza się go w sposób następujący: I część drożdży suszonych wodnych (piwnych) miesza się i rozciera z 3 częściami wody, poczem wstawia

się miazgę do cieplarki (37°) na 3 godziny; po tym czasie sący się, najlepiej w 0° . Przesącz zawiera w sobie całość systemu fermentacyjnego, o czym się łatwo przekonać, jeśli zmieszać w naczynku fermentacyjnym wyciąg *Lebedewa* z cukrem i oznaczyć powstający dwutlenek węgla.

Jeśli jednakowoż poddać sok *Lebedewa* dializie, w celu pozbawienia go n. p. nadmiaru soli mineralnych lub innych składników drobnocząsteczkowych, to traci on równocześnie pewną nieodzowną część składową systemu zaczynowego czynnego, a mianowicie, t. zw. ogólnie koferment, w tym wypadku kozymazę, która jako ciało drobnocząsteczkowe przechodzi przez błonę dializacyjną. Pozbawiony kozymazy, dializowany wyciąg *Lebedewa* jest nieczynny, można go jednak uczynnić napowrót przez dodanie bądź to samej kozymazy, bądź też ciała, które częściowo są w stanie zastąpić jej działanie t. j. przez dodatek kwasu adenyloвого wzgl. adenylopyrofosforowego (*C. Lutwak - Mann* i *T. Mann*, 3).

Oddzielenie kofermentu od właściwego fermentu można przeprowadzić także i na suszonych drożdżach. Przemysławając je wielokrotnie bardzo intensywnie i wielkimi ilościami wody lub moderatora fosforanowego i odrzucając za każdym razem płyn, uzyskuje się w końcu pozostałość stałą, zwaną apozymazą, która nieuzupełniona dodatkiem kozymazy, nie jest w stanie fermentować cukru. Kozymazę izoluje się chemicznie z drożdży (piekarnianych), sporządziwszy z nich t. zw. „Kochsaft“: drożdże rozrobione z wodą (1 : 1) ogrzewa się do 80° przez 10 minut, następnie odsącza się od części nierozpuszczalnych i z przesączu wyodrębnia się kozymazę przy pomocy kolejnych wytrąceń ołowiem, rtęcią, srebrem.; Do tej pory nie udało się, mimo usilnych i długoletnich badań (*Euler* i in.) uzyskać chemicznie czystej kozymazy mimo, że występuje ona we wszystkich niemal tkankach zwierzęcych, oraz w bakteriach. Jak wynika z najnowszych badań, substancja ta, niezwykle ważna i biorąca zasadniczy udział w całym szeregu procesów enzymatycznych, jest związkiem, składającym się z jądra pirydynowego, kwasu adenyloвого i kwasu fosforowego.

Poszczególne preparaty suszonych drożdży, sporządzone dokładnie wedle tych samych wskazówek, różnią się między sobą

dość znacznie; to samo odnosi się do wyciągu Lebedewa. Znacznie gorzej przedstawia się sprawa suszonych analogicznie preparatów bakteryjnych, które w wielu wypadkach są prawie zupełnie nieczynne. Jest jeszcze jedna zasadnicza cecha, różniąca drożdże od najbardziej do nich zbliżonych chemicznie bakterii fermentujących cukry; podczas gdy drożdże można z łatwością splazmolizować przy pomocy soli kuchennej, toluenu, octanu etylowego i in., nie podobnego nie daje się osiągnąć z bakteriami takimi, jak n. p. *Bact. coli*. Zawiodły również wszelkie próby uzyskania czynnych soków lub wyciągów komórkowych, mimo użycia znacznego ciśnienia w specjalnie po temu skonstruowanych „młynach“ bakteryjnych. Narazie więc do badania można stosować z dobrym wynikiem zawiesiny „odpoczywających“ bakterii, choć ograniczony czas ich używalności stanowi nieraz przeszkodę.

Dalszą kwestią, której nie można pominąć przy omawianiu doświadczeń bakteryjnych, jest sprawa jałowoci. Nie ulega wątpliwości, że doświadczenie przeprowadzone od początku do końca w jałowych warunkach, jest ideałem, do którego powinno się dążyć. Jest to jednak bardzo mozolne, a nieraz zgoła niewykonalne, gdyż niektóre przyrządy, jak n. p. manometry *Warburga* czy *Barcrofta* nie nadają się do sterylizacji, poza tym wiele substancji doświadczalnych, dodawanych czy to jako podłoże, czy też jako koferment i t. p. mogłoby ulec poważnym zmianom chemicznym wskutek wysokiej temperatury i ciśnienia. W takich wypadkach znakomite usługi oddaje użycie świec porcelanowych i różnych typów sączków bakteryjnych (*Seitz*). Przekonano się jednakowoż, na podstawie niezliczonych prób z kontrolnymi wysiewami na płytki, że przy doświadczeniach z t. zw. „resting bacteria“, stopień zakażenia gęstej zawiesiny jest tylko bardzo nieznaczny w czasie przygotowywanych manipulacji (wirowanie, przemywanie, rozeienczenie); procent zakażenia jest tak niski, że absolutnie nie wpływa na przebieg i wynik właściwej badanej reakcji. Powyższe jednak uwagi odnoszą się wyłącznie do doświadczeń krótkotrwałych t. j. maksymalnie 3 — 4-godzinnych, licząc od chwili zmycia z pożywki ściśle jałowo przygotowanej hodowli bakteryjnej; aby być jednak całkowicie pewnym otrzymanych wyników, należy bezwzględnie potwierdzić

serię zgodnych doświadczeń niejadalnych, identycznym, przeprowadzonym w zupełnie jadalnych warunkach.

Jeżeli dowiedziono, że badana reakcja chemiczna nie jest związana z komórką żywą, wzgl. daje się przeprowadzić przy pomocy bakterii uprzednio zabitych, to można z korzyścią użyć szeregu ciał zapobiegających rozwojowi drobnoustrojów wogóle. Dostyć często stosuje się w tym celu tolueń („toluene treatment“): zawiesinę bakteryjną zadaje się toluenem do 1% stężenia, wstrząsa się energicznie i pozostawia na przeciąg 20 — 30 minut w temperaturze pokojowej lub nawet w cieplarni, następnie łączy się naczynie z zawiesiną z próżnią (najlepiej przeprowadza się to w obszernej rurce Thunberga) i usuwa cały toluen. Kontrolny wysiew powinien wykazać zupełne zahamowanie rozwoju w ten sposób traktowanych bakterii. Podobny efekt można osiągnąć przy pomocy odpowiednio zastosowanego naświetlania promieniami pozafioletkowymi. Z pośród substancji, które hamują rozwój bakterii, a nie wykazują specjalnego wpływu na niektóre reakcje, należy wymienić często stosowany fluorek sodowy (1%) i tymol.

Typy doświadczeń bywają różnorodne, niemniej jednak omówimy poniżej kilka zasadniczych, ogólnie przyjętych sposobów techniki doświadczalnej.

A. Najprostsze są doświadczenia, w których do opisanej powyżej zawiesiny bakterii dodaje się podłoża, naogół zawsze pod postacią roztworu, dalej wszelkich ciał wpływających lub nieodpornych w przebiegu reakcji, — tu należą np. sole różnych metali, wreszcie ustala się oddziaływanie przy pomocy moderatorów i w końcu całą tak zestawioną „próbę“ poddaje się ogrzewaniu, przeważnie w 37°, nieraz wstrząsając mechanicznie, zwłaszcza, o ile zawiesina jest bardzo gęsta. Nie można z góry przewidzieć czasu, ani też temperatury, w których badana reakcja np. rozkład podłoża dodanego do zawiesiny, przebiegnie w 100%, należy to stwierdzić przeprowadzając szereg doświadczeń w zmiennych warunkach. Jest jasne, że możliwość przebiegu reakcji jest uzależniona od stosunków ilościowych między stężeniem zawiesiny, a stężeniem podłoża, poza tym, bardzo ostro zaznacza się pewnego rodzaju wybiórczość fermentów bakteryj-

nych w stosunku do ciał nawet blisko spokrewnionych z sobą chemicznie. Dobitym przykładem tej właściwości bakterii jest rozkład przez *Bact. coli* dwóch bardzo zbliżonych do siebie ciał, kwasu adenyłowego i adenyłopirymidynowego; w identycznych warunkach ilościowych nukleotydy adenyłowy ulega zupełnemu rozkładowi przez dezaminację i defosforyzację w przeciągu 30 minut, nawet w temperaturze pokojowej, podczas gdy ten sam proces dla pirynukleotydu wymaga trzech do czterech godzin i obecności jonu magnezowego (*C. Lutwak - Mann*, 2). Niektóre reakcje wymagają specjalnej atmosfery gazowej, więc tlenu lub azotu, inne znów są zupełnie niezależne i przebiegają równie dobrze beztlenowo, jak i w powietrzu; w każdym wypadku należy ustalić te warunki szeregiem próbnych doświadczeń.

Ażeby po ukończeniu inkubacji przeprowadzić badanie chemiczne, celem stwierdzenia zmian, jakie zaszły w podłożu dodanym do bakterii, należy w większości wypadków odbić „próbę”. Nie jest to proste, gdyż bakterie niekiedy nie dają się wytrącić z roztworu przy pomocy odczynników odbijających. Stosunkowo dobrze nadaje się do tego celu kwas trójchłorooctowy, nieco gorzej wolframowy; niezłe wyniki uzyskuje się przy zagotowaniu i ścięciu białka bakteryjnego kwasem octowym. Gdy produkty badane są ciepłostale, wystarczy niekiedy samo zagotowanie. Z dużym powodzeniem używa się ziemi okrzemkowej (*Kieselgur*) do odsączania zawiesin bakteryjnych; wreszcie w wypadkach, gdzie idzie o oddzielenie ciał bakteryjnych tylko zgrubsza od płynu, prosto odwirowuje się na dobrej wirówce.

B. W wielu reakcjach przeprowadzanych przez bakterie, końcowe produkty są gazowe, jak dwutlenek węgla, wodór, metan, amoniak, siarkowodór i t. p., przy czym, ze znamionującą bakterie różnorodnością powstają w wyniku tej samej reakcji równocześnie substancje niegazowe i gazowe. Wówczas bardzo pożądaną jest możliwość jednoczesnego ilościowego oznaczenia obydwu rodzajów ciał, czyli oznaczenia zarówno chemicznego, jak i gazometrycznego. Nieocenione usługi w tym względzie oddaje technika manometryczna, stosunkowo łatwa do opanowania i nadająca się do doświadczeń seryjnych. Dwie aparaty do pomiarów mikromanometrycznych są dzisiaj w powszechnym

użyciu: są to manometry *Barcrofta* i *Warburga*¹⁾). Opis metod manometrycznych, zarówno pod względem naukowym, jak i technicznym, piśmiennictwo i wszelkie możliwości doświadczalne, łączące się z tym zagadnieniem zostały ujęte, w niezwykle przystępnej, jasnej, a zwięzłej formie w „*Manometric Methods*“ *M. Dixona* (4), do której odsyłamy czytelnika.

C. Pozostaje do omówienia jeszcze jeden rodzaj techniki doświadczalnej, ogólnie przyjętej w badaniach nad zaczynami, a mianowicie zapoczątkowanej przez *Thunberga* techniki barwików oksydoredukcyjnych, w szczególności błękitu metylenowego. Błękit metylenowy pod względem chemicznym jest to umetylowana pochodna tioniny. Ciężar cząstkowy błękitu trudno jest ustalić ze względu na bardzo zmienną zawartość wody krystalizacyjnej, co stanowi pewną trudność przy sporządzaniu roztworów podstawowych (wzorców). Chcąc zdać sobie sprawę z jakości posiadanego preparatu, należy go najpierw oczyścić przez kilkakrotną krystalizację. Jednym z najprostszych sposobów, dającym zadowalniający wynik jest sposób następujący:

10 kg. kupnej substancji, należy rozpuścić w 100 ml. gorącej wody i przesączyć na gorąco; przesącz ochłodzić i zostawić przez noc. Powstałe kryształki odsączyć przy pomocy próżni; powtórzyć powyższą procedurę dwukrotnie, rozpuszczając kolejno w coraz mniejszej ilości gorącej wody. Kryształki uzyskane w ostatniej krystalizacji suszy się na powietrzu przez 5-10 godzin. Oznaczenie wody wykazuje w tak sporządzonym preparacie 78% barwika bezwodnego; zawartość azotu całkowitego (met. Kjeldahla) wynosi 10,25%, chloru 8,65%, siarki 7,82%.

Szereg innych, nieco bardziej złożonych sposobów oczyszczania błękitu metylenowego, jako też obszernie omówienie jego własności, można znaleźć w pracach *M. Clarka* i współpracowników (5), ogólne zaś podstawy, dotyczące zagadnienia potencjału oksydoredukcyjnego w znanej książce *L. Michaelisa* (6).

¹⁾ Znaczny koszt sprowadzenia tych przyrządów z Niemiec lub z Anglii daje się świetnie zredukować, jeśli dać sporządzić mechanikom krajowym termostaty, tak jak to z powodzeniem urzeczywistniono w Zakładzie Chemii lek. we Lwowie; przy znaczniejszym wysiłku i dobrej woli naszych nieraz doskonałych mistrzów-szklarzy, udaje się skonstruować całość aparatury w kraju, na podstawie jednego tylko zagranicznego modelu.

Błękit metylenowy jest związkiem chemicznym, którego forma utleniona jest niebieska, zredukowana natomiast t. zw. leukoforma, jest bezbarwna. Przechodząc ze swej postaci utlenionej w zredukowaną, błękit może odegrać rolę akceptora wodoru, w układzie, w którym wodór odszczepił się od podłoża, uczynniowego przez ferment zawarty w danej miazdze tkankowej lub też, w zawiesinie bakteryjnej. Zabierając wodór danemu podłożu, błękit metylenowy działa tym samym utleniająco¹⁾. Utleniającą własność błękitu metylenowego wyzyskuje się w pierwszym rzędzie tam, gdzie układ: zaczyn + podłoże, nie jest w stanie reagować bezpośrednio, lecz jedynie za pośrednictwem przenośnika (carrier). Leukoforma barwika, będąca w stanie oddać wodór, wywiera tym samym redukujące działanie na podłoże, przy czym barwik odzyskuje swą barwę niebieską.

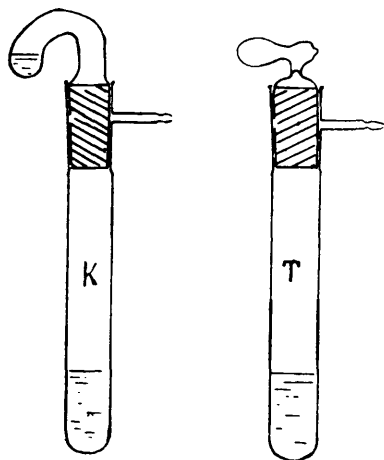
Używając do doświadczeń błękitu metylenowego, lub innych barwików z tej grupy, należy bardzo przestrzegać pewnych punktów, których zaniedbanie czy niedocenienie może pociągnąć za sobą poważne błędy doświadczalne. Tak zatem, użycie znacznego nadmiaru barwika w stosunku do podłoża i fermentu wogóle uniemożliwia reakcję, po pierwsze dlatego, że działa on toksycznie na ferment, powtóre, że ilość podłoża nie jest wystarczająca do zredukowania błękitu, a w końcu, zbyt duża intensywność barwy wogóle nie pozwala na uchwycenie punktu końcowego. Doświadczenia z błękitem przeprowadza się po zupełnym usunięciu powietrza, w atmosferze azotu. Do tego celu służą najlepiej ogólnie znane rurki *Thunberga*, bądźto oryginalne (ryc. 1, T), bądź też zmodyfikowane. Jedną z najdogodniejszych stanowi modyfikacja *Keilina* (ryc. 1, K).

Błędy, które mogą się wydarzyć przy stosunkowo łatwej technice z rurkami *Thunbergowskimi* są następujące: o ile szlif szklany jest niedokładnie przytarty lub też smar doń użyty nie-

¹⁾ Dla zrozumienia prac z tego zakresu należy uzmysłowić i przyswoić sobie następujące pojęcie:

- 1) przyjęcie wodoru lub odszczepienie tlenu → redukcja
- 2) przyjęcie tlenu lub odszczepienie wodoru → utlenienie
- 3) odrzucenie elektronu → utlenienie
- 4) przyjęcie elektronu → redukcja

odpowiedni, to powietrze, dostając się do wnętrza, nie dopuszcza do redukcji barwika. Dalej należy wziąć pod uwagę to, że kupny azot zawsze zawiera sporo tlenu (1—5%), że zatem, przed wprowadzeniem go do rurki Thunberga, należy go odtlenić, najlepiej, przeprowadzając strumień azotu nad rozżarzoną miedzią.



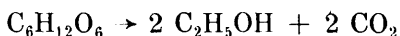
Ryc. 1. W części probówkowej umieszcza się ferment i wszelkie substancje dodatkowe, natomiast w próżnym kurku szklanym podłoże i błękit metylenowy. Manipulując tak, by płynów ze sobą nie zmieszać, wypróżnia się i wypełnia azotem wnętrze szczelnie zamkniętej rurki, poczem wstawia się na łaźnię wodną (38°) i poczekawszy około 2 minut aż płyny się ogrzeją, miesza się je w warunkach zupełnie beztlenowych, — (to właśnie jest kolosalnym ulepszeniem podanej modyfikacji) i ze stopperem w ręce notuje się czas upływający od momentu zetknięcia się fermentu z podłożem do zniknięcia barwy.

II.

Skład chemiczny komórki bakteryjnej do tej pory jeszcze nie jest znany, pomimo licznych badań z tej dziedziny, zarówno dawniejszych, jak i nowoczesnych. Jednym z zasadniczych jest zagadnienie, czy komórka bakteryjna zawiera substancje takie same wzgl. podobne do komórek znanych nam tkanek, czy też cechują ją pewne zupełnie swoiste substancje. Nie trzeba chyba podkreślać, jak ważne jest to zagadnienie, nie tylko z punktu widzenia biochemicznego, lecz przede wszystkim także dla patologii. Wystarczy, jeśli wspomnieć tu dla przykładu znane badania nad węglowodanami pneumokoków i nad swoistymi kwasami tłuszczowymi prątka gruźlicy, które właściwie wkraczają już w zakres immunochemii. W związku z badaniami nad składem chemicznym bakterii, narzuca się dalsze pytanie, a mianowicie, czy bakterie, odznaczające się olbrzymią wprost ilością fer-

mentów, posiadają także w swym własnym ustroju podłoże materialne dla tych fermentów.

Zupełnie inne zagadnienie, nieraz w znacznej mierze czysto praktyczne, stanowią typy fermentacji bakteryjnych. Są one tematem prac badające większości badaczy i najgłośniejsze nazwiska łączą się z nimi, (*Neuberg, Stephenson, Kluyver, Virtanen* i w. in.). Fermentacje bakteryjne np. cukrowa, octowa, propionowa, masłowa, acetonowa i t. p. przedstawiają naogół niesłychanie skomplikowane procesy chemiczne, jak dotąd, przeważnie tylko w ulamkach poznane. Opierając się na znacznie lepiej przebadanej fermentacji alkoholowej drożdży starają się badacze podejść i ująć w podobny sposób fermenty bakteryjne. Lecz podczas gdy produkty końcowe fermentacji drożdżowej cukru dają się ująć w sumaryczne równania chemiczne:



to bakterie fermentując to samo podłoże — glukozę, wytwarzają z niej cały szereg produktów końcowych i to w zmiennych ilościach, a więc alkohol i kwasy: mlekowy, bursztynowy, octowy, mrówkowy, ten zaś ostatni rozkłada się na wodór i dwutlenek węgla. Oznaczenie tych substancji obok siebie przedstawia poważne zadanie z punktu widzenia chemicznego.

Z zagadnieniem fermentacji łączy się ogromnie dziś modna kwestia „adaptacyjności“ fermentów w bakteriach. Jest rzeczą znaną od dawna, że bakterie, podobnie jak drożdże, fermentują wybiórczo tylko pewne cukry: np. zawiesina *Bact. coli* selektywnie fermentuje glukozę, t. j. w zetknięciu z nią, natychmiast rozkłada ją na wspomniane wyżej produkty, w stosunku zaś do galaktozy wykazuje zupełnie odmienne zachowanie, nie fermentując jej prawie wcale. Jeśli jednak sporządzić zawiesinę z *Bact. coli* wyhodowanego na pożywce z dodatkiem galaktozy, pozwalając w ten sposób niejako przyzwyczaić się bakteriom do obcego podłoża, to uzyskuje się fermentację galaktozy, słabszą jednakowoż pomimo „adaptacji“ od normalnej fermentacji glukozy (*M. Stephenson i C. Lutwak-Mann*, 7). Praca w tej dziedzinie, stojąc na granicy pomiędzy chemią a fizjologią bakterii, dała szereg interesujących wyników co do natury fermentów.

Dalszym problemem, który emocjonuje obecnie biochemików, jest izolacja fermentów, jeśli nie w czystej postaci chemicznej, co wciąż jeszcze jest odległe, to przynajmniej w formie możliwie oczyszczonych preparatów. W zakresie biochemii bakteryjnej, gdzie istnieją — zdawałoby się — świetne możliwości, niewiele do tej pory zdołano uczynić; wymienić należy, jako przykład, dehydrogenazę kwasomlekową, uzyskaną z *Bact. coli* przez macerację gęstych zawiesin w 37° (*M. Stephenson*, 8).

Poza omówionymi tutaj pokrótce zagadnieniami pozostają liczne, równie zajmujące i równie ważne, z zakresu bakteryjnych przemian chemicznych białek, węglowodanów, tłuszczów, zasad purynowych i innych substancji, stanowiące dział dla siebie piękne badania nad przyswajaniem azotu i wiele innych jeszcze, zbyt licznych, by je wszystkie kolejno wymienić. Myślą przewodnią przy ujęciu naszego tematu i zebraniu powyższych ogólnych uwag było nie tyle pogłębienie wiadomości u fachowców z tej dziedziny, ile raczej chęć zbliżenia i zainteresowania szerszych kół przyrodników, a w szczególności lekarzy, badaniami, które zasługują za wszech miar na to, by im poświęcić uwagę. Podane poniżej piśmiennictwo zawiera m. i. monografie i obszernie sprawozdania, z których czytelnik może zacerpnąć bardziej wielostronne i głębsze wiadomości.

P I Ś M I E N N I C T W O .

M. Stephenson. „Bacterial Metabolism“, 1930. Zapowiedziano w tym roku nowe, powiększone wydanie angielskie i niemieckie. *R. E. Buchanan i E. J. Fulmer*. „Physiology and Biochemistry of Bacteria“, 1928. *M. Stephenson*. *Biochem. Journ.* 26, 712 i 1859, 1932; 27, 1528, 1933. *C. Lutwak-Mann*. *Biochem. Journ.* 30, 1404, 1936. *C. Lutwak-Mann i T. Mann*. *Biochem. Ztschrft.* 140, 1935. *M. Dixon*. „Manometric Methods“, Cambridge U. P. 1934. *M. Clark c. s.*: „Studies on oxidation-reduction, I — X, Hygien. Lab. Bull. 151, 1928. Treasury Depart. U. S. A., Publ. Health Serv. *L. Michaelis*. „Oxidations - Reductions - Potentiale“, 1933. *M. Stephenson i C. Lutwak-Mann*, referat wygł. na II Międzynarod. Zjeździe mikrobiol. w Londynie, 1936. *M. Stephenson*. *Biochem. Journ.* 22, 605, 1928.

E R R A T A .

W pracy Dr. Hirszfeldowej z Nr 5-6, T. XXI, 1936 r. Medyc. Dośw. i Społ. na str. 495, ryc. 14, w rodzinie K, dziecko 13-letnie posiada grupę krwi A, a nie O, jak to mylnie zaznaczono na rycinie.

Treść zeszytu 1-2. Sommaire.

<i>Seydel J.</i> Badania nad biologią maczugowców błonicy, pochodzących z obecnej epidemii. Doniesienie I. Biologia i morfologia maczugowców błonicy typu gravis i mitis — Sur la biologie des bacilles diphtériques isolés au cours de la dernière épidémie. Communication I. Propriétés biochimiques et morphologiques des bacilles du type gravis et mitis	1
<i>Goliborska T., Lachowicz K., Przesmycki F. i Seydel J.</i> Badania nad biologią maczugowców błonicy, pochodzących z obecnej epidemii. Doniesienie II. Rozprzestrzenianie się maczugowców błonicy w ustroju zwierzęcym w związku z typami prątki. — Sur la biologie des bacilles diphtériques isolés au cours de la dernière épidémie. Communication II. Bacilles diphtériques de différents types dans l'organisme du cobaye infecté expérimentalement	25
<i>Halberówna W., Milińska-Szwojnicka Z. i Raszkas B.</i> O wpływie temperatury na wynik odchylenia dopełniacza w kile. — Influence de la température sur les résultats de la déviation de l'alexine dans la syphilis	43
<i>Milińska-Szwojnicka Z. i Raszkas B.</i> Wpływ czasu wiązania dopełniacza na czułość odczynu gonokokowego. — Influence de la durée de la déviation de l'alexine sur la gonoréaction	73
<i>Fersztówna F.</i> Podłoże Seidenglanza w zastosowaniu do hodowli szczepów paratyfusowych zwierzęcych. — Milieu de Seidenglanz, employé pour la culture des bacilles paratyphiques de l'origine animale	83
<i>Szenderowiczówna R.</i> Przyczynek do zachowania się bakteriofagów w zespołach zwierzęcych. — Contribution à l'étude du bactériophage dans les groupes d'animaux	93
<i>Szymańska J.</i> W sprawie metodyki wykonywania „próby ryczałtowej” zjadliwości maczugowca błonicy. — Sur la méthode d'exécution de „crude test” dans la pratique épidémiologique	101

<i>Babenko K.</i> Badania nad przebiegiem depolimeryzacji skrobi w układzie: skrobia rozpuszczalna, amylaza, chlorek sodu — Recherches sur le cours de la depolimérisation de l'amidon dans le système: amidon soluble, amylase et chlorure de sodium	106
<i>Goebel F. i Miller J. M.</i> Usunięcie śledziony, a układ siateczkowo-śródbłonkowy.—Ablation de la rate et le système réticulo-endothélial .	117
<i>Paluch E.</i> Zatrucia chroniczne parami ksylenu wśród drukarzy. — Empoisonnements chroniques des imprimeurs par les vapeurs de xylène.	131
<i>Lutwak-Mann C.</i> Przemiany chemiczne w bakteriach. Sposoby i kierunki badań. Referat zbiorowy. — Changements chimiques dans les bactéries. Revue	149



REGULAMIN

ogłaszania prac w „Medycynie Doświadczalnej i Społecznej”.

—

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

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

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

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

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

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

=====